



**Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal no Semiárido**

**POTENCIAL INSETICIDA DE EXTRATOS  
ORGÂNICOS DE ALGODÃO-DE-SEDA À  
*Spodoptera frugiperda***

**THAISA APARECIDA NERES DE SOUZA**

**2018**

**THAISA APARECIDA NERES DE SOUZA**

**POTENCIAL INSETICIDA DE EXTRATOS ORGÂNICOS DE  
ALGODÃO-DE-SEDA À *Spodoptera frugiperda***

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Montes Claros, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal no Semiárido, área de concentração Produção Vegetal, para obtenção do título de Mestre.

**Orientadora  
Prof.<sup>a</sup> Dra. Teresinha Augusta Giustolin**

**JANAÚBA  
2018**

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

### Ficha catalográfica

S725p Souza, Thaisa Aparecida Neres de  
Potencial inseticida de extratos orgânicos de algodão-de-seda à *Spodoptera frugiperda* [manuscrito] / Thaisa Aparecida Neres de Souza – 2018.  
42 p.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal no Semiárido, Universidade Estadual de Montes Claros – Janaúba, 2018.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. D. Sc. Teresinha Augusta Giustolin.

1. Algodão-de-seda. 2. Insetos Desenvolvimento. 3. Plantas Efeito dos inseticidas. 4. *Spodoptera frugiperda*. I. Giustolin, Teresinha Augusta. II. Universidade Estadual de Montes Claros. III. Título.

CDD. 632.951

Catálogo: Joyce Aparecida Rodrigues de Castro Bibliotecária CRB6/2445

**THAISA APARECIDA NERES DE SOUZA**

**POTENCIAL INSETICIDA DE EXTRATOS ORGÂNICOS DE  
ALGODÃO-DE-SEDA À *Spodoptera frugiperda***

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Montes Claros, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal no Semiárido, área de concentração Produção Vegetal, para obtenção do título de Mestre.

**APROVADA em 19 de dezembro de 2018**

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Teresinha A. Giustolin  
UNIMONTES  
(Orientadora)

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Clarice D. A. Corsato  
UNIMONTES  
(Coorientadora)

Prof<sup>º</sup>. Dr. Carlos A. R. Matrangolo  
UNIMONTES

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Maria G. Camargos  
IFNMG

**JANAÚBA**

**2018**

## AGRADECIMENTOS

À Deus pela vida e por me manter firme nos meus ideais mesmo nos momentos de dificuldade;

À UNIMONTES e ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal no Semiárido, pela oportunidade na concessão do Título de Mestre;

À Capes pela concessão da bolsa de mestrado

À minha orientadora Teresinha Augusta Giustolin, pela orientação, dedicação e ensinamentos;

À professora Clarice Diniz Alvarenga Corsato, pela orientação e auxílio;

Ao professor Denilson Ferreira de Oliveira (UFLA) por disponibilizar o laboratório para obtenção dos extratos e a professora Viviane Aparecida Costa Campos (UEMG) pela orientação na metodologia de obtenção dos extratos;

Ao professor Carlos Augusto e a professora Maria Gisely pela colaboração;

Aos meus pais, Maria José e José Neres e aos meus irmãos, por todo amor, compreensão, cuidado e incentivo;

Ao meu companheiro de vida, Daniel, por todo amor, carinho, compreensão e ajuda durante essa caminhada;

Às colegas de laboratório.

Muito obrigada a todos

## SUMÁRIO

RESUMO .....	i
ABSTRACT.....	i
1. INTRODUÇÃO.....	2
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1. Lagarta-do-cartucho, <i>Spodoptera frugiperda</i> (J.E Smith).....	4
2.1.1. Descrição e biologia.....	4
2.1.2. Dano.....	5
2.2. Controle com plantas inseticidas.....	5
2.3. Algodão-de-seda, <i>Calotropis procera</i> Aiton.....	7
2.3.1. Descrição e controle de pragas.....	7
2.4. Metabólitos secundários presentes em <i>Calotropis procera</i> .....	9
2.4.1. Ação dos flavonoides sobre a fase larval de insetos.....	9
2.4.2. Ação dos triterpenos sobre a fase larval de insetos.....	10
2.4.3. Ação dos esteróis sobre a fase larval de insetos.....	11
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	13
3.1 Coleta do material vegetal.....	13
3.2 Preparação do extrato e frações de folhas de <i>Calotropis procera</i> .....	13
3.2.1 Extrato metanólico bruto.....	13
3.2.2 Fração hexânica.....	14
3.2.3 Fração acetato de etila.....	14
3.2.4 Fração metanólica.....	15
3.3 Ação de extrato e frações de <i>Calotropis procera</i> à <i>Spodoptera frugiperda</i> .....	17
3.3.1 Aplicados sobre folhas de milho.....	17
3.3.1.1 Determinação da concentração letal (CL) do extrato metanólico bruto de <i>Calotropis procera</i> à <i>Spodoptera frugiperda</i> .....	17

3.3.1.2 Toxicidade do extrato metanólico bruto de folhas de <i>Calotropis procera</i> e de suas frações a <i>Spodoptera frugiperda</i> .....	18
3.3.2 Aplicados sobre dieta artificial.....	19
3.3.2.1 Determinação da concentração letal (CL) do extrato metanólico bruto (MeOH bruto) de folhas de <i>Calotropis procera</i> à <i>Spodoptera frugiperda</i> .....	19
3.3.2.2 Toxicidade do extrato metanólico bruto de folhas de <i>Calotropis procera</i> e de suas frações a <i>Spodoptera frugiperda</i> .....	20
4. RESULTADOS.....	22
5. DISCUSSÃO.....	30
6. CONCLUSÃO.....	33
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	34

## RESUMO

### Potencial inseticida de extratos orgânicos do algodão-de-seda à *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith).<sup>1</sup>

*Spodoptera frugiperda* é considerada um inseto-praga de difícil controle. Por esse motivo, pesquisas têm sido realizadas com o objetivo de avaliar novos métodos de controles alternativos, como por exemplo, o uso de plantas inseticidas. Neste contexto, o uso de extrato aquoso do algodão-de-seda, *Calotropis procera*, tem se mostrado promissor para o controle de insetos e microrganismos nocivos. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito inseticida do extrato metanólico bruto de folhas do algodão-de-seda e de suas frações na sobrevivência e desenvolvimento de *S. frugiperda*. Foram realizados bioensaios com o extrato metanólico bruto e as frações hexânica, acetato de etila e metanólica tanto aplicados em folhas de milho quanto colocado em dieta artificial do inseto. No experimento com folhas de milho, fragmentos dessas foram imersos em cada uma das concentrações avaliadas e transferidos para tubos de vidro onde também foi colocada uma lagarta de cinco dias de idade. Para o bioensaio com dieta artificial, discos desta foram tratados com 0,1 mL de cada uma das concentrações avaliadas. Os discos foram colocados em tubos de vidro, juntamente com uma lagarta de *S. frugiperda*, com cinco dias de idade. As concentrações letais estimadas, CL50 e CL90, para o extrato metanólico bruto às lagartas de *S. frugiperda* aplicados a folha de milho foram de 0,54 e 2,08%, respectivamente. As concentrações letais estimadas, CL50 e CL90, o extrato metanólico bruto à lagartas de *S. frugiperda* aplicadas a dieta artificial foram de 2,01 e 4,76%, respectivamente. O extrato metanólico bruto na concentração 2,14% provocou o maior percentual de morte das lagartas e de pupas deformadas. O período de oviposição, número total de posturas e número total de ovos foram significativamente afetados pela ingestão do extrato e suas frações. A fração metanólica provocou o maior percentual de adultos deformados e, o principal defeito observado, foi o de má formação das asas. O extrato metanólico bruto também causou o alongamento das fases larval e pupal de *S. frugiperda*. Conclui-se que, o extrato metanólico bruto de *C. procera* e suas frações hexânica, acetato de etila e metanólica afetam a sobrevivência e o desenvolvimento de *S. frugiperda*.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Calotropis procera*, lagarta-do-cartucho do milho, planta inseticida

---

<sup>1</sup> **Comitê Orientador:** Prof<sup>ª</sup>. Teresinha Augusta Giustolin – UNIMONTES (Orientadora) – Prof<sup>ª</sup>. Clarice Diniz Alvarenga Corsato – UNIMONTES (Coorientadora)

## ABSTRACT

### **Insecticide potential of organic extracts of silk cotton to *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith).<sup>1</sup>**

*Spodoptera frugiperda* is considered a difficult-to-control insect-plague. For this reason, research has been carried out to evaluate new methods of alternative controls, such as the use of insecticidal plants. In this context, the use of aqueous extract of silk cotton, *Calotropis procera*, has shown promise for the control of harmful insects and microorganisms. The objective of this study was to evaluate the insecticidal effect of the raw methanolic extract of silk cotton leaves and their fractions on the survival and development of *S. frugiperda*. Bioassays were performed with the crude methanolic extract and hexane, ethyl acetate and methanolic fractions both applied on corn leaves and placed on an artificial insect diet. In the corn leaf experiment, these fragments were immersed at each of the concentrations evaluated and transferred to glass tubes where a five-day old caterpillar was also placed. For the bioassay with artificial diet, disks of this were treated with 0.1 mL of each of the evaluated concentrations. The discs were placed in glass tubes along with a five-day old *S. frugiperda* caterpillar. The estimated lethal concentrations, LC50 and LC90, for crude methanolic extract to *S. frugiperda* caterpillars applied to corn leaf were 0.54 and 2.08%, respectively. The estimated lethal concentrations, LC50 and LC90, the crude methanolic extract to *S. frugiperda* caterpillars applied to the artificial diet were 2.01 and 4.76%, respectively. The crude methanolic extract at the concentration 2.14% caused the highest percentage of death of caterpillars and deformed pupae. The oviposition period, total number of postures and total number of eggs were significantly affected by the ingestion of the extract and its fractions. The methanolic fraction caused the highest percentage of deformed adults, and the main defect observed was the malformation of the wings. The crude methanolic extract also caused the elongation of the larval and pupal phases of *S. frugiperda*. It is concluded that the crude methanolic extract of *C. procera* and its hexane, ethyl acetate and methanolic fractions affect the survival and development of *S. frugiperda*.

**KEYWORDS:** *Calotropis procera*, fall armyworm, insecticidal plant

---

<sup>1</sup> **Advisors committee:** Teresinha Augusta Giustolin – UNIMONTES (Orientadora) – Prof<sup>a</sup>. Clarice Diniz Alvarenga Corsato – UNIMONTES (Coorientadora)

## 1. INTRODUÇÃO

A lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) é uma praga polífaga que infesta diversas culturas de importância econômica, inclusive o milho, da qual é a principal praga no Brasil (JEGGER et al., 2017). Por possuir uma grande diversidade e disponibilidade de hospedeiros é considerada uma praga de difícil controle (SILVA et al., 2017). Em milho, *S. frugiperda* causa injúrias desde a emergência até o pendoamento e formação das espigas, com um potencial de redução da produção de 34% a 52% (VALICENTE, 2015).

No Brasil os prejuízos anuais provocados por *S. frugiperda* já ultrapassaram em muito os 400 milhões de dólares (ROSA, 2011). Segundo esse autor, o ataque da lagarta causa redução na produtividade do milho que pode ultrapassar os 50%, dependendo do cultivar utilizada e da fase da cultura. Devido aos problemas causados pelos insetos-praga, pelos altos custos nas aplicações de inseticidas, além das contaminações ambientais, novas formas de se manejar a cultura do milho devem ser adotadas para o controle de pragas.

Na busca por alternativas para controlar *S. frugiperda*, Santos et al. (2012) estudaram diversas espécies vegetais nativas da região de Janaúba/MG. No trabalho os autores comprovaram a toxicidade do extrato aquoso de folhas do algodão-de-seda, *Calotropis procera* Aiton, à *S. frugiperda*, quando este foi adicionado a dieta artificial. Os autores observaram a morte de 74,0% das lagartas após a ingestão de extrato aquoso a 10,0%, além de 38,5% de deformação de pupas e 83,3% de redução na emergência. O efeito tóxico do extrato aquoso de *C. procera* provavelmente se deve a presença de metabólitos secundários, que nesta espécie vegetal já foram identificados como os flavonoides (HENEIDAK et al., 2006; SRIVASTAVA et al., 2012), glicosídeos cardíacos (HANNA et al., 2002), triterpenos (BHUTANI et al., 1992) e esteróis (CHUNDATTU et al., 2016).

Na literatura, além de Santos et al. (2012), existem poucos trabalhos que avaliaram a atividade inseticida de *C. procera* à *S. frugiperda* e a outras espécies de insetos, apesar dos resultados promissores obtidos por esses autores. Um outro estudo foi realizado por Silva et al. (2015), que avaliaram o extrato aquoso das folhas de algodão-de-seda, na concentração de 10%, adicionado em dieta artificial de mosca-das-frutas, *Ceratitis capitata* (Wied.) (Diptera: Tephritidae). Os autores constataram a morte de 41% das larvas. Ahmed et al. (2006) avaliaram o extrato aquoso de folhas, flores e raízes de *C. procera* nas concentrações 1,0%, 2,5% e 5,0% sobre a joaninha-dos-melões *Henosepilachna elaterii* Rossi (Coleoptero: Coccinellidae). Os insetos foram alimentados com folhas de abóbora tratadas com as referidas concentrações. Os autores observaram que, na concentração 5,0% ocorreu 100% de repelência alimentar e nas concentrações 1,0% e 2,5% foi observada redução na fecundidade e longevidade do inseto. *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae), no 4º ínstar larval, quando

alimentadas com folhas de mamona tratadas com extrato orgânico de folhas de *C. procera* na dose de 100 ppm provocaram 100% de mortalidade. Em concentrações menores (10 ppm, 25 ppm e 50 ppm), foi observado um alongamento na fase larval e redução na fecundidade e fertilidade dos insetos. Na concentração de 75 ppm não ocorreu emergência (LALL et al., 2013).

As informações encontradas na literatura sobre o efeito inseticida de *C. procera* são, na sua maioria, referentes a avaliação de extratos aquosos (SILVA et al., 2015; SANTOS et al., 2012 e AHMED et al., 2006). Entretanto, os extratos orgânicos de plantas também têm sido objeto de estudos para o controle de pragas, como observado nos trabalhos realizados por MCAGNAN et al., 2012; BAKAVATHIAPPAN et al., 2012 e LALL et al., 2013. Nestes estudos com extratos orgânicos, normalmente são utilizados solventes de crescentes polaridades, como o hexano, acetato de etila e metanol, para que os extratos obtidos tenham diferentes componentes. Segundo Silva (2010), os solventes polares dissolvem substâncias polares e os apolares as apolares.

Embasados nestas informações é de grande importância dar continuidade as pesquisas realizadas com a espécie *C. procera*, o algodão-de-seda, planta que se mostrou promissora para o controle da lagarta-do-cartucho. Além do algodão-de-seda ser considerado como uma planta invasora e estar abundantemente distribuída na região de Janaúba/MG. Desta forma, objetivou-se com este trabalho avaliar o efeito inseticida do extrato metanólico bruto de folhas do algodão-de-seda e de suas frações na sobrevivência e no desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda*.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J.E Smith)

#### 2.1.1. Descrição e biologia

O adulto de *S. frugiperda* é uma mariposa com cerca de 35 mm de envergadura de asas e cerca de 15 mm de comprimento de corpo (CRUZ, 1995). Seguindo a descrição feita por este autor, as asas anteriores do macho apresentam coloração cinza com manchas claras, o que o difere da fêmea. Para ambos os sexos, as asas posteriores são claras e circundadas por linhas marrons.

Os adultos apresentam comportamento migratório e alta capacidade de dispersão, o que lhes permitem se espalharem rapidamente por uma ampla região, consumindo uma grande diversidade de plantas hospedeiras (MARTINELLI et al., 2006).

Os ovos de *S. frugiperda* são colocados de forma agrupada, as posturas, que podem possuir uma única camada de ovos ou várias, cada uma contendo cerca de 100 a 200 ovos, totalizando em média 1.500 a 2.000 ovos por fêmea. Os ovos possuem o formato de cúpulas, com cerca de 0,4 mm de diâmetro por 0,3 mm de altura. O período de incubação é de cerca de dois a três dias no verão (CAPINERA, 2008). Os ovos recém-colocados apresentam coloração verde clara, passando à alaranjada após algumas horas da postura e, quando próximos a eclosão se tornam escurecidos, devido à presença da lagarta em seu interior, que é de cor negra (CARDOSO, 2004).

As lagartas recém-eclodidas de *S. frugiperda* apresentam coloração esbranquiçadas, cabeça bem quitinizada e mais larga do que o corpo que é coberto por muitos pelos. No 1º instar a lagarta mede cerca de 1,9 mm de comprimento, com a cápsula cefálica medindo 0,3 mm de largura. No último instar elas apresentam o corpo cilíndrico, com a região dorsal acinzentada e a ventral esverdeada com manchas marrom-avermelhada. Neste instar a lagarta atinge cerca de 50 mm de comprimento e apresenta a cápsula cefálica medindo de 2,7 a 2,8 mm de largura. A duração da fase larval varia de acordo com a temperatura de 33 dias durante o verão, 60 dias na primavera e 80 a 90 dias durante o inverno (CAPINERA, 2008). As lagartas se alimentam da planta de milho em qualquer fase da cultura, mas têm preferência pelo cartucho (GIOLO et al., 2002).

A lagarta de *S. frugiperda*, no final do período larval penetra no solo, onde se transforma em pupa. Inicialmente apresenta coloração verde-clara com o tegumento transparente, fase em que o inseto é mais frágil e sensível as injúrias. Posteriormente, a pupa torna-se alaranjada, marrom-avermelhada até ficar escura, quase preta, já próxima a emergência.

Apresenta cerca de 13 a 16 mm de comprimento por 4,5 mm de diâmetro (CRUZ, 1995). O período pupal é de 8 dias no verão e 25 dias no inverno, após o qual, ocorre a emergência (GALLO et al., 2002).

### **2.1.2. Dano**

A lagarta-do-cartucho causa dano quando consome as folhas das plantas hospedeiras. Em milho, no primeiro ínstar, elas raspam o tecido foliar de um dos lados e deixa a epiderme oposta intacta. No segundo ou terceiro ínstars, as lagartas fazem orifícios nas folhas, antes de descenderem para o cartucho da planta (VALICENTE, 2015). Quando atacam as espigas ocasionam a má formação dos grãos ou mesmo impedem a sua formação. Em ínstars mais avançados, a lagarta também pode penetrar no colmo através do cartucho e causar o sintoma conhecido como “coração morto”. O ataque deste inseto também pode levar a ocorrência de danos indiretos às plantas. Isso acontece devido aos orifícios deixados pelo ataque das lagartas que constituem porta de entrada de fungos e bactérias, agentes causais de várias doenças e potenciais redutores da produção e a qualidade dos grãos (LOPES, 2010).

O sucesso de *S. frugiperda* como praga é consequência da elevada capacidade de dispersão dos adultos ao longo da faixa de distribuição de suas plantas hospedeiras (SPARKS, 1979). Em função das injúrias provocadas nas plantas pela lagarta, observa-se reduções significativas nos índices de produtividade da lavoura a cada ano (FARINELLI; FORNASIERI FILHO, 2006; FERNANDES; CARNEIRO, 2006; FIGUEIREDO et al., 2006; ARAÚJO et al., 2011; MICHELOTTO et al., 2011).

O nível de dano causado por *S. frugiperda* em milho independe das chuvas, estiagem ou precipitação, mais está condicionado à ocorrência de temperaturas favoráveis (VIANA, 1996). Apesar de alguns autores observarem maior abundância de lagartas nos períodos de estiagem (WAQUIL et al., 1982; GRÜTZMACHER et al., 2000). A grande importância econômica desse inseto se deve à sua voracidade (MOSCARDI et al., 2012), a alta frequência e distribuição nas regiões tropicais das Américas.

## **2.2. Controle com plantas inseticidas**

As espécies vegetais produzem uma vasta diversidade de compostos orgânicos que, em sua maioria, não está envolvida diretamente no crescimento e desenvolvimento da planta. Essas substâncias, tradicionalmente referidas como metabólitos secundários possuem distribuição limitada nas famílias e gêneros do reino vegetal e suas funções estão relacionadas a defesa contra o estresse biótico e abiótico. De forma contrária, os metabólitos primários, como os

aminoácidos, carboidratos e lipídios são encontrados em todas as plantas e executam funções metabólicas que são essenciais a vida do vegetal (HUSSAIN et al., 2012).

Os metabólitos secundários vêm sendo utilizados para a produção de inseticidas vegetais e são apontados como alternativas promissoras aos defensivos químicos sintéticos e para o uso no manejo dos insetos-praga agrícolas. Esses inseticidas orgânicos apresentam riscos reduzidos ao ambiente, a saúde humana e são mais rapidamente degradados que os compostos sintéticos. Os metabólitos secundários são encontrados nas raízes, caules, folhas, flores, cascas e frutos das plantas e estes podem ser os locais de sua síntese e armazenamento, além de sua concentração variar entre as espécies. A produção dos metabólitos secundários pode ser influenciada pelo estágio de desenvolvimento da planta, pela época do ano, pelo ritmo circadiano, pela sazonalidade, pelos tratos culturais, pela interação inseto-planta, dentre outros fatores (MORAIS e MARINHO-PRADO, 2016).

Os metabólitos secundários com ação inseticida apresentam diversos efeitos sobre os insetos. Tais como a repelência, a inibição da oviposição, a inibição do desenvolvimento, alterações morfogênicas, alterações do sistema hormonal, alterações no comportamento sexual, esterilização de adultos e mortalidade ocorrida na fase imatura ou adulta (GALLO et al., 2002; KATHRINA e ANTONIO, 2004).

O emprego dos metabólitos secundários é mais vantajoso, quando comparado aos inseticidas sintéticos. São vantajosos pois são renováveis e facilmente degradáveis, não contaminam o ambiente, o desenvolvimento de resistência nos insetos-praga é mais lento, não deixam resíduos nos alimentos e são mais seguros aos operadores e apresentam mais baixo custo, o que os torna mais acessíveis aos pequenos produtores (OLIVEIRA et al., 2007).

Segundo Begum et al. (2013), uma planta inseticida ideal deve ser perene, com ampla distribuição e abundantemente presente na natureza. As partes da planta a serem usadas devem ser removíveis a ponto de não danificar. Essas plantas não devem ser exigentes quanto a irrigação, não devem ter um alto valor econômico e o ingrediente ativo deve ser eficaz mesmo em baixa concentração. Um dos melhores exemplos de uma planta inseticida ideal é o nim, *Azadirachta indica* A. Juss., cujo extrato orgânico das folhas na concentração de 0,1% afetou o desenvolvimento de *S. frugiperda* e causou a morte de 100% das lagartas de 2º ínstar em sete dias e, em oito dias, no 4º ínstar (MCAGNAN et al., 2012).

Várias são as plantas com potencial inseticida que já foram avaliadas, tanto por meio de extratos orgânicos, quanto aquosos. Com relação aos extratos aquosos Knaak et al. (2012) avaliaram o confrei, *Symphitum officinalis* L., e a erva-baleeira, *Cordia verbenace* L., na concentração de 10,0%. Os autores verificaram alongamento na duração da fase pupal de *S. frugiperda* em 11,1 e 12,4 dias, respectivamente. Os extratos aquosos das folhas de eucalipto (*Eucalyptus robusta* Sm) e das folhas e frutos de pimenta (*Capsicum baccatum* L.), na concentração de 10,0%, reduziram o peso das lagartas de *S. frugiperda* (HAAS et al., 2014).

Extratos aquosos das folhas e ramos de arruda *Ruta graveolens* L. e do melão-de-São-Caetano, *Momordica charantia* L., na concentração de 10,0%, reduziram o peso de pupa e a viabilidade larval de *S. frugiperda* (SANTIAGO et al., 2008). Extratos aquosos de macerados de guiné, *Petiveria alliacea* L., malva-silvestre, *Malva silvestris* L., carqueja, *Bacharis genistelloides* var. trimera (Less.) Baker, gengibre, *Zingiber officinale* L., capim-cidreira, *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf e arruda, *Ruta graveolens* L., na concentração de 10,0% causaram 98,0%, 90,0%, 80,0%, 70,0%, 60,0% e 58,0% de mortalidade larval de lagartas de 2º instar de *S. frugiperda*, respectivamente (TAGLIARI et al., 2010).

O extrato etanólico bruto da falsa-erva-de-rato, *Asclepias curassavica* L. adicionado a dieta artificial de *S. frugiperda* causou a morte de todas as lagartas, nas concentrações de 1,0%, 2,0% e 4,0%. Nas menores concentrações, causaram alongamento no período larval, redução no peso de lagartas, de pupas e redução no consumo de alimento pelo inseto (LEÃO, 2018).

O extrato clorofórmico de folhas de *C. procera* aplicado sobre discos de folhas de mamona, concentração de 5,0%, apresentou atividade antialimentar (63,4%) e causou a morte de 67,0% das lagartas de 3º instar de *Spodoptera litura* (Fab) (Lepidoptera: Noctuidae) (BAKAVATHIAPPAN et al., 2012). Além deste, estudos realizados com extratos aquosos e orgânicos de *C. procera* (SILVA et al. 2015; LALL et al., 2013; SANTOS et al. 2012; MCAGNAN et al., 2012; BAKAVATHIAPPAN et al., 2012 e AHMED et al. 2006) tem demonstrado o grande potencial das plantas que podem ser utilizados no Manejo integrado de Pragas.

### **2.3. Algodão-de-seda, *Calotropis procera* Aiton**

#### **2.3.1. Descrição e controle de pragas**

*Calotropis procera* é uma planta conhecida popularmente no Brasil como algodão-de-seda, flor de seda, ciúme, ciumeira, leiteiro ou queimadeira. Ela é originária da Índia e África Tropical e apresenta ampla distribuição geográfica em regiões tropicais e subtropicais. No Brasil se destaca, principalmente, na paisagem seca dos sertões por permanecer sempre verde, mesmo nos períodos mais secos do ano (ANDRADE et al., 2005; MELO et al., 2001).

Na América do Sul, *C. procera* foi introduzida, provavelmente, no final do século XIX, na cidade de Recife, PE, como uma planta ornamental. Outra possibilidade é ter sido introduzida por meio de suas sementes, que contém filamentos sedosos. Esses filamentos eram usados pelos escravos africanos para enchimento dos colchões e travesseiros. No Brasil, *C. procera* se distribuiu do Nordeste até o norte de Minas Gerais, além de ser encontrada em outras regiões de cerrado (KISSMANN e GROTH, 1999; ULHÔA et al., 2007).

*Calotropis procera* é uma planta arbustiva ou subarbórea ereta, perene, com poucas ramificações que, geralmente, partem da base. Essa planta pode atingir cerca de 2,5 a 3,0 metros de altura, mais pode alcançar até 6,0 metros de altura. Como característica da família Asclepiadaceae, produz látex abundantemente. Suas folhas são simples e sésseis e pode atingir de 7,0 a 18,0 cm de comprimento e 5,0 a 13,0 cm de largura. As folhas são subcoriáceas e organizadas de forma opostas ao longo do caule e possui uma fina camada de pelos macios. Os ramos, folhas, pedúnculos e frutos são recobertos, geralmente, por uma serosidade branco-acinzentada, encontrada principalmente, as plantas mais jovens e brotações. A inflorescência é constituída por pedúnculos carnosos e cilíndricos, terminais e axilares, onde se encontram as umbelas de flores pediceladas, que estão dispostas em cachos. As flores apresentam coloração que varia do branco à rosa ou púrpura. Os frutos são cápsulas infladas, globosas, grandes e com sementes cobertas por painas brancas sedosas. A multiplicação da planta se dá por meio da dispersão de suas sementes pelo vento (KISSMANN e GROTH, 1999; LORENZI e MATOS, 2002).

A abundância de látex encontrado em suas partes verdes reforça a ideia de que a sua produção esteja relacionada a uma estratégia de defesa da planta contra insetos, vírus e fungos (RAMOS et al., 2010).

O extrato aquoso das folhas de *C. procera* foi tóxico às larvas dos mosquitos *Anopheles arabiensis* Patton (Diptera: Culicidae) e *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). A concentração letal (CL50) para as larvas de 2º, 3º e 4º instar de *A. arabiensis* foi de 273,53 ppm, 366,44 ppm e 454,99 ppm, respectivamente e para as larvas de 2º, 3º e 4º instar de *C. quinquefasciatus* foi de 187,93 ppm, 218,27 ppm e 264,85 ppm, respectivamente. A menor concentração do extrato das folhas foi suficiente para inibir a emergência. Para os autores, isso reflete a atividade do extrato como um possível regulador do crescimento desses insetos (ELIMAM et al., 2009).

O extrato aquoso das folhas de *C. procera* possui atividade larvicida e causou a morte de larvas de *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) (BUTT et al., 2016). Os autores constataram que, nas concentrações de 20,0%, 40,0%, 60,0%, 80,0% e 100,0% os extratos causaram a morte de 13,0%, 20,0%, 33,0%, 66,0% e 100,0% dos insetos, respectivamente. O extrato do caule de *C. procera* nas mesmas concentrações causaram a morte de 6,6%, 26,0%, 56,0%, 56,0% e 73,0% das larvas de *A. aegypti*, respectivamente.

O extrato aquoso de folhas de algodão-de-seda, na concentração 10,0% reduziu a viabilidade dos ovos de *Meloidogyne incognita* (Kofoid e White) Chitwood, em 99,83% e provocou a morte de 60,33% dos juvenis de segundo instar (CHEDEKAL, 2013).

O extrato aquoso das folhas do algodão-de-seda, concentração de 5,0% e 10,0%, apresentou efeito nematicida *in vitro* a *Meloidogyne enterolobii* Yang e Eisenback. Os extratos provocaram a morte de 100,0% dos juvenis de 2º instar após 48 h da exposição (SANTOS,

2015). Os autores observaram também que, quando as folhas foram incorporadas ao solo infestado com nematoide, ocorreu à erradicação do mesmo e, as raízes de tomateiros não apresentaram galhas.

Folhas picadas de *C. procera* incorporadas ao solo reduziram a população de várias espécies de nematoides. Além disso, os extratos aquosos das folhas reduziram a eclosão de ovos e causaram a morte de juvenis e adultos, além de reduzir a penetração destes nas raízes. Adicionalmente, o tratamento de raízes nuas de mudas de tomate e pimentão com os extratos aquosos reduziram o desenvolvimento de *M. incognita* (AKTHAR et al., 1992).

Cavalcante et al. (2016) ao avaliar o efeito do extrato de acetato de etila do látex de algodão-de-seda in vitro sobre a eclosão de larvas do nematoide gastrointestinal *Haemonchus contortus* (Rudolphi, 1803) (Nematoda: Trichostrongylidae) obtiveram um percentual de inibição da eclosão de 91,8%, na concentração de 4 mg/mL.

#### **2.4. Metabólitos secundários presentes em *Calotropis procera***

Em *C. procera* já foram identificados uma série de metabólitos secundários como flavonoides (HENEIDAK et al., 2006; SRIVASTAVA et al., 2012), glicosídeos cardíacos (HANNA et al., 2002), triterpenos (BHUTANI et al., 1992) e esteróis (CHUNDATTU et al., 2016). Estes metabólitos secundários foram bioativos à insetos, nematoides e microrganismos nocivos.

##### **2.4.1. Ação dos flavonoides sobre a fase larval de insetos**

Os flavonoides representam um dos grupos mais importantes e diversos presentes nos vegetais e são encontrados, geralmente, nas folhas, flores, raízes e frutos (COWAN, 1999). Estes compostos se constituem no grupo dos polifenóis e são produzidos pelas plantas como metabólitos secundários originários da biossíntese das vias chiquimato e acetato (BEECHER, 2003).

Os flavonoides apresentam diversas funções nas plantas como, proteção contra os raios ultravioleta, contra os microrganismos patogênicos, possuem ação antioxidante, alelopatia e de inibição enzimática (SIMÕES et al., 2000; HARBORNE, WILLIAMS, 2000; HEIM, TAGLIAFERRO, BOBILYA, 2002). Além dessas ações, os flavonoides presentes nas plantas da família Selaginellaceae, com destaque os biflavonoides, dímeros dos flavonoides, apresentaram ação antifúngica e de deterrência alimentar aos insetos. Foi constatado ainda, que esses componentes químicos protegeram as plantas contra os raios ultravioleta, principalmente nas folhas (SIMÕES et al., 2010).

Barros et al. (2018) avaliaram os efeitos dos extratos etanólicos de folhas e de frutos do noni *Morinda citrifolia* L., contendo os flavonoides rutina e quercetina, sobre as lagartas da traça do tomateiro, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). Os autores constataram que os extratos de folhas (0,02 mg/L) e de frutos (0,03 mg/L) de *M. citrifolia* aplicados sobre as folhas de tomateiro causaram a morte de 100% e 46,08% das lagartas de *T. absoluta*, respectivamente.

Salazar et al. (2015) estudaram os efeitos dos flavonoides eucaliptina, quercetina, luteolina, crisina, apigenina e naringenina isolados do extrato metanólico de folhas de eucalipto *Corimbia citriodora* Hook sobre as lagartas de *S. frugiperda*. Os autores diluíram os flavonoides puros em etanol e os adicionaram na dieta artificial do inseto. Verificaram que, os flavonoides eucaliptina, quercetina, luteolina e crisina causaram a morte de 100% das lagartas quando estavam nas concentrações 10,0, 10,0, 5,0 e 5,0 g/mL, respectivamente.

Cruz et al. (2017) examinaram as alterações morfológicas ocorridas no epitélio do intestino médio da lagarta da soja, *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepdoptera: Noctuidae), após a ingestão de folhas de diferentes genótipos de soja que continham os flavonoides rutina e genistina. Os autores observaram que todos os genótipos avaliados causaram danos as células epiteliais das lagartas. Observaram alterações morfológicas no epitélio intestinal, danos as células caliciformes (Gc) que apresentaram-se volumosas e com aparente aumento na quantidade e alterações qualitativas nas células regenerativas (Rc).

A ação do flavonóide rutina sobre *S. frugiperda* também foi estudada por Silva et al. (2016), que observaram aumento na duração larval, diminuição nos pesos das lagartas e pupas e redução na viabilidade pupal deste inseto.

#### **2.4.2. Ação dos triterpenos sobre a fase larval de insetos**

Os terpenos abrangem uma grande variedade de substâncias produzidas pelo metabolismo secundário das espécies vegetais e apresentam grande importância ecológica como defensores das plantas (VIEGAS JÚNIOR, 2003). Os triterpenos (30 C) são um dos grupos de terpenos mais estruturalmente diversificados (DOMINGO et al., 2009). Os triterpenos incluem uma grande variedade de compostos com estruturas complexas, onde mais de mil compostos triterpenoides já foram identificados, principalmente, em resinas, látex e cutinas e, muitos deles, apresentam toxicidade e ação antialimentar a insetos. Dos triterpenos já avaliados e que causaram efeitos adversos a insetos fitófagos destaca-se os limonoides, as saponinas, as cucurbitacinas e os cardenólídeos. Vários triterpenos também são componentes das ceras das plantas, tais como a  $\beta$ -amirina e o ácido ursólico. Algumas espécies de plantas produzem triterpenos semelhantes aos ecdisteroides dos insetos, dos quais o ecdisônio exerce papel fundamental no processo de ecdise. Estes compostos são conhecidos como fitoecdisteroides e

são ingeridos pelos insetos para obterem os precursores dos hormônios esteroides que participam na ecdise (BERNAYS; CHAPMAN, 1994).

O óleo de laranja doce *Citrus sinensis* L. e da tangerina *Citrus reticulada* Blanco contendo os limonoides limonina e nomilina foram avaliados como larvicida do mosquito *Aedes albopictus* Skuse (Díptera: Culicidae). Para isso, as larvas de 3º instar do mosquito foram expostas a diferentes concentrações de soluções do óleo de *Citrus*. Para o *C. sinensis*, concentração letal CL50 (297,0 ppm) e tempo letal TL50 18h 49 min ocorreu 97,0% de mortalidade e para *C. reticulata*, 88% de mortalidade na CL50 (377,4 ppm) e TL50 de 31h (BILAL et al., 2012).

D'Incao et al. (2012) estudaram os efeitos letais e sub letais de extratos butanólico de saponinas, obtido do maracujá-doce, *Passiflora alata* Curtis em lagartas de 2º instar de *S. frugiperda*, em testes de ingestão com dieta artificial. Nas concentrações entre 5.000 a 80.000 ppm os autores constataram que, do total de lagartas mortas, 27,0% delas estavam com alguma deformação e 37,2% delas morreram durante o processo de ecdise. Do total de pupas mortas, 39,9% possuíam alguma deformidade, das quais 25,2% com retenção de caracteres morfológicos de lagartas e 82,2% morreram na emergência. A principal deformação foi observada na região das asas, com 33,4% dos insetos sem nenhuma distensão das asas. Um total de 76,0% dos insetos (larvas, pupas e adultos) apresentaram deformações.

Dezesseis compostos limonoides foram isolados do extrato metanólico das folhas da meliaceae *Soymida febrifug* (Roxb.) Juss e avaliados sobre lagartas de 3º instar de *Spodoptera litura* Fab. (Lepidoptera: Noctuidae) e de *Achaea janata* L. (Lepidoptera: Noctuidae). Para isso discos foliares foram avaliados quanto a atividade anti-alimentação dos compostos limonoides as duas espécies de lagartas ensaio de laboratório sem chance de escolha. Dois dos compostos avaliados demonstraram alto índice de atividade antialimentar, quando estavam a 76,461 g/cm<sup>2</sup> e 66,611 g/cm<sup>2</sup> contra *A. janata* e 61,691 g/cm<sup>2</sup> e 51,931 g/cm<sup>2</sup> contra *S. litura*, respectivamente (YADAV et al., 2014).

A atividade inseticida do limonoide fraxinelona diluído em acetona e isolado de Rutaceae *Dictamnus dasycarpus* Turcz foi avaliada sobre o 3º e 5º instares de *Mythimna separata* Walker (Lepidoptera: Noctuidae). As lagartas foram alimentadas com folhas de trigo tratadas com o referido limonoide. Os autores observaram atividade antialimentar acima de 60,0% nas concentrações de 5,0, 10,0 e 20,0 mg/mL de fraxinelona. Observaram ainda, atraso no período de eclosão de ovos, inibição do crescimento larval em mais de 30%, pupal e emergência. Além disso, a fraxinelona causou deformação nas pupas (LU et al., 2013).

#### **2.4.3. Ação dos esteróis sobre a fase larval de insetos**

Os esteróis de origem vegetal são chamados de fitosteróis e considerados compostos fitoquímicos, ou seja, substâncias químicas biologicamente ativas encontradas nas plantas. Já foram identificados mais de 200 tipos diferentes de fitosteróis nas espécies vegetais, sendo os mais abundantes o  $\beta$ -sitosterol (24- $\alpha$ -etilcolesterol), o campesterol (24- $\alpha$ -metilcolesterol) e o estigmasterol ( $\Delta^{22}$ , 24- $\alpha$ -etilcolesterol) (ALMEIDA, 2009).

Os esteróis são produzidos a partir de precursores de terpenóides, como colesterol, vitamina D e saponinas (compostos esteroidais) e podem atuar como hormônios, feromônios ou elementos de dissuasão de insetos (TRUMAN e RIDDIFORD, 2002; SPINDLER et al., 2001).

Céspedes et al. (2005) avaliaram os efeitos dos compostos peniocerol, macdougallin e chichipegenin, derivados de esteróis isolados de extrato metanólico das raízes e parte aérea do cacto *Myrtillocactus geometrizans* (Mart. Ex Pfeiff.) que foi adicionado a dieta artificial de *S. frugiperda* e o bicho-do-pão *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae). Estes compostos nas concentrações de 5 a 300 ppm causaram a morte de *S. frugiperda* e de 5 a 50 ppm regularam o crescimento deste inseto. Os extratos metanólicos desse cacto causou a morte de 100,0 das lagartas nas concentrações de 100 e 200 ppm. A emergência em ambos os insetos foi drasticamente diminuída. Para ambos os insetos, as pupas e os poucos adultos emergidos foi constatada muitas deformações. Em todos os tratamentos com larvas de *T. molitor*, a pupação foi encurtada.

Abaza et al. (2015) estudaram a atividade anti-alimentar do extrato etérico das folhas de inhame *C. esculenta* L. Schott que continham os esteróis  $\beta$ -sitosterol I e Stigmasterol II sobre lagartas de 4º instar de *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lepdoptera: Noctuidae). Os autores observaram que a maior atividade anti-alimentar ocorreu no experimento sem chance de escolha, e que a atividade anti-alimentar aumentou à medida que a concentração do extrato também aumentou.

Lagartas de 4º instar de *S. littoralis* foram alimentadas com folhas de mamona tratadas com os esteróis  $\beta$ -sitosterol I e Stigmasterol II. Estes esteróis foram produzidos a partir do extrato de éter de petróleo de folhas de inhame *Colocasia esculenta* (L.) Schott. Os esteróis tiveram atividade inseticida contra a lagarta e regularam o seu crescimento e (ABAZA e GABER, 2017).

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

Os experimentos biológicos foram realizados no Laboratório de Entomologia da Universidade Estadual de Montes Claros - UNIMONTES, Campus de Janaúba, MG. Utilizou-se para os testes biológicos lagartas de *Spodoptera frugiperda* com cinco dias de idade criadas sob condições controladas ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , UR de  $70 \pm 10\%$  e fotoperíodo de 12 horas) com dieta artificial, conforme metodologia proposta por Greene et al. (1976).

As extrações dos componentes das folhas de *Calotropis procera*, algodão-de-seda, foram realizadas no Laboratório de Produtos Naturais do Departamento de Química (DQI) da Universidade Federal de Lavras - UFLA.

#### **3.1 Coleta do material vegetal**

Folhas de algodão-de-seda foram coletadas na área experimental da UNIMONTES, Campus de Janaúba, MG ( $15^\circ49'56''$  de latitude Sul,  $43^\circ16'20''$  de longitude Oeste) no dia 20 de junho de 2017, nas primeiras horas do dia. No momento da coleta foi dada preferência pelas folhas novas, mais totalmente desenvolvidas e sem danos provocados por doenças ou insetos-praga. O material fresco coletado (10,5 Kg de folhas) foi levado ao laboratório de Entomologia da UNIMONTES. As folhas foram colocadas em sacos de papel pardo (5,0 Kg) onde foram feitos orifícios circulares para permitir a circulação de ar e a perda de umidade. O material ensacado foi transferido para uma estufa de circulação forçada de ar, regulada para  $40^\circ\text{C}$ , onde permaneceu por 144 horas. Diariamente, foram retiradas amostras para pesagem e verificação do peso. Assim que atingiram o peso constante, as folhas foram trituradas em moinho de facas tipo Willey, com peneira de 18 mesh acoplada. O material triturado foi armazenado em sacos plásticos, de onde foi retirado o ar. Os sacos foram vedados e armazenados em freezer até a sua utilização.

#### **3.2 Preparação do extrato e frações de folhas de *Calotropis procera***

##### **3.2.1 Extrato metanólico bruto**

Para preparo desse extrato, 1.000g do material vegetal obtido pela trituração das folhas de algodão-de-seda secas foi subdividido em quatro frascos do tipo âmbar (250g). Em cada frasco, sobre o material vegetal, foi adicionado álcool metílico (MeOH) (500 mL), que foi agitado manualmente e deixado em repouso por 24 horas. Transcorrido esse período, os extratos foram filtrados em um funil forrado com algodão hidrófilo. O filtrado obtido foi reservado em

frasco tipo âmbar (1.000 mL). Ao material vegetal remanescente no frasco âmbar foi adicionado mais MeOH (400 mL), que novamente foi agitado manualmente e mantido em repouso por mais 24 horas. O procedimento de adição de MeOH, repouso e filtração foi repetido durante 7 dias, o que totalizou oito extrações.

Todos os filtrados obtidos foram colocados em balões de vidro (250 mL) e levados a um evaporador rotatório acoplado a uma trompa d'água, para a completa evaporação do solvente. Após evaporação do solvente, os balões foram colocados, por 20 minutos, em um evaporador rotatório com bomba de diafragma, para a completa eliminação da água residual do material. Desta forma, obteve-se o extrato metanólico bruto (Figura 1). Esse extrato foi dividido em duas subamostras de mesma massa. Uma delas utilizada nos testes biológicos e a outra foi submetida às lavagens sucessivas com solventes de diferentes polaridades. A primeira lavagem foi feita com o hexano (Hex), em seguida com o acetato de etila (AcOEt) e, por último, novamente foi usado o álcool metílico (MeOH), obtendo-se assim as respectivas frações (Figura 1).

### **3.2.2 Fração hexânica**

À subamostra que foi reservada para dar prosseguimento às extrações, foi adicionado o solvente hexano (Hex) (800 mL), que foi utilizado em quatro lavagens (200 mL de cada vez). A cada lavagem (200 mL) o material foi agitado em agitador magnético por 10 minutos e, ao final deste processo, obteve-se uma emulsão, que foi filtrada com um funil forrado com algodão hidrófilo. O filtrado colocado em balão volumétrico (250 mL) foi levado para um evaporador rotatório acoplado à uma trompa d'água, para a completa eliminação do solvente e depois da água residual. O material obtido após esses procedimentos correspondeu à fração hexânica. O material que permaneceu insolúvel ao hexano foi utilizado para dar prosseguimento às extrações, usando o solvente acetato de etila (Figura 1).

### **3.2.3 Fração acetato de etila**

O resíduo insolúvel ao hexano foi colocado em um béquer (2 L) sobre o qual foi adicionado o solvente acetato de etila (AcOEt) (800 mL), também dividido em quatro lavagens (200 mL). A cada lavagem o material foi agitado em agitador magnético por 10 minutos e os filtrados obtidos foram colocados em balão (250 mL). O filtrado obtido foi concentrado em evaporador rotatório acoplado à uma trompa d'água para eliminação do AcOEt e, logo após, levado a um evaporador para a total retirada da água. Após a realização desses procedimentos obteve-se a fração acetato de etila (Figura 1).

### 3.2.4 Fração metanólica

O resíduo insolúvel em acetato de etila foi colocado em um béquer (2 L) e sobre ele foi adicionado álcool metílico (MeOH) (800 mL), dividido em quatro lavagens (200 mL cada). A cada lavagem o material foi agitado em agitador magnético durante 10 minutos e os filtrados obtidos foram colocados em balão (250 mL). O filtrado foi concentrado em um evaporador rotatório acoplado à uma trompa d'água para eliminação solvente e, posteriormente, em um outro evaporador para eliminação da água residual. Após a realização desses procedimentos obteve-se a fração metanólica (Figura 1).

Utilizando-se os procedimentos descritos acima obteve-se o extrato metanólico bruto (MeOH bruto) e as frações hexânica (Hex), acetato de etila (AcOEt) e metanólica (MeOH). A fração AcOEt foi avaliada somente nos bioensaios com folhas de milho. O motivo para que isso acontecesse com a fração AcOEt foi o pequeno volume obtido, que não possibilitou a realização dos experimentos em dieta artificial.

Para determinar as porcentagens de rendimento do extrato metanólico bruto das folhas de *C. procerca* e suas frações, utilizou-se as fórmulas:

% Rendimento total das folhas secas = (Peso massa seca total (g)/peso massa verde total (g)) x 100

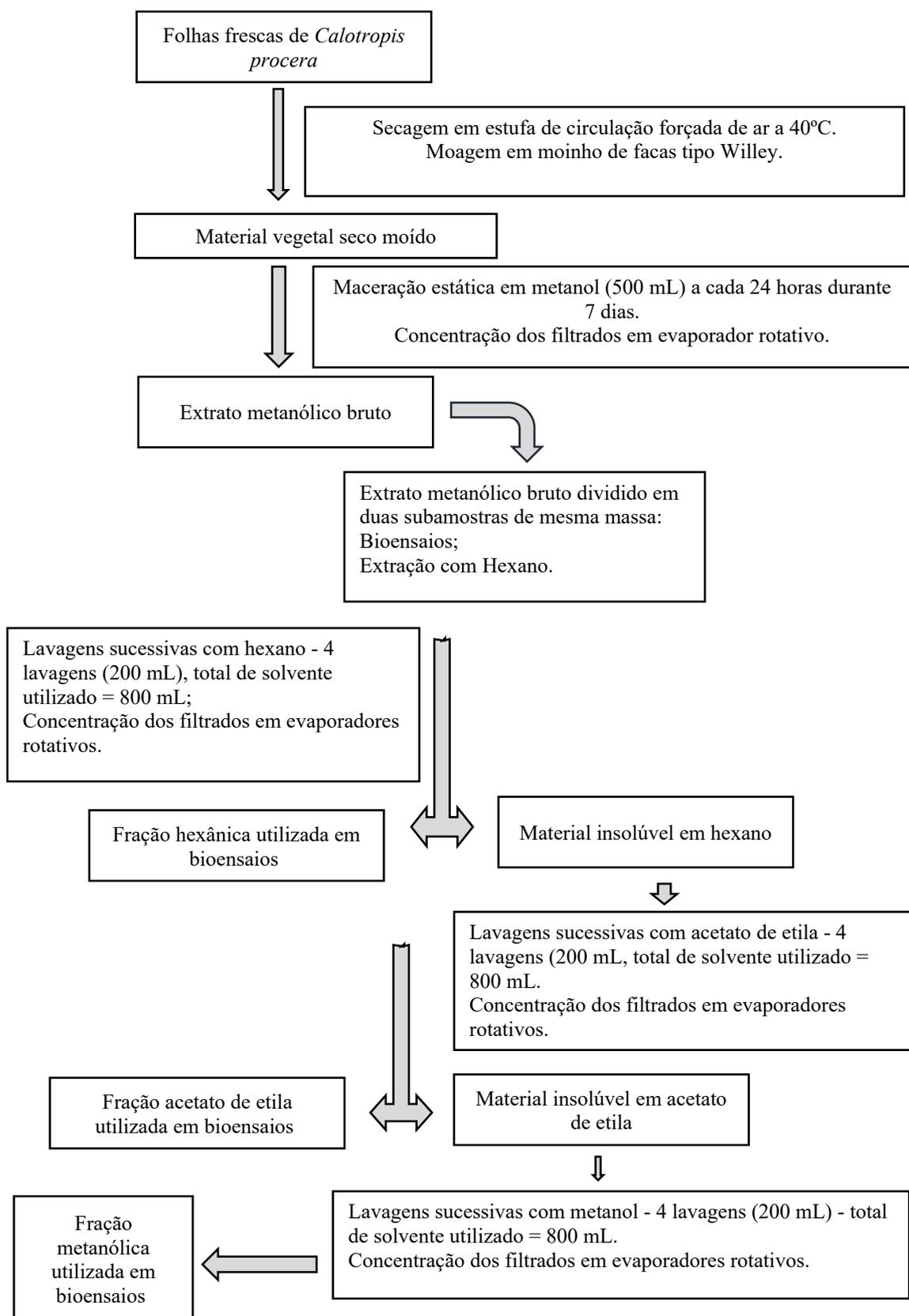
% Rendimento extrato MeOH bruto total = (Peso total do extrato MeOH bruto obtido/1000g) x 100

% Rendimento extrato MeOH bruto = (50% do peso do MeOH bruto obtido/peso total do MeOH bruto obtido) x 100

% Rendimento fração Hex = (peso da fração Hex obtida/50% do peso do MeOH bruto obtido) x 100

% Rendimento fração AcEOt = (peso fração AcEOt obtida/50% do peso do MeOH bruto obtido) x 100

% Rendimento fração MeOH = (peso fração MeOH obtida/50% do peso do MeOH bruto obtido) x 100.



**Figura 1.** Fluxograma de produção do extrato metanólico bruto e suas frações hexânica, acetado de etila e metanólica de folhas de *Calotropis procera*.

### **3.3 Ação de extrato e frações de *Calotropis procera* à *Spodoptera frugiperda***

#### **3.3.1 Aplicados sobre folhas de milho**

##### **3.3.1.1 Determinação da concentração letal (CL) do extrato metanólico bruto de *Calotropis procera* à *Spodoptera frugiperda***

O extrato MeOH bruto, obtido conforme descrito no item 3.2.1. foi utilizado para preparar um extrato padrão (10%). Para isso pesou-se, em um balão volumétrico (25mL), 2,5g do extrato MeOH bruto e, sobre ele, adicionou-se uma solução de Tween 80 (0,1%), até atingir o volume final do balão volumétrico (25mL). Para dissolver o extrato na solução Tween, este foi levado a um agitador magnético e, posteriormente, a um aparelho de ultrassom, permanecendo, aproximadamente, 30 minutos em cada um dos aparelhos. A partir desse extrato padrão foram preparadas as concentrações 0,14%, 0,25%, 0,45%, 0,79%, 1,42%, 2,52% e 4,50%, obtidas a partir da diluição com a solução de Tween 80 (0,1%). As concentrações utilizadas foram definidas através de interpolação logarítmica.

Sementes de milho de variedade crioula foram semeadas em vasos plásticos (18L). Foi utilizado como substrato de cultivo solo mais esterco (1:1). Em cada vaso foram cultivadas três plantas, que diariamente foram irrigadas. As plantas receberam adubação suplementar com NPK e não foi realizado nenhum procedimento para o controle de insetos-praga.

Folhas novas do cartucho do milho foram coletadas, levadas ao Laboratório de Entomologia, triadas quanto a presença de danos provocados por doença e ataque de insetos-praga e cortadas em fragmentos (2,0 cm x 2,0 cm). Os fragmentos foram imersos durante 2,0 segundos no extrato. Todas as concentrações do extrato MeOH avaliadas foram agitadas em Vortex, antes de serem usadas no tratamento dos fragmentos de folhas milho. Como testemunhas do experimento foram utilizados fragmentos de folhas imersos em água destilada e em solução de Tween 80 (0,1%). Os fragmentos de folhas, separados por tratamento, foram dispostos sobre uma mesa forrada com papel toalha, para a evaporação e secagem dos extratos.

Os fragmentos de folhas de milho tratados foram individualizados em tubos de vidro com fundo chato (8,5 cm x 2,5 cm). Cada tubo continha em seu fundo uma fina camada de meio ágar-água. O meio ágar-água serviu para fixar o fragmento de folha de milho, impedir que ele enrolasse e manter turgida por mais tempo. Sobre cada folha de milho foi transferida uma lagarta de *S. frugiperda*, com 5 dias de idade. Os tubos de vidro foram tamponados com algodão hidrófilo. As lagartas receberam folhas de milho tratadas uma única vez e, após três dias, foram substituídas por outras não tratadas.

Diariamente, durante cinco dias, foi observada a mortalidade das lagartas.

O experimento foi realizado em delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC), com sete tratamentos (concentrações do extrato metanólico bruto) e duas testemunhas (água destilada e Tween 80 (0,1%)). Cada tratamento constou de 50 repetições, cada uma contendo uma lagarta de *S. frugiperda*.

Os resultados foram submetidos à análise de regressão por meio do programa estatístico Sisvar, versão 5.3 (FERREIRA, 2010).

### **3.3.1.2 Toxicidade do extrato metanólico bruto de folhas de *Calotropis procera* e de suas frações a *Spodoptera frugiperda***

O extrato MeOH bruto, e as frações Hex, AcOEt e MeOH, obtidas conforme descrito no item 3.2, foram usados para preparar soluções padrões a 10%, conforme item 3.3.1.1. O extrato MeOH bruto e as suas frações foram pesados (2,5g) em balões volumétricos (25 mL), para a obtenção dos padrões. Em cada um dos balões, sobre os materiais, foi adicionada a solução de Tween 80 (0,1%) até completar o volume final (25mL). Os balões contendo as emulsões foram agitados em agitador magnético e, em seguida, no aparelho de ultrassom, por cerca de 30 minutos até a completa dissolução dos materiais. Cada um dos padrões foi preparado nas concentrações de 0,54% e 2,08%, a partir da adição da solução de Tween 80 (0,1%). Estas duas concentrações correspondem a concentração letal CL50,0% e CL90,0% do extrato metanólico bruto à lagartas de *S. frugiperda*, com cinco dias de idade. Devido ao reduzido volume obtido para a fração AcOEt, só foi possível avaliar a concentração 0,54% desta fração.

Folhas do cartucho de milho da variedade crioula foram coletadas, levadas ao laboratório e cortadas em fragmentos, conforme descrito no item 3.3.1.1. Os fragmentos de folhas foram imersos nas concentrações 0,54% e 2,08% do extrato metanólico bruto e das frações Hex, AcOEt e MeOH, por 2,0 segundos. Como testemunhas, os fragmentos de folhas foram imersos em água destilada e em solução de Tween 80 (0,1%). Após a imersão, os fragmentos de folhas tratados foram dispostos sobre uma mesa forrada com papel toalha, transferidos para tubos de vidro, contendo o meio ágar-água no fundo e tamponados com algodão hidrófilo, conforme descrito no item 3.3.1.1. Sobre o fragmento de folha de milho foi transferida uma lagarta de *S. frugiperda*, com cinco dias de idade. As lagartas se alimentaram das folhas tratadas durante três dias. A partir desse período, as folhas de milho oferecidas as lagartas não foram tratadas com os extratos. Foi avaliada a porcentagem de mortalidade larval.

O experimento foi realizado em delineamento experimental inteiramente casualizado, com seis tratamentos e duas testemunhas (água destilada e solução Tween 80 (0,1%)). Cada tratamento constou de 50 repetições, contendo uma lagarta de *S. frugiperda* com cinco dias de idade.

Foram realizados testes de homogeneidade das variâncias e normalidade dos erros, as variáveis que não se ajustaram a estas exigências, foram submetidos à análise Kruskal-Wallis e as médias comparadas pelo teste de Simes-Hochberg, a 5% de probabilidade. Foi utilizado o Programa Estatístico Action Stat versão 3.5 (Equipe Estatcamp, 2014).

### **3.3.2 Aplicados sobre dieta artificial**

#### **3.3.2.1 Determinação da concentração letal (CL) do extrato metanólico bruto (MeOH bruto) de folhas de *Calotropis procera* à *Spodoptera frugiperda***

O extrato MeOH bruto de *C. procera*, obtido conforme descrito no item 3.2.1, foi utilizado para preparar um extrato padrão (10%). A partir desse extrato padrão foram preparadas as concentrações 0,14%, 0,25%, 0,45%, 0,79%, 1,42%, 2,52% e 4,50%, obtidas a partir da diluição com a solução de Tween 80 (0,1%). Para o preparo dos extratos seguiu-se os mesmos procedimentos descritos no item 3.3.1.1. Os extratos foram mantidos em geladeira por um dia, até serem utilizados no experimento. O extrato de MeOH bruto foi adicionado a dieta artificial de Greene et al. (1976) antes ser oferecida como alimento as lagartas de *S. frugiperda*, com cinco dias de idade. A dieta artificial foi preparada e, em Câmara de Fluxo Laminar foi vertida em placas de Petri (150 x 20mm). Assim que a dieta endureceu, com o auxílio de um vazador foram retirados discos de 1,0 cm de diâmetro por 0,6 cm de altura, que foram individualizados em novas placas Petri (60 x 15mm). Sobre cada um dos discos foi pipetado 0,1 mL de uma das diferentes concentrações do extrato MeOH bruto a ser avaliada. Sobre as dietas testemunhas foi pipetado 0,1 mL de água destilada ou da solução de Tween. Em cada placa de Petri, sobre o disco de dieta tratado ou não foi transferida uma lagarta de *S. frugiperda*, com cinco dias de idade. As lagartas permaneceram se alimentando das dietas tratadas ou não (testemunhas) durante cinco dias, quando então, foi contabilizada a porcentagem de lagartas mortas em cada tratamento.

O experimento foi realizado em delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC), com sete tratamentos (concentrações do extrato MeOH bruto) e duas testemunhas (água destilada e Tween 80 (0,1%)). Cada tratamento constou de 50 repetições, cada uma contendo uma lagarta de *S. frugiperda*, com cinco dias de idade.

Os resultados foram submetidos à análise de regressão por meio do Programa Estatístico Sisvar, versão 5.3 (FERREIRA, 2010).

### 3.3.2.2 Toxicidade do extrato metanólico bruto de folhas de *Calotropis procera* e de suas frações a *Spodoptera frugiperda*.

Todos os procedimentos adotados quanto ao preparo dos extratos padrões de MeOH bruto, Hex e MeOH a 10% foram semelhantes aos descritos no item 3.2.1.2. A fração AcOEt não foi avaliada neste experimento, devido ao pequeno volume obtido, que foi insuficiente para a preparação do padrão. A partir dos padrões foram preparadas as concentrações de 1,15% (CL40) e 2,14% (CL70) de cada um dos solventes que foram obtidas a partir da adição da solução de Tween 80 (0,1%). As soluções de cada um dos solventes (concentrações) foram mantidas em geladeira, por um dia, até serem utilizadas no experimento

Os procedimentos para preparo da dieta artificial, obtenção dos discos com vazador e tratamento destes com as soluções foram feitos de forma semelhante aos descritos no item 3.3.2.1. A diferença entre este experimento e aquele descrito no item 3.3.2.1 foi que os discos de dieta artificial, neste ensaio, foram individualizados em tubos de vidro de fundo chato (8,5 cm x 2,5 cm). No experimento descrito no item 3.3.2.1 a dieta foi individualizada em placas plásticas. Sobre cada disco foi pipetado 0,1 mL de cada emulsão e após 24 h foi transferida uma lagarta de *S. frugiperda*, com cinco dias de idade. Os tubos de vidro foram tamponados com algodão hidrófilo.

As lagartas de *S. frugiperda* se alimentaram da dieta tratada durante cinco dias, transcorrido esse período, as sobreviventes, foram transferidas para novos tubos de vidro contendo a dieta de Greene et al. (1976), sem adição de extratos. As lagartas foram mantidas nestas condições até a pupação. Vinte e quatro horas após a formação das pupas, estas foram sexadas, pesadas e individualizadas em novos tubos de vidro, para a emergência dos adultos. Os adultos emergidos foram utilizados para formar casais, separados por tratamentos. Para isto, casais recém-emergidos de *S. frugiperda* foram individualizados em gaiolas cilíndricas de PVC (10 cm de diâmetro x 20 cm de altura), revestidas internamente com papel sulfite. O tubo de PVC foi colocado sobre uma placa de Petri (100 x 15mm) e a extremidade superior da gaiola foi vedada com tecido *voil* preso com elástico. Os adultos foram alimentados com solução de mel a 10%. Diariamente, conforme a ocorrência de posturas, estas eram retiradas das gaiolas e colocadas em placas de Petri (60 x 15mm) forradas com papel filtro umedecido. Após a eclosão, as lagartas foram contadas.

Foram avaliadas a porcentagem de mortalidade das fases larval e pupal, a duração das fases larval e pupal de fêmeas e machos, o peso de pupas fêmeas e machos, a porcentagem de deformação de pupas e adultos, a viabilidade larva-adulto, o período de pré-oviposição, o período de oviposição, o número total de ovos, porcentagem de ovos viáveis e o número de posturas por fêmea. Para a obtenção do número total de ovos, foi realizada a contagem dos ovos

por postura realizada pelo adulto. A porcentagem de ovos viáveis foi obtida através da diferença entre o número total de ovos e o número de lagartas eclodidas.

O experimento foi realizado em delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC), com seis tratamentos (concentrações do extrato MeOH bruto e suas frações) e duas testemunhas (água destilada e Tween). Cada tratamento constou de 50 repetições, contendo uma lagarta de *S. frugiperda*. Para avaliar o período de pré-oviposição, período de oviposição e o número de ovos viáveis, formaram-se casais, conforme o número de insetos disponíveis em cada tratamento e testemunhas, sendo 15 o número máximo de casais por tratamento.

Foram realizados testes de homogeneidade das variâncias e normalidade dos erros para todas as variáveis. As variáveis que não atenderam as pressuposições, foram submetidas a análise de Kruskal-Wallis e as médias comparadas pelo teste de Simes-Hochberg, a 5% de probabilidade. O Programa Estatístico utilizado foi o Action Stat, versão 3.5 (Equipe Estatcamp, 2014).

As variáveis que atenderam as pressuposições do teste de homogeneidade das variâncias e normalidade dos erros, foram submetidas a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade, por meio do Programa Estatístico Genes (CRUZ, 2013).

#### 4. RESULTADOS

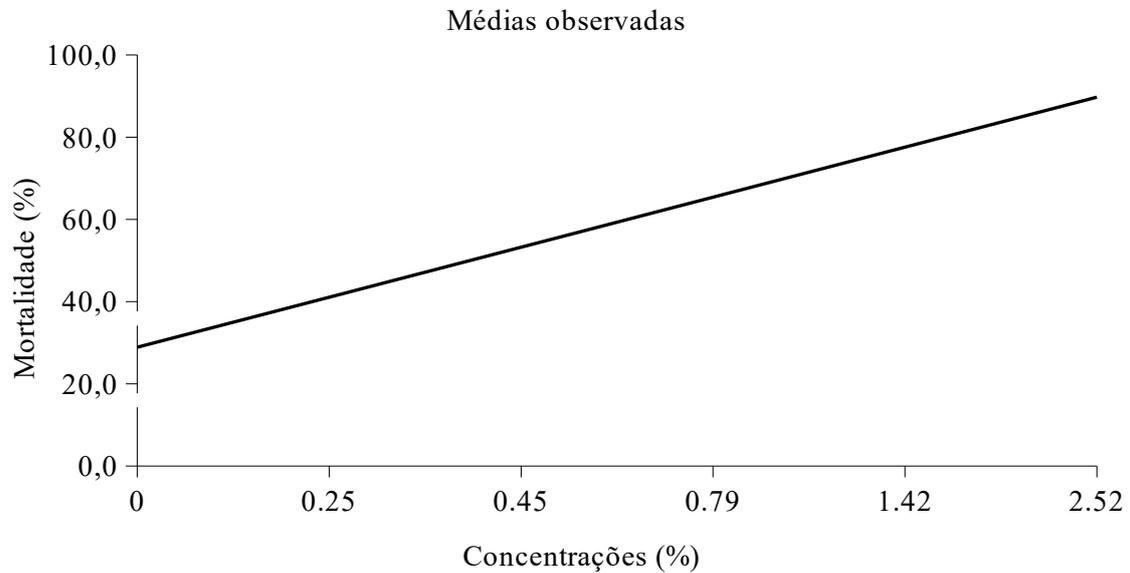
A secagem das folhas frescas de *Calotropis procera* (10.500 g) propiciou a obtenção de 1.134 g de material seco que correspondeu a 10,8% da massa do material fresco (Tabela 1). A utilização de 1.000 g do material vegetal seco das folhas de *C. procera* resultou, após o processo de maceração estática com o solvente metanol, um rendimento de 76,5 g (7,7%) de extrato MeOH bruto. Para as frações, usando como base o valor de 38,3g do extrato MeOH bruto, o maior rendimento foi observado para a fração MeOH (36,5%), seguida pela fração Hex (34,7%) e finalmente pela fração AcOEt (2,4%).

**Tabela 1.** Rendimentos de material seco do extrato metanólico (MeOH) bruto e das frações hexânica (Hex), acetato de etila (AcOEt) e metanólica (MeOH), obtidos a partir de folhas de *Calotropis procera*.

Material	Base para cálculo dos rendimentos (g)	Rendimento	
		Massa (g)	Porcentagem (%)*
Folhas secas moídas	10.500,0	1.134,0	10,8
Extrato MeOH bruto total	1.000,0	76,5	7,7
Extrato MeOH bruto	76,5	38,3	50,0
Fração Hex	38,3	13,3	34,7
Fração AcOEt	38,3	0,9	2,4
Fração MeOH	38,3	14,0	36,5

\*A porcentagem de rendimento = (Massa (g)/base do cálculo de rendimento (g)) x 100.

A análise de regressão ajustou um modelo linear para o efeito tóxico do extrato MeOH bruto de folhas de *C. procera* à *S. frugiperda*, após sua ingestão juntamente com folhas de milho tratadas (Figura 2). A mortalidade das lagartas foi proporcional ao aumento da concentração do extrato ingerida pelas lagartas. As maiores mortalidades, 74,0% e 94,0%, foram observadas nas concentrações 1,4% e 2,5%, respectivamente.



**Figura 2.** Mortalidade larval de *Spodoptera frugiperda* alimentadas com folhas de milho tratadas com diferentes concentrações do extrato metanólico bruto de folhas de *Calotropis procera*.

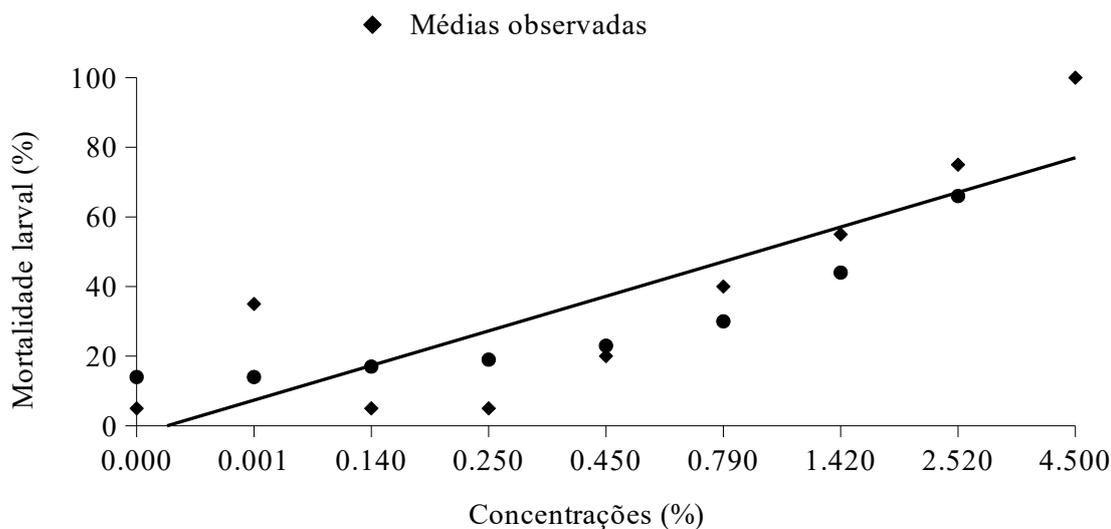
As concentrações letais, CL50 e CL90, estimadas para o extrato MeOH bruto às lagartas de *S. frugiperda* foram de 0,54% e 2,08%, respectivamente (Figura 2). A toxicidade do extrato MeOH bruto e das suas frações foi comprovada para *S. frugiperda* (Tabela 2). O efeito tóxico do extrato e frações foi constatado tanto na menor concentração (0,54%) quanto na maior (2,08%) e variaram de 46,0% a 100,0% de mortalidade.

**Tabela 2.** Mortalidade larval (%) de *Spodoptera frugiperda* após a ingestão de folhas de milho tratadas com diferentes concentrações do extrato metanólico bruto (MeOH) de folhas de *Calotropis procera* e de suas frações hexânica (Hex), acetato de etila (AcEOt) e metanólica (MeOH).

Tratamento	Mortalidade larval <sup>1</sup>
Água	20,0 d
Tween	16,0 d
MeOH bruto (0,54%)	100,0 a
MeOH bruto (2,08%)	100,0 a
Hex (0,54%)	80,0 ab
Hex (2,08%)	68,0 bc
AcEOt (0,54%)	46,0 c
MeOH (0,54%)	46,0 c
MeOH (2,08%)	70,0 b

<sup>1</sup> Médias seguidas de mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Simes-Hochberg, a 5% de probabilidade.

A análise de regressão ajustou um modelo linear para o efeito tóxico do extrato MeOH bruto de folhas de *C. procera* à *S. frugiperda*, quando este foi adicionado a dieta artificial do inseto (Figura 3). O aumento no percentual de morte de *S. frugiperda* foi dependente do aumento na concentração de extrato ingerido pelas lagartas junto com a dieta artificial. A mortalidade de *S. frugiperda* atingiu os maiores valores quando as lagartas ingeriram dieta contendo as concentrações de 2,52% e 4,50% do extrato MeOH bruto, o que resultou na morte de 75,0% e 100,0% dos insetos, respectivamente. As concentrações letais CL50 e CL90 estimadas para o extrato MeOH bruto às lagartas de *S. frugiperda* foram de 2,01% e 4,76%, respectivamente.



**Figura 3.** Mortalidade larval de *Spodoptera frugiperda* alimentadas com dieta artificial tratadas com diferentes concentrações de extrato metanólico bruto de folhas de *Calotropis procera*.

A toxicidade do extrato MeOH bruto de folhas de *C. procera* e de suas frações também foi constatada para a mortalidade larval de *S. frugiperda* após as lagartas ingerirem a dieta artificial tratada ( $P < 0,01$ ) (Tabela 3). A ingestão de dieta pelas lagartas contendo o extrato MeOH bruto (2,14%) causou a morte de 50,0% dos insetos, valor superior ao observado para as testemunhas (água e Tween) e para o extrato MeOH bruto e fração MeOH à 1,15%. O extrato Hex (1,15% e 2,14%) e a fração MeOH (2,14%) causaram mortalidades intermediárias aos demais tratamentos.

Efeito nocivo dos extratos de folhas de *C. procera* na duração larval de *S. frugiperda* também foram observados ( $P < 0,01$ ) (Tabela 3). Tanto o extrato MeOH bruto quanto as suas frações, independente da concentração utilizada, diferiram estatisticamente das testemunhas. O extrato e suas frações prolongaram o período larval em seis a sete dias, em relação as testemunhas.

A fração MeOH na concentração 2,14% resultou no maior percentual de pupas mortas (25,71%), diferindo estatisticamente das testemunhas, do extrato MeOH bruto (2,14) e da fração Hex (1,15%) ( $P < 0,01$ ) (Tabela 3). A porcentagem de pupas mortas obtidas no extrato MeOH bruto (1,15%) e nas frações Hex (2,14%) e MeOH (1,15%) foram intermediárias entre a fração MeOH à 2,14% e as testemunhas.

**Tabela 3.** Mortalidade da fase larval e pupal (%), duração da fase larval e pupal de machos e fêmeas (dias) de *Spodoptera frugiperda* após a ingestão pelas lagartas de dieta artificial tratada com diferentes concentrações do extrato metanólico bruto (MeOH) de folhas de *Calotropis procera* e de suas frações, hexânica (Hex) e metanólica (MeOH).

Tratamento	Larva		Pupa		
	Mortalidade <sup>1</sup>	Duração <sup>1</sup>	Mortalidade <sup>1</sup>	Duração	
				Macho <sup>1</sup>	Fêmea <sup>1</sup>
Água	20,0 b	15,5 d	0,0 b	8,8 c	9,0 b
Tween	22,0 b	15,6 d	0,0 b	8,2 c	8,4 b
MeOH bruto (1,15%)	22,0 b	22,1 a	14,6 ab	12,8 ab	11,8 a
MeOH bruto (2,14%)	50,0 a	22,4 a	0,0 b	13,2 ab	12,0 a
Hex (1,15%)	24,0 ab	21,3 bc	2,6 b	13,0 ab	12,2 a
Hex (2,14%)	38,0 ab	21,9 abc	12,9 ab	13,9 a	12,4 a
MeOH (1,15%)	18,0 b	21,2 c	14,6 ab	12,5 b	11,1 a
MeOH (2,14)	30,0 ab	21,9 abc	25,7 a	12,8 ab	11,4 a

<sup>1</sup>Médias seguidas de mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Simes-Hochberg, a 5% de probabilidade.

Diferenças significativas também foram observadas para a duração de pupas fêmea e macho de *S. frugiperda* ( $P < 0,01$ ) (Tabela 3). O extrato MeOH bruto e suas frações, tanto na menor concentração quanto na maior, diferiram das testemunhas. Essa diferença foi constatada pelo aumento em três a quatro dias na duração das pupas fêmea e em quatro a cinco dias para os machos, em relação as testemunhas.

A ingestão, pelas lagartas de *S. frugiperda*, de dieta artificial contendo extrato MeOH e suas frações afetou o peso das pupas machos ( $F = 2,80$ ;  $P < 0,01$ ), mais não o de fêmeas ( $F = 0,93$ ;  $P < 0,05$ ) (Tabela 4). O efeito nocivo observado sobre as pupas macho foi o de redução no peso, que foi constatado para nas duas concentrações do extrato MeOH bruto e nas maiores concentrações das frações Hex e MeOH, em relação a testemunha água e as frações Hex e MeOH à 1,15%.

Pupas e adultos de *S. frugiperda* foram afetadas pela ingestão dos extratos de folhas de *C. procera* pelas lagartas (Tabela 4). O extrato MeOH bruto à 2,14% foi o único a causar deformação nas pupas, em relação as testemunhas e demais concentrações avaliadas ( $P < 0,01$ ). A deformação de adultos de *S. frugiperda* foi afetada pela fração MeOH à 2,14%, em relação as testemunhas e a fração MeOH bruto (1,15%) ( $P < 0,01$ ). O extrato MeOH bruto (2,14%), as frações Hex (1,15% e 2,14%) e MeOH à 1,15% causaram deformação de adultos semelhante a fração MeOH à 2,14%. O principal defeito observado nos insetos adultos foi a má formação nas asas.

A viabilidade larva-adulto foi afetada pela ingestão do extrato MeOH bruto pelas lagartas e de suas frações na maior concentração 2,14%, em relação às testemunhas ( $P < 0,01$ ) (Tabela 4). A ingestão do extrato MeOH bruto e as suas frações à 1,15% causou viabilidade larva-adulto intermediária às testemunhas e ao extrato e frações a 2,14%.

**Tabela 4.** Peso de pupas machos e fêmeas (mg), deformação de pupas e adultos (%) viabilidade larva-adulto (%) de *Spodoptera frugiperda* após a ingestão pelas lagartas de dieta artificial tratada com diferentes concentrações do extrato metanólico bruto (MeOH) de folhas de *Calotropis procera* e de suas frações, hexânica (Hex) e metanólica (MeOH).

Tratamento	Pupa			Adulto	
	Peso macho <sup>2</sup>	Peso fêmea <sup>2</sup>	Def. <sup>1</sup>	Def. <sup>1</sup>	Viabilidade larva - adulto <sup>1</sup>
Água	270,0 b	247,0 a	0,0 a	0,0 c	80,0 d
Tween	251,2 a	247,2 a	0,0 a	7,6 bc	72,0 cd
MeOH bruto (1,15%)	248,1 a	238,3 a	0,0 a	2,9 c	66,0 cd
MeOH bruto (2,14%)	255,6 a	240,4 a	16,0 b	33,3 ab	28,0 a
Hex (1,15%)	274,1 b	253,6 a	0,0 a	21,0 abc	60,0 bcd
Hex (2,14%)	255,7 a	242,1 a	0,0 a	18,5 abc	44,0 abc
MeOH (1,15%)	264,8 b	253,5 a	2,0 a	14,7 abc	58,0 bcd
MeOH (2,14)	246,5 a	244,5 a	0,0 a	38,4 a	32,0 ab
CV (%)	10,0	9,9	-	-	

<sup>1</sup>Médias seguidas de mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Simes-Hochberg a 5% de probabilidade.

<sup>2</sup>Médias seguidas de mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

O período de pré-oviposição e oviposição, o número total de posturas e de ovos e a porcentagem de ovos viáveis de *S. frugiperda* foram afetados pela ingestão das lagartas de extratos de folhas de *C. procera* (Tabela 5). O período de pré-oviposição das fêmeas foi alongado após as lagartas ingerirem dieta artificial contendo o extrato MeOH bruto (1,15%) e fração Hex à 1,15%, em relação às testemunhas. Estes levaram aproximadamente quatro dias para começar a fazer posturas ( $P < 0,01$ ).

Todos os extratos e frações tanto na menor (1,15%) quanto na maior concentração (2,14%) diferiram das testemunhas, mas não entre si, em relação ao período de oviposição ( $P < 0,01$ ), total de ovos ( $P < 0,01$ ) e número total de posturas ( $P < 0,01$ ) (Tabela 5). O extrato metanólico bruto (1,15 e 2,14%) a fração hexano (1,15%) e a fração metanólica (2,14%)

apresentaram as maiores porcentagens de ovos inviáveis. Todos estes diferiram das testemunhas.

**Tabela 5.** Período de pré-oviposição e oviposição (dias), e número total de posturas, número total de ovos e porcentagem de ovos viáveis (%) de *Spodoptera frugiperda* após a ingestão de dieta artificial tratada com diferentes concentrações do extrato metanólico bruto (MeOH) de folhas de *Calotropis procera* e de suas frações, hexânica (Hex) e metanólica (MeOH).

Tratamento	Período de pré-oviposição	Período de oviposição	Número total de posturas	Número total de ovos	Ovos viáveis (%)
Água	3,0 bc	6,3 c	9,7 b	1.384,2 b	98,7 bc
Tween	2,8 c	6,3 c	9,6 b	1.374,3 b	98,9 c
MeOH bruto (1,15%)	4,1 a	3,3 ab	3,1 a	628,9 a	93,9 a
MeOH bruto (2,14%)	4,0 ab	3,1 ab	3,3 a	475,6 a	94,7 a
Hex (1,15%)	4,3 a	3,3 ab	3,3 a	490,5 a	95,6 a
Hex (2,14%)	3,7 abc	2,7 a	2,7 a	459,7 a	96,2 ab
MeOH (1,15%)	3,3 abc	3,4 b	3,3 a	466,6 a	96,8 abc
MeOH (2,14)	3,5 abc	3,2 ab	3,0 a	474,7 a	93,2 a

Médias seguidas de mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Simes-Hochberg, a 5% de probabilidade.

## 5. DISCUSSÃO

Neste trabalho, a utilização do solvente metanol na extração dos compostos bioativos presentes nas folhas de *Calotropis procera*, proporcionou a maior porcentagem de rendimento, quando avaliado na forma de extrato MeOH bruto. Para os solventes hexano e acetato de etila as porcentagens de rendimento foram, em ordem decrescentes, menores, respectivamente. Akindele et al. (2017) utilizaram o solvente etanol para obter extrato das folhas de algodão-de-seda e obtiveram um rendimento de 9,13%. Khan et al. (2017) obtiveram um rendimento menor (3,8%), quando o extrato das folhas de *C. procera* foi obtido usando o solvente metanol.

No Brasil, a espécie vegetal *Calotropis procera* é encontrada em regiões áridas e semiáridas, com baixa pluviosidade (MEDEIROS et al., 2017). Nestas regiões, a precipitação pluviométrica oscila entre 150 mm a 1.000 mm (PARIHAR; BALEKAR, 2016). Assim, essa planta, para sobreviver ao período prolongado de seca, necessita armazenar muita água em suas estruturas vegetativas, principalmente nas folhas. O baixo rendimento obtido neste trabalho no material desidratado (10,80%), pode estar relacionado a alta concentração de água nas folhas. Já, o baixo rendimento obtido para a fração AcOEt (2,43%), em relação aos demais extratos avaliados, pode estar relacionado a sua polaridade intermediária e/ou baixa, quando comparado com o metanol. Entretanto, o valor obtido neste trabalho pode não ter sido tão baixo, já que Kumar et al. (2018) obtiveram um rendimento ainda menor (0,138%) para essa fração.

As altas mortalidades larvais de *S. frugiperda* observadas neste estudo podem estar relacionadas ao consumo pelo inseto de possíveis metabólitos secundários presentes nos extratos desta planta inseticida, como flavonoides (HENEIDAK et al., 2006; SRIVASTAVA et al., 2012), glicosídeos cardíacos (HANNA et al., 2002), triterpenos (BHUTANI et al., 1992) e esteróis (CHUNDATTU et al., 2016). Adicionalmente, os resultados obtidos neste trabalho indicam que a escolha do solvente orgânico, álcool metílico, para a realização dos processos de extração, foi acertada, já que possibilitou o arraste dos metabólitos secundários presente nas folhas de *C. procera* que foram tóxicos a *S. frugiperda*.

Outros autores também observaram elevadas mortalidades de lagartas de *S. frugiperda*, quando estas foram alimentadas com extratos de plantas com potencial inseticida. O extrato orgânico das folhas de nim, *Azadirachta indica* na concentração de 0,1% causou 100% de mortalidade das lagartas, além de afetar o seu desenvolvimento (MCAGNAN et al., 2012). Os extratos aquosos (10,0%) de macerados de guiné, *Petiveria alliacea* L., malva-silvestre, *Malva silvestris* L., carqueja, *Bacharis genistelloides* var. trimera (Less.) Baker, gengibre, *Zingiber officinale* L., capim-cidreira, *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf e arruda, *Ruta graveolens* L. causaram a morte de 98,0%, 90,0%, 80,0%, 70,0%, 60,0% e 58,0% de lagartas de *S. frugiperda*, respectivamente (TAGLIARI et al., 2010).

Neste trabalho foi constatado aumento na duração das fases larval e pupal. Outros autores também constataram esse aumento além de acréscimo na mortalidade larval, em outras espécies de insetos. Um exemplo desse fato a ser citado é o observado por Tandon, Mittal e Pant (2008), que avaliaram os óleos essenciais de *Vitex trifolia* L. e *V. agnus-castus* L. em lagartas de *Spilosoma obliqua* Walker (Lepidoptera: Arctiidae). Segundo Martinez e Van Emden (2001), a alteração da duração larval do inseto em relação à testemunha, se deve a inibição no crescimento deste após sua exposição aos extratos vegetais. Essa exposição afeta o crescimento do inseto, em função de uma menor eficiência na conversão do alimento ingerido e digerido a ser transformado em nutrientes para crescimento. Parra (2001) explicam que o alongamento da fase larval pode estar associado a um maior número de instares apresentados pelas lagartas, uma vez que, em condições desfavoráveis os insetos tendem a aumentar esse número. O alongamento da fase larval é de grande importância para o manejo integrado de pragas, uma vez que, reduz a quantidade de gerações anuais do inseto, retarda o crescimento da população e, a longo prazo, pode reduzir as taxas de infestações da praga. Além de reduzir a quantidade de aplicações de inseticidas na lavoura.

O alongamento da fase pupal observado neste trabalho pode ter ocorrido, devido à presença de substâncias fenólicas presentes nos extratos avaliados e que foram tóxicas ao inseto. Santiago *et al.* (2008) também observaram significativo aumento na duração da fase pupal de *S. frugiperda*, em relação à testemunha, quando estas ingeriram dieta artificial contendo extrato aquoso de mamona, *Ricinus communis* L. (10%).

Neste trabalho também foi constatada redução no peso das pupas. Rodríguez e Vendramim (1996) explicam que, quando os pesos da pupa nos tratamentos são menores que o observado no controle, isso sugere que, a planta avaliada provocou no inseto uma redução no consumo e utilização do alimento. Como consequência as pupas serão menores, menos pesadas e darão origem a adultos pequenos que, possivelmente, terão problemas no momento da cópula com indivíduos normais e as fêmeas serão menos fecundas.

O principal defeito observado nos insetos adultos neste trabalho foi a má formação nas asas. Esse tipo de defeito nos adultos de *S. frugiperda* pode impedir o seu voo ou, no mínimo, diminuir o seu alcance, tanto na busca por parceiros como na de hospedeiro para a realização de posturas. Além disso, essa dificuldade na busca por hospedeiros pelas fêmeas, pode reduzir o número de posturas e de lagartas que infestarão a planta.

A baixa porcentagem de insetos que chegaram a fase adulta após a ingestão de dieta contendo o extrato MeOH e suas frações HEX e MeOH na concentração 2,14% confirma que a mortalidade das lagartas não é, necessariamente, a variável mais importante para definir um bom controle. Pois, mesmo quando não ocorre uma elevada porcentagem de mortalidade das lagartas após a exposição ao extrato vegetal, este pode provocar alongamento no ciclo do inseto e, com isso, a diminuição no número de gerações da praga no campo. O extrato vegetal pode

também causar a morte e deformação de pupas e adultos e, também, com isso, reduzir a população da praga no campo. Estes fatos embasam um dos princípios do manejo integrado de pragas, que é manter a população do organismo nocivo abaixo de um limiar de dano econômico, predeterminado (KOGAN, 1998).

Todos estes parâmetros são de extrema importância, uma vez que afetados, todos eles causam redução do número de insetos na lavoura, redução na infestação e redução no número de aplicações de inseticidas na cultura.

Os resultados obtidos neste trabalho indicam que o algodão-de-seda tem um grande potencial inseticida, pois, provocou mudanças significativas em parâmetros importantes do ciclo de vida de *S. frugiperda*. O desenvolvimento da lagarta-do-cartucho foi claramente afetado pela ingestão dos extratos orgânicos do algodão-de-seda, o que indica que esta planta tem grande potencial para ser explorado dentro de programas de manejo integrado de *S. frugiperda*.

## 6. CONCLUSÃO

O extrato metanólico bruto de folhas de *Calotropis procera* e suas frações hexânica, acetato de etila e metanólica reduzem a sobrevivência e afetam o desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda*.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABAZA, A. M.; AHMED, Y. M.; ABBAS, M. G.; SOLIMAN, H. A.; ASHOUR, H. K. Chemical constituents of *Colocasia esculenta* leaves extract in relation to its self-defense against the cotton leaf worm, *Spodoptera littoralis* (Boisd.). **Egyption Society For Environmental Sciences**, v. 13, n. 1, p. 1-7, 2015.
- ABAZA, A. M.; GABER, M. M. Secondary metabolites of *Colocasia esculenta* extract as green insecticide against the cotton leaf worm, *Spodoptera littoralis* (Boisd.). **Egyptian Academic Journal of Biological Sciences**, v. 9, n. 1, p. 99 – 113, 2017.
- AHMED, U. A. M.; ZUHUA, S.; BASHIER, N. H. H.; MUAFI, K.; ZHONGPING, H.; YULING, G. Evaluation of insecticidal potentialities of aqueous extracts from *Calotropis procera* Ait. against *Henosepilachna elaterii* Rossi. **Journal of Applied Sciences**, v. 6, n. 11, p. 2466-2470, 2006.
- AKHTAR, M.; WANI, A. H.; ALAM, M. M. Control of root-knot nematode with bare-root dip in leaf extracts of *Persian lilac* and *Calotropis*. **Current Nematology**, v. 3, n. 1, p. 41-44, 1992.
- AKINDELE, P. O.; FATUNLA, O. A.; IBRAHIM, K. A.; AFOLAYAN, C. O. Antibacterial and phytochemical screening of *Calotropis procera* leaf extracts against *Vancomycin* and *Methicillin* resistant bacteria isolated from wound samples in hospital patients. **Journal of Alternative and Complementary Medicine**, v. 2, n. 1, p. 1-14, 2017.
- ALMEIDA, C. A. S. **Avaliação dos principais fitosteróis em óleo vegetal e azeite**. 2009. 89 p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos), Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.
- ANDRADE, M. V. M.; SILVA, D.S.; ANDRADE, A.P., MEDEIROS, A.N., PINTO, M.S.C. Fenologia da *Calotropis procera* Ait R. Br., em função do sistema e da densidade de plantio. **Arquivo de Zootecnia**, v. 54, n. 208, p. 631-634, 2005.
- ARAÚJO, L.F.; SILVA, A.G. da; CRUZ, I.; CARMO, E.L. do; HORVATH NETO, A.; GOULART, M.M.P.; RATTES, J.F. Flutuação populacional de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith), *Diatraea saccharalis* (Fabricius) e *Doru luteipes* (Scudder) em milho convencional e transgênico Bt. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 10, n. 3, p. 205-214, 2011.
- BAKAVATHIAPPAN, G.; BASKARAN, S.; PAVARAJ, M.; JEYAPARVATHI, S. Effect of *Calotropis procera* leaf extract on *Spodoptera litura* (Fab.). **Journal of Biopesticides**, v. 5, p. 135-138, 2012.
- BARROS, R. P.; REIS, L. S.; COSTA, J. G.; LIMA, A. C.; MAGALHAES, I. C. S.; SILVA, C. G.; SANTOS, A. F.; NEVES, J. D. S.; DUARTE, A. G.; MELLO, G. S. V.; FREITAS, J. D.; SOUSA, J. S.; FRANCO, S. P. B. Bioactivity and phenolic composition of extracts of noni (*Morinda citrifolia* L., Rubiaceae) in tomato moth (*Tuta absoluta* Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae). **African Journal of Agricultural Research**, v. 13, n. 39, p. 2063-2069, 2018.

BEECHER, G. R. Overview of dietary flavonoids: Nomenclature, occurrence and intake. **The Journal of Nutrition**, v. 133, n. 10, p. 3248–3254, 2003.

BEGUM, N.; SHARMA, B.; PANDEY, R. S. *Calotropis procera* and *Annona squamosa*: Potential alternatives to chemical pesticides. **British Journal of Applied Science e Technology**, v. 3, n. 2, p. 254-267, 2013.

BERNAYS, E. A.; CHAPMAN, R. F. **Host-selection by phytophagous insects**. New York: Chapman e Hall, 1994. 312p.

BHUTANI, K.K.; GUPTA, D.K.; KAPIL, R.S. Occurrence of D/E trans stereochemistry isomeric to ursane (cis) series in a new pentacyclic triterpene from *Calotropis procera*. **Tetrahedron Letters**, v. 33, p. 7593– 7596, 1992.

BILAL, H.; AKRAM, W.; ALI-HASSAN, S. Larvicidal activity of citrus limonoids against *Aedes albopictus* Larvae. **Journal of Arthropod-Borne Diseases**, v. 6, n. 2, p. 104-111, 2012.

BREWER, M.J.; ODVODY, G.N.; ANDERSON, D.J.; REMMERS, J.C. A comparison of Bt transgene, hybrid background, water stress, and insect stress effects on corn leaf and ear injury and subsequent yield. **Environmental Entomology**, v. 43, n. 3. p. 828-839, 2014.

BUTT, A.; BUTT, B. Z.; VEHRA, S. E. Larvicidal potential of *Calotropis procera* against *Aedes aegypti*. **International Journal of Mosquito Research**, v. 3, n. 5, p. 47-51, 2016.

CAPINERA, J. L. **Fall Armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Insecta: Lepidoptera: Noctuidae)**. Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, p. 1-6, 2008. Disponível em: [http://entnemdept.ufl.edu/creatures/field/fall\\_armyworm.htm](http://entnemdept.ufl.edu/creatures/field/fall_armyworm.htm). Acesso em: 23/01/18.

CARDOSO, A. M. **Manejo de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho, *Zea mays* L.: bases para avaliação populacional e controle biológico utilizando o parasitoide de ovos *Trichogramma atopovirilia* Oatman e Platner, 1983 (Hymenoptera: Trichogrammatidae)**. 2004. 84 p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2004.

CESPEDES, C. L.; SALAZAR, J. R.; MARTINEZ, M.; ARANDA, E. Insect growth regulatory effects of some extracts and sterols from *Myrtillocactus geometrizans* (Cactaceae) against *Spodoptera frugiperda* and *Tenebrio molitor*. **Phytochemistry**, v. 66, n. 20, p. 2481–2493, 2005.

CHEDEKAL, A. N. Effect of four leaf extracts on egg hatching and juvenile mortality of root knot nematode *Meloidogyne incognita*. **International Journal of Advanced Life Sciences**, v. 6, n. 1, p. 68-74, 2013.

CHOI, N. H.; JANG, J. Y.; CHOI, G. J.; CHOI, Y. H.; JANG, K. S.; NGUYEN, V. T.; MIN, B. S.; DANG, Q. L.; KIM, J. C. Antifungal activity of sterols and dipsacus saponins isolated from *Dipsacus asper* roots against phytopathogenic fungi. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 141, p. 103–108, 2017.

- CHOWAŃSKI, S.; ADAMSKI, Z.; MARCINIAK, P.; ROSIŃSKI, G.; BÜYÜKGÜZEL, E.; BÜYÜKGÜZEL, K.; FALABELLA, P.; SCRANO, L.; VENTRELLA, E.; LELARIO, F.; BUFO, S.A. A review of bioinsecticidal activity of Solanaceae alkaloids. **Toxins**, v.8, n. 3, 2016.
- CHUNDATTU, S.J.; AGRAWAL, V.K.; GANESH, N. Phytochemical investigation of *Calotropis procera*. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 9, p. 230-234, 2016.
- COWAN, M. M. Plant products as antimicrobial agents. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 12, n. 4, p. 562 – 584, 1999.
- CRUZ, C.D. **Programa Genes: Biometria**. Editora UFV. Viçosa (MG). 382p. 2013.
- CRUZ, I. **A lagarta-do-cartucho na cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa – Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo, 1995. 45p.
- CRUZ, N. A.; HOFFMANN-CAMPO, C. B.; LEVY, S. M.; FALLEIROS, A. M. F. Post-ingestive effects of flavonoids in the midgut epithelium of *Anticarsia gemmatalis* (Hübner 1818) (Lepidoptera: Erebidae) larvae. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 38, n. 2, p. 185-192, 2017.
- D'INCAO, M. P.; GOSMANN, G.; MACHADO, V.; FIUZA, L. M.; MOREIRA, G. R. P. Effect of saponin extracted from *Passiflora alata* Dryander (Passifloraceae) on development of the *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera, Noctuidae). **International Journal of Plant Research**, v. 2, n. 5, p. 151-159, 2012.
- DOMINGO, V.; ARTEAGA, J. F.; MORAL, J. F. Q.; BARRERO, A. F. Unusually cyclized triterpenes: occurrence, biosynthesis and chemical synthesis. **Natural Product Reports**. v. 26, n. 1, p. 115–134, 2009.
- ELIMAM, A. M.; ELMALIK, K. H.; ALI, F.S. Efficacy of leaves extract of *Calotropis procera* Ait. (Asclepiadaceae) in controlling *Anopheles arabiensis* and *Culex quinquefasciatus* mosquitoes. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 16, p. 95– 100, 2009.
- Equipe Estatcamp (2014). **Software Action**. Estatcamp - Consultoria em estatística e qualidade, São Carlos - SP, Brasil. URL <<http://www.portalaction.com.br/>>.
- FARINELLI, R.; FORNASIERI FILHO, D. Avaliação de dano de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em cultivares de milho. **Científica**, v. 34, n. 2, p. 197-202, 2006.
- FERNANDES, O.A.; CARNEIRO, T.R. Controle biológico de *Spodoptera frugiperda* no Brasil. In: PINTO, A.S.; NAVA, D.E.; ROSSI, M.M.; MALERBO-SOUZA, D.T. (Org.). **Controle biológico de pragas na prática**. Piracicaba: CP 2, 2006. p. 75-82.
- FERREIRA, D.F. **SISVAR - Sistema de análise de variância**. Versão 5.3. Lavras-MG: UFLA, 2010.

FIGUEIREDO, M. de L.C.; DIAS-MARTINS, A.M.P.; CRUZ, I. Relação entre a lagarta-do-cartucho e seus agentes de controle biológico natural na produção de milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 12, p. 1693-1698, 2006.

FIGUEIREDO, M. L. C.; MARTINS-DIAS, A. M. P.; CRUZ, I. Associação entre inimigos naturais e *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) na cultura do milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 5, n. 3, p. 340-350, 2006.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S., CARVALHO, R.P.L.; BAPTISTA, G.C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIM, J.D.; MARCHINI, L.C.; LOPES, J.R.S.; OMOTO, C. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. p.920.

GIOLO, F.P.; GRÜTZMACHER, A.D.; GARCIA, M.S.; BUSATO, G.R., Parâmetros biológicos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lep.: Noctuidae) oriundas de diferentes localidades e hospedeiros. **Revista Brasileira de Agrociência**. v. 8, n. 3, p. 219-224, 2002.

GREENE, G.L.; LEPLA, N.C.; DICKERSON, W.A. Velvet bean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. **Journal of Economic Entomology**, Riverside, v. 69, n. 4, p. 488-497, 1976.

GRÜTZMACHER, A. D.; MARTINS, J. F. S.; CUNHA, U. S. **Insetos-pragas das culturas do milho e sorgo no agroecossistema de várzea**. In: PARFITT, J. M. B. Produção de milho e sorgo em várzea. Pelotas, EMBRAPA CLIMA TEMPERADO, 2000, p. 87-101. (Documentos, 74).

HAAS, J.; GARCIA, B.C.; ALVES, L.F.A.; HAIDA, K.S. Efeito de extratos aquosos vegetais sobre a lagarta-do-cartucho. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 81, n. 1, p. 79-82, 2014.

HANNA, A. G.; SHALABY, N. M. M.; MORSY, N. A. M.; SIMON, A.; TÓTH, G.; MALIK, S.; DUDDECK, H. Structure of a calotropagenin-derived artifact from *Calotropis procera*. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 40, p. 599–602, 2002.

HANNA, A.G.; SHALABY, N.M.M.; MORSY, N.A.M.; ANDRAS, A.; TOTH, G.; MALIK, S.; DUDDECK, H. Structure of a calotropagenin derived artifact from *Calotropis procera*. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 40, p. 599–602, 2002.

HARBORNE, B. J.; WILLIAMS, A. C. Advances in flavonoids research since 1992. **Phytochemistry**. v. 55, p. 481-504, 2000.

HEIM, E. K.; TAGLIAFERRO, R. A.; BOBILYA, J. D. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. **Journal of Nutritional Biochemistry**. v. 13, n.1, p. 572-584, 2002.

HENEIDAK, S.; GRAYER, R.J.; KITE, G.C.; SIMMONDS, M.S.J. Flavonoid glycosides from Egyptian species of the tribe Asclepiadeae (Apocynaceae, Subfamily Asclepiadoideae). **Biochemical System and Ecology**, v. 34, p. 575–584, 2006.

HUSSAIN, M. S.; FAREED, S.; ANSARI, S.; RAHMAN, M. A.; AHMAD, I. Z.; SAEED, M. Current approaches toward production of secondary plant metabolites. **Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences**, v. 4, n. 1, p. 10–20, 2012.

JEGER, M.; BRAGARD, C.; CAFFIER, D.; CANDRESSE, T.; CHATZIVASSILIOU, E.; DEHNEN-SCHMUTZ, K.; GILIOLI, G.; GREGOIRE, J. C.; MIRET, J. A J.; NAVARRO, M. N.; NIERE, B.; PARNELL, S.; POTTING, R.; RAFOSS, T.; ROSSI, V.; UREK, G.; BRUGGEN, A. V.; WERF, W. V. D.; WEST, J.; WINTER, S.; GARDI, C.; AUKHOJEE, M.; MACLEOD, A. Pest categorisation of *Spodoptera frugiperda*. **EFSA Journal**, v. 15, n. 7, 2017.

KATHRINA, G. A.; ANTONIO, L. O. J. Controle biológico de insetos mediante extratos botánicos. In: CARBALL, M.; GUAHARAY, F. (Ed.). **Control Biológico de Plagas Agrícolas**. Managua: CATIE, p. 137-160, 2004.

KHAN, S.; TANING, N. T. C.; BONNEURE, E.; MANGELINCKX, S.; SMAGGHE, G.; SHAH, M. M. Insecticidal activity of plant-derived extracts against different economically important pest insects. **Phytoparasitica**, v. 45, n. 1, p. 113-124, 2017.

KISSMANN, K.G.; GROTH, D. **Plantas infestantes e nocivas**. v. 2, ed. 2, São Paulo, Editora BASF. 1999.

KNAAK, N.; TAGLIARI, M.S.; MACHADO, V.; FIUZA, L.M. Atividade inseticida de extratos de plantas medicinais sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **BioAssay**, v. 7, p. 1-6, 2012.

KOGAN, M. Integrated pest management: historical perspectives and contemporary development. **Annual Review of Entomology**, v. 43, p. 243-270, 1998.

KUMAR, L.; SRIVASTAVA, A.; SINGH, B.; KHARE, A. P. Isolation of biocidal compounds of *Calotropis* latex and their in vitro and in vivo effect on the mortality of root knot Nematode (*Meloidogyne javanica*) in Brinjal and Chilli. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 7, n. 4, p. 3361-3372, 2018.

LALL, D.; SUMMERWAR, S.; PANDEY, J.; PRASAD, A. Larvicidal effects of leaf powder of *Calotropis Procera* and *Argimone Mexicana* against 4th instar of American boll worm, *Helicoverpa Armigera* (Hubner) (Noctuidae: Lepidoptera). **International Proceedings of Chemical, Biological and Environmental Engineering**, v. 60, n. 24, p. 122-125, 2013.

LEÃO, R. M. **Controle de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) (J. E. Smith, 1797) com o extrato etanólico de *Asclepias curassavica* L.** 2018. 63 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, 2018.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. São Paulo, Instituto Plantarum, 2002. 512p.

LU, M.; WU, W.; LIU, H. Insecticidal and feeding deterrent effects of Fraxinellone from *Dictamnus dasycarpus* against four major pests. **Molecules**, v. 18, p. 2754-2762, 2013.

- MARTINELLI, S.; BARATA, R.M.; ZUCCHI, M.I., SILVA-FILHO, M.C., OMOTO, C. Molecular of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) populations associated to maize and cotton crops in Brazil. **Journal of Economic Entomology**, v. 99, p. 519-526, 2006.
- MARTINEZ, S. S.; VAN EMDEN, H. F. Growth disruption, abnormalities and mortality of *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, p. 113-125, 2001.
- MCAGNAN, R.; MACAGNAN, R.; WERNER, F.; REGO, B.E.F.; BARP, E.A. Eficácia de extratos vegetais no controle de *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH,1797) em milho. **Biosaúde**, v. 14, n. 2, p. 74-80, 2012.
- MEDEIROS, A. C. LINHARES, P. C. F.; MARACAÇA, P. B.; PEREIRA, B. B. M.; ALMEIDA, J. C.; ALMEIDA, T. H. S. Nutritional composition of *Merremia aegyptia*, *Calotropis procera*, and *Senna uniflora* for use as green manure in different types of soils. **International Journal of Development Research**, v. 7, n. 11, p. 16562-16564, 2017.
- MELLO, M. M.; VAZ, F.A.; GONÇALVES, L.C., SATURNINO, H. M. Estudo fitoquímico da *Calotropis procera* Ait., sua utilização na alimentação de caprinos: efeitos clínicos e bioquímicos séricos. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**. v. 2, n. 1, p. 15-20, 2001.
- MICHELOTTO, M.D.; FINOTO, E.L.; MARTINS, A.L.M.; DUARTE A.P. Interação entre transgênicos (Bt) e inseticidas no controle de pragas-chave em híbridos de milho-safrinha. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 78, n. 1, p. 71-79, 2011.
- MORAIS, L. A. S.; MARINHO-PRADO, J. S. Plantas com atividade inseticida. 2016. In: HALFELD-VIEIRA, B. de A.; MARINHO-PRADO, J. S.; NECHET, K. de L.; MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. **Defensivos agrícolas naturais: uso e perspectivas**. Brasília, DF: Embrapa, 2016. Cap. 19.
- MOSCARDI, F., BUENO, A. F.; SOSA-GÓMEZ, D. R.; ROGGIA, S.; HOFFMANN-CAMPO, C. B.; POMARI, A. F.; CORSO, I. C.; CAVAGUCHI, S. A.; YANO, S. A. C. **Artrópodes que atacam as folhas da soja**. In: HOFFMAN-CAMPO, C. B.; CORRÊA FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga. EMBRAPA, Brasília, Embrapa, 2012. p.213-309.
- OLIVEIRA, M. S. S.; ROEL, A. R.; ARRUDA, E. J.; MARQUES, A. S. Eficiência de produtos vegetais no controle da lagarta-do-cartucho-do-milho *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 2, p. 326-331, 2007.
- PARIHAR, G.; BALEKAR, N. *Calotropis procera*: A phytochemical and pharmacological review. **Thai Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 40, n. 3, p. 115-131, 2016.
- PARRA, J. R. P. **Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico**. Piracicaba: ESALQ/FEALQ, 2001. 134 p.

RAMOS, M. V.; GRANGEIRO, T. B.; FREIRE, E. A.; SALES, M. P.; SOUZA, D. P.; ARAÚJO, E. S.; FREITAS, C. D. T. The defensive role of latex in plants: detrimental effects on insects. **Arthropod Plant Interactions**. v. 4, n. 1, p. 57–67, 2010.

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

ROSA, A. P. S. A. **Monitoramento da lagarta-do-cartucho do milho**. Pelotas: EMBRAPA, 2011. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/37326/1/Monitoramento-da-lagarta.pdf>>. Acesso em: 13 de outubro, 2018.

SÁ, V. G. M. D.; FONSECA, B. V. C.; BOREGAS, K. G. B.; WAQUIL, J. M. Sobrevivência e desenvolvimento larval de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em hospedeiros alternativos. **Neotropical Entomology**, v. 38, p. 108-115. 2009.

SALAZAR, J. R.; TORRES, P.; SERRATO, B.; DOMINGUEZ, M.; ALARCON, J.; CESPEDES, C. L. Insect growth regulator (IGR) effects of *Eucalyptus citriodora* Hook (Myrtaceae). **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v.14, n. 5, p. 403-422, 2015.

SANTIAGO, G. P.; PÁDUA, L. E. M.; SILVA, P. R. R.; CARVALHO, E. M. S.; MAIA, C. B. Efeitos de extratos de plantas na biologia de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) mantida em dieta artificial. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 3, p. 792-796, 2008.

SANTOS, B. A.; GIUSTOLIN, T. A.; ALVARENGA, C. D.; SOUSA, M. D. C. Seleção de espécies vegetais com potencial inseticida para o controle de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). In: **XXIV Congresso Brasileiro de Entomologia**, 2012, Curitiba, PR. Anais Congresso Brasileiro de Entomologia, 24. Curitiba, PR: Sociedade Entomológica do Brasil, 2012.

SANTOS, M. L. L. **Emprego de plantas com princípios tóxicos no controle de *Meloidogyne enterolobii***. 2015. 99p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza. 2015.

SILVA, D. M.; BUENO, A. F.; ANDRADE, K.; STECCA, C. S.; OLIVEIRA, P. M.; NEVES, J.; OLIVEIRA, M. C. N. Biology and nutrition of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) fed on different food sources. **Scientia Agricola**, v. 74, p. 18-31, 2017.

SILVA, H. D.; SOUZA, M. D. C.; GIUSTOLIN, T. A.; ALVARENGA, C. D.; FONSECA, E. D.; DAMASCENO, A. S. Bioatividade dos extratos aquosos de plantas às larvas da mosca-das-frutas, *Ceratitis capitata* (Wied.). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 82, p. 1-4, 2015.

SILVA, M. A. Avaliação do potencial inseticida de *Azadirachta indica* (Meliaceae) visando ao controle de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae). 2010. 159f. Dissertação (Mestrado em Ciências – Entomologia). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz ESALQ/ Universidade de São Paulo. Piracicaba/SP. 2010.

- SILVA, T. R. F. B.; ALMEIDA, A. C. S.; MOURA, T. L.; SILVA, A. R.; FREITAS, S. S.; JESUS, F. G. Effect of the flavonoid rutin on the biology of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 38, n. 2, p. 165-170, 2016.
- SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: Editora da UFRGS; 2010.
- SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 2ª ed. Porto Alegre/ Florianópolis: Editora da Universidade UFRGS/ Ed. Universidade UFSC, 2000.
- SPARKS, A. N. A review of the biology of the fall armyworm. **Florida Entomologist**, v. 62, p. 82-87. 1979.
- SPINDLER, K. D.; PRZIBILLA, S.; SPINDLER-BARTH, M. Moulting hormones of arthropods: molecular mechanisms. **Zoology**, v. 103, n. 3-4, p. 189-201, 2001.
- SRIVASTAVA, N.; CHAUHAN, A.S.; SHARMA, B. Isolation and characterization of some phytochemicals from Indian traditional plants. **Biotechnology Research International**, v. 1, p. 1-8, 2012.
- TAGLIARI, M. S.; KNAACK, N.; FIUZA, L. M. Efeito de extratos de plantas na mortalidade de lagartas de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 77, n. 2, p. 259-264, 2010.
- TANDON, S.; MITTAL, A. K.; PANT, A. K. Insect growth regulatory activity of *Vitex trifolia* and *Vitex agnuscastus* essential oils against *Spilosoma oblique*. **Fitoterapia**, Milano, v. 79, n. 4, p. 283-286, 2008.
- TRUMAN, J. W.; RIDDIFORD, L. M. Endocrine insights into the evolution of metamorphosis in insects. **Annual Review of Entomology**, v. 47, n. 1, p. 467-500, 2002.
- ULHÔA, N.; FERNANDES, G.W.; ALMEIDA-CORTEZ, J. **Uma Estranha na Paisagem**. *Ciência Hoje*, v. 41, p. 70-72, 2007.
- VALICENTE, F. H. **Manejo integrado de pragas na cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa, 2015. Circular técnica nº 208. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/125260/1/circ-208.pdf>. Acesso em: 13 de outubro, 2018.
- VIANA, P. A. **Manejo de pragas nas culturas do milho e sorgo**. In: REUNIÃO TÉCNICA ANUAL DO MILHO, 40. REUNIÃO TÉCNICA DO SORGO, 23. 1995, Pelotas. Anais... Pelotas: Embrapa Clima Temperado, p. 31-38, 1996.
- VIEGAS JÚNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, v. 26, n. 3, p. 390-400, 2003.

WAQUIL, J. M.; VIANA, P. A.; LORDELLO, A. I. Controle da lagarta-do-cartucho em milho com inseticidas químicos e biológicos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Porto Alegre, v. 17, n. 2, p. 163-166, 1982.

YADAV, P. A.; SURESH, G.; RAO, M. S. A.; SHANKARAIHAH, G.; RANI, P. U.; BABU, K. S. Limonoids from the leaves of *Soymida febrifuga* and their insect antifeedant activities. **Bioorganic e Medicinal Chemistry Letters**, v. 24, p. 888-892, 2014.