

MAYARA CRISTINA LOPES

**TOXICIDADE DE NOVAS AMIDAS A *Ascia monuste*, AO PREDADOR *Solenopsis saevissima* E AO POLINIZADOR *Tetragonisca angustula***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2015

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

L864t  
2015  
Lopes, Mayara Cristina, 1989-  
Toxicidade de novas amidas a *Ascia monuste*, ao predador  
*Solenopisis saevissima* e ao polinizador *Tetragonisca angustula*  
/ Mayara Cristina Lopes. – Viçosa, MG, 2015.  
vii, 21f. : il. ; 29 cm.

Orientador: Marcelo Coutinho Picanço.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f.19-21.

1. Inseticida - Análise. 2. Inseticida - Toxicologia. 3.  
Pragas - Controle. 4. *Ascia monuste*. 5. *Solenopisis saevissima*.  
6. *Tetragonisca angustula*. I. Universidade Federal de Viçosa.  
Departamento de Biologia Animal. Programa de Pós-graduação  
em Entomologia. II. Título.


CDD 22. ed. 632.951

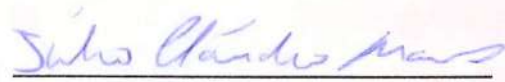
MAYARA CRISTINA LOPES

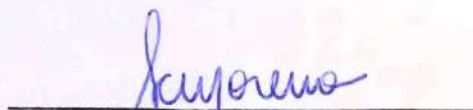
**TOXICIDADE DE NOVAS AMIDAS A *Ascia monuste*, AO PREDADOR  
*Solenopisis saevissima* E AO PREDADOR *Tetragonisca angustula***

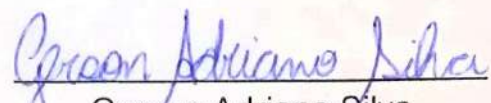
Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*

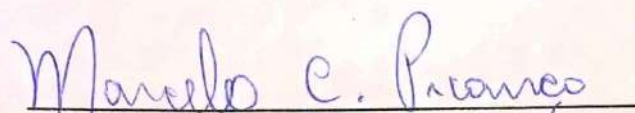
APROVADA: 20 de fevereiro de 2015.

  
Elson Santiago de Alvarenga

  
Júlio Claudio Martins

  
Shaiene Costa Moreno

  
Gerson Adriano Silva

  
Marcelo Coutinho Picanço  
(Orientador)

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Entomologia, pela oportunidade de realização do mestrado. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudo.

Ao orientador e amigo, professor Marcelo Coutinho Picanço, pela amizade e confiança, pelos ensinamentos valiosos, pela paciência e pelo estímulo ao longo desses anos. À sua esposa Kátia e aos seus filhos Mayara, Luíza e Marcelo Filho, pelo agradável convívio.

Aos professores Elson Santiago de Alvarenga, Shaiene Costa Moreno, Gerson Adriano Silva, Júlio Cláudio Martins, componentes da banca, pela cordialidade em aceitar o convite e pela forma como participaram.

Aos estagiários do laboratório de Manejo Integrado de Pragas: Izaílda, Mirian, Lucas, Obiratanea, Thiago, Elenir, Vitor, Elizeu, Dalton, João, Júlia, Daniel, Patrícia Fernandes, Patrícia Pimentel e Daiane, pela convivência maravilhosa e enriquecedora, e principalmente a Izaílda, pela grande e essencial ajuda na realização deste trabalho.

Aos amigos da pós-graduação do Laboratório de Manejo Integrado de Pragas, Antônio, Tarcísio, Ricardo, Renata, Paulo, Rodrigo e Tamiris pela grande amizade, convívio e companheirismo ao longo da minha vida acadêmica. Em especial, gostaria de agradecer ao Gerson e Tarcísio pela amizade e pela ajuda nas análises dos dados.

Aos meus amigos Ana Maria, Amanda, Carla e Nayara pelos conselhos e amizade em todos os momentos.

A todos os colegas dos cursos de Entomologia e Agronomia pelo agradável convívio durante as disciplinas cursadas e pela relação de amizade.

A secretária do Programa de Pós-graduação em Entomologia, Eliane pela competência e dedicação ao trabalho e ao funcionário José Evaristo pela amizade.

A todos os meus familiares, que diretamente ou indiretamente ofereceram condições para que eu progredisse na minha caminhada.

Em especial, agradeço aos meus pais Wilson e Célia, por toda a dedicação, paciência, carinho, conselhos, amor e por sempre me incentivarem durante toda a minha caminhada. A minha irmã Renata por todo carinho, amizade e amor.

Ao Túlio pelo amor, carinho, amizade, companheirismo, incentivo, apoio e pela paciência demonstrada ao longo de nossa convivência.

Por fim, a todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a execução deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

Muito obrigada a todos!

## **BIOGRAFIA**

MAYARA CRISTINA LOPES, filha de Wilson Antônio Lopes e Maria Célia de Souza Pimentel Lopes, nasceu em Viçosa, Minas Gerais, no dia 10 de janeiro de 1989.

Em março de 2008, ingressou no curso de Agronomia pela Universidade Federal de Viçosa, graduando-se em março de 2013. Durante a graduação, de janeiro de 2009 a março de 2013 foi estagiária bolsista no Laboratório de Manejo Integrado de Pragas do Setor de Entomologia do DDE/UFV, sob a orientação do Professor Marcelo Coutinho Picanço. Nesse período desenvolveu vários trabalhos na área de Manejo Integrado de Pragas em diversas culturas. Foi monitora da disciplina Entomologia Agrícola por dois semestres coordenado pelo Prof. Marcelo Coutinho Picanço.

Em março de 2013 ingressou no curso de mestrado do Programa de Pós-graduação em Entomologia, Universidade Federal de Viçosa, defendendo tese em fevereiro de 2015.

## SUMÁRIO

RESUMO .....	vi
ABSTRACT .....	vii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	2
2.1. Síntese das amidas .....	2
2.2. Insetos .....	3
2.3. Toxicidade das substâncias a <i>A. monuste</i> .....	6
2.3.1. Seleção das amidas com atividade inseticida sobre <i>A. monuste</i> .....	7
2.3.2. Determinação de curvas dose-mortalidade das amidas com maior atividade inseticida sobre <i>A. monuste</i> .....	7
2.3.3. Determinação de curvas de sobrevivência das amidas mais tóxicas a <i>A. monuste</i> .....	8
2.4. Seletividade das amidas em favor da formiga predadora <i>S. saevissima</i> e da abelha polinizadora <i>T. angustula</i> .....	8
3. RESULTADOS.....	9
3.1. Toxicidade das substâncias a <i>A. monuste</i> .....	9
3.2. Seletividade das amidas 3 e 4 em favor da formiga predadora <i>S. saevissima</i> e a abelha polinizadora <i>T. angustula</i> .....	10
4. DISCUSSÃO.....	16
5. CONCLUSÕES.....	18
6. LITERATURA CITADA .....	19

## RESUMO

LOPES, Mayara Cristina, M.Sc, Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2015. **Toxicidade de novas amidas a *Ascia monuste*, ao predador *Solenopsis saevissima* e ao polinizador *Tetragonisca angustula*.** Orientador: Marcelo Coutinho Picanço.

A demanda por novos inseticidas é crescente devido à seleção de populações de insetos resistentes aos produtos existentes no mercado. Estes novos produtos devem ser eficientes no controle das pragas e ter baixa toxicidade aos organismos não-alvo como os inimigos naturais e polinizadores. Uma alternativa para a síntese de pesticidas de baixo impacto sobre organismos não-alvo é a utilização de moléculas naturais como modelo. Um exemplo destas moléculas naturais são as amidas extraídas da planta *Piper nigrum*. A *Ascia monuste* (Lepidoptera: Pieridae) é praga-chave em brássicas nas Américas e *Solenopsis saevissima* (Hymenoptera: Formicidae) é um importante predador desta praga. Já a abelha *Tetragonisca angustula* (Hymenoptera: Apidae) é um importante polinizador de plantas na região Neotropical. Assim, os objetivos deste trabalho foram determinar a toxicidade de nove amidas sintéticas (cuja atividade inseticida é desconhecida) ao inseto-praga *A. monuste* e sua seletividade em favor do predador *S. saevissima* e ao polinizador *T. angustula*. As amidas 3 e 4 causaram altas (>80%) e rápidas (<48h) mortalidades ao inseto-praga *A. monuste*. Estas duas amidas também foram pouco tóxicas ao predador (mortalidade <10%) e ao polinizador (mortalidade <40%).

## ABSTRACT

LOPES, Mayara Cristina, M.Sc, Universidade Federal de Viçosa, February, 2015. **Toxicity of new amides to *Ascia monuste*, the predator *Solenopsis saevissima* and pollinator *Tetragonisca angustula*.** Adviser: Marcelo Coutinho Picanço.

The demand for new insecticides is increasing due to the appearance of insect populations resistant to existing products. These new products should be efficient in the control of pests and have low toxicity to non-target organisms as well as natural enemies and pollinators. An alternative to the synthesis of low impact pesticides on non-target organisms is the use of natural molecules as model. As example of these natural molecules we have the amides extracted from the plant *Piper nigrum*. The *Ascia monuste* (Lepidoptera: Pieridae) is a pest of brassica in the Americas and *Solenopsis saevissima* (Hymenoptera: Formicidae) is an important predator of this pest. On the other hand the bee *Tetragonisca angustula* (Hymenoptera: Apidae) is an important pollinator of plants in the Neotropical region. Thus the aim of this study was to determine the toxicity of nine synthetic amides (which insecticidal activity is unknown) to the insect pest *A. monuste* and its selectivity in favor to the predator *S. saevissima* and the pollinator *T. angustula*. Amides 3 and 4 caused high (> 80%) and fast (<48 hours) mortality to the insect pest *A. monuste*. These two amides were also slightly toxic to the predator (mortality <10%) and pollinator (mortality <40%).

## 1. INTRODUÇÃO

Os insetos praga constituem um dos grandes problemas enfrentados pelo homem, tanto no ambiente urbano como no ambiente rural. O uso de inseticidas é a principal ferramenta utilizada no controle destes organismos (Matthews 2008). Neste contexto, é importante a descoberta de novas moléculas inseticidas, já que devido à seleção de populações de insetos resistentes aos inseticidas, os produtos existentes no mercado tornam-se ineficientes no controle das pragas (Whalon et al. 2008). Também é importante que os novos inseticidas tenham baixa toxicidade ao homem e baixo impacto sobre organismos não-alvos como os inimigos naturais e polinizadores (Gradish et al. 2011).

Uma opção para a síntese de novos pesticidas é a utilização de moléculas-modelos naturais. Entre as moléculas-modelos naturais para síntese de novos inseticidas têm-se as amidas como a piperina extraídas de plantas da família Piperaceae como a pimenta do reino (*Piper nigrum* L.) (Navickiene 2007) e as diamidas antranílicas isolados da planta *Ryania speciosa* (Vahl) (Salicaceae) (Sattelle et al. 2008).

Entre os principais grupos de pragas agrícolas estão as lagartas (Lepidoptera), das quais se inclui a *Ascia monuste* (Godart) (Pieridae). Esta praga ocorre nas Américas do Sul, Central e do Norte atacando plantas da família Brassicaceae como brócolis, couve-flor, couve, couve-tronchuda, couve-de-bruxelas, couve-rábano, repolho, couve-chinesa, mostarda, canola, agrião, rabanete e rúcula (Liu 2005, CABI 2010). As larvas de *A. monuste* podem ocasionar perdas de até 100% na produção das culturas devido à desfolha que causa às plantas (Picanço et al. 2010).

Entre os inimigos naturais de *A. monuste* está a formiga *Solenopsis saevissima* (Smith) (Hymenoptera: Formicidae), que preda larvas e pupas desta praga (Ramos et al. 2012). Outro importante grupo de insetos benéficos associados aos ecossistemas são as abelhas (Hymenoptera: Apidae). As abelhas são importantes polinizadoras das plantas. A polinização realizada por abelhas é extremamente importante em culturas agrícolas e elas são responsáveis por 90% do sucesso reprodutivo das plantas floríferas (Shipp 1994).

Atualmente é registrado declínio das populações de abelhas em diversas regiões do planeta (Bernal et al. 2010, Neumann & Carreck 2010). Uma hipótese para o desaparecimento de populações de abelhas é o uso dos inseticidas neonicotinóides (Goulson 2013). Entre as espécies de abelhas está *Tetragonisca angustula* (Latreille) (Meliponinae) que é conhecida popularmente como jataí. *Tetragonisca angustula* é uma das espécies de abelhas sem ferrão mais importante na região Neotropical (Moure 1961).

Assim, este trabalho teve o objetivo de determinar a toxicidade de nove amidas sintéticas (cuja ação inseticida não é conhecida) a larvas de *A. monuste* e a seletividade destas substâncias em favor do predador *S. saevissima* e do polinizador *T. angustula*.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Síntese das amidas

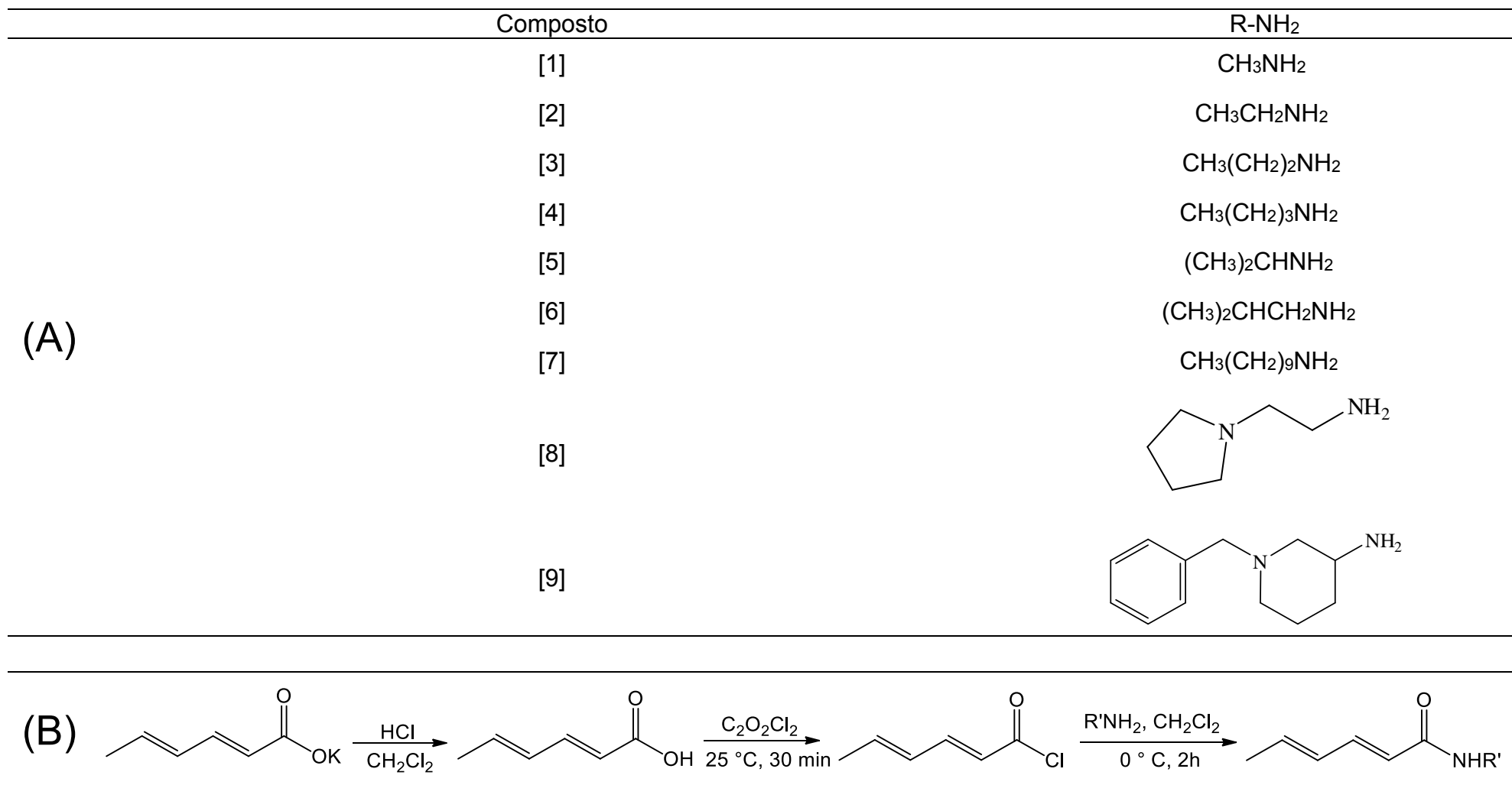
Nos bioensaios foram utilizadas nove amidas sintetizadas a partir do sorbato de potássio. Em um funil de separação de 1000 mL foram colocados os seguintes reagentes: sorbato de potássio (10 g; 67,5 mmol), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100 mL) e

solução de ácido clorídrico 1 mol/L (100 mL). A mistura foi agitada por 10 minutos. As fases orgânica e aquosa foram separadas e a fase aquosa foi extraída com CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. As fases orgânicas foram reunidas e adicionou-se MgSO<sub>4</sub> anidro para a remoção da água residual. O solvente foi removido sob pressão reduzida e foi obtido o ácido (2*E*, 4*E*)-hexa-2,4-dienóico.

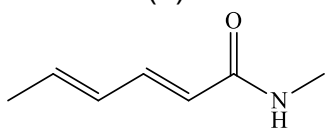
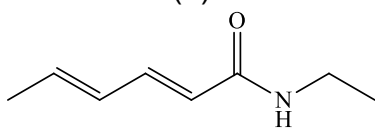
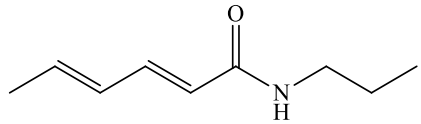
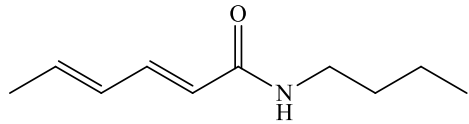
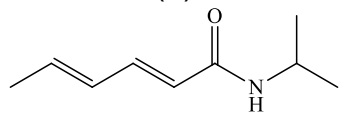
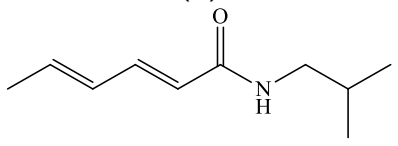
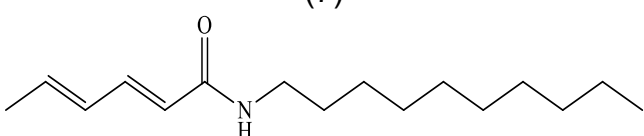
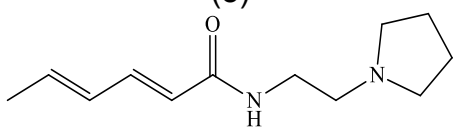
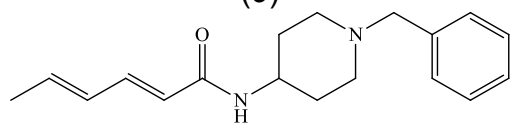
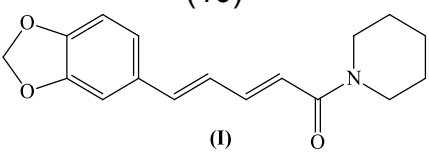
Foi adicionado a um balão de 500 mL o ácido (2*E*, 4*E*)-hexa-2,4-dienóico (0,5 g, 4,46 mmol) em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro (20,0 mL). Em seguida, foi inserido o cloreto de oxalila (C<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (1,0 mL; 11,5 mmol) formando o cloreto de ácido. Após esse período o solvente e o excesso de cloreto de oxalila foram removidos sob pressão reduzida em evaporador rotativo levando a obtenção de um óleo verde. O óleo verde obtido na primeira etapa foi dissolvido em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (20 mL) e transferido para um balão de fundo redondo (20,0 mL). Foram adicionados 11,5 mmol de cada amina (Figura 1). A mistura foi mantida sob agitação e atmosfera de N<sub>2</sub> a 0 °C por duas horas. Em seguida o excesso de solvente foi removido em evaporador rotativo sob pressão reduzida. O resíduo obtido foi purificado em coluna de sílica gel utilizando como eluente uma mistura de hexano e acetato de etila, obtendo assim as amidas de 1 a 9 (Figuras 1 e 2).

## 2.2. Insetos

Nos bioensaios foram usadas larvas de segundo ínstar de *A. monuste*, adultos da formiga predadora *S. saevissima* e da abelha sem ferrão *T. angustula*. Os adultos de *S. saevissima* e *T. angustula* foram coletados em ninhos no Campus da Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, Estado de Minas Gerais, Brasil (20°48'45''S, 42°56'15''W, altitude 600m e clima tropical). Já as larvas de *A. monuste* foram provenientes de criação em casa de vegetação no Campus da UFV.



**Figura 1.** (A) Aminas utilizadas para a síntese das amidas insaturadas e (B) esquema geral de obtenção das amidas insaturadas.

(1) 	(2) 
Amida 1: (2 <i>E</i> , 4 <i>E</i> )- <i>N</i> -(metil)exa-2,4-dienamida	Amida 2 (2 <i>E</i> , 4 <i>E</i> )- <i>N</i> -(etil)exa-2,4-dienamida
(3) 	(4) 
Amida 3: (2 <i>E</i> , 4 <i>E</i> )- <i>N</i> -(propil)exa-2,4-dienamida	Amida 4: (2 <i>E</i> , 4 <i>E</i> )- <i>N</i> -(butil)exa-2,4-dienamida
(5) 	(6) 
Amida 5: (2 <i>E</i> , 4 <i>E</i> )- <i>N</i> -(isopropil)exa-2,4-dienamida	Amida 6: (2 <i>E</i> , 4 <i>E</i> )- <i>N</i> -(isobutil)exa-2,4-dienamida
(7) 	(8) 
Amida 7: (2 <i>E</i> , 4 <i>E</i> )- <i>N</i> -(decil)exa-2,4-dienamida	Amida 8: (2 <i>E</i> , 4 <i>E</i> )- <i>N</i> -(pirrolidin-1-il)etil exa-2,4-dienamida
(9) 	(10) 
Amida 9: (2 <i>E</i> , 4 <i>E</i> )- <i>N</i> -(1-benzilpiperidin-4il)exa-2,4- dienamida	Amida 10: Piperina

Características	Substâncias									
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)
Peso molecular (g. mol <sup>-1</sup> )	125,17	139,19	153,22	167,25	153,22	167,25	251,41	208,3	284,4	285,34
Solubilidade em água (g. L <sup>-1</sup> )	21,28	10,86	4,14	2,34	4,29	2,34	0,02	2,5	0,16	0,04

**Figura 2.** Estrutura molecular e características das substâncias estudadas.

Solubilidade em água em pH 7.

Para estabelecimento das doses usadas nos bioensaios foi pesado a massa corporal de 20 insetos de cada espécie em balança analítica (Gehaka, AG 200, precisão de 0,1mg). As massas corporais médias dos insetos foram: 1,40 mg (larva de segundo ínstar de *A. monuste*), 0,77 mg (adulto de *S. saevissima*) e 4,0 mg (adulto de *T. angustula*).

### **2.3. Toxicidade das substâncias a *A. monuste***

Os bioensaios foram realizados em sala climatizada à temperatura de  $27 \pm 2$  °C, umidade relativa do ar  $75 \pm 5\%$  e fotofase de 12 horas. Foram realizados três bioensaios, na qual primeiramente foram selecionadas as amidas com atividade inseticida sobre a *A. monuste*. No segundo foram determinadas curvas dose-mortalidade para as amidas selecionadas no primeiro bioensaio. No terceiro bioensaio foram estimadas curvas tempo-mortalidade das amidas selecionadas no primeiro bioensaio. Nos três bioensaios o delineamento utilizado foi inteiramente casualizado. Cada parcela experimental foi constituída por placa de Petri (9 cm diâmetro por 2 cm de altura) contendo dez larvas de segundo ínstar de *A. monuste*. No fundo de cada placa de Petri foi colocado um disco de folha de couve para alimentação das larvas.

Cada inseto foi tratado topicamente com soluções das amidas diluídas em acetona (Vetec P.A. 99,5%) usando-se microseringa de 10 µL (Hamilton modelo 701N). Foram aplicados 0,5 µL de solução em cada inseto. A piperina foi utilizada como padrão de toxicidade. No tratamento controle, os insetos foram tratados topicamente com igual volume de acetona.

### **2.3.1. Seleção das amidas com atividade inseticida sobre *A. monuste***

A dose utilizada foi 30 mg de substância por grama de massa corporal do inseto. Neste bioensaio foram usadas seis repetições para cada tratamento. Os tratamentos foram as nove amidas, a piperina (amida usada como padrão de eficiência) (Figura 2) e o controle (acetona).

A avaliação de mortalidade foi realizada 48 horas após a aplicação dos tratamentos. Foram considerados mortos os insetos que se apresentaram imóveis ao estímulo de um pincel. Os dados de mortalidade de *A. monuste* foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste Tukey a  $P < 0,05$ . Foram selecionadas para os próximos bioensaios as amidas que causaram mortalidades a *A. monuste*  $\geq 80\%$ , considerando o critério usado no Brasil para discriminar a eficiência de inseticidas para controle de uma praga (MAPA 1995). Foi realizada análise de correlação entre a mortalidade de *A. monuste* com o peso molecular e a solubilidade em água das amidas.

### **2.3.2. Determinação de curvas dose-mortalidade das amidas com maior atividade inseticida sobre *A. monuste***

O delineamento experimental, parcela experimental, condução e avaliações foram semelhantes aos do bioensaio anterior. Os tratamentos foram doses das duas amidas selecionadas no bioensaio anterior e o controle. Foram usadas seis (2,5; 5,0; 12,5; 13,0; 17,5; 30,0 mg por grama de inseto) e sete doses (0,15; 0,75; 1,25; 2,0; 5,0; 15,0; 30,0 mg por grama de inseto) das amidas 3 e 4, respectivamente. A mortalidade dos insetos foi avaliada 48 horas após a aplicação dos tratamentos.

Os dados de mortalidade foram corrigidos em relação à mortalidade do controle usando-se a fórmula de Abbott (1925). As mortalidades corrigidas

foram submetidas à análise de Probit (Finney 1971) usando o procedimento PROC PROBIT do SAS (SAS 2013). Foram aceitas curvas que apresentaram probabilidade maior que 0,05 pelo teste  $\chi^2$  (Young & Young 1998). A partir destas curvas foi determinada para cada amida as doses letais para 50 e 90% (DL<sub>50</sub> e DL<sub>90</sub>) da população de *A. monuste* e os intervalos de confiança para estas doses a 95% de probabilidade.

### **2.3.3. Determinação de curvas de sobrevivência das amidas mais tóxicas a *A. monuste***

Os tratamentos foram as DL<sub>90</sub> das amidas selecionadas (20,89 e 6,75 mg por grama de inseto para as amidas 3 e 4, respectivamente), além do controle. Foram utilizados 60 insetos por tratamento. Foi monitorada a mortalidade dos insetos no período de 0 a 48 horas.

Os dados de mortalidade de *A. monuste* em função do tempo após a aplicação dos tratamentos foram submetidos à análise de sobrevivência, pelo método do produto-limite de Kaplan–Meier (SAS 2013). Por meio dessas curvas, foram estimados os tempos letais para 50% da população (TL<sub>50</sub>). Os TL<sub>50</sub> das substâncias foram considerados diferentes quando suas médias não se inseriram no intervalo de confiança a 95% de probabilidade da outra substância.

### **2.4. Seletividade das amidas em favor da formiga predadora *S. saevissima* e da abelha polinizadora *T. angustula***

Os tratamentos foram as DL<sub>90</sub> das amidas selecionadas e o controle. Os insetos usados neste bioensaio foram larvas de segundo ínstar de *A. monuste* e adultos de *S. saevissima* e de *T. angustula*. A parcela para *A. monuste* foi a mesma usada nos demais bioensaios. Já para os dois outros insetos a parcela

foi constituída por placa Petri contendo 10 adultos. No fundo da placa de Petri foi colocado algodão umedecido e um recipiente plástico (1,5 cm de diâmetro x 1 cm de altura) com cãndi (85% de açúcar e 15% de mel) para alimentação dos insetos. Antes da aplicação dos tratamentos, os adultos de *T. angustula* foram mantidos sob-refrigeração por um minuto, a fim de anestesiá-los para facilitar a aplicação tópica. Foram utilizadas seis repetições por tratamento. A mortalidade dos insetos foi avaliada 48 horas após a aplicação dos tratamentos. Para cada tratamento as mortalidades de *S. saevissima* e *T. angustula* foram comparadas com a mortalidade de *A. monuste* pelo teste t a  $P < 0,05$ .

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. Toxicidade das substâncias a *A. monuste*

Houve diferença significativa na mortalidade das larvas de *A. monuste* em função dos tratamentos ( $F_{10; 55} = 121,20$ ;  $P < 0,001$ ). De acordo com a mortalidade causada às larvas de *A. monuste* (dose de 30 mg de substância por grama de inseto) as substâncias estudadas podem ser divididas em três grupos. No primeiro grupo estão a piperina e as amidas 3 e 4 que foram as substâncias que causaram as maiores mortalidades (86 a 96%) às larvas de *A. monuste*. No segundo grupo estão as amidas 2, 5 e 9 que causaram mortalidades intermediárias (47 a 55%) às larvas de *A. monuste*. Já no terceiro grupo estão as amidas 1, 6, 7 e 8 que foram as substâncias que causaram as menores mortalidades as larvas de *A. monuste*, sendo que estas mortalidades foram semelhantes à ocorrida no controle (Figura 3). Portanto as amidas 3 e 4 foram selecionadas para serem submetidas aos ensaios posteriores. Não houve

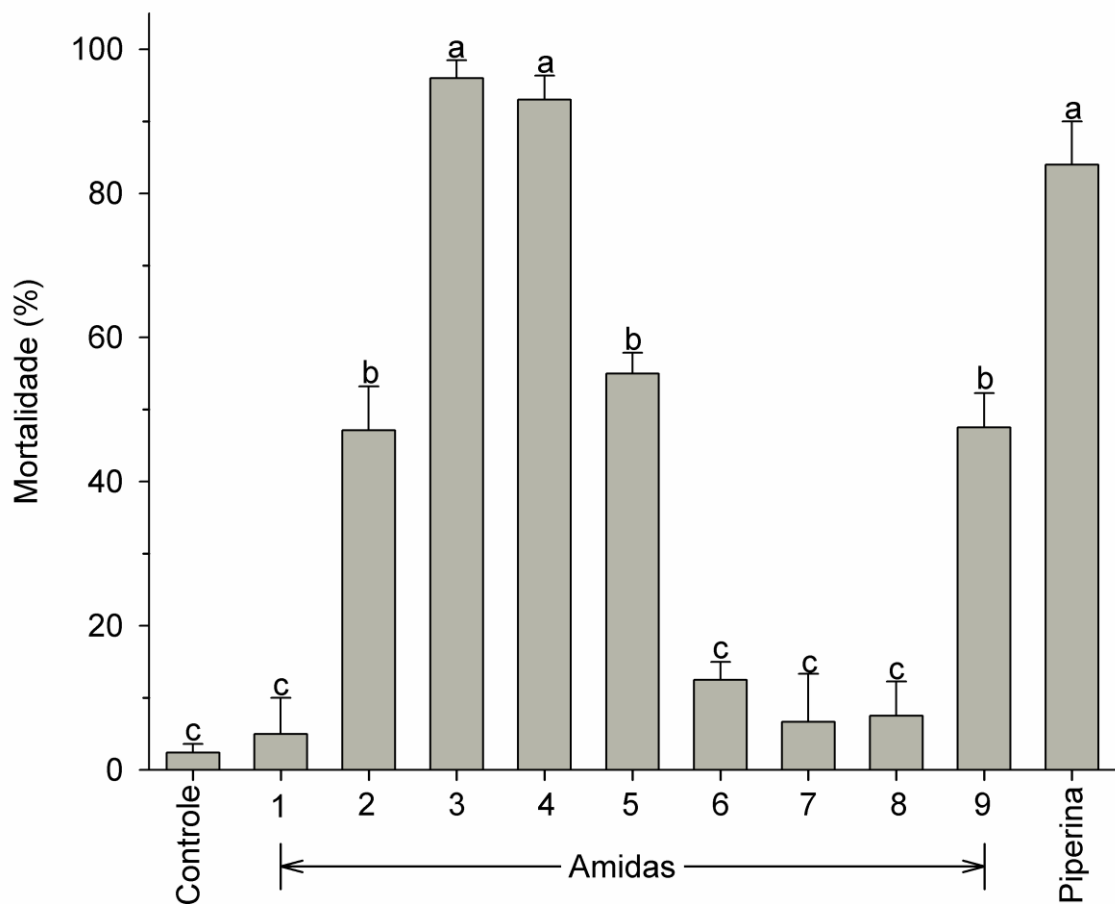
correlações significativas entre as mortalidades causadas pelas substâncias (dose de 30 mg. g<sup>-1</sup>) com seus pesos moleculares ( $r = 0,04$ ;  $t = 0,11$ ;  $P = 0,457$ ) e solubilidade em água ( $r = -0,30$ ;  $t = 0,89$ ;  $P = 0,206$ ) (Figuras 2 e 3).

Quando submetidas a diferentes doses das substâncias foi verificado que a amida 4 foi a substância que teve a maior toxicidade para larvas de *A. monuste*, apresentando o menor valor de DL<sub>50</sub>. A inclinação da curva de dose-mortalidade para *A. monuste* da amida 3 foi maior que inclinação da amida 4 (Figura 4).

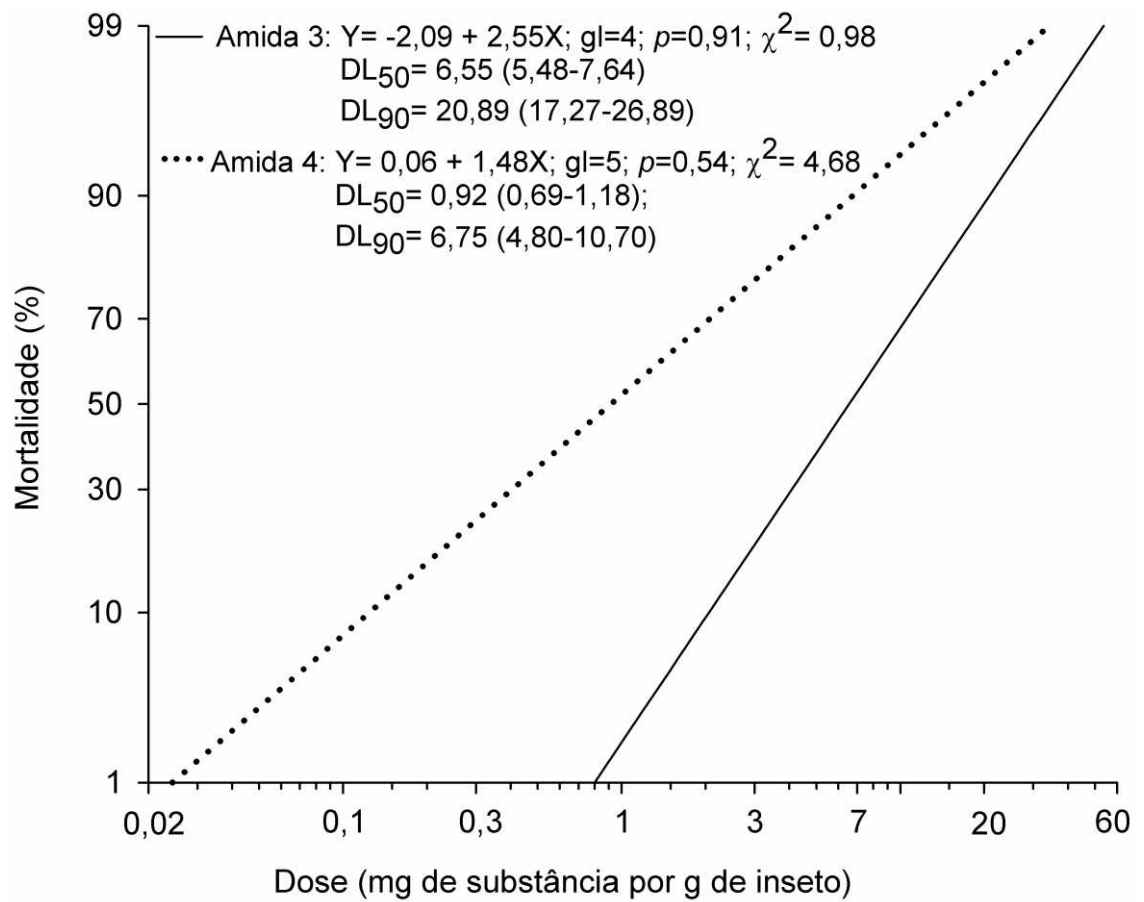
Não ocorreu diferença significativa na rapidez de ação das larvas de *A. monuste* pelas amidas 3 e 4 (teste de log-rank,  $\chi^2 = 0,0261$ , graus de liberdade = 1,  $P = 0,87$ ). Após 48 horas 100% das larvas de *A. monuste* no controle permaneceram vivas enquanto que 90% das larvas tratadas com as amidas 3 e 4 morreram (Figura 5). Os tempos letais das amidas 3 e 4 para a metade da população de larvas de *A. monuste* (TL<sub>50</sub>) foram semelhantes (Figura 6).

### **3.2. Seletividade das amidas 3 e 4 em favor da formiga predadora *S. saevissima* e a abelha polinizadora *T. angustula***

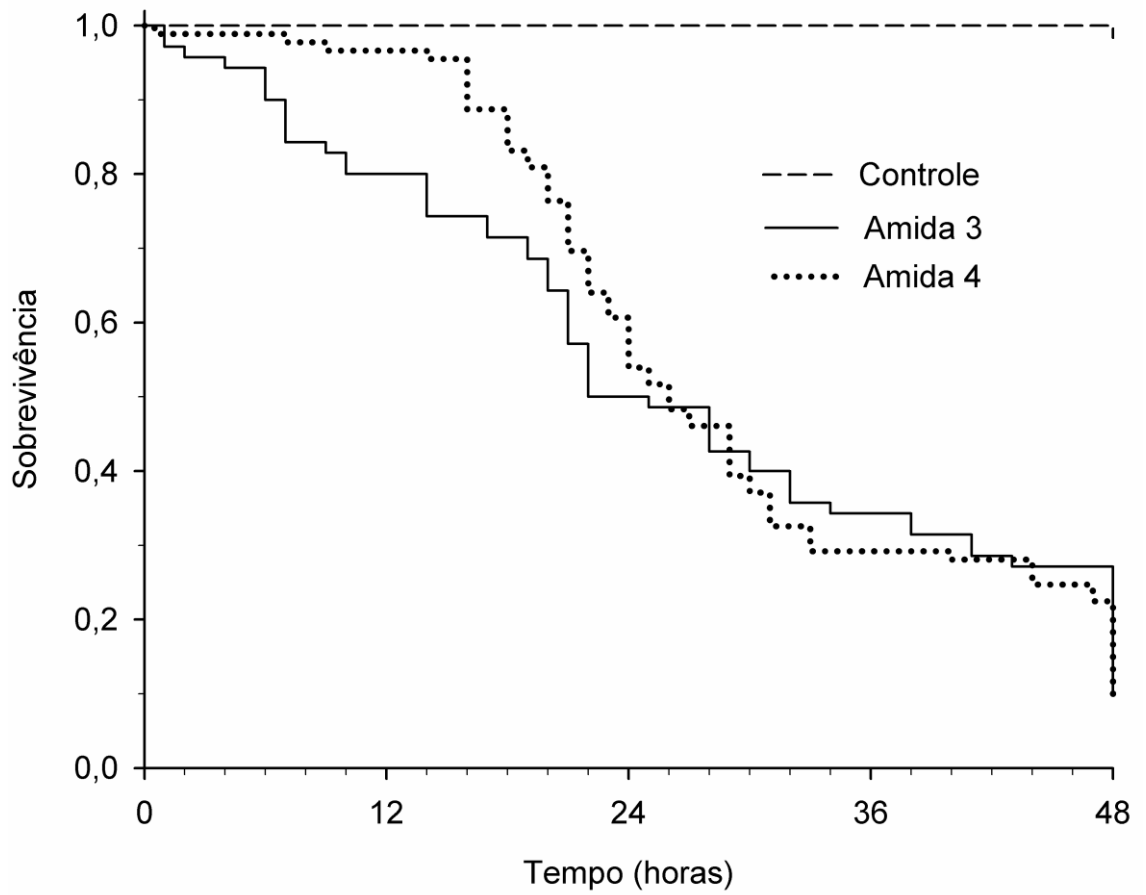
As mortalidades causadas pelas amidas 3 e 4 a *A. monuste* foram maiores que aquelas que estas substâncias ocasionaram ao predador *S. saevissima* e ao polinizador *T. angustula*. A amida 3 causou 96% de mortalidade das larvas de *A. monuste* e 5,7 e 38,57% de mortalidade de *S. saevissima* e *T. angustula*, respectivamente. A amida 4 causou 93% de mortalidade para as larvas de *A. monuste* e 7,14 e 28,12% de mortalidade para *S. saevissima* e *T. angustula*, respectivamente (Figuras 7A e 7B). Portanto as amidas 3 e 4 apresentam seletividade em favor da formiga predadora *S. saevissima* e da abelha polinizadora *T. angustula*.



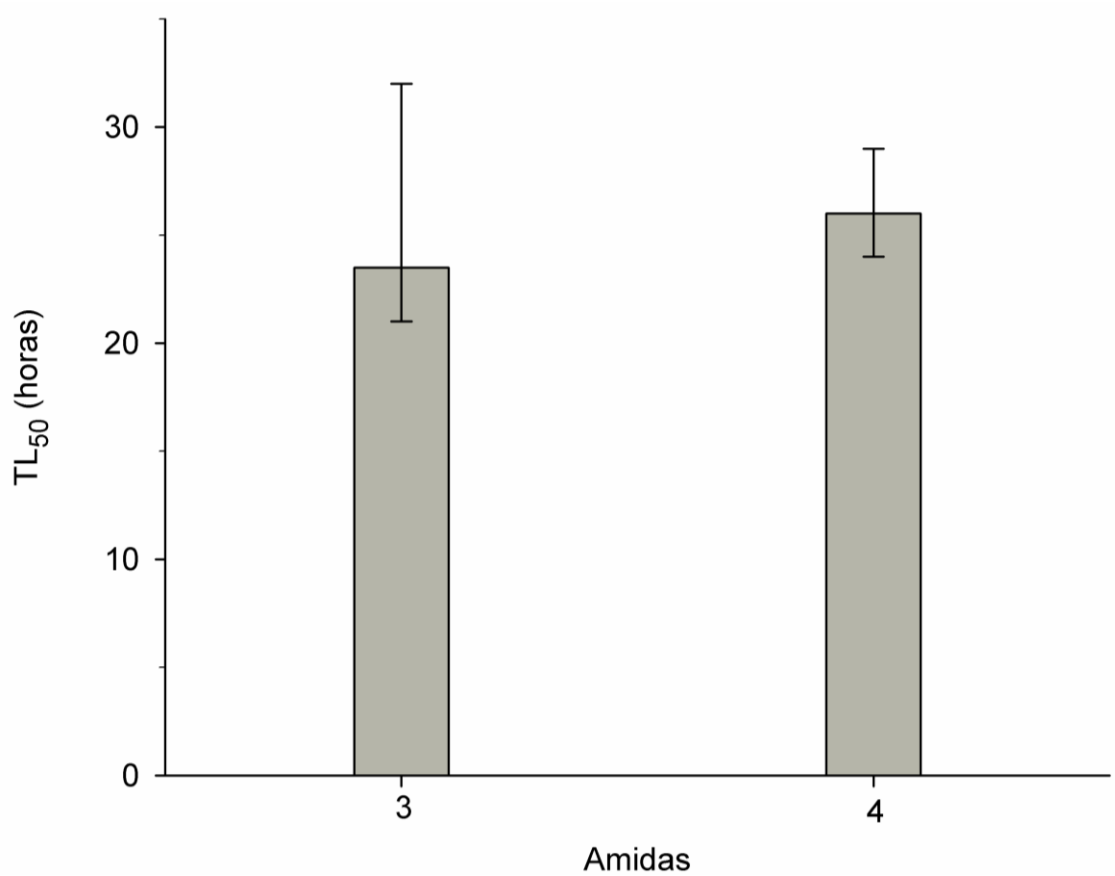
**Figura 3.** Mortalidade (média + erro padrão) das larvas de segundo ínstar de *Ascia monuste* em função da aplicação da dose de 30 mg. g<sup>-1</sup> de inseto para nove amidas sintetizadas e a piperina. No controle foi utilizado a acetona. Os histogramas seguidos pela mesma letra possuem médias que não diferem, entre si, pelo teste Tukey a  $P < 0,05$ .



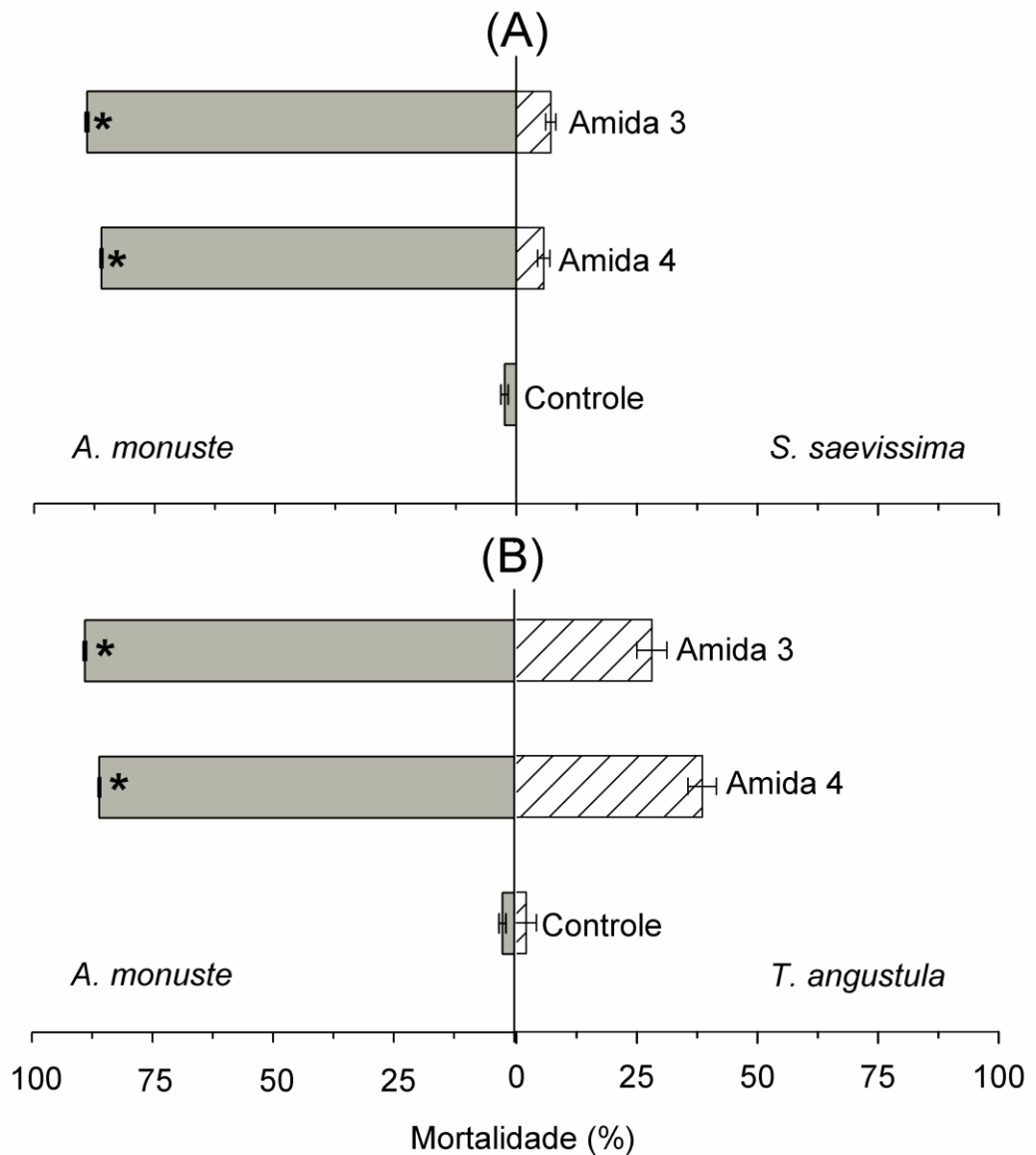
**Figura 4.** Curvas dose-mortalidade das amidas 3 e 4 para larvas de segundo ínstar de *Ascia monuste*.



**Figura 5.** Curvas de sobrevivência de larvas de segundo instar de *Ascia monuste* no controle e submetidas à DL<sub>90</sub> das amidas 3 e 4.



**Figura 6.** Tempos letais de metade da população (TL<sub>50</sub>) de larvas de segundo instar de *Ascia monuste* em função da aplicação das DL<sub>90</sub> das amidas 3 e 4. Os segmentos de reta verticais indicam os intervalos de confiança das TL<sub>50</sub> a 95% de probabilidade.



**Figura 7.** Comparação das mortalidades (média  $\pm$  erro padrão) ocorridos no controle e causadas pelas amidas 3 e 4 a larvas de *Ascia monuste* e aquelas observadas para (A) predador *Solenopsis saevissima* e (B) abelha polinizadora *Tetragonisca angustula*. \* O asterisco indica que a mortalidade causada pelo tratamento a *A. monuste* foi maior que aquela que ele causou ao predador ou ao polinizador de acordo com o teste t a  $P < 0,05$ . A dose usada das amidas foi a DL<sub>90</sub> para as larvas de *A. monuste*.

#### 4. Discussão

O fato das amidas 3 e 4 terem causado alta mortalidade (>80%) as larvas de *A. monuste* indica que estas substâncias têm potencial para uso no controle de lagartas em cultivos agrícolas. Outro fato que reforça o potencial destas duas amidas como inseticidas é o fato delas terem causado mortalidade à praga semelhante à piperina que foi usada como padrão de eficiência. A amida 4 foi mais tóxica a *A. monuste* que a amida 3 já que ela apresentou menor DL<sub>50</sub>. Este fato indica que o uso da amida 4 possivelmente apresente menor custo de controle da praga já que a dose necessária desta substância para causar alta mortalidade da praga é menor que a dose da amida 3.

Um fato importante no uso de inseticidas são as falhas de controle advindas da aplicação de baixas doses destas substâncias. Neste contexto, as substâncias que possuam curvas dose-mortalidade com maiores inclinações têm altos riscos de falhas controle. Isto ocorre pois pequenas variações da sua dose trazem grandes variações na mortalidade da praga (Atkins et al. 1973). Assim, a amida 4 pode apresentar menores riscos de falhas de controle por erros na aplicação já que ela apresentou curva dose-mortalidade com menor inclinação que a amida 3.

No manejo da resistência a inseticidas é importante a utilização de moléculas inseticidas de novos modos de ação, o que possibilita a rotação de produtos (Silva et al. 2011). Ainda não é conhecido o mecanismo de ação inseticida das amidas 3 e 4. Durante a condução deste trabalho não foi observada nenhuma alteração na muda das larvas de *A. monuste*. Fato esse que indica que estas duas amidas não devem agir sobre os hormônios envolvidos na muda dos insetos, um dos principais modos de ação de

inseticidas. Entre as amidas conhecidas, as diamidas são neurotóxicas, atuam como moduladoras de receptores de rianodina (Lahm 2009), enquanto a sulfluramida age na respiração celular como desacoplador da fosforilação oxidativa (Irac 2015). Como as amidas 3 e 4 tiveram uma ação rápida de controle sobre *A. monuste* elas poderiam tanto ser neurotóxicas como atuarem na respiração celular dos insetos. Já que os inseticidas que atuam nestes processos fisiológicos matam rapidamente (<48h) os insetos (Campos et al. 2011, Silva et al. 2011).

A variação das estruturas químicas das amidas não esteve relacionada à sua atividade inseticida já que as nove amidas estudadas apresentam estruturas semelhantes. Substâncias com estrutura química semelhante podem ter atividade inseticida distinta. Um exemplo disto é que dois isômeros podem ter atividade inseticida diferente com um apresentando baixa atividade enquanto o outro alta atividade (Soderlund et al. 2002, Moreno et al. 2009). Geralmente substâncias de menor peso molecular e com menor solubilidade em água tendem a ter maior atividade inseticida. Isto ocorre devido a maior taxa de penetração destas moléculas na cutícula dos insetos (Stock & Holloway 1993). Porém, tal fato não foi observado neste trabalho já que a solubilidade e peso molecular das amidas não estiveram relacionados à sua atividade inseticida.

Nos cultivos é frequente a ocorrência de surtos populacionais de pragas (aumento acentuado da intensidade de ataque em curto intervalo de tempo). Quando ocorrem estes surtos as pragas podem causar danos econômicos às culturas se não forem controladas rapidamente (Barbosa et al. 2012). Também larvas de ínstaes maiores têm alta capacidade de causar danos às plantas devido a sua maior capacidade alimentar (Schoonhoven et al. 2005). Assim,

nestas situações, devem-se aplicar inseticidas com ação rápida de controle para que as pragas não causem danos às culturas. As amidas 3 e 4 apresentaram ação rápida de controle de *A. monuste* (menos de 48 horas). Portanto estas duas amidas seriam promissoras de uso no controle de pragas mesmo em condições extremas, quando seu ataque é alto ou mesmo quando ocorrerem larvas de instares maiores.

As amidas 3 e 4 apresentaram seletividade ao predador *S. saevissima* já que elas causaram baixas mortalidades (<40%) a este inimigo natural. Além disto, as mortalidades causadas por essas duas amidas ao predador foram menores que as mortalidades que elas causaram às larvas de *A. monuste*. Os inseticidas seletivos em favor de inimigos naturais são os produtos ideais para uso em programas de manejo integrado de pragas, já que eles são eficientes no controle das pragas e preservam as populações dos inimigos naturais (Onstad 2008, Bacci et al. 2009, Smitha et al. 2006).

Um fato que tem causado grande preocupação é o desaparecimento de populações de abelhas em diversos locais do planeta (Watanabe 1994, Ratnieks & Carreck 2010). Este desaparecimento tem sido atribuído ao uso de alguns grupos de inseticidas como os neonicotinóides (Goulson 2013, Van der Sluijs 2013). Assim o uso de produtos de baixa toxicidade a abelhas como as amidas 3 e 4 assume grande relevância.

## **5. CONCLUSÕES**

As amidas 3 e 4 são as mais tóxicas a larvas do inseto-praga *Ascia monuste*. Estas amidas causam a mortalidade da praga em curto intervalo de tempo (<48h). As amidas 3 e 4 apresentam seletividade em favor da formiga

predadora *Solenopsis saevissima* e da abelha polinizadora *Tetragonisca angustula*. Portanto estas duas amidas são promissoras a serem usadas como inseticidas.

## 6. LITERATURA CITADA

Abbott W.S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology** 18: 265-266, 1925.

Atkins E.L., Greywood E.A., Macdonald R.L. **Toxicity of pesticides and other agricultural chemicals to honey bees**. Laboratory studies. University of California, Agricultural Extension, 1975.

Bacci L., Picanco M.C., Rosado J.F., Silva G.A., Crespo A.L.B., Pereira E.J.G., Martins J.C. Conservation of natural enemies in brassica crops: comparative selectivity of insecticides in the management of *Brevicoryne brassicae* (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aphididae). **Applied Entomology and Zoology** 44: 103-113, 2009.

Barbosa P., Letourneau D.K., Agrawal A.A. **Insect outbreak revisited**. Wiley Blackwell, Chichester, 2012.

Bernal J., Garrido-Bailón E., Del-Nozal, M.J., González-Porto AV., Martín-Hernández R., Diego, J.C., Jiménez, J.J., Bernal, J.L., Higes, M. Overview of pesticide residues in stored pollen and their potential effect on bee colony (*Apis mellifera*) losses in Spain. **Journal of Economic Entomology** 103: 1964-1971, 2010.

Campos M.R., Picanço M.C., Martins J.C., Tomaz A.C., Guedes R.N.C. Insecticide selectivity and behavioral response of the earwig *Doru luteipes*. **Crop Protection** 30: 1535-1540, 2011.

CABI - **Crop Protection Compendium**. Disponível em <http://www.cabi.org/cpc/datasheet/41162>. Acesso em 20 de janeiro de 2015.

Finney DJ **Probit analysis**. Cambridge Univ., Cambridge, 1971.

Goulson D. Review: An overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides. **Journal of Applied Ecology** 50: 977-987, 2013.

Gradish A.E., Scott-Dupree C.D., Shipp L., Harris C.R., Ferguson G. Effect of reduced risk pesticides on greenhouse vegetable arthropod biological control agents. **Pest Management Science** 67: 82-86, 2011.

Irac. **Irac Moa Classification Scheme v.7.0**. Disponível em: <http://www.irac-online.org/modes-of-action/>. Acesso em 20 de janeiro de 2015.

Liu T.X. Biology and life history of *Ascia monuste monuste* (Lepidoptera: Pieridae), a potential pest of cruciferous vegetables. **Annals of the Entomological Society of America** 98: 726-731, 2005.

MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento). **Normas e exigências para execução de testes de produtos químicos para fins de registro no MAPA**. Brasília: MAPA, 1995.

Moreno S.C., Picanço M.C., Silvério F.O., Alvarenga E.S., Carvalho GA. Toxicity of new pyrethroids to the social insects *Protonectarina sylveirae*, *Solenopsis saevissima* and *Tetragonisca angustula*. **Sociobiology** 54: 893-906, 2009.

Matthews G.A. Attitudes and behaviours regarding use of crop protection products - A survey of more than 8500 smallholders in 26 countries. **Crop Protection** 27: 834-846, 2008.

Moure J.S. A preliminary supra-specific classification of the Old World Meliponine bees (Hymenoptera, Apoidea). **Studia Entomologica** 4: 181-242, 1961.

Navickiene H.M.D., Miranda J.E., Bortoli S.A., Kato M.J., Bolzani V.S., Furlan M. Toxicity of extracts and isobutyl amides from *Piper tuberculatum* potent compounds with for the control of the velvetbean *Anticarsia gemmatilis*. **Pest Management Science**, 63: 399-403, 2007.

Neumann P., Carreck. N. L. Honey bee colony losses. **Journal of Apicultural Research** 49: 1-6, 2010.

Onstad D.W. **Insect resistance management: biology, economics and prediction**. Academic, London, 2008.

Picanço M.C., Oliveira I.R., Rosado J.F., Silva F.M., Gontijo P.C., Silva R.S. Natural biological control of *Ascia monuste* by the social wasp *Polybia ignobilis* (Hymenoptera: Vespidae). **Sociobiology** 55: 1-10, 2010.

Ramos R.S., Picanço M.C., Santana Jr P.A., Silva E.M., Bacci L., Gonring A.H.R., Silva G.A. Natural biological control of lepidopteran pests by ants. **Sociobiology** 59: 1389-1399, 2012.

Ratnieks F.L.W., Carreck N.L. Clarity on honey bee collapse? **Science** 327: 152-153, 2010.

SAS Institute. **SAS user's manual, version 9.4**. SAS Institute, Cary, 2013.

Sattelle D.B., Cordova D., Cheek T.R. Insect ryanodine receptors: molecular targets for novel pest control chemicals. **Invertebrate Neuroscience** 8: 107-119, 2008.

Schoonhoven, L.M., J.J.A. van Loon & M. Dicke. **Insect-Plant Biology**. Oxford, University Press, 2005.

Shipp J.L., Whitfield G.H., Papadopoulos A.P. Effectiveness of the bumblebee, *Bombus impatiens* Cr. (Hymenoptera: Apidae), as a pollinator of greenhouse sweet pepper. **Scientia Horticulturae** 57: 29-39, 1994.

Siqueira H.A.A., Guedes R.N.C., Picanço M.C. Insecticide resistance in populations of *Tuta absoluta* (Lepdoptera: Gelechiidae). **Agricultural and Forest Entomology** 2: 147-153, 2000.

Silva G.A., Picanço M.C., Bacci L., Crespo A.L.B., Rosado J.F., Guedes R.N.C. Control failure likelihood and spatial dependence of insecticide resistance in the tomato pinworm, *Tuta absoluta*. **Pest Management Science** 67: 913-920, 2011.

Smitha M.S., Giraddi R.S. Safety of pesticidal sprays to natural enemies in Chilli (*Capsicum annum* L). **Journal of Biological Control** 20: 7-12, 2006.

Soderlund D.M., Clark J.M., Sheets L.P., Mullin L.S., Piccirillo V.J., Sargent D., Stevens J.T., Weiner M.L. Mechanisms of pyrethroid neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment. **Toxicology** 171: 3-59, 2002.

Stock D., Holloway P.J. Possible mechanisms for surfactant-induced foliar uptake of agrochemicals. **Pesticide Science** 38: 165-177, 1993.

Van der Sluijs, J.P., Simon-Delso N., Goulson D., Maxim L., Bonmatin J.M., Belzunces L.P. Neonicotinoids, bee disorders and the sustainability of pollinator services. **Current Opinion in Environmental Sustainability** 5: 293-305, 2013.

Watanabe M.E. Pollination worries rise as honey bees decline. **Science** 265: 1170-1170, 1994.

Whalon M.E., Mota-Sanchez D., Hollingworth R.M. **Global pesticide resistance in arthropods**. Oxfordshire: CABI. 2008.

Young L.J., Young J.H. **Statistical ecology - A population perspective**. Boston: Kluwer, 1998.