



# ENEPEX

ENCONTRO DE ENSINO,  
PESQUISA E EXTENSÃO

8° ENEPE UFGD • 5° EPEX UEMS

**EFEITO DE EXTRATOS DE *Trichilia silvatica* C. DC. NOS PARÂMETROS DE DESENVOLVIMENTO E REPRODUÇÃO DE *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**

**ALESSANDRA F. FREITAS<sup>1\*</sup>; ANELISE S. N. FORMAGIO<sup>2</sup>; FABRICIO F. PEREIRA<sup>1</sup>; JÉSSICA T. LUCCHETTA<sup>1</sup>; MARIA DO CARMO VIEIRA<sup>2</sup>.**

Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), <sup>1</sup>Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais (FCBA),  
<sup>2</sup>Faculdade de Ciências Agrárias (FCA), Dourados-MS, Brazil.

**RESUMO** – O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito de extratos metanólicos de folhas, caule e flores de *Trichilia silvatica* sobre *Spodoptera frugiperda*. Também foi avaliado o teor de fenóis totais e flavonoides nos extratos metanólicos. Foi realizado um estudo químico do extrato mais ativo. Folhas de milho foram imersas em uma solução de extrato metanólico 1% e fornecidas às lagartas de segundo ínstar de *S. frugiperda*. O extrato das folhas de *T. silvatica* (FTS) diminuiu a viabilidade larval, prolongou a duração larval, afetou a biomassa das pupas, diminuiu o período de oviposição e o número de ovos, bem como afetou a viabilidade dos ovos. O extrato metanólico do caule de *T. silvatica* (CTS) reduziu a viabilidade larval, o período de oviposição, número de ovos e viabilidade dos ovos. O extrato da flor de *T. silvatica* (FLTS) reduziu a viabilidade larval e período de oviposição. Em relação ao teor dos constituintes, o extrato metanólico das folhas mostraram maiores teores de fenóis totais (233,37 mg de ácido gálico / g de extrato) e flavonoides (quercetina 53,17 mg / g de extrato). O estudo químico do extrato das folhas de *T. silvatica* resultou em  $\alpha$ -tocoferol, 3-O- sitosterol glicopiranosídeo, mustakone e N-metilprolina. Os nossos resultados indicaram que os extratos afetaram a biologia de *S. frugiperda*, sendo FTS o mais promissor.

**Palavras-chave:** Meliaceae, extratos metanólicos, inseticidas.

## Introdução

O gênero *Trichilia* consiste em cerca de 70 espécies, distribuídas principalmente na América tropical e África, das quais 43 espécies ocorrem no Brasil (Pennington, Styles & Taylor, 1981). Investigações químicas revelaram a presença de limonoides como os principais agentes bioativos (Champagne et al., 1992). Os compostos pertencentes a este grupo expressam uma grande variedade de atividades biológicas, como inseticida, antialimentar e capacidade reguladora do crescimento em insetos (Champagne et al, 1989; Kubo e Klocke, 1982; Mikolajczak e Reed, 1987; Mikolajczak et al, 1989; Nakatani et al, 1981; Simmonds et al, 2001; Xie et al, 1994).

Estudos biológicos realizados com extratos vegetais de *Trichilia connaroides*, *T. priureana*, *T. roka*, *T. triphyllaria*, *T. casaretti*, *T. catigua*, *T. claussenii*, *T. elegans* e *T. pallida* demonstraram atividade inseticida sobre a lagarta-do-cartucho do milho *S. frugiperda* (Mikolajczak & Reed, 1987, Roel & Vendramim, 1999; Roel et al. 2000a, 2000b; Bogorni & vendramim 2003, 2005).

Alguns estudos anteriores tem focado nos nortriterpenoides (limonoides) da família Meliaceae devido aos seus efeitos potentes sobre os insetos pragas ligados à sua baixa toxicidade (Carpinella et al, 2002, 2003, Champagne et al, 1989; Klocke et al, 1989.; Kubo e Klocke, 1982).

*Trichilia silvatica* C. DC. é uma pequena árvore perene que ocorre no Brasil, comumente conhecido como "cachuá", "cachuá-branco" em Santa Catarina e "rosa-branca" na Bahia, Brasil. Estudos químicos realizados nos extratos das folhas de *T. silvatica* descrevem o isolamento de sesquiterpenos espatulenol, veridiflorol, óxido humuleno, (2S, 3S, 6R, 7R)-humuleno-2, 3; 6,7-diepóxido, (2R, 3R, 6R, 7R)-humuleno 2,3; 6,7-diepóxido, mustakone, o esteroide, e os triterpenos  $\alpha$ -amirina,  $\beta$ -amirina, e pseudotaraxasterol e lupeol (Soares et al., 2013). Recentemente, foi relatada a composição química, em relação à atividade antiedematogênico e antioxidante do óleo essencial a partir das folhas *T. silvatica*, em particular, sendo caracterizada pelo CG-MS um elevado número de sesquiterpenos, que exibiu efeitos antioxidante e in vivo anti-inflamatório (Formagio et al., 2012).

Embora a literatura mostre vários estudos sobre o isolamento de limonoides e efeito inseticida de diferentes espécies de *Trichilia*, não há investigação do efeito de *T. silvatica* em *S. frugiperda*. Assim, a busca por novos extratos de origem vegetal para desenvolver alternativas aos inseticidas convencionais e redução de impactos negativos sobre a saúde e ao meio ambiente, continuamos a nossa investigação desta planta.

O principal objetivo do presente estudo foi avaliar o teor de fenóis totais e flavonoides e o efeito do extrato metanólico das folhas, cascas e flores de *T. silvatica* sobre o desenvolvimento e sobrevivência de *S. frugiperda*. O extrato ativo também foi investigado e a composição química foi descrita com a utilização de métodos cromatográficos. Os compostos assim isolados foram caracterizados pelos dados espectrais de RMN e comparados com os descritos na literatura.

### **Material e métodos**

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Entomologia da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais (FCBA) e Laboratório de Plantas Medicinais da Faculdade de Ciências Agrárias (FCA) da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD).

**Material vegetal.** As folhas, casca e flores de *T. silvatica* (Fig. 3) foram coletadas em maio de 2009, em Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil. A cidade de Dourados está localizada na parte sul mato-grossense, situada a 22°14'16"S e 54° 48'02"W, em altitude média de 452 m. A planta em estudo foi identificada pela Dra. Zefa Valdevina Pereira e a exsicata de *T. silvatica* (DDMS 4662) encontra-se depositada no Herbário da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Dourados, MS.

**Preparação de extratos brutos, frações e isolamento dos constituintes.** Os materiais vegetais secos (folhas, cascas e flores) foram extraídos sucessivamente, por maceração, com metanol. O extrato foi filtrado e concentrado sob pressão em um rotaevaporador e liofilizado para obtenção do extrato metanólico seco das folhas (FTS), casca (CTS) e flores (FLTS). O extrato mais ativo no desenvolvimento e sobrevivência de *S. frugiperda* foi dissolvido em MeOH-H<sub>2</sub>O 1:1 e particionado com n-hexano, clorofórmio e acetato de etila. O solvente foi evaporado resultando nas frações de hexano (5,5 g), clorofórmio (5,4 g), acetato de etila (6,2 g) e hidrometanólica (7,5 g). A fração de hexano (2,58 g) foi purificada em coluna cromatográfica de sílica gel, eluída com uma mistura de n-hexano e acetato de etila, de polaridade crescente, resultando no isolamento do  $\alpha$ -tocoferol (6,2 mg). A fração de clorofórmio (3,8 g) foi purificada em coluna cromatográfica de sílica gel, eluída com uma mistura de n-hexano, acetato de etila e metanol, em polaridade crescente, resultando no sitosterol 3-O-glicopiranosídeo (145,0 mg) e mustakone (14,5 mg). A fração hidrometanólica

(3,4 g) foi purificada com Sephadex LH-20 (25 g), a qual foi eluída com H<sub>2</sub>O, H<sub>2</sub>O-MeOH (1:3, 1:1) e MeOH, originando N-metilprolina (17,0 mg).

**Determinação do teor de fenóis totais.** O conteúdo fenólico total nas amostras (FTS), (CTS) e (FLTS), foi determinado utilizando o método de Folin-Ciocalteu (Meda *et al* 2005). A quantificação foi realizada utilizando-se uma curva padrão de ácido gálico preparado em 80% de metanol, e os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico, por grama de extrato. A equação para a curva de ácido gálico foi  $\hat{y} = 0,1073x + 6.2733$ , com um coeficiente de correlação  $r = 0,9912$ . A solução de metanol foi utilizada como um branco. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

**Determinação dos flavonoides.** Para determinar o nível de flavonoides, 500 µL das amostras (FTS, CTS e FLTS), foram misturadas com 1,5 ml de etanol a 95%, 0,1 mL de cloreto de alumínio a 10% (AlCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O), 0,1 mL de acetato de sódio (NaC<sub>2</sub>H<sub>3</sub>O<sub>2</sub>.3H<sub>2</sub>O) (1 M), e 2,8 ml de água destilada, e mantidas à temperatura ambiente durante 40 min. A densidade óptica foi medida a 415 nm utilizando um espectrofotômetro. O mesmo procedimento foi utilizado para a análise do branco (Lin e Tang 2007). Para calcular a concentração de flavonoides, preparamos uma curva de calibração (2,5, 5,0, 10,0, 20,0, 25,0, 50,0, 100,0, e 125,0 µg), utilizando como padrão a quercetina. Os resultados foram expressos em mg de equivalentes de quercetina por grama de extrato. A equação da curva de quercetina foi  $\hat{y} = 0.04372x + 11.8202$ , com um coeficiente de correlação  $r = 0,9989$ . Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

**Efeito sobre o desenvolvimento de *S. frugiperda*.** Foram preparadas soluções aquosas a 1%, as quais foram utilizadas nos ensaios, segundo método de Roel e Vendramim (1999). Acrescentou-se 9,4µl/100 ml de água destilada de Tween 80% para melhor solubilização. Folhas de milho híbrido XB 6012 (28 cm<sup>2</sup> aproximadamente), com 50 a 60 dias de idade, foram imersas na solução do extrato por aproximadamente dois segundos, sendo a seguir mantidas em condição ambiente para evaporação do excesso de líquido, da mesma forma como utilizado por Bogorni e Vendramim (2003). As folhas de milho tratadas com extrato e as da testemunha (tratadas com água destilada) foram colocadas em placas de Petri (90 x 15 mm), onde foi acondicionada uma lagarta de 2º ínstar de *S. frugiperda* por placa. As folhas foram substituídas diariamente por novas folhas tratadas com a solução aquosa a 1%, da forma como realizado por Roel e Vendramim (1999). Foi avaliada a viabilidade larval

(porcentagem de lagartas que atingiram a fase de pupa), duração larval (duração em dias da fase larval), viabilidade pupal (porcentagem de pupas que atingiram a fase adulta), duração pupal (duração em dias da fase de pupa), biomassa das pupas (mg). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro tratamentos, envolvendo três espécies vegetais e testemunha, com cinco repetições, sendo cada uma composta por dez lagartas, totalizando cinquenta lagartas por tratamento.

***Efeito sobre a fase reprodutiva:*** Adultos virgens e de mesma idade provenientes de lagartas previamente intoxicadas durante toda a fase larval foram utilizados para avaliação dos seguintes parâmetros: pré-oviposição (duração em dias da emergência da fêmea até o primeiro dia de sua oviposição), oviposição (duração em dias do primeiro dia de oviposição até o último dia de oviposição da fêmea), pós-oviposição (duração em dias do último dia de oviposição até o dia da morte da fêmea), total de ovos/fêmea (quantidade de ovos colocados durante o período de oviposição da fêmea), viabilidade dos ovos (porcentagem de lagartas eclodidas), período de incubação dos ovos (período em dias desde a postura dos ovos até a eclosão das lagartas) e longevidade dos adultos (duração em dias da emergência até a morte dos machos e fêmeas). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro tratamentos, envolvendo três espécies vegetais e testemunha, com cinco repetições por tratamento, sendo cada casal considerado uma repetição.

***Análise dos dados.*** O delineamento experimental adotado nos testes foi inteiramente casualizado sendo os resultados submetidos à análise de variância e quando significativo a 5% de probabilidade, as médias foram comparadas pelo Teste de Tukey, através do programa SISVAR (Ferreira, 2011).

## **Resultados**

***Extratos brutos, conteúdo de fenóis totais e flavonoides.*** O rendimento dos extratos metanólicos obtidos por maceração das folhas, cascas e flores de *T. silvatica* foram de 27,60%, 44,34% e 15,33% respectivamente. A Figura 1 mostra fenóis totais e flavonoides nos extratos metanólicos de *T. silvatica*. Os extratos das folhas e cascas, na análise, apresentaram o maior teor de fenóis totais com valores de 233,37 e 177,62 mg ácido gálico / g de extrato, respectivamente (Fig. 1). Por comparação, os extratos também apresentaram teores mais elevados de flavonoides (folhas, 53,17 mg de quercetina / g do extrato; casca, 41,13 mg de quercetina / g do extrato).

**Isolamento dos constituintes do extrato ativo.** O estudo químico da fração de hexano resultou no isolamento do  $\alpha$ -tocoferol, fração de clorofórmio em sitosterol 3-O-glicopiranosídeo e mustakone e a fração hidrometanólica em N-metilprolina. Os compostos foram identificados por comparação dos seus dados de RMN com os relatados na literatura (Alam et al., 1996; Ayres et al., 2009; Daniewski et al., 1996; Nyasse et al., 1988).

$\alpha$ -Tocoferol:  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2.62 (t,  $J=6.7$  Hz, 2H), 2.20 (s, 3H), 2.15 (s, 6H);  $^{13}\text{C}$  NMR (75.5 MHz):  $\delta$  146.5, 143.5, 122.9, 121.6, 118.4, 117.4, 74.8, 39.8, 39.4, 37.5, 32.8, 31.5, 28.0, 24.8, 24.4, 23.9, 22.7, 21.5, 20.6, 19.7, 12.5, 11.8, 11.3.

sitosterol 3-O-glicopiranosídeo:  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  5.37 (d,  $J=5.1$ Hz, 1H); 4.41 (d,  $J=7.5$ Hz, 1H), 2.41 (dd,  $J=12.3$  e 4.1Hz), 1.02 (s, 3H), 0.69 (s, 3H).  $^{13}\text{C}$  NMR (75.5 MHz):  $\delta$  140.1, 122.0, 100.9, 78.9, 77.9, 77.1, 75.6, 69.8, 61.5, 56.5, 55.8, 50.0, 45.6, 42.1, 39.5, 38.4, 37.0, 36.5, 35.9, 33.7, 31.6, 31.4, 29.3, 28.9, 28.0, 25.8, 24.0, 22.9, 20.9, 19.5, 19.0, 18.7, 18.5, 11.6, 11.4.

mustakone:  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2.63 (dd,  $J=6.5$  and 1.5, 1H), 5.76 (m,  $J=1.5$ , 1H), 1.94 (d,  $J=6.5$  e 1.5, 1H), 2.60 (s, 1H), 1.64 (m, 1H), 1.50 (m, 1H), 1.73 (m, 2H), 1.85 (m, 1H), 1.73 (m, 1H), 1.54 (dd,  $J=6.5$  and 6.5, 1H), 0.86 (d,  $J=6.5$ , 3H), 0.85 (d,  $J=6.5$ , 3H), 2.00 (d,  $J=1.5$ , 3H), 0.97 (s, 3H).  $^{13}\text{C}$  NMR (75.5 MHz):  $\delta$  56.9, 203.4, 120.8, 171.4, 55.8, 54.7, 45.6, 22.8, 35.9, 57.8, 32.4, 19.6, 20.6, 20.5, 24.3.

N-metilprolina:  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  2.93, s,  $\text{CH}_3\text{N}^+$ ; 3.91 (dd,  $J= 11.5$  and 7.5 Hz, 1H), 2.55 (m, 1H), 1.94–2.24 (m, 3H), 3.74 (m, 1H), 3.16 (m, 1H).  $^{13}\text{C}$  NMR (75.5 MHz):  $\delta$  43.9,  $\text{CH}_3\text{N}^+$ ; 73.6, 25.9, 31.8, 58.8, 177.5.

No entanto, o isolamento da N-metilprolina é relatado pela primeira vez em *T. silvatica*.

**Desenvolvimento e fase reprodutiva de *S. frugiperda*.** A viabilidade larval de *S. frugiperda* foi afetada em todos os tratamentos (FTS  $24.00\pm 6.78$ , CTS  $32.00\pm 4.89$  e FLTS  $54.00\pm 10.77\%$ ) quando comparados à testemunha ( $94.50\pm 0.93\%$ ). O FTS também prolongou a duração da fase larval (Tabela 1).

Na duração da fase pupal e viabilidade pupal não houve diferença significativa entre os tratamentos quando comparados à testemunha (Tabela 1).

Lagartas de *S. frugiperda* alimentadas com folhas de milho imersas na solução do FTS apresentou biomassa média inferior de pupas ( $104.00\pm 6.95$  mg) em relação à testemunha

(198.80±2.67 mg). Nos demais tratamentos não houve diferença estatística em relação à biomassa de pupas comparada à testemunha (Tabela 1).

Os extratos oriundos das folhas, caules e flores *T. silvatica* também afetaram negativamente caracteres biológicos da fase adulta de *S. frugiperda*. O período de oviposição foi reduzido (FTS 3.50±1.50; CTS 1.50±0.76; FLTS 1.37±0.55 dias), quando comparados à testemunha (6.80±0.40 dias).

Os períodos de pré-oviposição e pós-oviposição não foram afetados pelos extratos (Tabela 2).

As fêmeas de *S. frugiperda* ovipositaram menor número de ovos nos tratamentos FTS e CTS (Tabela 2). Estes ovos tiveram sua viabilidade reduzida em relação à testemunha (Tabela 2).

A longevidade das fêmeas e machos, e o período de incubação dos ovos foram similares estatisticamente em todos os tratamentos comparados a testemunha (Tabela 2). Na idade adulta, deformações foram observadas nas mariposas, especialmente em suas asas (Fig. 2).

## Discussão

**Efeito de *T. silvatica* no desenvolvimento e na fase reprodutiva de *S. frugiperda*.** Os extratos de diferentes órgãos vegetais de *T. silvatica* reduziram a viabilidade larval de *S. frugiperda*. Tais resultados vêm a confirmar a atividade inseticida deste gênero já referida para *S. frugiperda* e outros insetos (Conceschi et al., 2011; Nebo et al., 2010; Cunha et al., 2006; 2008; Bogorni & Vendramim, 2005; Bogorni & Vendramim, 2003; Roel et al., 2000b; Wheeler & Isman, 2000; Thomazini et al., 2000; Mikolajczak & Reed, 1987). Existem relatos sobre atividades biológicas de substâncias e/ou extratos obtidos de plantas deste gênero, tais como propriedades “antifeedant” e inseticida, comparáveis às da azadiractina (Mikolajczak & Reed, 1987, Bogorni & Vendramim, 2005, Cunha et al., 2006).

O FTS afetou não apenas a sobrevivência de *S. frugiperda*, mas também outros caracteres biológicos como a duração da fase larval que foi prolongada (20,34±0.49 dias) em relação ao valor da testemunha (16,57±0.13 dias). Isso pode estar associada à presença de compostos que interferem na metamorfose, não apenas causando a mortalidade como dificultando o desenvolvimento das lagartas sobreviventes (Bogorni & Vendramim, 2005). Folhas de *T. pallens*, *T. casaretti* e *T. pallida* e ramos de *T. pallida* também causaram significativo alongamento na fase larval de *S. frugiperda* (Bogorni & Vendramim, 2005). O prolongamento da fase larval pode estar associada com o efeito anti-alimentar relatado no

gênero *Trichillia* (Mikolajczak e Reed, 1987), e em compostos da família Meliaceae (Mossini e Kimmelmeier, 2005).

“Antifeedants” pode ser descrito como substâncias alomônias que inibem a alimentação e não matam os insetos pragas diretamente, mas limitam o seu potencial de desenvolvimento (Gokulakrishnan et al., 2012).

Torrecillas & Vendramim (2001) também constataram que os ramos de *T. pallida* a 0,1% afetaram não apenas a sobrevivência, mas também a duração da fase larval. Este fato é atribuído à presença de inibidores de crescimento ou substâncias tóxicas no extrato e menciona que o alongamento da fase larval é importante em campo, uma vez que isso pode aumentar o tempo de exposição do inseto a fatores de mortalidade naturais (Torres et al 2001; Alves et al 2012). McMillian *et al.* (1969) já havia constatado a inibição do crescimento de *S. frugiperda* devido à utilização de extratos vegetais relatando o alongamento da fase larval em dieta artificial contendo extrato clorofórmico de folhas de *Melia azedarach*.

A duração e viabilidade pupal não foram afetadas pelos extratos (FTS, CTS e FLTS). Outros autores atribuem a menor toxicidade de agentes químicos para a fase de pupa à menor atividade do inseto em tal estágio (Jbilou et al., 2006). Provavelmente o efeito dos extratos vegetais é mais intenso na fase larval devido ao fato de que é nessa fase que o inseto ingere as substâncias químicas presentes no alimento (Rodríguez; Vendramim, 1996). Maroneze & Gallegos (2009) também não constataram efeito negativo de *Melia azedarach* sobre a duração e viabilidade da fase pupal de *S. frugiperda*. Os resultados estão de acordo também com os obtidos por Rodríguez & Vendramim (1996, 1997) e Bogorni & Vendramim (2005) que, trabalhando com espécies de *Trichilia*, também não constataram efeito negativo dos extratos sobre a duração da fase pupal de *S. frugiperda*.

A biomassa das pupas foi reduzida ( $104.00 \pm 6.95$  mg) no tratamento FTS em relação ao controle ( $198,80 \pm 2,67$  mg). A biomassa das pupas está diretamente relacionada ao desempenho do inseto na fase larval, uma vez que à medida que o consumo foliar pelas lagartas aumenta as pupas também aumentam de biomassa (Lima et al., 2006), porém em alguns extratos existem compostos inibidores da alimentação que limita a ingestão de alimento durante a fase larval e conseqüentemente reduz a biomassa das pupas (Huang *et al.*, 1996; Carpinella *et al.*, 2002).

Os extratos vegetais de *T. silvatica* interferiram também nos caracteres biológicos da fase adulta das fêmeas de *S. frugiperda*. Nos casais avaliados o período de oviposição foi reduzido em todos os tratamentos (FTS, CTS e FLTS). Provavelmente, a espécie vegetal tem substâncias que são capazes de interferir na reprodução dos insetos. Resultado semelhante foi



descrito para o extrato de *M. azedarach*, que reduziu o período de oviposição e a fertilidade de *Spodoptera littoralis* (Schmidt et al., 1997). *Azadirachta indica*, considerada a espécie vegetal mais promissora no controle de pragas, têm substâncias que são capazes de interferir na reprodução dos insetos, seja por redução da fecundidade ou esterilização total (Schmutterer, 1990).

O número de ovos por fêmea também foi reduzido pelo FTS e CTS. Segundo Costa, Silva e Fiuza (2004) a quantidade e qualidade de nutrientes obtidos durante a alimentação larval podem influenciar o número de ovários por ovário e, por extensão, reduzir o potencial de produção de ovos, ou seja, larvas que consomem dietas ricas em proteínas produzem pupas mais pesadas e adultos que produzem mais ovos que os insetos alimentados com dietas pobres. O resultado do FTS vai de acordo com esta afirmação, pois as lagartas alimentadas com as folhas de milho tratadas se alimentaram menos em relação ao controle, originando pupas menores e conseqüentemente adultos que ovipositaram menor número de ovos. A redução do número de ovos e a inibição da oviposição são importantes efeitos de extratos vegetais sobre a reprodução dos insetos (Costa et al., 2004).

A redução na viabilidade dos ovos pelo FTS e CTS demonstra que os extratos podem ter ação transovariana (Pratissoli et al. 2004). A campo, a redução da viabilidade de ovos significa redução nos danos à lavoura de milho (Maroneze & Gallegos, 2009).

Na fase adulta, também foi verificada deformações nas mariposas, principalmente em suas asas. Bogorni & Vendramim (2005) constataram que extratos aquosos de ramos e folhas de *Trichilia* aplicados às folhas de milho oferecidas às lagartas afetam não apenas as fases de larva e pupa, mas também a formação dos adultos. O principal defeito constatado nos adultos de *S. frugiperda* foi a má formação de asas e antenas, e a maior ocorrência de adultos defeituosos (24,5%) foi observada no tratamento com folhas de *T. pallida*.

Considerando os parâmetros avaliados nas diversas fases de desenvolvimento da praga (Tabelas 1 e 2), todos os extratos (FTS, CTS e FLTS) afetaram tanto os parâmetros da fase juvenil como adulta de *S. frugiperda*. Com base nos resultados obtidos conclui-se que o extrato das folhas de *T. silvatica* é o mais promissor para uso no controle de *S. frugiperda*. O efeito dos extratos varia de acordo com a parte da planta utilizada na sua preparação (Alves et al., 2012). Este resultado está de acordo com a variação metabólica descrita entre as partes das plantas (François et al., 2009). Gobbo-neto e Lopes (2007) relataram que as partes da planta, não só pode influenciar a quantidade total dos metabolitos produzidos, mas também as proporções relativas dos componentes da mistura.

**Constituintes de *T. silvatica*.** A composição química do extrato mais ativo de *S. frugiperda* foi explorada a fim de elucidar os principais metabólitos secundários presentes no extrato de *T. silvatica*, coletadas em Dourados-MS e correlacionar com o efeito observado a partir de *T. silvatica*. Futuros estudos para relatar o efeito dos compostos isolados, sitosterol 3-O-glicopiranosídeo, tocoferol, mustakone e N-metilprolina, no desenvolvimento e fase reprodutiva da *S. frugiperda*, estão em processo. Na literatura não há relatos dos compostos isolados, sitosterol 3-O-glicopiranosídeo, tocoferol, mustakone e N-metilprolina, com atividade inseticida.

Os flavonoides e compostos fenólicos em plantas exercem a proteção contra os raios ultravioletas, e proteção contra insetos, vírus e bactérias (Zuanazzi e Montanha, 2004).

Nos insetos, os flavonoides interferem na reprodução, alimentação e estimulam a oviposição ou agem como inibidores de alimentação (Bernays et al., 1991; Harborne e Grayer, 1994; Matsuda, 1978; Morimoto et al., 2000; Musayimana et al., 2001; Reyes-Chilpa et al., 1995; Simmonds, 2001). O conteúdo de flavonoides e compostos fenólicos relatados nas folhas de *T. silvatica* podem ter promovido a inibição do crescimento de insetos. Vários estudos têm destacado a natureza de flavonoides como inibidores e estimuladores de alimentação em insetos pragas.

O nosso estudo demonstra o efeito de *T. silvatica* na inibição do crescimento de *S. frugiperda*, e a presença de metabólitos no extrato de folhas, até o momento responsáveis pela atividade. Com base nos resultados a inibição de crescimento dos insetos causados pelo extrato de folhas pode ser atribuída, principalmente, flavonoides e compostos fenólicos. No entanto, os estudos sobre os compostos isolados e de frações polares (acetato de etila e hidrometanólica) estão em andamento para verificar o desenvolvimento de *S. frugiperda*.

**Agradecimentos** - A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida e a empresa Semeali pela concessão das sementes de milho.

**TABELA 1.** MÉDIAS (+ EP) DE BIOMASSA DAS PUPAS, DURAÇÃO E VIABILIDADE DA FASE LARVAL E PUPAL DE *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) ALIMENTADAS COM FOLHAS DE MILHO TRATADAS COM EXTRATOS METANÓLICOS DE PLANTAS MEDICINAIS DA FAMÍLIA MELIACEAE (25 ± 1 °C, UR: 70 ± 10% E FOTOFASE: 14H).

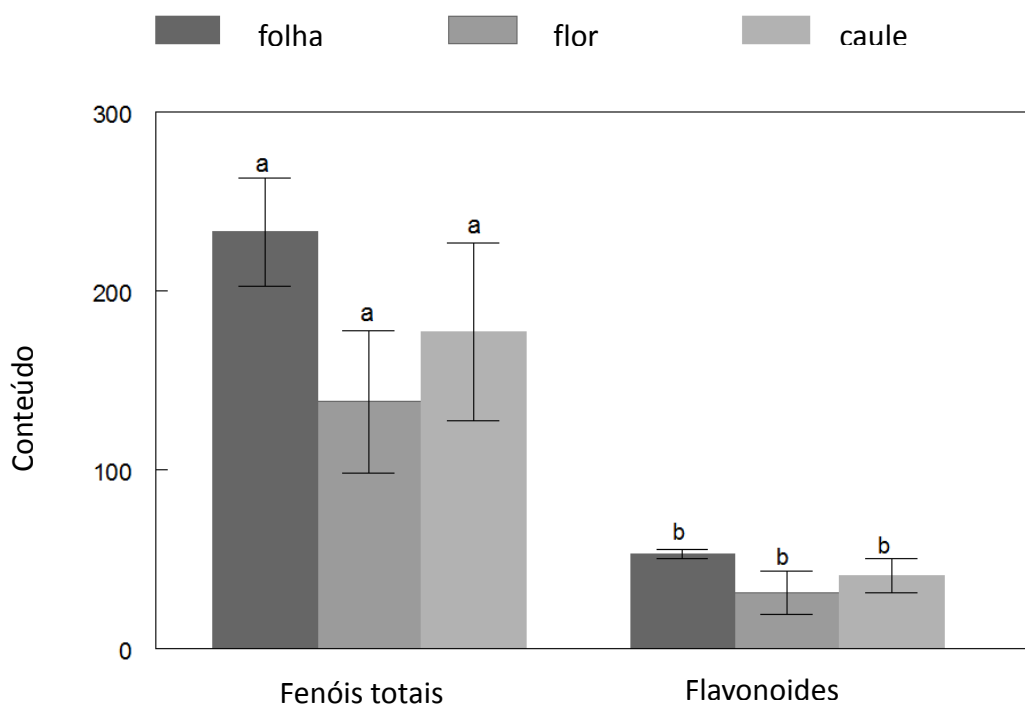
	Biomassa das Pupas (mg)	Duração Larval (dias)	Viabilidade Larval (%)	Duração Pupal (dias)	Viabilidade Pupal (%)
<b>Controle</b>	198,80±2,67 a <i>n</i> =47	16,57±0,13 b <i>n</i> =50	94,50±0,93 a <i>n</i> =50	10,11±0,11 ab <i>n</i> =47	93,77±2,46 a <i>n</i> =47
<b>FTS</b>	104,00±6,95 b <i>n</i> =12	20,34±0,49 a <i>n</i> =50	24,00±6,78 c <i>n</i> =50	10,90±0,61ab <i>n</i> =12	60,00±18,70 a <i>n</i> =12
<b>CTS</b>	183,13±11,90 a <i>n</i> =16	17,04±0,72 b <i>n</i> =50	32,00±4,89 bc <i>n</i> =50	9,30±0,91b <i>n</i> =16	61,99±3,26 a <i>n</i> =16
<b>FLTS</b>	201,78±7,31 a <i>n</i> =27	16,74±1,07 b <i>n</i> =50	54,00±10,77 b <i>n</i> =50	11,90±0,63 a <i>n</i> =27	86,06±11,08 a <i>n</i> =27

Letras distintas na mesma coluna diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. EP = erro padrão. *n*= número de insetos

**Tabela 2.** Médias (+ EP) de pré-oviposição, oviposição, pós-oviposição, quantidade de ovos, período de incubação e viabilidade dos ovos, e longevidade das fêmeas e dos machos de adultos *S. frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Temp.:  $25 \pm 1$  °C, UR:  $70 \pm 10\%$  e fotofase: 14h.

	Pré – oviposição (dias)	Oviposição (dias)	Pós – oviposição (dias)	Número de ovos (unidade)	Período de incubação dos ovos (dias)	Viabilidade dos ovos (%)	Longevidad e das fêmeas (dias)	Longevidad e dos machos (dias)
<b>Controle</b>  <i>n</i> =5	4,00±0,54a	6,80±0,40a	2,10±0,71a	939,99±214,75a	3,24±0,18a	87,79±2,57a	10,99±0,59a	9,33±0,69a
<b>FTS</b>  <i>n</i> =4	4,00±1,00a	3,50±1,50b	1,50±0,50a	87,50±50,51b	3,30±0,30a	6,25±6,25b	7,25±1,03a	6,00±0,81a
<b>CTS</b>  <i>n</i> =3	6,00±0,00a	1,50±0,76b	1,33±0,33a	124,66±32,63b	3,75±0,38a	—	8,33±0,88a	8,00±1,52a
<b>FLTS</b>  <i>n</i> =5	7,00±1,00a	1,37±0,55b	2,00±0,00a	358,80±110,44ab	4,33±0,46a	46,59±22,09ab	9,20±1,35a	7,00±0,94a

Letras distintas na mesma coluna diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. EP = erro padrão.  
n= número de casais de *S. frugiperda*.



**Fig. 1.** Conteúdo de fenóis totais e flavonoides de diferentes partes *T. silvatica\**: Fenóis totais foram expressos por mg AG / g de extrato e conteúdo de flavonoides foram expressos por mg QE / g de extrato. Os dados são apresentados como média  $\pm$  DP. As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

## Referências

- Alam MS, Chopra N, Ali M, Niwa M (1996). Oleanen and stigmasterol derivatives from *Ambrama augusta*. *Phytochem.* 41: 1197-1200.
- Alves DS, Carvalho GA, Oliveira DF, Sâmia RR, Villas-Boas MA, Carvalho GA, Côrrea AD (2012). Toxicity of copaiba extracts to armyworm (*Spodoptera frugiperda*). *Afr. J. Biotechnol.* 11(24): 6578-6591.
- Ayres MCC, Chaves MH, Rinaldo D, Vilegas W, Júnior GMV (2009). Constituintes químicos e atividade antioxidante de extratos das folhas de *Terminalia fagifolia* Mart. et Zucc. *Quim. Nova* 32(6): 1509-1512.
- Bogorni PC, Vendramim JD (2003). Bioatividade de extratos aquosos de *Trichilia* spp. sobre *S. frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho. *Neotrop. Entomol.* 32(4): 665-669.
- Bogorni PC, Vendramim JD (2005). Efeito Subletal de Extratos Aquosos de *Trichilia* spp. sobre o desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em Milho. *Neotrop. Entomol.* 34(2): 311-317.
- Bernays EA, Howard JJ, Champagne D, Estes BJ (1991). Rutin: a phagostimulant for the grasshopper *Schistocerca americana*. *Entomol. Exp. Appl.* 60(1): 19-28.
- Carpinella MC, Defago M, Valladares G, Palacios S (2003). Antifeedant and insecticidal properties of a limonoid from *Melia azedarach* (Meliaceae) with potential use for pest management. *J. Agric. Food Chem.* 51(2): 369-374.
- Carpinella MC, Ferrayoli C, Valladares G, Defago M, Palacios S (2002). Potent limonoid insect antifeedant from *Melia azedarach*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 66(8): 1731-1736.

Champagne DE, Isman MB, Towers GHN (1989). Insecticidal activity of phytochemicals and extracts of the Meliaceae. In: Arnason JT, Philogene BJR, Morand P (eds) *Insecticides of Plant Origin*, ACS Symp. Ser., Ottawa, pp 95-109.

Champagne DE, Koul O, Isman MB, Scudder GGE, Towers GHN (1992). Biological activity of limonoids from the Rutales. *Phytochem.* 31(2): 377-394.

Conceschi MR, Ansante TF, Mazzonetto F, Vendramim JD, Sossai VLM, Pizetta LC, Corbani RZ (2011). Efeito de Extratos Aquosos de *Azadirachta indica* e de *Trichilia pallida* sobre Lagartas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em Milho. *BioAssay* 6(1): 1-6.

Costa ELN, Silva RFP, Fiuza ML (2004). Efeitos, aplicações e limitações de extratos de plantas inseticidas. *Acta Biol. Leopold.* 26(2): 173-185.

Cunha US, Vendramim JD, Rocha WC, Vieira PC (2008). Bioatividade de Moléculas Isoladas de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) sobre *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Neotrop. Entomol.* 37(6): 709-715.

Cunha US, Vendramim JD, Rocha WC, Vieira PC (2006). Frações de *Trichilia pallens* com atividade inseticida sobre *Tuta absoluta*. *Rev. Pesq. Agropec. Bras.* 41(11): 1579-1585.

Daniewski WM, Anczewski W, Gumułka M, Danikiewicz W, Jacobsson U, Norin T (1996). Sesquiterpenoid constituents of *Entandrophragma cylindricum*. *Phytochem.* 43(4): 811-814.

Formagio ASN, Santos LAC, Cardoso CAL, Silva MA, Zárate NAH, Vieira MC, Caramão EB, Kassuya CAL (2012). Free Radical Scavenging and Anti-Edematogenic Activities of Essential Oil Obtained from *Trichilia silvatica* DC. (Meliaceae) Leaves. *Acta Farm. Bonaer.* 31(3): 469-473.

François T, Michel JDP, Lambert SM, Ndifor F, Vyry WNA, Henri AZP, Chantal M (2009). Comparative essential oils composition and insecticidal effect of different tissues of *Piper capense* L.; *Piper guineense* Schum. et Thonn.; *Piper nigrum* L. and *Piper umbellatum* L. grown in Cameroon. Afr. J. Biotechnol. 8(3): 424-431.

Gobbo-Neto L, Lopes NP (2007). Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. Quim. Nova. 30(2): 374-381.

Harborne JB, Grayer RJ (1994). Flavonoids and insects. In: Harborne JB (ed) The Flavonoids, Advances in Research Since 1986. Chapman & Hall, London, pp 589-618.

Huang RC, Tadera K, Yagi F, Minami Y, Okamura H, Iwagawa T, Nakatani M (1996). Limonoids from *Melia azedarach*. Phytochem. 43(3): 581-583.

Jbilou R, Ennabili A, Sayah F (2006). Insecticidal activity of four medicinal plant extracts against *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). Afr. J. Biotechnol. 5(10): 936-940.

Klocke JA, Balandrin MF, Barnby MA, Yamasaki RB (1989). Limonoids, phenolics, and furanocoumarins as insect antifeedants, repellents and growth inhibitory compounds. In: Arnason JT, Philogene BJR, Morand P (eds) Insecticides of Plant Origin, ACS Symp. Ser., pp 136-149.

Kubo I, Klocke JA (1982). An insect growth inhibitor from *Trichilia roka* (Meliaceae). Experientia 38(6): 639-640.

Gokulakrishnan J, Krishnappa K, Elumalai K (2012). Certain plant essential oils against antifeedant activity of *Spodoptera litura* (Fab.), *Helicoverpa armigera* (Hub.) and *Achaea janata* (Linn.) (Lepidoptera: Noctuidae). Int. J. Curr. Life Sci. 2(1): 5-11.

Lima FWN, Ohashi OS, Souza FRS, Gomes FS (2006). Avaliação de acessos de milho para resistência a *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em laboratório. Acta Amazon. 36(2): 147-150.



Lin JY, Tang CY (2007). Determination of total phenolic and flavonoid contents in selected fruits and vegetables, as well as their stimulatory effects on mouse splenocyte proliferation. *Food Chem.* 101(1): 140-147.

Maroneze DM, Gallegos DMN (2009). Efeito de extrato aquoso de *Melia azedarach* no desenvolvimento das fases imatura e reprodutiva de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). *Semina Ciênc. Agrar.* 30(3): 537-550.

Matsuda K (1978). Feeding stimulation of flavonoids for various leaf beetles (Chrysomelidae: Coleoptera). *Appl. Entomol. Zool.* 13: 228-230.

McMillian WW, Bowman MC, Burton RL, Starks KJ, Wiseman BR (1969). Extracts of chinaberry leaf as a feeding deterrent and growth retardant for larvae of the corn earworm and fall armyworm. *J. Econ. Entomol.* 62(3): 708-710.

Meda A, Lamien CE, Romito M, Millogo J, Nacoulma OG (2005). Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in burkina fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chem.* 91(3): 571-577.

Mikolajczak KL, Reed DK (1987). Extractiveness of seeds of the Meliaceae: effects on *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith), *Acalyma vittatum* (F.), and *Artemia salina* Leach. *J. Chem. Ecol.* 13(1): 99-111.

Mikolajczak KL, Zilkowski BW, Bartelt RJ (1989). Effect of meliaceous seed extracts on growth and survival of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). *J. Chem. Ecol.* 15(1): 121-128.

Morimoto M, Kumeda S, Komai K (2000). Insect antifeedant flavonoids from *Gnaphalium affine* D. Don. *J. Agric. Food Chem.* 48(5): 1888-1891.

Mossini SAG, Kimmelmeier C (2005). A árvore Nim (*Azadirachta indica*. A. Juss.): múltiplos usos. *Acta Farm. Bonaerense*, 24(1): 139-148.

Musabyimana T, Saxena RC, Kairu EW, Ogol CPKO, Khan ZR (2001). Effects of neem seed derivatives on behavioral and physiological responses of the *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera: Curculionidae). J. Econ. Entomol. 94(2): 449-454.

Nakatani M, James JC, Nakanishi K (1981). Isolation and structures of trichilins, antifeedants against the southern army worm. J. Am. Chem. Soc. 103(5): 1228-1230.

Nebo L, Matos AP, Vieira PC, Fernandes JB, Silva MFGF (2010). Atividade inseticida dos frutos de *Trichilia clausenii* (meliaceae) sobre *Spodoptera frugiperda*. Quim. Nova 33(9): 1849-1852.

Nyasse B, Ghogomu R, Sondengam Tih BL, Martin MT, Bodo B (1988). Mandassidione and other sesquiterpenic ketones from *Cyperus articulatus*. Phytochem. 27(10): 3319-3321.

Pratissoli D, Thuler RT, Pereira FF, Reis EF, Ferreira AT (2004). Ação transovariana de lufenuron (50 g/l) sobre adultos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) e seu efeito sobre o parasitóide de ovos *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Ciênc. agrotec. 28(1): 9-14.

Pennington TD, Styles BT, Taylor DAH (1981). Meliaceae. Flora Neotropica, New York, 28: 1- 470.

Reyes-Chilpa R, Viveros-Rodriguez N, Gomez-Garibay F, Alavez-Solano D (1995). Antitermitic activity of *Lonchocarpus castilloi* flavonoids and heartwood extracts. J. Chem. Ecol. 21(4): 455-463.

Rodríguez HC, Vendramim JD (1996). Toxicidad de extractos acuosos de Meliaceae en *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Man. Integ. Plagas 42: 14-22

Rodríguez HC, Vendramim JD (1997). Avaliação da bioatividade de extratos aquosos de Meliaceae sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). Rev. Agric. 72: 305-318.

Roel AR, Vendramin JD (1999). Desenvolvimento de *S. frugiperda* (J. E. Smith) em genótipos de milho tratados com extrato acetato de etila de *Trichilia pallida* (Swartz). *Sci. Agric.* 56(3): 581-586.

Roel AR, Vendramim JD, Frighetto RTS, Frighetto N (2000) a. Atividade tóxica de extratos orgânicos de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). *An. Soc. Entomol. Bras.* 29(4): 799-808.

Roel AR, Vendramim JD, Frighetto RTS, Frighetto N (2000) b. Efeito do extrato acetato de etila de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) no desenvolvimento e sobrevivência da lagarta-do-cartucho. *Bragantia* 59(1): 53-58.

Schmidt GH, Ahmed AAI, Breuer M (1997). Effect of *Melia azedarach* extract on larval development and reproduction parameters of *Spodoptera littoralis* (Boisd.) and *Agrotis ipsilon* (Hufn.) (Lep. Noctuidae). *Anz. Schädlingskd. Pfl. Umwelt.* 70(1): 4-12.

Schumutterer H (1990). Properties and potencial of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. *Annu. Rev. Entomol.* 35: 271-297.

Simmonds MSJ (2001). Importance of flavonoids in insect–plant interactions: Feeding and oviposition. *Phytochem.* 56(3): 245-252.

Simmonds<sup>\*†</sup> MSJ, Stevenson<sup>‡†</sup> PC, Porter<sup>†</sup> EA, Veitch<sup>†</sup> NC (2001). Insect Antifeedant Activity of Three New Tetranortriterpenoids from *Trichilia pallida* J. Nat. Prod. 64(8): 1117-1120.

Soares AO (2013). Estudo químico das folhas de *Trichilia silvatica* (meliaceae) e das sementes de *Trichilia stellato-tomentosa* (Meliaceae). Thesis, Federal University of Mato Grosso do Sul.

Thomazini APBW, Vendramim JD, Lopes MTR (2000). Extratos aquosos de *Trichilia pallida* e a traça-do-tomateiro. *Sci. agric.* 57(1): 13-17.

Torrecillas SM, Vendramim JD (2001). Extrato aquoso de ramos de *Trichilia pallida* e o desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* em genótipos de milho. *Sci. Agric.* 58(1): 27-31.

Torres AL, Barros R, Oliveira JV (2001). Efeito de extratos aquosos de plantas no desenvolvimento de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). *Neotrop. Entomol.* 30(1): 151-156.

Wheeler DA, Isman MB (2000). Effect of *Trichilia americana* extract on feeding behavior of asian armyworm, *Spodoptera litura*. *J. Chem. Ecol.* 26(12): 2791-2800.

Xie YS, Isman MB, Gunning P, Mackinnon S, Arnason JT, Taylor DR, Sanchez P, Hasbun C, Towers GHN (1994). Biological activity of extracts of *Trichilia* species and the limonoid hirtin against lepidopteran larvae. *Biochem. Syst. Ecol.* 22(2): 129-136.

Zuanazzi JAS, Montanha JA (2004). Flavonoides. In: Simões CMO et al. (eds) *Farmacognosia: da planta ao medicamento*, 5th edn. Ed. da UFSC, Porto Alegre, pp. 577-614.