

JÉSSICA EMILIANE RODRIGUES GORRI

**PROSPECÇÃO DE EXTRATOS BOTÂNICOS PARA O CONTROLE DE**  
*Spodoptera frugiperda*

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, *Campus* Rio Paranaíba, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Produção Vegetal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

RIO PARANAÍBA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2018

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da  
Universidade Federal de Viçosa - Campus Rio Paranaíba

T

G673p  
2018 Gorri, Jéssica Emiliane Rodrigues, 1991-  
Prospecção de extratos botânicos para o controle de *Spodoptera frugiperda* / Jéssica Emiliane Rodrigues Gorri. - Rio Paranaíba, MG, 2018.  
vi, 29f.; 29 cm.

Orientador: Ézio Marques da Silva.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.  
Inclui bibliografia.

1. Lagarta-militar. 2. Inseticidas naturais. 3. Aplicação tópica.  
I. Universidade Federal de Viçosa. Instituto de Ciências Agrárias.  
Mestrado em Agronomia-Produção Vegetal. II. Título.

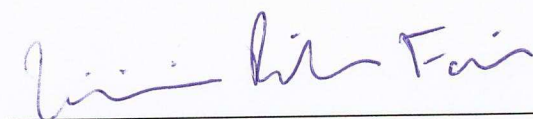
632.951

JÉSSICA EMILIANE RODRIGUES GORRI

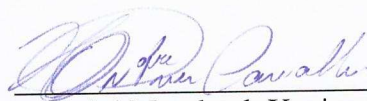
**PROSPECÇÃO DE EXTRATOS BOTÂNICOS PARA O CONTROLE DE**  
*Spodoptera frugiperda*

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, *Campus* Rio Paranaíba, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Produção Vegetal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

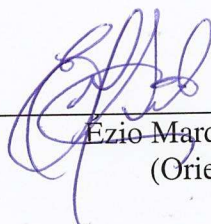
APROVADA: 26 de fevereiro de 2018.



Vinícius Ribeiro Faria



André Mundstok Xavier de Carvalho  
(Coorientador)



Ezio Marques da Silva  
(Orientador)

*A Flora, meu eterno anjo.*  
*DEDICO*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter guiado o sonho de seguir em frente com meus estudos e me abençoado grandiosamente.

A Sagrada Família, por toda intercessão e proteção.

A minha família, a melhor família que alguém poderia ter, por todo apoio, motivação e confiança. Sem vocês isso não seria possível e todo o melhor que vem de mim é para vocês.

Aos meus amigos da vida, da agronomia e do mestrado.

Ao Ruan e toda sua família por todo carinho e apoio.

A todos os meus professores, em especial ao meu orientador professor Ézio, pela confiança e ajuda de sempre.

A vocês, meu muito obrigada!

## ÍNDICE

RESUMO .....	v
ABSTRACT .....	vi
1. Introdução .....	1
2. Material e Métodos .....	2
2.1. Efeito de toxicidade .....	2
2.2. Efeito subletal .....	3
2.3. Comportamento.....	3
2.3.1. Alimentação .....	3
2.3.2. Oviposição .....	4
2.4. Análises Estatísticas.....	5
3. Resultados .....	5
3.1. Efeito da toxicidade .....	5
3.2. Efeito subletal .....	8
3.3. Comportamento.....	13
4. Discussão .....	16
5. Conclusão.....	21
6. Referências.....	22

## RESUMO

GORRI, Jéssica Emiliane Rodrigues, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2018. **Prospecção de extratos botânicos no controle de *Spodoptera frugiperda*.** Orientador: Ézio Marques da Silva. Coorientadores: André Mundstok Xavier de Carvalho e Liliane Evangelista Visôto.

Objetivou-se com este trabalho, avaliar o potencial inseticida de quatro extratos etanólicos e hexânicos das espécies de atemóia (*Annona atemoya*), camomila (*Matricaria chamomilla*), cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) e pimenta-do-reino (*Piper nigrum*) em *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). O efeito de toxicidade foi testado com aplicação tópica dos extratos sobre as lagartas. A partir dos resultados do experimento de toxicidade foi escolhido um subvolume dos extratos etanólicos e hexânicos para avaliar os efeitos subletais na praga (período larval, período pupal, período da fase adulta, razão sexual e oviposição). O comportamento dos lepidópteros foi avaliado por meio da preferência alimentar e repelência à oviposição dos adultos. A alimentação foi analisada através de dois experimentos, com e sem chance de escolha em placa de Petri e arena de PVC. Para avaliar o comportamento na oviposição foi conduzido um experimento com chance de escolha (quatro plantas pulverizadas com extratos etanólicos, quatro hexânicos, uma com o solvente e outra sem aplicação com a liberação de cinco casais de mariposas de *S. frugiperda*). A maior porcentagens de mortalidade foi para o cravo-da-índia etanólico no quinto dia avaliado com 90% de mortalidade. O desenvolvimento larval foi reduzido por atemóia hexânico. O extrato de atemóia etanólico promoveu o menor tempo pupal. O extrato etanólico de cravo-da-índia resultou no menor peso de pupa fêmea e pimenta-do-reino o menor peso para pupas macho. O extrato hexânico de cravo-da-índia resultou no menor tempo da fase adulta e os extratos de pimenta-do-reino e atemóia foram responsáveis por prolongar a fase adulta. A razão sexual foi reduzida pelos extratos de cravo-da-índia e os extratos de atemóia e pimenta do reino reduziram a oviposição e viabilidade dos ovos de *S. frugiperda*. Quando houve a chance de escolha, os extratos de atemóia e pimenta-do-reino foram os menos preferidos. Atemóia, cravo-da-índia e pimenta-do-reino não foram escolhidos para postura de ovos no teste comportamental e também afetaram a eclosão de ovos no teste subletal. Atemóia, cravo-da-índia e pimenta-do-reino demonstraram potencial inseticida e de repelência contra as lagartas de segundo instar de *S. frugiperda*.

## ABSTRACT

GORRI, Jéssica Emiliane Rodrigues, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa - Campus Rio Paranaíba, February, 2018. **Prospecting of botanical extracts in the control of *Spodoptera frugiperda***. Adviser: Ézio Marques da Silva: Co-advisers: Liliane Evangelista Visôto and André Mundstok Xavier de Carvalho.

The objective of this work was to evaluate the insecticidal potential of four ethanolic and hexane extracts of the species of atemóia (*Annona atemoya*), chamomile (*Matricaria chamomilla*), clove (*Syzygium aromaticum*) and black pepper (*Piper nigrum*) in *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). The toxicity effect was tested with topical application of the extracts on the caterpillars. From the results of the toxicity experiment, a subvolume of the ethanolic and hexane extracts was chosen to evaluate the sublethal effects in the pest (larval period, pupal period, adult period, sexual ratio and oviposition). Lepidopteran behavior was evaluated through feeding preference and oviposition repellency of adults. Feeding was analyzed through two experiments, with and without possibility of choice in Petri dish and PVC sand. To evaluate the behavior in the oviposition, an experiment with a chance of choice was conducted (four plants sprayed with ethanolic extracts, four hexanes, one with the solvent and the other without application with the liberation of five pairs of *S. frugiperda* butterflies). The highest percentages of mortality were for ethanolic cloves on the fifth day evaluated with 90% mortality. The larval development was reduced by hexane atemoia. The extract of ethanol promoted the lowest pupal time. The ethanolic extract of clove resulted in the lowest weight of female pupae and black pepper the lowest weight for male pupae. The hexane clove extract resulted in the shortest time of the adult phase and the extracts of black pepper and atemóia were responsible for prolonging the adult phase. The sex ratio was reduced by the clove extracts and the extracts of atemóia and chili pepper reduced the oviposition and viability of *S. frugiperda* eggs. When there was a choice, the extracts of atemoia and black pepper were the least preferred. Atemoia, cloves and black pepper were not chosen for egg laying on the behavioral test and affected egg hatching in the sublethal test. Atemóia, clove and black pepper showed insecticidal and repellent potential against *S. frugiperda* second instar caterpillars.

## 1. Introdução

A lagarta militar, *Spodoptera frugiperda* Smith & Abbot, 1797 (Lepidoptera: Noctuidae), é considerada uma das principais pragas do hemisfério ocidental e a mais importante para cultura do milho (Barros et al., 2010; Dequech et al., 2013). Popularmente conhecida como lagarta-do-cartucho do milho, ela ocorre em todo o ciclo da cultura e por isto, pode causar grandes prejuízos na produção, sendo necessário aproximadamente 3.000 toneladas de ingrediente ativo por ano no Brasil para efetuar seu controle (Blanco et al., 2014). Com seu comportamento polífago, é capaz de causar danos em outras espécies de importância agrícola, tais como arroz, amendoim, forragens, algodão, sorgo e tomate (Souza et al., 2013; Perez-Zubiri et al., 2016).

No entanto, o uso destas moléculas sintéticas pode promover o acúmulo de substâncias tóxicas no solo, na água e nos alimentos (Pimentel et al., 2010; Tavares et al., 2012); nos organismos não-alvo (Tavares et al., 2010) e resultar em indivíduos resistentes (Tavares et al., 2009, 2011). Mesmo assim, seu uso não está em declínio, pois multinacionais agroquímicas responderam as preocupações sobre o risco para saúde humana e para o ambiente com novos grupos de inseticidas que possuem impactos ambientais e toxicológicos reduzidos (Isman et al., 2011).

Entretanto, mesmo com as novas formulações de inseticidas, há preocupações com os riscos à saúde humana e impactos ambientais relacionados ao uso de altas doses de pesticidas e ao aumento de populações de pragas resistentes as moléculas sintéticas (Kaushik et al., 2009). Tais preocupações têm aumentado a busca de novas formas de proteção para as plantas. Uma maneira de reduzir o alto consumo de inseticidas sintéticos seria através do uso de inseticidas botânicos que são considerados ecologicamente mais seguros e com menor impacto a saúde humana (Pavela, 2007, Dayan et al., 2009).

A ação inseticida dos extratos botânicos é proporcionada por metabólitos secundários como alcaloides, flavonoides, saponinas e terpenoídes, produzidos pelas plantas como estratégia de defesa contra herbívoros (Isman, 2006). Eles são capazes de afetar negativamente o desenvolvimento dos insetos (Chariandy et al., 1999), agir como barreiras fagoderrentes na alimentação (Bruce & Pickett, 2011) e atuarem como repelentes de pragas (Akhtar et al., 2012; Ansante et al., 2015).

O uso de extratos botânicos, em geral, é considerado uma opção mais ecológica que os inseticidas sintéticos para o controle de pragas por serem facilmente biodegradáveis (Turek & Stintzing, 2013; Fernandez-Perez et al., 2015), por uma planta conter vários metabólitos secundários (o que reduz populações de pragas resistentes) e em alguns casos possuir baixa a moderada toxicidade a mamíferos (Isman, 2006; Isman &

Miresmailli, 2011). Além disso, extratos brutos de plantas podem ser mais acessíveis para os agricultores familiares e promissores em sistemas de produção orgânica (Mugisha-Kamatnesi et al., 2008; Kareru et al., 2013). Algumas desvantagens ao seu uso podem ser citadas, como a falta de estudos em espécies não-alvo e sua baixa persistência (Lenardis et al., 2011; Zoubiri & Baaliouamer, 2011; Rampelotti-Ferreira et al., 2017).

Assim, objetivou-se avaliar os efeitos inseticidas de extratos botânicos etanólicos e hexânicos das plantas atemóia (*Annona atemoya*), camomila (*Matricaria chamomilla*), cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) e pimenta-do-reino (*Piper nigrum*) em *S. frugiperda*.

## **2. Material e Métodos**

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Manejo Integrado de Pragas da Universidade Federal de Viçosa – *Campus* Rio Paranaíba. Eles foram divididos em três etapas: avaliação da toxicidade dos extratos, determinação dos efeitos subletais e avaliação comportamental.

Para obter os extratos botânicos foram utilizadas as plantas: atemóia, camomila, cravo-da-índia e pimenta-do-reino. As sementes de atemóia foram coletadas de frutos provenientes de um plantio comercial localizado no município de Rio Paranaíba, MG. Os órgãos vegetais de camomila (flores), cravo-da-índia (botão floral) e pimenta-do-reino (fruto com semente) foram obtidos no comércio local.

Para a obtenção dos extratos botânicos as partes selecionadas de cada planta foram secas em estufa de circulação forçada a 40°C por um período de 72 horas. Em seguida, as partes secas foram moídas e, posteriormente, o material foi imerso em etanol (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O, P.A-ACS 99,5%) ou hexano (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>, P.A-ACS 99%) por cinco dias na proporção de 50 g de vegetal para 1L de solvente. Os extratos hexânicos e etanólicos obtidos foram concentrados em evaporador rotativo a baixa pressão (600 mm Hg) em temperatura reduzida (45°C). Os concentrados resultantes foram armazenados sob refrigeração para serem utilizados nos bioensaios.

Para todos os experimentos apresentados a seguir foram utilizados dois controles: acetona, pois esta foi utilizada na ressolubilização dos extratos botânicos e o branco, no qual recebe este nome pois será um tratamento neutro que representará o inseto ou planta sem alterações.

### **2.1. Efeito de toxicidade**

Os bioensaios de toxicidade foram realizados em placa de Petri, para isso, foi feita a aplicação tópica do extrato (hexânico ou etanólico) ressolubilizado em acetona a 1% ( $\text{m.v}^{-1}$ ) utilizando microseringa sobre lagartas de segundo instar. Após a aplicação aguardou-se cerca de 15 minutos para administrar dieta artificial para as lagartas de *S. frugiperda*. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado no esquema fatorial triplo ( $4 \times 2 \times 4$ ) +5 [quatro espécies botânicas, dois tipos de extratores (etanólicos e hexânicos), 4 volumes de acetona e uma sem aplicação de solvente]. A mortalidade dos insetos foi avaliada após 24 horas e cinco dias de exposição ao extrato. Foram consideradas mortas as lagartas que não apresentaram movimentos ou contrações peristálticas quando tocadas com pincel de ponta fina.

## **2.2. Efeito subletal**

Os bioensaios foram conduzidos mediante a aplicação tópica dos extratos botânicos sobre lagartas de segundo instar, com o auxílio de uma microseringa. Após a análise dos resultados do efeito dos extratos botânicos na sobrevivência de lagartas de *S. frugiperda*, determinou-se o volume de  $1\mu\text{L}$  de extrato botânico para avaliação dos possíveis efeitos subletais dos mesmos em *S. frugiperda*. Para isso, utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial duplo ( $4 \times 2$ ) +2 [quatro plantas, dois tipos de extratos (etanólicos e hexânicos), mais duas testemunhas] com quatro repetições, compostas de dez subrepetições.

As lagartas foram monitoradas diariamente para determinação do tempo de desenvolvimento larval, pupa e adulto, razão sexual, peso de pupas machos e fêmeas, número de ovos produzidos e número de ovos eclodidos. Para determinar a razão sexual foi feito a sexagem das pupas com o auxílio de uma lupa, e o peso das pupas foi quantificado por balança analítica.

## **2.3. Comportamento**

O experimento de comportamento foi dividido em duas etapas. A primeira etapa foi para avaliar a alteração do comportamento alimentar das lagartas e na segunda para avaliar a alteração do comportamento de oviposição dos adultos de *S. frugiperda* submetidos aos diferentes extratos botânicos.

### **2.3.1. Alimentação**

Os experimentos foram realizados com a variedade de milho DKB 177 (não transgênico), sendo cada unidade experimental composto de quatro círculos de  $3\text{ cm}^2$  do

limbo foliar. Os quadrados foliares foram tratados com os extratos botânicos (hexânico e etanólico) ressolubilizados em acetona a 1% (m.v<sup>-1</sup>). O experimento contou com duas testemunhas, em uma delas os círculos foliares foram tratados somente com acetona, e na outra, não foi feito qualquer tipo de aplicação com extrato ou solvente, portanto, o controle denominado branco.

Para o experimento sem a chance de escolha do alimento pela lagarta, todos os tratamentos foram mantidos isolados em placas de Petri (9 cm de diâmetro). O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial (4x2) +2 (quatro plantas, dois extratos e duas testemunhas) com 10 repetições.

Cada círculo foliar foi submersos em um dos tratamentos e na sequência foram deixados exposto sobre toalhas de papel por 20 minutos em temperatura ambiente para a total evaporação do solvente (acetona). Os quadrados foram oferecidos a duas lagartas de terceiro instar por placa, que haviam sido submetidas a um jejum de seis horas, conforme metodologia proposta por Uçlkan & Sak (2010).

O período de alimentação das lagartas foi de oito horas, ao final do qual as lagartas foram retiradas e o consumo foi registrado por fotografia digital. A quantificação da área consumida foi determinada por meio de imagens digitais, que foram processadas com o auxílio do programa computacional ImageJ (Schneider et al., 2012).

Já no experimento em que a lagarta teve a chance de escolher seu alimento, 10 círculos foliares, cada um correspondendo a um tratamento (quatro extratos etanólicos, quatro hexânicos, acetona e branco), foram dispostos em uma única arena de tubo tipo PVC (DN 200 mm), a parte superior apresentava um tecido de organza e a base foi forrada com isopor. O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizado, com quatro blocos e dez repetições com 15 lagartas cada.

O tratamento dos círculos foliares, a montagem do experimento e a quantificação do consumo foliar seguiram o mesmo padrão descrito para o bioensaio sem chance de escolha.

### **2.3.2. Oviposição**

Para este experimento optou-se pelo delineamento em blocos casualizados em esquema fatorial (4x2) +2 (quatro plantas, dois extratos e duas testemunhas). Os quatro blocos foram compostos por gaiolas de madeira (60 cm x 60 cm x 60 cm) revestidas com organza, sendo que, cada gaiola recebeu cinco casais de adultos de *S. frugiperda* e dez plantas de milho que correspondiam a cada tratamento (quatro extratos etanólicos, quatro hexânicos, acetona e branco). Após 48 horas, iniciou-se a contagem diária do número de

ovos ovipositados nas plantas de milho por um período de cinco dias conforme metodologia proposta por Akhtar et al. (2010).

## 2.4. Análises Estatísticas

A homogeneidade das variâncias e a normalidade dos resíduos foram verificadas e no caso em que uma das pressuposições não foram atendidas, os dados foram submetidos às transformações por postos (rank), logarítmica, raiz quadrada ou por meio da função arcsen da raiz ( $x/100$ ). Posteriormente os dados foram submetidos à ANOVA e as médias comparadas pelo teste de SNK (Student-Newman-Keuls) ao nível de 5% de probabilidade. Os controles foram comparados com a média dos demais tratamentos por meio de contrastes testados pelo teste t Utilizou-se o programa estatístico Speed stat (Carvalho e Mendes, 2017).

Para analisar o peso das pupas e a taxa de eclosão dos ovos com o subvolume escolhido, as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância pelo procedimento PROC GLM do programa estatístico SAS 9.0 (SAS, 2002).

## 3. Resultados

### 3.1. Efeito da toxicidade

A ANOVA para os dados referentes ao efeito tóxico dos extratos botânicos após 24 horas de exposição, mostrou que não há efeito significativo para as interações duplas entre as diferentes espécies vegetais e os dois extratores (etanol e hexano) ( $F_{3;108} = 0,35$ ;  $p = 0,78$ ); as espécies vegetais e as quantidades de extrato ( $F_{9;108} = 1,23$ ;  $p = 0,28$ ); os dois extratores (álcool etílico e hexano) e as quantidades de extrato ( $F_{3;108} = 0,27$ ;  $p = 0,84$ ) e para a interação tripla ( $F_{9;108} = 1,25$ ;  $p = 0,27$ ). Houve efeito significativo da toxicidade entre as diferentes espécies vegetais ( $F_{3;108} = 90,25$ ;  $p < 0,001$ ); os extratores (etanol e hexano) ( $F_{1;108} = 75,74$ ;  $p < 0,001$ ) e os volumes de extrato aplicado ( $F_{3;108} = 7,97$ ;  $p < 0,001$ ).

Dentre as espécies vegetais com o extrator etanólico, após 24 horas de exposição (tabela 1), verificou-se que atemóia e cravo-da-índia destacaram dos demais em relação à mortalidade causada às lagartas de *S. frugiperda* com 51 e 60% de mortalidade, respectivamente. Ao analisar os quatro volumes, houve diferença significativa entre o menor (2,5  $\mu$ L) com 20% e maior (7  $\mu$ L) com 41% de mortalidade.

Com as espécies vegetais que utilizaram extrator hexânico (tabela 1), atemóia e cravo-da-índia também permaneceram em destaque com 79 e 89% de mortalidade,

respectivamente. Entre os quatro volumes, o maior volume obteve 70% da mortalidade, diferenciando dos dois menores volumes utilizados (2,5 e 3,5  $\mu\text{L}$ ), os quais resultaram em 48 e 51% de mortalidade, respectivamente.

Observa-se que, de forma geral, os extratos hexânicos obtiveram maior porcentagem de mortalidade (58%) ao serem comparados com a mortalidade ocorrida devido aos extratos etanólicos (30%). Os controles utilizados para verificar ausência de efeito do solvente (acetona) e viabilidade das lagartas (branco), demonstraram que não houve outros efeitos envolvidos na mortalidade das lagartas que não fosse devido a ação inseticidas dos extratos das espécies vegetais (tabela 1).

**Tabela 1.** Mortalidade (%) de lagartas de *S. frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) após 24 horas de exposição à extratos botânicos etanólicos.

Tratamentos	Volume de extrato ( $\mu\text{L}$ )				
	2,5	3,5	5,0	7,0	Mm
Etanol					
Atemóia	25,0 $\pm$ 10,21	43,0 $\pm$ 6,25	68,0 $\pm$ 6,25	6,00 $\pm$ 15,73	51,0 A
Pimenta	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	6,00 $\pm$ 06,25	18,0 $\pm$ 11,97	6,00 B
Cravo	56,0 $\pm$ 11,97	68,0 $\pm$ 11,97	50,0 $\pm$ 10,21	68,0 $\pm$ 6,25	60,0 A
Camomila	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	6,00 $\pm$ 6,25	1,50 B
Mm	20,0 $\pm$ 6,87 B	28,0 $\pm$ 8,34 AB	31,0 $\pm$ 7,78 AB	41,0 $\pm$ 8,13 A	
Hexano					
Atemóia	68,0 $\pm$ 6,25	81,0 $\pm$ 6,25	81,3 $\pm$ 11,97	87,0 $\pm$ 12,50	79,0 A
Pimenta	18,0 $\pm$ 6,25	31,0 $\pm$ 11,97	43,8 $\pm$ 11,97	62,0 $\pm$ 16,14	39,0 B
Cravo	87,0 $\pm$ 7,22	87,0 $\pm$ 7,22	94,0 $\pm$ 6,25	87,0 $\pm$ 7,22	89,0 A
Camomila	18,0 $\pm$ 11,97	6,0 $\pm$ 6,25	31,3 $\pm$ 15,73	43,0 $\pm$ 15,73	25,0 C
Mm	48,0 $\pm$ 8,79 B	51,0 $\pm$ 9,73 B	62,0 $\pm$ 8,79 AB	70,0 $\pm$ 7,78 A	
Controles					
Acetona	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	12,00 $\pm$ 7,22	6,00 $\pm$ 6,25	5,00
Branco	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	6,00 $\pm$ 6,25	6,00 $\pm$ 6,25	3,50

Médias ( $\pm$  EP) seguidas por uma mesma letra maiúsculas na linha, minúsculas na coluna, não diferem entre si pelo teste de SNK a 5% de probabilidade. Mm = média marginal. CV (%) = 45,98.

A ANOVA para os dados referentes ao efeito tóxico dos extratos botânicos após cinco dias de exposição, mostrou que não há efeito significativo para as interações duplas entre as espécies vegetais e as quantidades de extrato ( $F_{9;108} = 0,85$ ;  $p = 0,56$ ); os dois extratores (etanol e hexano) e as quantidades de extrato ( $F_{3;108} = 0,43$ ;  $p = 0,73$ ) e para a interação tripla ( $F_{9;108} = 0,59$ ;  $p = 0,79$ ). Embora, houve efeito significativo entre as espécies vegetais e os dois extratores (etanol e hexano) ( $F_{3;108} = 4,93$ ;  $p = 0,00$ ); a toxicidade entre as diferentes espécies vegetais ( $F_{3;108} = 132,85$ ;  $p < 0,00$ ); os extratores (etanol e hexano) ( $F_{1;108} = 28,71$ ;  $p < 0,00$ ) e os volumes de extrato aplicado ( $F_{3;108} = 5,91$ ;  $p < 0,00$ ).

Para os extratos etanólicos, a maior mortalidade ocorrida foi de 92% (cravo-da-índia), seguida de 64% (atemóia). Já os extratos a base de pimenta e camomila, mesmo após cinco dias de exposição, continuaram apresentando uma baixa mortalidade (tabela

2). Os extratos hexânicos também apresentaram as maiores mortalidades para cravo-da-índia (90%) e atemóia (79%), com baixas mortalidades para pimenta e camomila (tabela 4). Observa-se uma tendência de incremento da mortalidade quando utiliza-se o extrator hexano, conforme pode ser percebido pela diferença significativa nas comparações entre plantas para os dois extratores. As mortalidades ocorridas nos extratos de atemóia, pimenta e camomila aumentaram significativamente quando utilizou-se o extrator hexano (79, 39 e 25%, respectivamente) em relação ao etanol (64, 6 e 1%, respectivamente) (tabela 2).

Em relação a quantidade de extrato utilizado, não houve diferença significativa entre as mortalidades para os diferentes volumes de extratos etanólicos. Já para os extratos hexânicos houve uma diferença significativa na mortalidade ocorrida no volume de 7,0  $\mu$ L (70%) para aquelas ocorridas nos volumes de 2,5 (48%) e 3,5  $\mu$ L (53%). E conforme pode-se observar, os controles utilizados para verificar ausência de efeito do solvente (acetona) e viabilidade das lagartas (branco), demonstraram que não houve outros efeitos envolvidos na mortalidade das lagartas que não fossem devido, principalmente, a ação inseticidas dos extratos (tabela 2).

**Tabela 2.** Mortalidade (%) de lagartas de *S. frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) após cinco dias de exposição à extratos botânicos.

Tratamento	Volume de extrato ( $\mu$ L)				Mm	
	2,5	3,5	5	7		
Etanol						
Atemóia	50,0 $\pm$ 35,35	68,0 $\pm$ 23,93	68,0 $\pm$ 12,50	68,0 $\pm$ 31,45	64,0	b $\beta$
Pimenta	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	6,00 $\pm$ 12,50	18,0 $\pm$ 23,93	6,00	c $\beta$
Cravo	81,0 $\pm$ 23,93	93,0 $\pm$ 12,50	93,0 $\pm$ 12,50	100 $\pm$ 0,00	92,00	a $\alpha$
Camomila	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	6,00 $\pm$ 12,50	1,00	c $\beta$
Mm	33,0 $\pm$ 10,13 A	41,0 $\pm$ 11,15 A	42,0 $\pm$ 10,63 A	48,0 $\pm$ 10,81 A		
Hexano						
Atemóia	68,0 $\pm$ 6,25	81,0 $\pm$ 6,25	81,0 $\pm$ 11,96	87,0 $\pm$ 12,5	79,0	a $\alpha$
Pimenta	18,0 $\pm$ 6,25	31,0 $\pm$ 11,96	43,0 $\pm$ 11,96	62,0 $\pm$ 16,13	39,0	b $\alpha$
Cravo	87,0 $\pm$ 7,21	93,0 $\pm$ 6,25	93,0 $\pm$ 6,25	87,0 $\pm$ 7,21	90,0	a $\alpha$
Camomila	18,0 $\pm$ 11,96	6,00 $\pm$ 6,25	31,0 $\pm$ 15,73	43,0 $\pm$ 15,72	25,0	c $\alpha$
Mm	48,0 $\pm$ 8,60 B	53,0 $\pm$ 9,15 B	62,0 $\pm$ 8,53 AB	70,0 $\pm$ 4,39 A		
Controles						
Acetona	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	12,0 $\pm$ 7,00	6,00 $\pm$ 6,25	5,00	
Branco	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	6,00 $\pm$ 6,25	6,00 $\pm$ 6,25	3,00	

<sup>1</sup>Médias ( $\pm$  EP) seguidas por uma mesma letra, maiúsculas na linha, minúsculas na coluna e gregas entre extratores não diferem entre si pelo teste de SNK a 5 % de probabilidade. Mm = média marginal. CV (%) = 41,43.

O aspecto das lagartas de segundo instar após 24 horas de exposição aos extratos botânicos, evidencia os efeitos tóxicos que levaram a mortalidade das lagartas (figura 1). Observa-se que, as lagartas que mantiveram contato com os extratos de atemóia, cravo-da-índia e pimenta-do-reino apresentaram maior índice de deformação em relação aos tratamentos controles.



**Figura 1.** Lagartas de segundo instar de *S. frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) após 24 horas após de exposição aos extratos de Atemóia etanólico (A) – Atemóia hexânicos (B) – Cravo-da-índia etanólico (C) – Cravo-da-índia hexânico (D) – Pimenta-do-reino etanólico (E) – Pimenta-do-reino hexânico (F) – Camomila etanólico (G) – Camomila hexânico (H) e controles – Acetona (I) – e Branco (J).

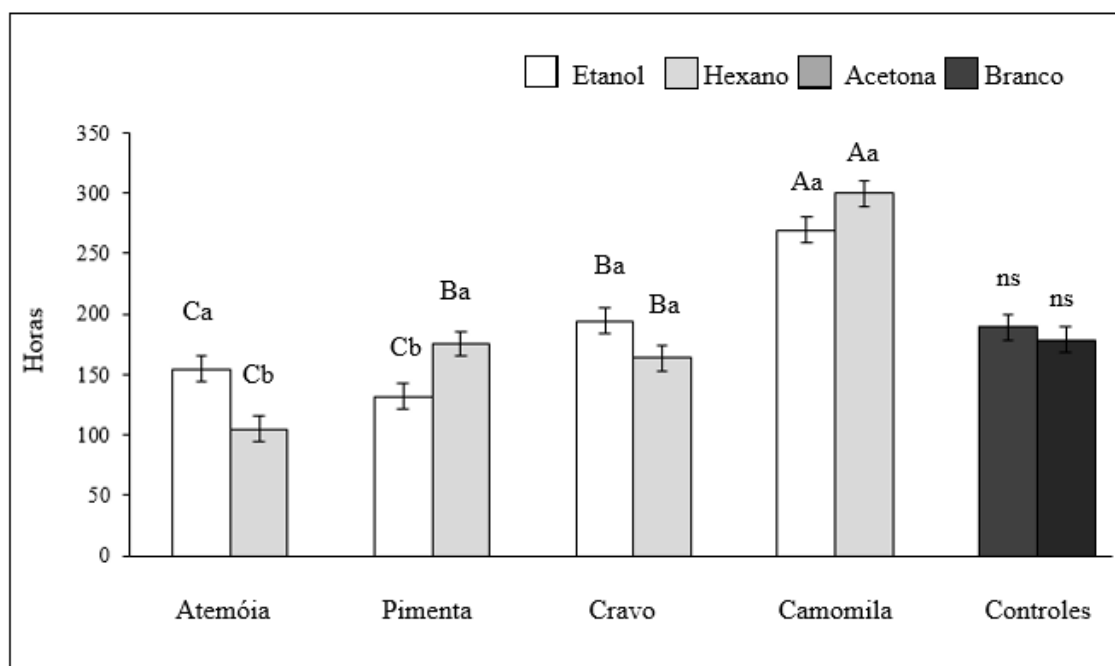
### 3.2. Efeito subletal

O tempo de desenvolvimento das lagartas de *S. frugiperda* foi afetado significativamente após a aplicação de 1 $\mu$ L dos extratos botânicos. Entre as espécies vegetais que utilizaram o extrator etanol, o extrato de camomila prolongou significativamente a fase larval, seguido por cravo-da-índia, pimenta-do-reino e atemóia, sendo estas duas últimas estatisticamente iguais (Figura 2).

Para os extratos hexânicos, a camomila também obteve o maior período larval, seguido por pimenta-do-reino, cravo-da-índia, que são estatisticamente iguais, e atemóia com o menor período de desenvolvimento.

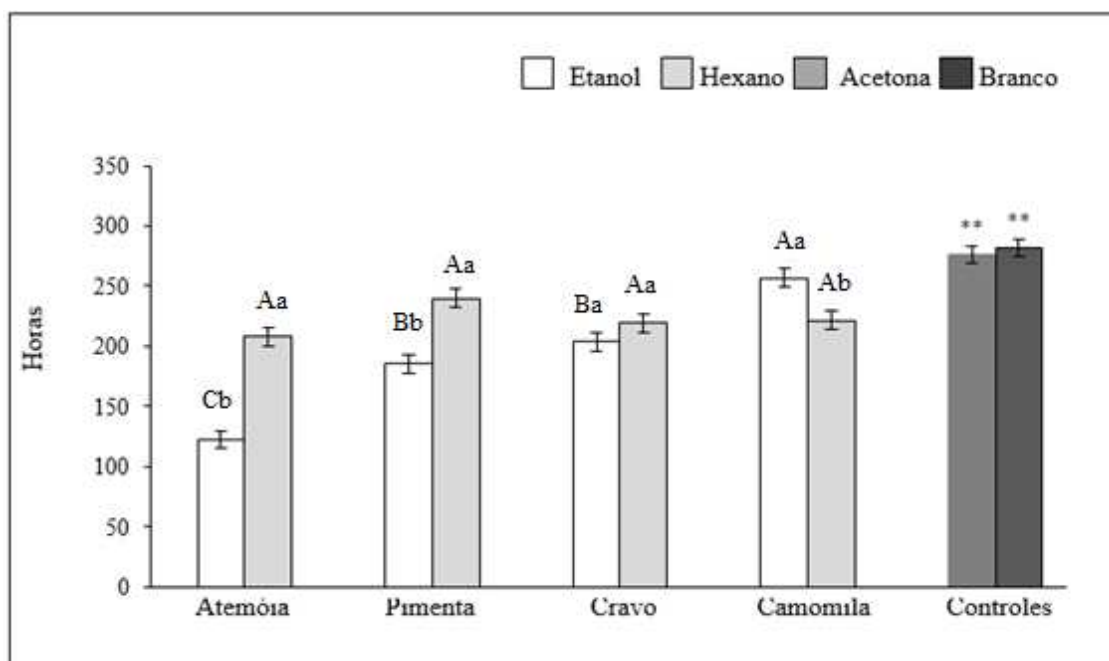
Observa-se que não houve diferença significativa no tempo de desenvolvimento larval entre os extratores (etanol e hexano) para os extratos de camomila e cravo-da-índia.

Já os controles utilizados (acetona e branco), não foram estatisticamente diferentes da média dos extratos botânicos.

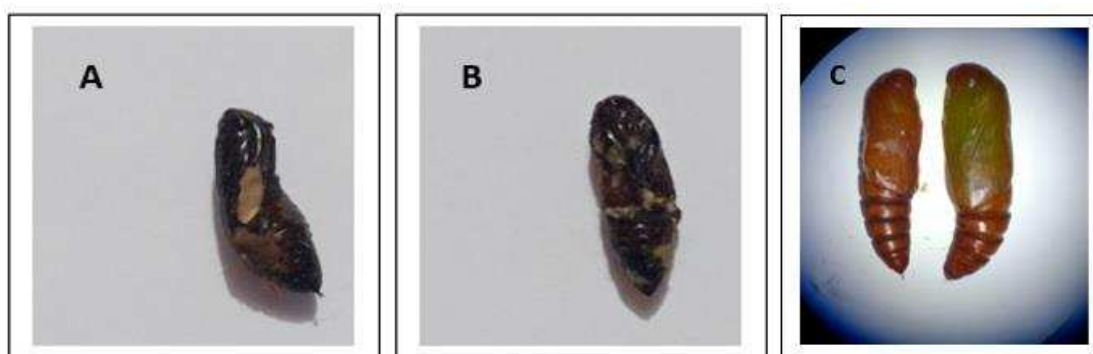


**Figura 2.** Tempo de desenvolvimento larval de *S. frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) submetida a aplicação tópica de 1µL dos extratos botânicos. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula (extratos botânicos) e minúscula (solventes) não diferem entre si pelo teste de SNK a 5 % de probabilidade. Não significativo (ns) pelo contraste ao comparar com as médias dos tratamentos.

Houve diferença significativa entre as os extratos botânicos e os controles (acetona  $\approx$  260 horas e branco  $\approx$  280 horas), demonstrando que os extratos reduziram o tempo de duração do estágio de pupa. Para os extratos etanólicos a maior redução ocorreu com atemóia ( $\approx$  125 horas). Para os extratos botânicos hexânicos não houve diferença significativa. Entre as espécies vegetais ocorreu diferença entre os extratores para atemóia, camomila e pimenta-do-reino (figura 3). Atemóia (etanol) e cravo-da-índia (hexano) causaram deformações nas pupas (figura 4). Os controles demonstraram resultados semelhantes e ambos foram significativamente diferentes pelo contraste dos extratos botânicos.



**Figura 3.** Tempo de desenvolvimento da fase de pupas de *S. frugiperda* submetida a aplicação tópica de 1 $\mu$ L dos extratos botânicos. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula (extratos botânicos) e minúscula (solventes) não diferem entre si pelo teste de SNK a 5 % de probabilidade. Significativo a 1% pelo contraste ao comparar com as médias dos tratamentos (teste realizado com dados submetidos à transformação Box-cox).



**Figura 4.** Efeito dos extratos de atemóia (etanol) (A) e cravo-da-índia (hexano) (B) causando má formação de pupas de *S. frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) após aplicação tópica em lagartas de segundo instar. Pupas normais para comparação (C).

A ANOVA para os dados referentes ao peso de pupas fêmeas originadas de lagartas de segundo instar, com interação com efeitos dos extratos ( $F_{5,198} = 2,79$ ;  $p = 0,020$ ). O extrato alcoólico de cravo-da-índia reduziu o peso das pupas fêmeas em relação ao controle. E para os tratamentos hexânicos, não houve diferença significativa entre os extratos e os controles (tabela 5). A diferença observada no peso das pupas ocasionada pelos extratos etanólicos (0,147 g) e hexânicos (0,227 g) ocorreu no tratamento com cravo-da-índia (tabela 3).

**Tabela 3.** Peso de pupas fêmeas de *S. frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) originadas de lagartas de segundo instar tratadas com aplicação tópica de extratos botânicos.

Tratamento	Etanol		Hexano	
	Peso de pupas fêmeas (g)			
Acetona	0,25	Aa	0,25	Aa
Branco	0,26	Aa	0,26	Aa
Atemoia	0,26	Aa	0,21	Aa
Camomila	0,21	ABa	0,22	Aa
Cravo	0,15	Ba	0,23	Ab
Pimenta	0,18	ABa	0,20	Aa

Médias seguidas por uma mesma letra, maiúsculas na coluna e minúsculas na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. CV (%) = 28.

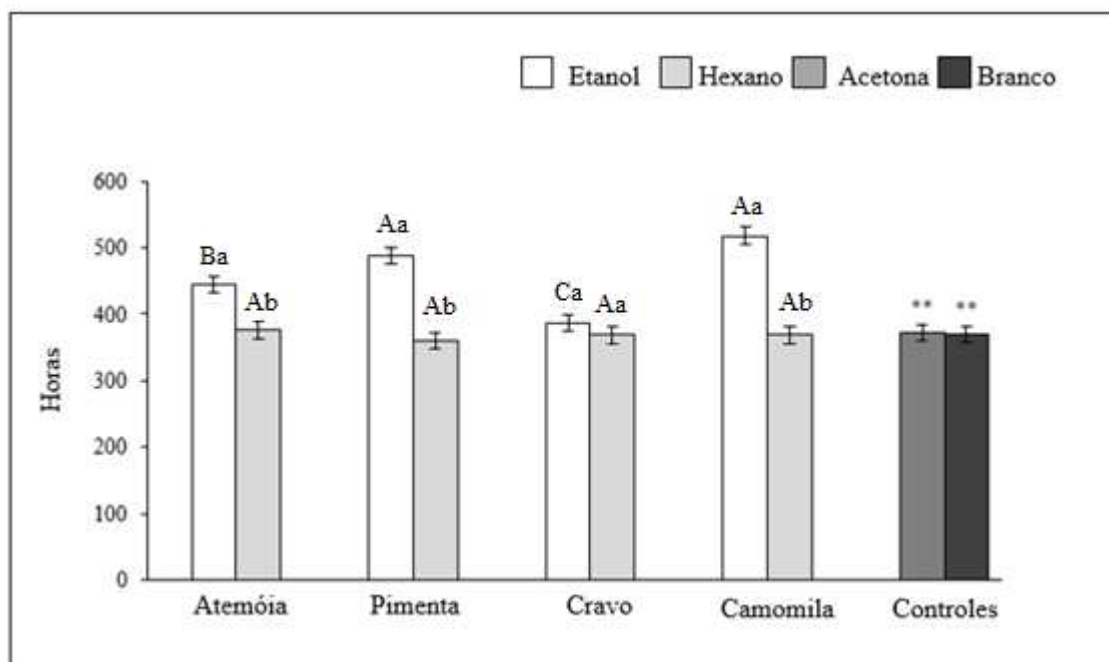
Os extratos botânicos afetaram o peso das pupas macho, independente do extrator utilizado, ( $F_{5;198} = 11,45$ ;  $p < 0,0001$ ). Os extratos que mais reduziram o peso das pupas macho foram o de pimenta-do-reino (0,185 g), camomila (0,205 g) e cravo (0,207 g) (tabela 4).

**Tabela 4.** Peso de pupas machos de *S. frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) originadas de lagartas de segundo instar tratadas com aplicação tópica de extratos botânicos.

Tratamento	Etanol		Hexano		Média Marginal
	Peso de pupas machos (g)				
Acetona	0,25		0,25		0,25 A
Branco	0,26		0,26		0,26 A
Atemoia	0,22		0,26		0,24 AB
Camomila	0,20		0,21		0,21 BC
Cravo	0,20		0,21		0,21 BC
Pimenta	0,17		0,20		0,18 C

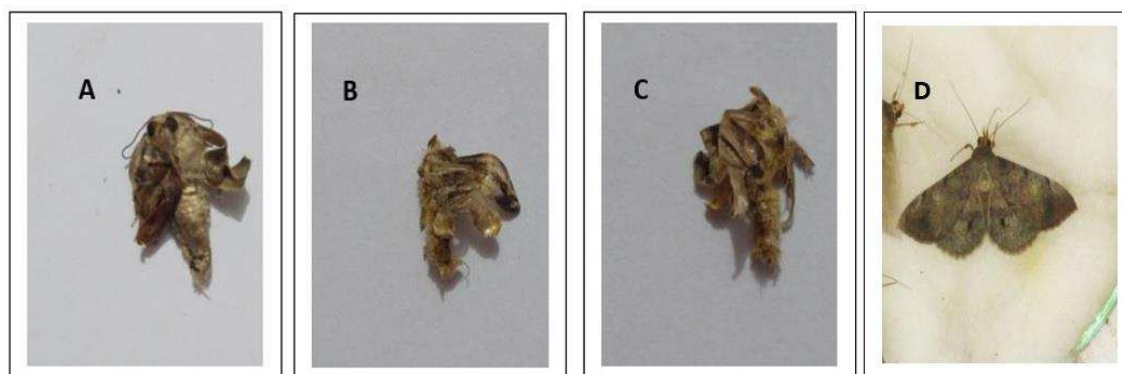
Médias seguidas por uma mesma letra maiúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. CV (%) = 16.

Já na fase adulta, as mariposas que emergiram das pupas apresentaram diferença significativa entre os extratos botânicos e os controles. Para os extratos etanólicos, houve aumento do tempo de desenvolvimento da fase adulta em relação aos controles. Pimenta-do-reino e camomila obtiveram tempo de desenvolvimento prolongado (> 500 horas) em relação ao controle ( $\approx 370$  horas), seguidos por atemoia (450 horas) e cravo-da-índia (370 horas). Nos extratos hexânicos, não houve diferença significativa entre os extratos botânicos (figura 5).



**Figura 5.** Tempo de desenvolvimento em horas do adulto de *S. frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) submetida a aplicação tópica dos extratos botânicos. Médias ( $\pm$  EP) seguidas pela mesma letra maiúscula (extratos botânicos) e minúscula (solventes) não diferem entre si pelo teste de SNK a 5% de probabilidade. Significativo a 1% (\*\*) pelo contraste ao comparar com as médias dos tratamentos.

Além do efeito dos extratos na longevidade dos adultos de *S. frugiperda*, registrou-se a má formação de adultos mediante a ação dos extratos de atemóia (etanol), cravo-da-índia (hexano) e pimenta-do-reino (etanol) (figura 6)



**Figura 6.** Efeito dos extratos de atemóia (etanol) (A), cravo-da-índia (hexano) (B) e pimenta-do-reino (etanol) (C) causando má formação de adultos de *S. frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) após aplicação tópica em lagartas de segundo instar. Adulto normal (D).

Com o acompanhamento do desenvolvimento foi possível determinar o número de indivíduos por sexo (macho e fêmea) (dados não mostrados) gerados e, desta foram,

estimar a razão sexual a partir dos efeitos dos extratos botânicos para ambos os sexos (tabela 5). Os resultados que evidenciaram maior efeito foram atribuídos aos extratos de cravo (0,33), camomila (0,35) (etanol) e pimenta (0,29) (hexano), por reduzir a razão sexual em relação aos tratamentos controles.

**Tabela 5.** Razão sexual (RS) de *S. frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) submetida a aplicação tópica de extratos botânicos.

Tratamento	Razão sexual	
	Etanol	Hexano
Atemoia	0,64	0,62
Camomila	0,50	0,29
Cravo	0,33	0,67
Pimenta	0,35	0,61
Controles	Acetona	Branco
	0,53	0,55

Pela ANOVA constatou-se que não há efeito significativo da interação planta e extrator ( $F_{5;9} = 0,20$ ;  $p = 0,9572$ ) e também não houve um efeito isolado do extrator ( $F_{1;9} = 0,88$ ;  $p = 0,3691$ ) sobre o número de ovos por fêmea de *S. frugiperda*. O efeito no número de ovos ovipositados foi devido, exclusivamente, aos componentes químicos de cada espécie vegetal ( $F_{5;9} = 8,54$ ;  $p = 0,0016$ ). Os extratos das plantas de atemóia (50,0 ovos) e pimenta (56,3 ovos) tiveram maior redução no número de ovos em relação aos tratamentos controles (acetona: 325,00 ovos e branco: 282,50 ovos) (tabela 6). Com relação a taxa de eclosão de ovos, aqueles extratos que mais contribuíram para a redução na postura de ovos, também tiveram efeito negativo sobre sua viabilidade, no caso, os extratos de atemóia e pimenta causaram as maiores inviabilidades de ovos.

**Tabela 6.** Taxa de eclosão e número médio de ovos de *S. frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) submetida a aplicação tópica de extratos botânicos.

Tratamento	Etanol	Hexano	Média Marginal	Eclosão (%)
	Número de ovos			
Atemóia	70	30	50 C	0,0 ± 0,0
Camomila	195	190	193 ABC	100 ± 0,0
Cravo	140	90	115 BC	50 ± 28,87
Pimenta	100	13	56 C	0,0 ± 0,0
Controles	Acetona	Branco		100 ± 0,0
	283	325		100 ± 0,0

Médias ( $\pm$  EP) seguidas pela mesma maiúscula na coluna não apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. CV (%) = 46.

### 3.3. Comportamento

A interação entre espécies botânicas e extratores para o teste com chance de escolha não foi significativa ( $F_{3;27} = 2,04$ ;  $p = 0,132$ ), sendo necessário analisar as médias marginais (tabela 9).

Não houve diferença significativa entre os solventes, mas entre as plantas foi possível observar que as plantas que receberam os extratos de atemóia e pimenta-do-reino foram as menos preferidas. Os contrastes das médias dos extratos com os controles foram significativos, demonstrando que diferem entre si e foram mais preferidos em relação aos extratos botânicos.

**Tabela 7.** Área foliar consumida ( $\text{cm}^2$ ) por *S. frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) em folhas de milho tratadas com extratos botânicos etanólicos e hexânicos de atemóia, pimenta-do-reino, cravo-da-índia e camomila e dos controles (branco e acetona) submetidos ao teste com chance de escolha.

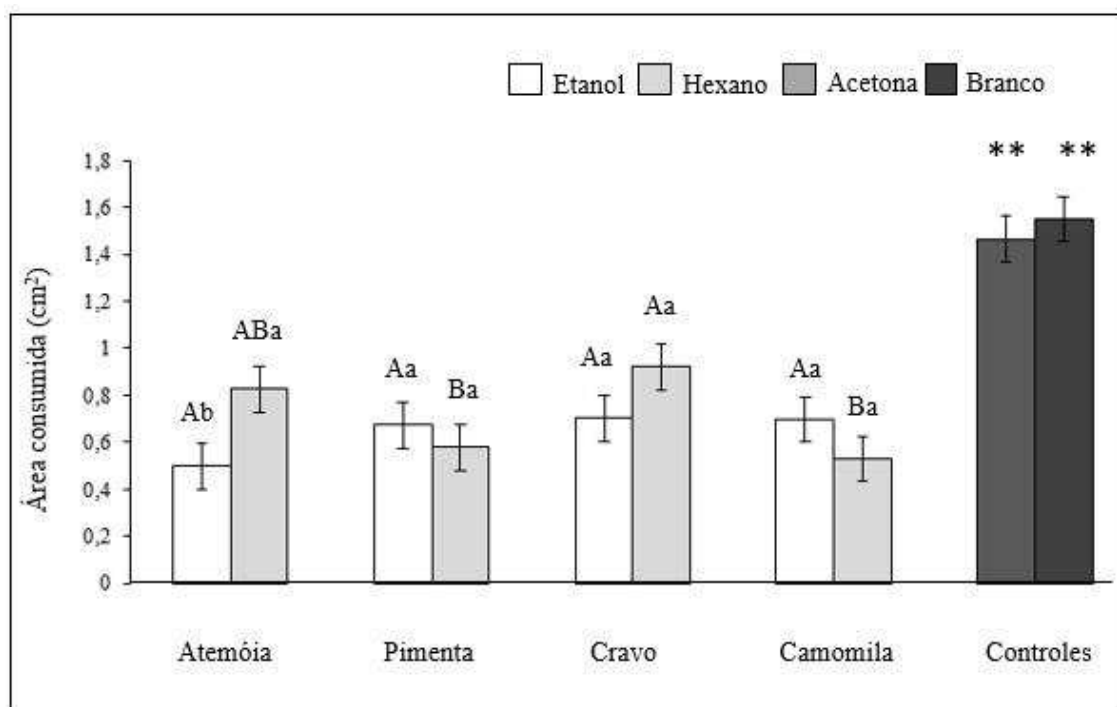
Tratamento	Etanol	Hexano	Mm	
Atemóia	1,51 ± 0,15	1,23 ± 0,15	1,37 ± 0,13	C
Pimenta	1,08 ± 0,21	1,84 ± 0,32	1,46 ± 0,16	C
Cravo	2,07 ± 0,07	2,41 ± 0,26	2,24 ± 1,17	B
Camomila	2,70 ± 0,18	2,88 ± 0,17	2,79 ± 0,15	A
Mm	1,84 ± 0,17 A	2,09 ± 0,19 A		
Controles	Acetona	Branco		
	3,44 ± 0,29**	3,39 ± 0,15**		

Médias ( $\pm$  EP) seguidas pela mesma letra maiúscula (solventes) e minúscula (extratos botânicos) não diferem entre si pelo teste de SNK a 5 % de probabilidade. Significativo a 1% (\*\*) pelo contraste ortogonal ao comparar com as médias dos tratamentos. Mm = média marginal. CV (%) = 18,92.

Dentre os extratos etanólicos, atemóia diferenciou dos demais de acordo com o teste estatístico, possuindo a menor preferência alimentar pela lagarta. Para os extratos hexânicos, não houve diferença significativa entre os extratos botânicos (figura 7).

Comparando os tipos de solvente, apenas pimenta-do-reino possuiu diferença entre o solvente utilizado, sendo o extrato hexano o menos consumido pela lagarta.

Os controles utilizados tiveram elevada área foliar consumida, não havendo diferença entre eles. Através dos contraste foi possível observar que os extratos demonstraram proporcionar menor aptidão para consumo, uma vez que tiveram menores áreas consumidas em comparação com os controles.



**Figura 7.** Área foliar consumida (cm<sup>2</sup>) por *S. frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) em folhas de milho tratadas com extratos botânicos etanólicos e hexânicos de atemóia, pimenta-do-reino, cravo-da-índia e camomila e dos controles (branco e acetona) submetidos ao teste sem chance de escolha. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula (solventes) e minúscula (extratos botânicos) não diferem entre si pelo teste de SNK a 5 % de probabilidade. Significativo a 1% (\*\*) pelo contraste ao comparar com as médias dos tratamentos.

Os resultados obtidos na oviposição não atenderam aos pressupostos paramétricos, dessa maneira, a tabela 10 demonstra quantitativamente o número total e a média que cada planta pulverizada foi escolhida para postura de ovos. Os adultos ovipositaram nos controles e nos extratos de camomila, demonstrando repelência dos extratos de atemóia, cravo-da-índia e pimenta-do-reino para os adultos. Houve pouca diferença entre a oviposição dos controles, mas mesmo a postura de ovos em camomila sendo alta, ela foi reduzida ao comparar com o tratamento acetona e branco (tabela 10).

**Tabela 8.** Número de ovos de *S. frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) em folhas de milho tratadas com extratos botânicos submetidos ao teste com chance de escolha.

	Tratamento	Número total e média de ovos
Etanol	Atemóia	0±0
	Pimenta	0±0
	Cravo	0±0
	Camomila	202,5±44,37
Hexano	Atemóia	0±0
	Pimenta	0±0
	Cravo	0±0
	Camomila	226,25±22,94
Controles	Acetona	427±13,91
	Branco	386,25±39,81

#### 4. Discussão

A aplicação tópica dos extratos botânicos sobre *S. frugiperda* possui uma ação nociva dos extratos por contato, no qual observou-se que os extratos de atemóia e cravo-da-índia obtiveram a maior porcentagem de mortalidade no primeiro dia avaliado, mantendo seu destaque no quinto dia juntamente com o extrato de pimenta-do-reino que também demonstrou boa ação por contato.

Sustentando os resultados apresentados neste trabalho, a bioatividade de Anonáceas já foi verificada para as diversas espécies de insetos (Isman, 2006), principalmente lepidópteros, como, *S. frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) (Blessing et al., 2010), *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelichiidae) (Silva et al., 2007), *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) (Saito et al., 2004), *Pseudaletia sequax* (Lepidoptera: Noctuidae) (Fontana et al., 1998) e *Plutella xylostela* (Lepidoptera: Plutellidae) (Trindade et al., 2011).

É possível que a ação inseticida da atemóia ocorra em função da presença de metabólitos secundários conhecidos como acetogeninas. Essa substância confere a capacidade de interferir na atividade hormonal de lepidópteros (Blessing et al., 2010) e inibir a produção de ATP do complexo mitocondrial I (NADH ubiquinona oxidoreductase), causando a morte celular programada dos insetos devido a redução na produção de energia (ATP) e no transporte de elétrons na mitocôndria (Alali et al., 1999).

Extratos a base de sementes de *A. mucosa* promoveram a mortalidade larval de *Helicoverpa armigera* superior a 90% após sete dias da aplicação tópica nas lagartas (Souza, 2016). Esta anonácea também demonstrou o efeito do extrato sobre lagartas de

quinto instar de *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae) por ingestão (Massaroli, 2013).

O cravo-da-índia, é uma fonte rica em compostos fenólicos, como o eugenol (composto majoritário), o acetato de eugenol e o ácido gálico (Santin et al., 2011). Possui propriedades antimicrobianas, antibacterianas e antifúngicas o que demonstra ter potencial para aplicação na agricultura (Affonso et al., 2012), tanto que o Eugenol já é um ingrediente ativo de um inseticida de amplo espectro (EcoPCO ®D) vendido pela EcoSMART Technologies (Alpharetta, GA, EUA) (Wilson & Isman, 2006).

Não há muitos relatos sobre a mortalidade do extrato de cravo-da-índia em lepidópteros que sejam semelhantes aos resultados promissores que foram alcançado neste estudo, sendo o responsável pela maior mortalidade da lagarta, entre as quatro plantas estudadas, no quinto dia avaliado. Porém, Jiang (2010) também demonstrou em seus bioensaios que o extrato de cravo-da-índia teve alta toxicidade por contato em *T. ni* (Lepidoptera: Noctuidae). Em outras ordens, há relatos da ação inseticida do eugenol provocando alta mortalidade em formiga vermelha *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae:) (Kafle e Jen, 2013), *Periplaneta americana* (Blattodea: Blattellidae), *Camponotus pennsylvanicus* (Hymenoptera: Formicidae) e *Blattella germânica* (Blattodea: Blattellidae:) (Phillips e Appel, 2010).

Dayan e colaboradores (2009) demonstraram que o eugenol é um composto com características inseticida de contato e de rápida ação contra várias espécies de artrópodes, sendo a presença deste composto o provável responsável pela alta mortalidade alcançada pelo cravo-da-índia. Evans (1981) assegurou que o eugenol tem efeito específico sobre os receptores de octopamina (monoamina que atua como neurohormônio, neuromodulador e neurotransmissor em invertebrados) e exerce suas propriedades inseticidas por meio desta ação.

A pimenta-do-reino faz parte da família das Piperáceas, sendo uma fonte rica de compostos secundários usados na medicina e em especiarias alimentares. Metabólitos secundários de diferentes espécies no gênero *Piper* são amplamente utilizados para várias atividades biológicas, incluindo um papel importante na defesa contra microrganismos (Lee et al. 2001; Scott et al., 2008). Estes compostos também possuem atividade inseticida, sendo os principais: compostos fenólicos, derivados de ligninas, terpenos, flavonoides, alcaloides, esteróides e amidas. Entre estes metabólitos, a toxicidade do extrato dos frutos da pimenta-do-reino tem sido atribuída à presença de amidas, entre elas a piperina, uma isobutilamida que é o seu principal constituinte (Scott et al., 2008).

Piperamidas são conhecidas por atuar como neurotoxinas em insetos (McFerren et al., 2002; Scott et al., 2008).

Boff e Almeida (2000) observaram 100% de mortalidade em ovos de *Sitotroga cerealella* (Lepidoptera: Gelechiidae) em seu estudo com extrato de pimenta-do-reino. O pó-vegetal oriundo da pimenta do reino também demonstrou efeito inseticida, com 100% de adultos de *Zabrotes subfasciatus* (Coleoptera: Chrysomelidae) mortos ao quinto dia (Girão Filho et al., 2014), semelhante aos nossos resultados no qual a pimenta-do-reino teve destaque com alta mortalidade no quinto dia avaliado. Além destes trabalhos mencionados, o extrato botânico de pimenta-do-reino também demonstrou ser altamente tóxicos para o bicudo-do-algodoeiro, *Anthonomus grandis* (Coleoptera: Curculionidae); o caruncho-do-arroz, *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae); e caruncho-do-feijão, *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera: Bruchidae) (Su, 1977; Scott, McKibben, 1978).

Além do efeito tóxico dos extratos, o residual dos mesmos podem desempenhar uma promissora ação de controle de pragas, afetando a população da praga sem necessariamente ocasionar sua morte. Esses efeitos são chamados de subletais, e atuam principalmente no desenvolvimento, ciclo de vida e desempenho dos insetos. Assim, esses efeitos tornam-se desejáveis tão quanto a mortalidade direta e muitas vezes pode ser conseguido por doses, concentrações ou volumes reduzidos.

Atemóia, cravo-da-índia e pimenta-do-reino foram os extratos mais promissores que demonstraram alterações nos parâmetros biológicos avaliados no experimento para analisar os efeitos subletais. Além da atividade inseticida por contato, os extratos botânicos possuem vários mecanismos de ação que afetam múltiplos alvos, alterando de maneira eficaz a atividade celular e os parâmetros biológicos de insetos (Scott et al, 2008).

Visando o controle de lagartas da praga *T. ni*, extratos botânicos metanólicos das sementes de *A. atemoya* e *A. squamosa* foram utilizados e demonstraram inibição no crescimento das lagartas (Seffrin *et al.*, 2010). Anonáceas também demonstraram deformações e falhas no desenvolvimento em lagartas de quinto instar e pupas de *Chrysodeixis includens* (Lepidoptera: Noctuidae).

No trabalho de Birah et al. (2010), as lagartas de segundo instar de *S. frugiperda* foram submetidas a uma concentração de 15% do extrato de cravo-da-índia, 15 vezes maior do que a concentração testada neste trabalho, apresentou redução na sobrevivência, crescimento larval e no desenvolvimento total. O extrato também afetou a fecundidade dos insetos e sua fertilidade, corroborando com os resultados obtidos. Em outros artrópodes, o óleo essencial de *S. aromaticum* demonstrou inibição na emergência de

adultos e larvas de *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) (Hag et al., 1999). A partir de experimentos eletrofisiológicos, Price e Berry (2006) mostraram que o eugenol inibe a atividade neuronal e um número de monoterpenos também atua sobre a acetilcolinesterase (Kostyukovsky et al., 2002).

No estudo de Fan e colaboradores (2011), a duração larval encontrada no controle e *P. nigrum* variou de 14,5-16,0 dias, colaborando com os resultados obtidos neste trabalho, no qual a pimenta-do-reino aumentou o período pupal, mas discorda do estudo de Xue et al. (2009) que obteve um menor período pupal. As observação de Xue et al. (2009) também mostraram que o número de machos foi maior em comparação com as fêmeas. A eficácia do extrato de hexano em pupas malformadas, mortalidade por pupa e emergência de adultos foram 25,29, 42,96 e 19,79%, respectivamente.

Estes trabalhos confirmaram que a atividade inseticida dos extratos botânicos é devido a vários mecanismos de ação que afetam vários alvos, alterando de maneira eficaz a atividade celular e os parâmetros biológicos de insetos (Fan et al., 2008; Scott et al., 2008).

Os efeitos subletais de volumes reduzidos podem contribuir com o controle de pragas por reduzir a chance de desenvolver pragas resistentes por não utilizar grandes quantidades de moléculas químicas e também por afetar parâmetros biológicos que diminuem o potencial de danos da praga. Neste trabalho, ao comparar os parâmetros biológicos estudados com os resultados dos controles, fica claro as alterações proporcionadas pelos extratos botânicos.

Alterações no desenvolvimento larval, indicam que ao entrar em contato com o extrato botânico, o sistema biológico da praga foi afetado e falhou na habilidade da conversão de nutrientes em crescimento ou sua ingestão de alimentos foi inibida, resultando em falhas nos próximos estágios que afetam de maneira negativa as próximas gerações.

As alterações podem se manifestar em pupas menores, que gerarão adultos menores ou inférteis, menores razões sexuais, indicando menos fêmeas e menores populações, e também podem alterar a longevidade dos adultos, o que representa que seu ciclo biológico está desregulado, resultando em alterações no número de gerações por ano e suas funções de cópula e oviposição afetadas negativamente (Maroneze & Gallegos 2009). O que representa um ponto positivo para redução de populações de pragas no campo.

Além do efeito tóxico e subletal dos extratos botânicos, os mesmos podem atuar interferindo no reconhecimento e aceitação da planta hospedeira por parte dos insetos.

Assim, quanto maior a repelência proporcionada por determinado extrato menor será o consumo da planta pelas lagartas menor o número de ovos colocados pelos adultos na planta tratada. Neste trabalho, atemóia e pimenta-do-reino foram os extratos com menores áreas consumidas e todos os extratos, menos camomila, não receberam adultos para realizar postura de ovos. Esse comportamento de redução alimentar e não escolha para oviposição são quesitos importantes para proteção de plantas.

Há poucos relatos sobre os efeitos antideterrentes produzidos pelos metabólitos secundários das Annonáceas, tal como da atemóia por se tratar de um híbrido não tão comercializado e conhecido como os outros representantes desta família vegetal. Porém, o trabalho de Blessing (2010) e seus colaboradores demonstrou redução alimentar de *S. frugiperda* ao utilizar *A. montana*. Eles estudaram as principais acetogeninas extraídas de *A. montana* e observaram que lagartas *S. frugiperda* de segundo instar tiveram redução alimentar de 80% quando foram submetidas a testes de escolha, corroborando com os resultados satisfatórios obtido com as sementes de atemóia. Outro relato é com lagartas da praga *T. ni*, utilizando extratos botânicos das sementes de *A. atemoya* e *A. squamosa*. Eles demonstraram efeitos antioxidantes, tóxicos e de inibição de crescimento em lagartas de *T. ni* devido a redução do consumo de área foliar e do desenvolvimento larval (Seffrin *et al.*, 2010).

Cardoso-Almeida (2014) avaliou extratos de *P. nigrum* em adultos de *S. zeamais*, no quais foram repelidos em 80%. O teste de não-preferência conduzido para avaliar as propriedades fagoderrentes do extrato hexano de pimenta-do-reino com lagartas de segundo instar de *S. litura* variaram de 14,81 a 49,61% em comparação com o controle não tratado às 24 h após o início do tratamento. Modificação do comportamento utilizando extratos de *Piper* spp. foram examinados em ensaios em casa de vegetação, demonstrando que os extratos de pimenta-do-reino conseguiram repelir *Lilioceris lili* (Coleoptera: Liliaceae) e *Acalymma vittatum* (Coleoptera: Chrysomelidae) de plantas ornamentais e pepino em concentrações de 0,1-0,5% (Scott *et al.*, 2004).

Os extratos de camomila possuem metabólitos secundários como terpenos e flavonoides (Silva Júnior, 2003). Orave *et al.* (2010) apuraram mais de 92% dos compostos do extrato de camomila, entre eles destacam o óxido de bisabolol (3,1-56%), a-bisabolol (0,1-44,2%), óxido de bisabolol B (3,9-27,2%), cis-enyne-biciclo-éter (8,8-26,1%), óxido de bisabolona A (0,5-24,8%), chamazuleno (0,7-15,3%), espanulenol (1,7-4,8%) e (E)-p-farneseno (2,3-6,6%). Entretanto, há poucos estudos voltados para insetos, mas Coelho e colaboradores (2012) demonstraram em seu trabalho que a planta possui ação antimicrobiana e antioxidante.

Entre os poucos relatos sobre os extratos das flores de camomila contra artrópodes, há o estudo de Macchioni (2004) e seus colaboradores sobre o ácaro *Psoroptes cuniculi* que demonstrou que a atividade acaricida do extrato na concentração de 10% proporcionou 100% de atividade. No trabalho de Pirali-Kheirabadi e Razzaghi-Abyaneh (2007) foi mostrado um efeito baixo a moderado contra o carrapato *Rhipicephalus annulatus*. Nos testes de repelência foi verificado que os óleos essenciais de *M. chamomilla* exibiram forte ação repelente contra *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae) e *T. castaneum* (Al-Jabr, 2006).

Embora os trabalhos citados possuem, efeitos inseticidas/acaricidas, neste trabalho os extratos de camomila não demonstraram potencial em nenhum dos testes e parâmetros avaliados, sendo semelhante ou igual aos controles. Em ambos os trabalhos sobre camomila, as concentrações utilizadas nos melhores resultados foram altas concentrações, entretanto em baixas concentrações, como neste trabalho, demonstraram que mesmo a camomila possuindo excelentes características medicinais e compostos secundários, não atuaram contra *S. frugiperda* como os extratos de atemóia, cravo-da-índia e pimenta-do-reino.

De maneira geral, neste trabalho, principalmente no teste com escolha, observou-se que os extratos afetaram a preferência da lagarta, mascarando a planta hospedeira gerando uma menor alimentação para a praga, conseqüentemente comprometendo seu desenvolvimento negativamente, o que promove outro fato positivo para o controle de pragas.

Segundo Silva et al. (2005), plantas com potencial bioinseticidas devem causar uma mortalidade superior a 40%, como demonstraram os extratos de atemóia, cravo-da-índia e pimenta-do-reino. A diferença na atividade inseticida e repelente destes extratos botânicos, embora os compostos principais sejam parecidos, pode ser atribuída à capacidade de compostos particulares que cada extrator, seja etanólico ou hexânico, consegue disponibilizar. Os resultados diferentes de uma mesma planta com extrator diferente por ser explicado pelo fenômeno sinérgico ou antagônico que promove uma maior ou menor bioatividade aos metabólitos secundários de cada extrato botânico (Tolosa et al., 2006). Nerio et al. (2010) mostraram que os componentes de menor importância também contribuem para a bioatividade dos extratos botânicos e confirmam a importância da complexidade composicional das misturas de compostos naturais.

## **5. Conclusão**

Os extratos hexânicos tiveram maior porcentagem de mortalidade. Dentre eles, o melhor resultado foi observado no quinto dia avaliado para atemóia (79%) e cravo-da-índia (90%), no qual o maior volume estudado (7 $\mu$ L) foi o que resultou em maior porcentagem de mortalidade (70%).

O desenvolvimento larval foi prolongado pelo extrato de camomila (etanol e hexano) e reduzido pelo extrato de atemóia (etanol). O extrato etanólico de atemóia promoveu o menor tempo pupal, e os pesos das pupas fêmeas foram reduzidos pelo extrato de cravo-da-índia (etanol) (0,147g) e as pupas macho pelo extrato de pimenta-do-reino (0,185g). O tempo do período da fase adulta foi prolongado pelos extratos etanólicos de camomila e pimenta-do-reino. O extrato de cravo-da-índia reduziu a razão sexual (0,33) e os extratos de atemóia e pimenta-do-reino afetaram negativamente a postura e viabilidade dos ovos.

O teste que possibilitava a escolha entre os tratamentos pela lagarta demonstrou que as plantas menos preferidas para alimentação foram atemóia e pimenta-do-reino. Já o teste sem chance de escolha o extrato de atemóia (etanol) possibilitou uma menor preferência. Para o teste de oviposição, os extratos de atemóia, cravo-da-índia e pimenta-do-reino foram os tratamentos que não receberam oviposição, indicando repelência do adulto.

Em geral, os extratos de atemóia, cravo-da-índia e pimenta do reino demonstraram potencial inseticida, no qual atemóia e cravo-da-índia foram os melhores com ação por contato, como foi demonstrado no teste de toxicidade, e os três afetaram etapas do desenvolvimento e comportamento. Sobre os solventes, foi possível observar grandes diferenças entre os dois tipos no teste de toxicidade, no qual os extratos hexânicos demonstraram melhor ação inseticida, e no teste de comportamento sem escolha e peso de pupas, que os etanólicos se destacaram.

## 6. Referências

- AFFONSO, R. S.; RENNÓ, M. N.; SLANA, G. C. A.; FRANCA, T.C.C. Aspectos Químicos e Biológicos do Óleo Essencial de Cravo da Índia. **Rev. Virtual de Química**, v.4, p. 146-161, 2012.
- AHMAD, N.; FAZAL, H.; ABBASI, B. H.; FAROOQ, S.; Ali, M.; KHAN, M. A. Biological role of *Piper nigrum* L. (Black pepper): A review. **Asian Pacific J. of Tropical Biomedicine**, v.2, p. 1945-1953, 2012.

- AKHTAR, Y. L.; PAGES, E.; STEVENS, A.; BRADBURY, R.; CAMARA, C. A. G.; ISMAN, M. B. Effect of chemical complexity of essential oils on feeding deterrence in larvae of the cabbage looper. **Physiol. Entomology**, v.37, p. 81-91, 2012.
- AKHTAR, Y.; YU, Y.; ISMAN, M. B.; PLETTNER, E. Dialkoxybenzene and dialkoxyallylbenzene feeding and oviposition deterrents against the cabbage looper, *Trichoplusia ni*: potential insect behavior control agents. **J. of Agricultural and Food Chem.**, v.58, p. 4983–4991, 2010.
- ALALI, F. Q.; XI LIU, X.; MC.LAUGHLIN, J. L. Annonaceous Acetogenins: Recent Progress. **J. of Natural Products**, v.62, p. 504-540, 1999.
- ALMEIDA, Â.; GALVÃO, J. C. C.; CASALI, V.W.D.; LIMA, E. R. de.; MIRANDA, G. V. Tratamentos homeopáticos e densidade populacional de *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em plantas de milho no campo. **Rev. Brasileira de milho e sorgo**, v.2, p. 1-8, 2003.
- ANSANTE, T.F.; RIBEIRO, L.P.; BICALHO, K.U.; FERNANDES, J.B.; SILVA, M.F.G.F.; VIEIRA, P.C.; VENDRAMIM, J.D. Secondary metabolites from Neotropical Annonaceae: screening, bioguided fractionation, and toxicity to *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Ind. Crops and Products**, v.74, p. 969-976, 2015.
- BARROS, E. M.; TORRES, J. B.; BUENO, A. F. Oviposition, development, and reproduction of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) fed on different hosts of economic importance. **Neotr. Entomology**, v.39, p. 996-1001, 2010.
- BIRAH, A.; SHARMA, T.V.R.S.; SINGH, S.; SRIVASTAVA, R. C. Effect of aqueous leaf extract of cloves (*Syzygium aromaticum*) on growth and development of tobacco caterpillar (*Spodoptera litura*). **Indian J. Agric. Sci.**, v.80, p. 534-537, 2010.
- BLANCO C. A.; PELLEGAUD, J. G.; NAVA-CAMBEROS L.; LUGO-BARRERA D.; VEGA-P AQUINO.; COELLO J.; TERÁN-VARGAS A. P.; VARGAS-CAMPLIS J. Peste de milho no México e desafios para a adoção de um programa integrado de manejo de pragas. **J. of Integrated Pest Management**, v.5, p. 1 – 9, 2014.
- BLESSING, L. T.; COLOM, O. A.; POPICH, S.; NESKE, A.; BARDÓN, A. Antifeedant and toxic effects of acetogenins from *Annona montana* on *Spodoptera frugiperda*. **Journal of Pest Science**, v.83, p. 307-310, 2010.

- BRUCE, T. J. A.; PICKETT, J. A. Perception of plant volatile blends by herbivorous insects-Finding the right mix. **Phytochem**, v.72, p. 1605-1611, 2011.
- CARVALHO, A. M. X.; MENDES, F.Q. **SPEED Stat: a minimalist and intuitive spreadsheet program for classical experimental statistics**. Anais da 62ª Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria, p. 333, 2017.
- CHARIANDY, C. M.; SEAFORTH, C. E.; PHELPS, R. H.; POLLARD, G. V.; KHAMBAY, B. P. Screening of medicinal plants from Trinidad and Tobago for antimicrobial and insecticidal properties. **J. Ethnopharmacol**, v.64, p. 265-270, 1999.
- COELHO, A. G.; SCIO, E.; LIMA, I. V. de. A.; NOGUEIRA, M. Atividades antimicrobiana e antioxidante da *Chamomilla recutita* L. **H.U. Revista**, v.38, p. 61-65, 2012.
- DAYAN, F. E.; CANTRELL, C. L.; DUKE, S. O. Natural products in crop protection. **Bioorganic & Medicinal Chem.**, v.17, p. 4022-4034, 2009.
- DAYAN, F. E.; CANTRELL, CH. L.; DUKE, S. O. Natural products in crop protection. **Bioorganic & Medicinal Chem**, v.17 p. 4022-4034, 2009.
- ALMEIDA, A. C. Eficiencia de extractos vegetales como insecticida sobre *Sitophilus zeamais* en granos de maíz almacenados. **Rev Cie Téc Agr**, v.23, p. 57-63, 2014.
- DEQUECH, S. T. B.; CAMERA, C.; STURZA, V. S.; RIBEIRO, L. P.; QUERINO, R. B.; PONCIO, S. Population fluctuation of *Spodoptera frugiperda* eggs and natural parasitism by *Trichogramma* in maize. **Acta Scient. Agronomy**, v.35, p. 295-300, 2013.
- ENAN, E. E. Insecticidal activity of essential oils: octopaminergic sites of action. **Comparative Bioch. Physiology C. Toxicology Pharm**, v.130, p. 325-337, 2001.
- EVANS, P.D. Multiple receptor types for octopamine in the locust. **J. of Physiology**, v. 318, p. 99-122, 1981.
- FAN, L. S.; MUHAMAD, R.; OMAR, D.; RAHMANI, M. Insecticidal Properties of *Piper nigrum* Fruit Extracts and Essential Oils against *Spodoptera litura*. **Int. J. Agric. Biol.**, v.13, p. 517-522, 2011.
- FERNANDEZ-PEREZ M.; FLORES-CESPEDES F.; DAZA-FERNANDEZ I, VIDAL-PENA F.; VILLAFRANCA-SANCHEZ M. Lignin and lignosulfonate-based formulations to protect pyrethrins against photodegradation and volatilization. **Ind. and Eng. Chemistry Research**, v.53, p. 13557-13564, 2014.
- FONTANA, J.; LANCAS, F.; PASOS, M.; CAPPELARO, E.; VILLEGAS, J.; BARON, M.; NOSEDA, M.; POMIIO, M.; VITALE, A.; WEBBER, A.; MAUL, A.;

- PERES, W.; FOERSTER, L. Selective Polarity- and adsorption- guided extraction/purification of *Annona* sp. polaracetogenins and biological assay against agricultural pests. **App. Biochemistry and Biotechnology**, v.70, p. 67-76, 1998.
- GIRÃO FILHO, J. E.; ALCÂNTARA NETO, F.; PÁDUA, L. E. M.; PESSOA, E. F. Repelência e atividade inseticida de pós vegetais sobre *Zabrotes subfasciatus* Boheman em feijão-fava armazenado. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v.16, p. 499-504, 2014.
- HAG, E. A.; EL NADI, A. H.; ZAITOON, A. A. Toxic and growth retarding effects of three plant extracts on *Culex pipiens* larvae (Diptera: Culicidae). **Phytotherapy Res.**, v.13, p. 388-392, 1999.
- ISMAN, M. B. Botanical insecticides, deterrents and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Rev. of Entomology**, v.51, p. 46-66, 2006.
- ISMAN, M. B.; MIRESMAILLI, S.; MACHIAL, C. Commercial opportunities for pesticides based on plant essential oils in agriculture: industry and consumer products. **Phytochemistry Rev.**, v.10, p. 197-204, 2011.
- KAFLE, L.; SHIH, CH. J. Toxicity and Repellency of Compounds from Clove (*Syzygium aromaticum*) to Red Imported Fire Ants *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae). **Bio One Res. Evolved**, v.106, p. 131-135, 2013.
- KARERU, P.; ROTICH, Z. K.; MAINA, E.W. Use of botanicals and safer insecticides designed in controlling insects: the African case. **Intech**, p. 298-309, 2013.
- KAUSHIK, G.; SATYA, S.; NAIK, S. N. Food processing a tool to pesticide residue dissipation—a review. **Food Res. International Journal**, v.42, p. 26–40, 2009.
- KOSTYUKOVSKY, M.; RAFAELI, A.; GILEADI, C.; DEMCHENKO, N.; SHAAAYA, E. Activation of octopaminergic receptors by essential oil constituents isolated from aromatic plants: possible mode of action against insect pests. **Pest Management Sci.**, v.58, p. 1101-1106, 2002.
- LEE, S. E.; LEE, B. H.; CHOI, W. S.; PARK, B. S.; KIM, J. G.; CAMPBELL, B. C. Fumigant toxicity of volatile natural products from Korean spices and medicinal plants towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L). **Pest Management Sci.**, v.57, p. 548-553, 2001.
- LEES, G.; BURT, P. E. Neurotoxic actions of a lipid amide on the cockroach nerve cord and on locust somata maintained in short-term culture: a novel preparation for the study of Na<sup>+</sup> channel pharmacology. **Pesticid Sci**, v.24, p. 189–191, 1988.
- LENARDIS, A. E.; MORVILLO, C. M.; GIL, A.; FUENTE, E. B. Arthropod communities related to different mixtures of oil (*Glycine max* L. Merr.) and

- essential oil (*Artemisia annua* L.) crops. **Ind. Crops and Products**, v.34, p. 1340–1347, 2011.
- MACCHIONI, F.; PERRUCCI, S.; CECCHI, F.; CIONI, P. L.; MORELLI, I.; PAMPIGLIONE, S. Acaricidal activity of aqueous extracts of camomile flowers, *Matricaria chamomilla*, against the mite *Psoroptes cuniculi*. **Med Vet Entomol.**, v.18, p. 205-207, 2004.
- MASSAROLI, A. **EFEITO DE EXTRATOS DE ANNONÁCEAS SOBRE A LAGARTA FALSA MEDIDEIRA *Chrysodeixis includens* (WALKER 1857) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)**. 2013. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 2013.
- MARONEZE, D. M.; GALLEGOS, D. M. N. 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.**, v.30, p.537-550, 2009.
- McFERRIN, M.A.; CARDOVA, D.; RODRIGUEZ, E.; RAUH, J. J.; In vitro neuropharmacological evaluation of piperovatine, an isobutylamide from *Piper piscatorum* (Piperaceae). **J. Ethnopharmacol**, v.83, p. 201–207, 2002.
- MIYAKADO, M.; NAKAYAMA, I.; OHNO, N. **Insecticidal unsaturated isobutylamides**. In: Arnason JT, Philogéne BJR, Morad P. (eds). *Insecticides of plant origin*. ACS Symposium Series; 387. New York: Maple Press. 1989, p. 173-187.
- MUGISHA-KAMATENESI, M; DENG, A. L.; OGENDO J. O; OMOLO E. O; MIHALE M. J.; OTIM, M; BUYUNGO, J. P.; BETT, P. K. Indigenous knowledge of field insect pests and their management around Lake Victoria basin in Uganda. **African J. of Environmental Sci. and Technology**, v.2, p. 342–348, 2008.
- NERIO, L. S.; VERBEL, J. O.; STASHENKO, E. Repellent activity of essential oils: a review. **Bioresource Tech.**, v.101, p. 372-378, 2010.
- PAVELA, R. Possibilities of botanical insecticide exploitation in plant protection. **Pest Tech.**, v.1, p. 47–52, 2007.
- PEREZ-ZUBIRI, J. R.; CHAVEZ, E. C.; URIBE, L. A. A.; FLORES, J. L.; HARRIS, M. K.; HERRERA, RAUL RODRIGUES. Population Variability of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Maize (Poales: Poaceae) Associated with the Use of Chemical Insecticides. **Flor. Entomologist**, v.99, p. 329-331, 2016.
- PHILLIPS, A. K.; APPEL, A.G.; SIMS SR, 2010. Topical toxicity of essential oils to the German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae). **J. Econ. Entomol.** 103, 448–459.

- PIRALI-KHEIRABADI, K.; RAZZAGHI-ABYANEH, M. Biological activities of chamomile (*Matricaria chamomile*) flowers' extract against the survival and egg laying of the cattle fever tick (Acari:Ixodidae). **J. of Zhejiang University**, v.x, p. 693–696, 2007.
- PRICE, D. N.; BERRY, M. S. Comparison of effects of octopamine and insecticidal essential oils on activity in the nerve cord, foregut and dorsal unpaired median neurons of cockroaches. **J. Insect Physiology**, v.52, p. 309-319, 2006.
- RAMPELOTTI-FERREIRA, F. T; COELHO J. R. A; PARRA, J. R. P; VENDRAMIM, J. D. Selectivity of plant extracts for *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Ecotoxicology and Environm. Safety**, v.138, p. 78–82, 2017.
- SAITO, M. L.; POTT, A.; FERRAZ, J. M. G.; NASCIMENTO, R.S. Avaliação de plantas com atividade deterrente alimentar em *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) e *Anticarsia gemmatalis* Hubner. **R. de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v.14, p. 1-10, 2004.
- SANTIN, J. R.; LEMOS, M.; KLEIN, L. C.; MACHADO, I. D.; COSTA, P.; OLIVEIRA, A. P.; TILIA, C.; SOUZA, J. P.; BARRETO, J. P.; BASTOS, J. K.; FALONI, S. Gastroprotective activity of essential oil of the *Syzygium aromaticum* and its major component eugenol in different animal models. **Naunyn Schmied Arch Pharmacol**, v.383, p. 149-158, 2011.
- SCHNEIDER, C. A.; RASBAND, W. S; ELICEIRE, K.W. NIH Image to ImageJ: years of 1 image analysis. **Nat. Methods**, v.9, p. 671-675, 2012.
- SCOTT, I. M., H. R. JENSEN, B. J. Philogene and J.T. Arnason. A review of Piper spp. (Piperaceae) phytochemistry, insecticidal activity and mode of action. **Phytochem. Rev.**, v.7, p. 65–75, 2008.
- SCOTT, I. M.; JENSEN, H.; NICOL, R.; LESAGE, L.; BRADBURY. R.; SAÑCHEZ-VINDAS, P.; POVEDA, L.; ARNASON, J. T.; PHILOGÈNE, B. J. R. Efficacy of *Piper* (Piperaceae) extracts for control of common home and garden insect pests. **J. Econ. Entomol.**, v.97, p. 1390–1403, 2004.
- SEFFRIN, R. C.; SHIKANO, I.; AKHTAR, Y.; ISMAN, M. B. Effects of crude seed extracts of *Annona atemoya* and *Annona squamosa* L. against the cabbage looper, *Trichoplusia ni* in the laboratory and greenhouse. **Crop Protect.**, v.29, p. 20-24, 2010.

- SILVA, A.P.T.; PEREIRA, M. J. B.; BENTO, L.F. Extrato metanólico da semente de araticum (*Annona coriacea*) (MART.) sobre a mortalidade da traça-do-tomateiro (*Tuta absoluta*). **Rev. Brasileira de Agroecologia**, v.2, p. 1150-1153, 2007.
- SILVA, G.; ORREGO, O.; HEPP, R.; TAPIA, M. Búsqueda de plantas com propriedades insecticidas para el control de *Sitophilus zeamais* em maiz almacenado. **Pesq. Agrop. Brasileira**, v.40, p.11-17, 2005.
- SINDIVERG. **Sindicato Nacional da Indústria de produtos para defesa vegetal**. BALANÇO 2015: Setor de agroquímicos confirma queda de vendas. Disponível em: 4 <http://www.sindiveg.org.br/docs/balanco-2015.pdf>. Acesso em 10 dez. 2016.
- SOUZA, B. H. S de, BOTTEGA, D. B. B, SILVA, A. G da, BOIÇA JÚNIOR, A. L. Feeding non-preference by *Spodoptera frugiperda* and *Spodoptera eridania* on tomato genotypes. **R. Ceres**, v.60, p. 021-029, 2013.
- SU, C. F.; HOVART, R. Isolation, Identification and Insecticidal properties of *Piper nigrum* amides. **J. Agric. Food Chem.**, v.29, p.15–118, 1981.
- TAVARES, W.D.; CRUZ, I.; PETACCI, F.; de ASSIS, S.L.; FREITAS, S.D.; ZANUNCIO, J.C.; SERRÃO, J.E. Potential use of Asteraceae extracts to control *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and selectivity to their parasitoids *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and *Telenomus remus* (Hymenoptera: Scelionidae). **Ind. Crops and Products**, v.30, p. 384- 388, 2009.
- TAVARES, W. S.; CRUZ, I.; PETACCI, F.; FREITAS, S. S.; SERRÃO, J. E.; ZANUNCIO, J. C. Insecticide activity of piperine: toxicity to eggs of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae) and phytotoxicity on several vegetables. **J. of Medicinal Plants R.**, v.5, p. 5301-5306, 2011.
- TAVARES, W.S.; COSTA, M.A.; CRUZ, I.; SILVEIRA, R.D.; SERRÃO, J.E.; ZANUNCIO, J. C. Selective effects of natural and synthetic insecticides on mortality of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and its predator *Eriopsis connexa* (Coleoptera: Coccinellidae). **J. of Environmental Sci. and Health Part B-Pesticides Food Contaminants and Agri. Wastes**, v.6, p. 557-561, 2010.
- TOLOZA, A. C.; ZYGADLO, J.; CUETO, G. M.; BIURRUN, F.; ZERBA, E.; PICOLLO, M. I. Fumigant and repellent properties of essential oils and component compounds against permethrin-resistant *Pediculus humanus capitis* (Anoplura: Pediculidae) from Argentina. **J. of Medical Entomology**, v.43, p. 889-895, 2006.

- TRINDADE, R. C. P.; LUNA, J. S.; LIMA, M. R. F.; SILVA, P. P.; SANT'ANA, A. E. G. Larvicidal activity and seasonal variation of *Annona muricata* (Annonaceae) extract on *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). **Rev. Colomb. de Entomología**, Bogotá, v.37, p. 223-227, 2011.
- TUREK C., STINTZING F.C. Stability of essential oils: a review. **Comprehensive Rev. in Food Sci. and Food Safety**, v.12, p. 40–53, 2013.
- UÇLKAN, F.; SAK, O. Cytotoxic effect of cypermethrinon *Pimplaturi onellae* (Hymenoptera: Ichneumonidae) larval hemocytes. **Ekoloji**, v. 19, p.20-26, 2010.
- WILSON, J. A.; ISMAN, M. B. Influence of essential oils on toxicity and pharmacokinetics of the plant toxin thymol in the larvae of *Trichoplusia ni*. **Can. Entomol**, v.138, p. 578–589, 2006.
- XUE, M., PANG, Y. H.; WANG, H.T.; LI, Q. L.; LIU T. X. Effects of four host plants on biology and food utilization of the cutworm, *Spodoptera litura*. **J. Insect Sci.** v.10, p. 1-14, 2009.
- ZOUBIRI, S.; BAALIOUAMER, A. Chemical composition and insecticidal properties of some aromatic herbs essential oils from Algeria. **Food Chem.**, v.129, p. 179–4182, 2011.