



PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DOUTORADO EM AGRONOMIA

RENATO MARCOS DE LEÃO

ATIVIDADE DO EXTRATO ETANÓLICO DE *Asclepias curassavica* L. NO
CONTROLE DE *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA:NOCTUIDAE)
(J.E.SMITH,1917) EM PLANTAS DE MILHO *Zea mays* L.

Presidente Prudente - SP
2023



PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DOUTORADO EM AGRONOMIA

RENATO MARCOS DE LEÃO

**ATIVIDADE DO EXTRATO ETANÓLICO DE *Asclepias curassavica* L. NO
CONTROLE DE *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA:NOCTUIDAE)
(J.E.SMITH,1917) EM PLANTAS DE MILHO *Zea mays* L.**

Tese apresentada a Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Agronomia - Área de Concentração: Produção Vegetal.

Orientador: Dr^a Vânia Maria Ramos

630
L437a

Leão, Renato Marcos de.
Atividade do extrato etanólico de *Asclepias curassavica* L. no controle de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera:Noctuidae) (J.E.Smith,1917) em plantas de milho *Zea mays* L. / Renato Marcos de Leão. – Presidente Prudente, 2023.
121 f.: il.

Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade do Oeste Paulista – Unoeste, Presidente Prudente, SP, 2023.
Bibliografia.
Orientador: Vânia Maria Ramos.

1. *Inseticida natural*. 2. *Lagarta militar*. 3. Extrato vegetal. 4. Plantas inseticidas. I. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: "ATIVIDADE DO EXTRATO ETANÓLICO DE *Asclepias curassavica* L. NO CONTROLE DE *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA:NOCTUIDAE) (J.E.SMITH,1917) EM PLANTAS DE MILHO *Zea mays* L."

AUTOR(A): RENATO MARCOS DE LEÃO

ORIENTADOR(A): Dra. VÂNIA MARIA RAMOS

Aprovado(a) como parte das exigências para obtenção do título de DOUTORA em AGRONOMIA

Área de Concentração PRODUÇÃO VEGETAL, pela Comissão Examinadora:

Dra. Ana Claudia Pacheco Santos



UNOESTE – Universidade do Oeste Paulista / Presidente Prudente (SP)

Dr. Nelson Barbosa Machado Neto



UNOESTE – Universidade do Oeste Paulista / Presidente Prudente (SP)

Dr. Adeney de Freitas Bueno



EMBRAPA SOJA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária / Londrina (PR)

Dra. Viviane Tavares de Almeida



ESAPP - Escola Superior de Agronomia de Paraguaçu Paulista (SP)

Dra. Vânia Maria Ramos



UNOESTE – Universidade do Oeste Paulista / Presidente Prudente (SP)

Presidente Prudente, 24 de abril de 2023.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho primeiramente a Deus.

Aos meus pais, Luiz Carlos e Jonirce, e ao meu irmão Pedro, os maiores incentivadores das realizações dos meus sonhos. Muito obrigado.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus que me deu forças para concluir este projeto.

Agradeço a Universidade do Oeste Paulista e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – (Brasil) CAPES – (Cód: 001), pelo apoio e financiamento desta pesquisa.

Agradeço aos meus pais, Luiz Carlos e Jonirce, e ao meu irmão Pedro, pelo apoio e dedicação. Obrigado por sempre permitirem a realização dos meus sonhos.

Agradeço em especial minha orientadora, Vânia Maria Ramos, pelo apoio, dedicação, ensinamentos e confiança depositada em mim ao longo de todos esses anos de trabalho, que se iniciaram ainda na graduação. Obrigado por tudo.

Agradeço minha amiga e parceira de profissão, Viviane Tavares de Almeida, grato aos seus ensinamentos, ajudas prestadas e boa vontade. Sua ajuda foi fundamental para realização desse projeto. Obrigado por tudo.

Agradeço a equipe do Laboratório de Entomologia Agrícola da UNOESTE, em especial João Vitor, Luciana Barreto, Márcia, Carlos e Diego. Obrigado pelos momentos compartilhados, ajudas prestadas e conhecimentos trocados.

Obrigado a todos que de alguma forma estiveram presentes durante esta etapa da minha vida, com certeza fizeram a diferença nesta caminhada.

E claro, obrigado a Eles e Elas.

“Dar o melhor de si é mais importante que ser o melhor”.

(Mike lerner)

RESUMO

Atividade do extrato etanólico de *Asclepias curassavica* L. no controle de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera:Noctuidae) (J.E.Smith,1917) em plantas de milho *Zea mays* L.

Spodoptera frugiperda destaca-se como principal inseto-praga da cultura do milho. A fim de minimizar os impactos do controle químico de praga, retomam-se estudos de plantas com ação inseticida. O presente trabalho objetivou verificar a ação de *A. curassavica* sobre *S. frugiperda* sobre plantas de *Zea mays* L. As plantas foram coletadas, secas e moídas, e a partir do pó foi confeccionado o extrato etanólico bruto. Foi conduzido ensaio em casa de vegetação com milho e *S. frugiperda* de segundo instar, aplicado extrato nas concentrações de 0,5%, 0,25 % e 0,1% e flubendiamida, foi avaliado dano, mortalidade e fitotoxicidade. Teste de ação translaminar foi ensaiado em casa de vegetação com lagartas de segundo instar de *S. frugiperda* foi alocado em bolsa de tecido na folha do milho aplicado na parte abaxial da folha nas concentrações de 0,5%, 0,25 %, 0,1% e flubendiamida, foi avaliado dano e mortalidade. Teste de ação sistêmica foi com mesmos parâmetros, aplicando no solo extrato nas concentrações de 0,5%, 0,25 % e 0,1% e flubendiamida. Ensaio de preferência de oviposição sem chance de escolha foi conduzido, onde casais de pupas foram acondicionadas em gaiolas previamente pulverizadas com concentrações de 0,5%, 1%, 2% e 4% em seu interior, avaliado viabilidade dos ovos. Três ensaios foram conduzidos a campo, primeiro foi aplicado extrato nas concentrações de 1%, 2 % e 4% e flubendiamida, os demais extratos nas concentrações de 0,5%, 0,25 % e 0,1% e flubendiamida, avaliando fitotoxicidade, dano, número de planta, número de folhas e altura de plantas. Extrato etanólico foi fracionado por partição líquido-líquido com hexano, diclorometano e acetato de etila. No ensaio de aplicação tópica foi avaliado ação de contato do extrato bruto e frações a 0,5% e 4%. Foi caracterizado fitoquimicamente o extrato vegetal a fim de determinar a presença de compostos fenólicos, flavonóides e alcalóides. Teste de condução a campo com as concentrações 1%, 2% e 4% atingiram 100% na escala percentual de fitotoxicidade não sendo possível prosseguir as avaliações. Dois anos ensaiados com menores concentrações, 0,1%, 0,25% e 0,5%, não causaram fitotoxicidade. Em ambos anos, os danos por *S. frugiperda*, após 21 dias o tratamento

0,25% diferenciam-se da testemunha. Sobre a altura, 0,25% e 0,5% se destacam no primeiro ano, sendo no segundo ano 0,5% demonstra ser igual ao tratamento químico do primeiro até o último dia de avaliação. Apesar dos danos diferentes, ambos anos o número de plantas e folhas não diferem entre os tratamentos. Em ambos anos, ensaio pós 0 horas de aplicação, o tratamento contendo extrato diferenciam da testemunha, sendo 0,1% portador das maiores mortalidades (75% e 100%). No ensaio pós 48 horas de aplicação, os tratamentos contendo extrato não diferem da testemunha. Em ambos anos o consumo alimentar 0 horas, observa-se diferença em relação a testemunha no tratamento extrato 0,25%. Após 48 horas no primeiro ano, os tratamentos contendo extrato foram maiores ou iguais a testemunha, diferentemente do segundo ano. Na conversão dos alimentos em peso em ambos anos se observa em 0 horas, todos os tratamentos não diferiram. Porém, no ensaio de 48 horas, tratamentos contendo extrato não diferem entre si, porém o tratamento 0,1% difere da testemunha. Em condições de casa de vegetação extrato etanólico na concentração de 0,25% e 0,5% causaram mortalidade de 50% e 65%, respectivamente. Estas mesmas concentrações são detentoras dos menores danos nos tratamentos contendo extrato. Não foi encontrada fitotoxicidade nos tratamentos contendo extrato. Tratamentos contendo extrato não apresentaram ação sistêmica e translaminar. Análise fitoquímica quantitativa, o maior teor de polifenóis encontra-se no acetato de etila (97,16 µg/ml), flavonoides no extrato bruto (1890,27 µg/ml) e alcalóides no hexano (35,80 µg/ml). Na análise fitoquímica qualitativa, o extrato bruto foi o único a apresentar todos metabólitos (Flavonoides, alcaloides, polifenóis totais, triterpenos, glicosídeos cardiotônicos, saponinas e cumarinas). Nenhum dos tratamentos afetaram significativamente o número de posturas, de ovos ou porcentagem de eclosão das lagartas. Aplicação tópica das frações de 0,5 %, a mortalidade não foi verificada em nenhum tratamento ministrado nesta concentração, já com 4%, todos os tratamentos contendo as frações e o extrato bruto apresentaram dados de mortalidade superior comparados aos tratamentos testemunha sendo o extrato bruto o melhor atingindo 75% de mortalidade.

Palavras-chave: Inseticida natural; plantas inseticidas; lagarta militar; falsa-erva-de-rato; extrato vegetal.

ABSTRACT

Activity of ethanolic extract from *Asclepias curassavica* L. in control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) (J.E.SMITH,1917) on corn plants *Zea mays* L.

Spodoptera frugiperda stands out as the main insect pest in corn. In order to minimize the impacts of chemical pest control, studies of plants with insecticide action are resumed. The present work aimed to verify the action of *A. curassavica* on *S. frugiperda* on *Zea mays* L plants. The plants were collected, dried and ground, and the crude ethanol extract was made from the powder. Tests were carried out in a greenhouse with corn and *S. frugiperda* of second instar, applied extract at concentrations of 0.5%, 0.25% and 0.1% and flubendiamide, damage, mortality and phytotoxicity were evaluated. Translaminar action test was tested in a greenhouse with second instar caterpillars of *S. frugiperda* placed in a tissue bag on the corn leaf applied to the abaxial part of the leaf at concentrations of 0.5%, 0.25%, 0, 1% and flubendiamide, damage and mortality were evaluated. Systemic action test was performed with the same parameters, applying extract in the soil at concentrations of 0.5%, 0.25% and 0.1% and flubendiamide. No-choice oviposition preference test was conducted, where couples of pupae were placed in previously sprayed cages with concentrations of 0.5%, 1%, 2% and 4% inside, evaluating egg viability. Three trials were conducted in the field, first extract was applied at concentrations of 1%, 2% and 4% and flubendiamide, the other extracts at concentrations of 0.5%, 0.25% and 0.1% and flubendiamide, evaluating phytotoxicity, damage, plant number, number of leaves and plant height. Ethanol extract was fractionated by liquid-liquid partition with hexane, dichloromethane and ethyl acetate. In the topical application test, the contact action of the crude extract and fractions at 0.5% and 4% was evaluated. The plant extract was phytochemically characterized in order to determine the presence of phenolic compounds, flavonoids and alkaloids. Field conduction test with concentrations of 1%, 2% and 4% reached 100% in the percentage scale of phytotoxicity and it was not possible to proceed with the evaluations. Two years tested with lower concentrations, 0.1%, 0.25% and 0.5%, did not cause phytotoxicity. In both years, the damage caused by *S. frugiperda*, after 21 days the 0.25% treatment differed from the control. Regarding height, 0.25% and 0.5% stand out in

the first year, while in the second year 0.5% shows to be equal to the chemical treatment from the first to the last day of assessment. Despite the different damage, both years the number of plants and leaves did not differ between treatments. In both years, test after 0 hours of application, the treatment containing extract differed from the control, with 0.1% having the highest mortality (75% and 100%). In the test after 48 hours of application, the treatments containing extract did not differ from the control. In both years the food consumption 0 hours, there is a difference in relation to the control in the extract 0.25% treatment. After 48 hours in the first year, treatments containing extract were greater than or equal to the control, unlike the second year. Conversion of feed to weight in both years is observed at 0 hours, all treatments did not differ. However, in the 48-hour trial, treatments containing extract do not differ from each other, but the 0.1% treatment differs from the control. Under greenhouse conditions, ethanol extract at concentrations of 0.25% and 0.5% caused mortality of 50% and 65%, respectively. These same concentrations hold the least damage in treatments containing extract. Phytotoxicity was not found in treatments containing extract. Treatments containing extract did not show systemic and translaminar action. Quantitative phytochemical analysis, the highest polyphenol content is found in ethyl acetate (97.16 µg/ml), flavonoids in the crude extract (1890.27 µg/ml) and alkaloids in hexane (35.80 µg/ml). In the qualitative phytochemical analysis, the crude extract was the only one to present all metabolites (Flavonoids, alkaloids, total polyphenols, triterpenes, cardiotoxic glycosides, saponins and coumarins). None of the treatments significantly affected the number of lays, eggs or hatching percentage of caterpillars. Topical application of 0.5% fractions, mortality was not verified in any treatment administered at this concentration, as with 4%, all treatments containing the fractions and the crude extract presented higher mortality data compared to the control treatments being the crude extract the best reaching 75% mortality.

Keywords: Nature insecticide; insecticide plants; military caterpillar; false ratweed; plant extract.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Escala de notas de danos por <i>S. frugiperda</i> , adaptada por Smith; Khan; Pathak (1994).....	41
Tabela 2 - Escala percentual de fitotoxicidade, adaptada de Frans; Crowley (1986)	41
Tabela 3 - Tratamentos contendo extrato etanólico e frações de <i>A. curassavica</i> aplicados sobre o dorso de lagartas de <i>S. frugiperda</i> de segundo e quinto instar, na dose de 0,1 µl.....	48
Tabela 4 - Mortalidade (%) de lagartas de <i>S. frugiperda</i> de 2º instar após aplicação do extrato etanólico de <i>A. curassavica</i> via pulverização, ao decorrer de 12 DAT (Testemunha = água, Extrato = extrato etanólico de <i>A. curassavica</i> e Químico = flubendiamida).....	51
Tabela 5 - Média de dano* de lagartas de <i>S. frugiperda</i> em plantas de milho após pulverização do extrato etanólico de <i>Asclepias curassavica</i> ao decorrer de 12 dias (Testemunha = água, Extrato = extrato etanólico de <i>A. curassavica</i> e Químico = flubendiamida) (* segundo escala de Smith, Khan , Pathak (1993)).....	52
Tabela 6 - Mortalidade (%) e dano* de lagartas de <i>S. frugiperda</i> de 2º instar com aplicação do extrato etanólico de <i>Asclepias curassavica</i> via solo (Testemunha = água, Extrato = extrato etanólico de <i>A. curassavica</i> e Químico = Tiametoxam dose) (* segundo escala de Smith; Khan; Pathak, 1993).....	53
Tabela 7 - Mortalidade (%) e dano de lagartas de <i>S. frugiperda</i> de 2º instar com aplicação do extrato etanólico de <i>Asclepias curassavica</i> via translaminar (Testemunha = água, Extrato = extrato etanólico de <i>A. curassavica</i>) (* segundo escala de Smith; Khan; Pathak, 1993).	54
Tabela 8 - Mortalidade (%) diária acumulada de lagartas de <i>Spodoptera frugiperda</i> de 30 minutos à 8 horas após aplicação tópica de 0,1 µl/lagarta do extrato etanólico bruto e frações de <i>Asclepias</i> na concentração de 4%.....	55
Tabela 9 - Mortalidade (%) diária acumulada de lagartas de <i>Spodoptera</i>	

	<i>frugiperda</i> de 10 à 72 horas após aplicação tópica de 0,1 µl/lagarta do extrato etanólico bruto e frações de <i>Asclepias curassavica</i> concentração de 4%.....	55
Tabela 10 -	Fecundidade e fertilidade de adultos de <i>S. frugiperda</i> sob ambiente sem chance de escolha contendo diferentes concentrações de extrato etanólico de <i>A. curassavica</i> (Testemunha = água, Extrato = extrato etanólico de <i>A. curassavica</i> e Químico = flubendiamida)	56
Tabela 11 -	Caracterização química e teores (µg/ml) de polifenóis totais, flavonóides totais e alcalóides do extrato etanólico bruto e frações de <i>Asclepias curassavica</i> coletadas na fase reprodutiva...	57
Tabela 12 -	Caracterização química qualitativa dos compostos químicos presentes no extrato etanólico bruto e frações de <i>Asclepias curassavica</i>	58
Tabela 13 -	Fitotoxicidade plantas de <i>Z. mays</i> tratadas com diferentes concentrações do extrato etanólico de <i>A. curassavica</i> adaptada de Frans; Crowley (1986) (Testemunha = água, Extrato = extrato etanólico de <i>A. curassavica</i> e Químico = flubendiamida)....	60
Tabela 14 -	Danos causados por <i>S. frugiperda</i> em plantas de <i>Z. mays</i> em condições de campo tratadas com diferentes concentrações do extrato etanólico de <i>A. curassavica</i> de acordo com a escala de notas adaptada por Smith; Khan; Pathak (1994) (Testemunha = água, Extrato = extrato etanólico de <i>A. curassavica</i> e Químico = flubendiamida)	61
Tabela 15 -	Número de plantas e folhas de <i>Z. mays</i> 21 dias após aplicação diferentes concentrações do extrato etanólico de <i>A. curassavica</i> em condições de campo (Testemunha = água, Extrato = extrato etanólico de <i>A. curassavica</i> e Químico = flubendiamida).....	62
Tabela 16 -	Altura (cm) de plantas de <i>Z. mays</i> tratadas com diferentes concentrações do extrato etanólico de <i>A. curassavica</i> (Testemunha = água, Extrato = extrato etanólico de <i>A. curassavica</i> e Químico = flubendiamida)	62

Tabela 17 - Mortalidade de <i>S. frugiperda</i> em condições de laboratório alimentadas com folhas de milho coletadas à campo nas parcelas experimentais, 0 e 48 horas após aplicação dos tratamentos (Testemunha = água, Extrato = extrato etanólico de <i>A. curassavica</i> e Químico = flubendiamida)	63
Tabela 18 - Consumo alimentar de <i>S. frugiperda</i> em condições de laboratório alimentadas com folhas de milho coletadas à campo nas parcelas experimentais, 0 e 48 horas após aplicação dos tratamentos (Testemunha = água, Extrato = extrato etanólico de <i>A. curassavica</i> e Químico = flubendiamida)	66
Tabela 19 - Peso de <i>S. frugiperda</i> tratadas com diferentes concentrações do extrato etanólico de <i>A. curassavica</i>	67
Tabela 20 - Danos causados por <i>S. frugiperda</i> em plantas de <i>Z. mays</i> em condições de campo tratadas com diferentes concentrações do extrato etanólico de <i>A. curassavica</i> de acordo com a escala de notas adaptada por Smith; Khan; Pathak (1994) (Testemunha = água, Extrato = extrato etanólico de <i>A. curassavica</i> e Químico = flubendiamida)	69
Tabela 21 - Número de plantas e folhas de <i>Z. mays</i> tratadas com diferentes concentrações do extrato etanólico de <i>A. curassavica</i> (Testemunha = água, Extrato = extrato etanólico de <i>A. curassavica</i> e Químico = flubendiamida)	70
Tabela 22 - Altura (cm) de plantas de <i>Z. mays</i> tratadas com diferentes concentrações do extrato etanólico de <i>A. curassavica</i> (Testemunha = água, Extrato = extrato etanólico de <i>A. curassavica</i> e químico flubendiamida)	71
Tabela 23 - Mortalidade (%) e dano de lagartas de <i>S. frugiperda</i> de 2º instar com aplicação do extrato etanólico de <i>Asclepias curassavica</i> via translaminar (Testemunha = água, Extrato = extrato etanólico de <i>A. curassavica</i>) (* segundo escala de Smith; Khan; Pathak, 1993).	72
Tabela 24 - Consumo alimentar de <i>S. frugiperda</i> em condições de laboratório	

	alimentadas com folhas de milho coletadas à campo nas parcelas experimentais, 0 e 48 horas após aplicação dos tratamentos (Testemunha = água, Extrato = extrato etanólico de <i>A. curassavica</i> e Químico = flubendiamida).....	76
Tabela 25 -	Peso de <i>S. frugiperda</i> tratadas com diferentes concentrações etanólico de <i>A. curassavica</i>	77

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Curva de sobrevivência (Kaplan-Meier) (primeiro ano) de lagartas de <i>Spodoptera frugiperda</i> alimentadas com folhas de milho pulverizadas com extrato etanólico bruto <i>A. curassavica</i> após 0 hora.....	64
Figura 2 - Curva de sobrevivência (Kaplan-Meier) (primeiro ano) de lagartas de <i>Spodoptera frugiperda</i> alimentadas com folhas de milho pulverizadas com extrato etanólico bruto <i>A. curassavica</i> após 48 horas.....	65
Figura 3 - Curva de sobrevivência (Kaplan-Meier) (segundo ano) de lagartas de <i>Spodoptera frugiperda</i> alimentadas com folhas de milho pulverizadas com extrato etanólico bruto <i>A. curassavica</i> após 0 horas.....	73
Figura 4 - Curva de sobrevivência (Kaplan-Meier) (segundo ano) de lagartas de <i>Spodoptera frugiperda</i> alimentadas com folhas de milho pulverizadas com extrato etanólico bruto <i>A. curassavica</i> após 48 horas.....	74

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	OBJETIVO	19
3	REVISÃO DE LITERATURA	20
3.1	Aspectos bioecológicos e importância de <i>Spodoptera frugiperda</i>	20
3.2	Extratos de plantas inseticidas	23
3.3	<i>Asclepias curassavica</i>	26
3.4	Metabólitos secundários de plantas	27
3.4.1	Compostos fenólicos.....	29
3.4.2	Flavonóides.....	31
3.4.3	Terpenos.....	32
3.4.4	Compostos Nitrogenados	34
3.5	Maceração e extração líquido-líquido	35
4	MATERIAL E MÉTODOS	38
4.1	Criação de <i>Spodoptera frugiperda</i>	38
4.2	Confecção dos extratos	38
4.3	Ação do extrato etanólico de <i>A. curassavica</i> sobre os insetos e plantas em casa de vegetação climatizada	39
4.4	Avaliação da ação translaminar de <i>A. curassavica</i>	41
4.5	Avaliação da ação sistêmica via foliar	42
4.6	Bioensaio de interferência de oviposição da <i>S. frugiperda</i> sobre ambiente contendo extrato etanólico de <i>A. curassavica</i>	43
4.7	Avaliação da bioatividade de <i>A. curassavica</i> sobre oviposição	44
4.8	Ação do extrato etanólico de <i>A. curassavica</i> sobre os insetos e plantas ao campo	45
4.8.1	Avaliação de mortalidade <i>A. curassavica</i> sobre os insetos e sua persistência em plantas	46
4.9	Obtenção das frações	47
4.9.1	Bioensaio de contato do extrato etanólico de <i>A. curassavica</i>	48
4.10	Caracterização e determinação dos teores dos compostos químicos	48
4.10.1	Flavonoides	49
4.10.2	Polifenóis totais	49
4.10.3	Alcalóides	49

4.11	Delineamento Experimental.....	50
5	RESULTADOS	51
5.1	Pulverização do extrato em plantas de milho	51
5.2	Ação sistêmica do extrato de <i>A. curassavica</i> aplicado no solo	52
5.3	Ação translaminar do extrato de <i>A. curassavica</i>	53
5.4	Bioensaio: aplicação tópica do extrato bruto de <i>A. curassavica</i> e suas frações.	54
5.5	Fertilidade e fecundidade	56
5.6	Caracterização e identificação química do extrato de <i>A. curassavica</i>	56
5.7	Análise fitoquímica qualitativa do extrato etanólico de <i>A. curassavica</i> e suas frações	57
5.8	Teste de condução a campo do extrato etanólico de <i>A. curassavica</i> no controle de <i>S. frugiperda</i> no milho	60
6	DISCUSSÃO	78
6.1	Pulverização do extrato em plantas de milho	78
6.2	Ação translaminar do extrato de <i>A. curassavica</i>	80
6.3	Ação sistêmica do extrato de <i>A. curassavica</i> aplicado no solo	81
6.4	Bioensaio: aplicação tópica do extrato bruto de <i>A. curassavica</i> e suas frações	83
6.5	Fertilidade e fecundidade	84
6.6	Caracterização e identificação química qualitativa do extrato de <i>A. curassavica</i>	86
6.7	Caracterização e identificação química quantitativa do extrato de <i>A. curassavica</i>	89
6.8	Teste laboratorial de plantas coletadas a campo do extrato etanólico de <i>A. curassavica</i> no controle de <i>S. frugiperda</i> no milho	92
6.9	Teste de condução a campo do extrato etanólico de <i>A. curassavica</i> no controle de <i>S. frugiperda</i> no milho	94
7	CONCLUSÃO	98
	REFERÊNCIAS	99

1 INTRODUÇÃO

Insetos do gênero *Spodoptera* (Lepidoptera: Noctuidae) tem grande importância econômica, pelo fato de englobar várias espécies pragas agrícolas (Santos, 2007). Espécie *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) (J.E. SMITH) é um exemplo desse gênero, trata-se de um inseto cosmopolita capaz de se alimentar de mais de 40 famílias de plantas. Seu principal hospedeiro é o milho (*Zea mays* L.), porém em função da sua alta polifagia causa danos em várias outras culturas como algodão (*Gossypium* spp.) (Miranda; Moreira; Siqueira, 2010, amendoim (*Arachis hypogea* L.) (Isidro *et al.*, 1997), arroz (*Oryza sativa* L.) (Busato *et al.*, 2004), mandioca (*Manihot esculenta* (Crantz)) (Lopes *et al.*, 2008), sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench), soja (*Glycine max* (L.) Merrill) (Veloso, 2010) e feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) principalmente em áreas onde há o consórcio ou plantio sucessivo de milho e feijão (Sá *et al.*, 2009). É amplamente distribuída na América do Sul e Norte (Murúa *et al.*, 2009), sua origem conhecida das zonas tropicais e subtropicais das Américas, entretanto pode ser encontrada em zonas temperadas do continente norte americano em algumas épocas do ano (Santos *et al.*, 2004).

Com hábito alimentar polífago aliado a uma grande variedade de hospedeiros (Busato *et al.*, 2004), apresenta rápida disseminação nas plantas hospedeiras e grande capacidade de dispersão, o que determina a complexidade dos seus padrões genéticos e migratórios (Nagoshi; Meagher, 2008). O fato de utilizar o monocultivo em áreas próximas intensificou ainda mais a disseminação da praga, o que faz com que culturas onde a *S. frugiperda* era considerada praga secundária ganhe a importância de praga primária aumentando o uso indiscriminado de agrotóxicos sem estudo prévio de flutuação populacional, ou sem conhecimento do nível de controle (Barros, 2009). No Brasil, estima-se que a lagarta-do-cartucho é responsável pela maioria dos gastos com pesticidas e perdas que ultrapassam 50% dos danos causados por pragas (Figueiredo *et al.*, 2006) sendo o controle tradicional feito com produtos químicos (Morillo; Notz, 2007).

Dentre os principais inseticidas podemos citar os carbamatos, inibidores da síntese de quitina, espinosinas, organofosforados e piretroides (Valicente, 2015). Porém, existe uma grande dificuldade em conseguir atingir a lagarta, visto que ela se

aloja dentro de cartucho, além de problemas com a utilização de agrotóxicos como a contaminação do meio ambiente, custo elevado, risco de toxicidade (Moraes, 2014), além de que seu uso indiscriminado ainda tem contribuído para a seleção de indivíduos resistentes, agravando ainda mais a preocupação dos produtores (Petzold-Maxwell *et al.*, 2014).

Devido aos inúmeros problemas supracitados, a busca por outros métodos de controle que atendam as necessidades do produtor em manter a praga abaixo do nível de dano econômico tem se tornado frequente (Cruz; Viana; Waquil, 2011). Substâncias com atividade inseticida oriundas do metabolismo secundário das plantas são promissoras e vêm sendo estudadas como novas moléculas para o controle de pragas (Menezes *et al.*, 2014). Elas atuam como forma de defesa ao ataque de patógenos e artrópodes herbívoros, sendo os óleos essenciais importantes substâncias de defesa para algumas famílias botânicas (Regnault-Roger; Vincent; Arnason, 2012).

Em estudos realizados com a raiz e outras partes da *A. curassavica*, da família Apocynaceae, foi possível a identificação de glicosídeos cardiotônicos (Warashina *et al.*, 2008). Trata-se de uma planta herbácea que ocorre em todo território brasileiro. Habitando as partes mais úmidas e baixas de pastos (Tokarnia; Brito; Cunha, 2001). Macagnan *et al.* (2016) em trabalho utilizando extrato aquoso de *A. curassavica*, não verificou atividade inseticida, tanto para lagartas de segundo e quarto instar de *S. frugiperda*, na concentração de 0,1%. Porém, Leão (2018) verificou que o extrato etanólico de *A. curassavica* demonstrou-se potencialmente efetivo no controle de *S. frugiperda*, em teste de ingestão, ação de contato e ação fagodeterrente inibindo quase ou completamente a alimentação das lagartas.

De posse dessas informações, a partir dos efeitos nocivos ao desenvolvimento dos insetos, considera-se que *A. curassavica* apresenta potencial promissor no controle de pragas agrícolas.

2 OBJETIVO

Verificar a ação inseticida do extrato *A. curassavica* sobre o desenvolvimento e reprodução de *S. frugiperda*, avaliando sua mortalidade até a fase de pupas; peso das lagartas; consumo alimentar a partir da área foliar consumida; viabilidades dos ovos a partir do número de ovos e porcentagem de eclosão; danos sobre as plantas de milho utilizando escala visual; avaliação de fitotoxidade utilizando escala percentual de fitotoxidade; ação translaminar e ação sistêmica; determinar interferência na oviposição em ambientes contendo o extrato de *A. curassavica*; ação de contato das frações sobre a biologia de *S. frugiperda*; caracterização fitoquímica do extrato bruto e as frações a fim de determinar a presença de compostos fenólicos, flavonóides e alcaloides na planta.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Aspectos bioecológicos e importância de *Spodoptera frugiperda*

A *S. frugiperda*, é um lepidóptero nativo das zonas tropical e subtropical das américas, o qual sua distribuição abrange a argentina até o sul do Canadá (Leiderman; Sauer, 1953). Considerada uma das pragas mais importantes da cultura do milho no Brasil e no mundo (Gallo, 2002; Valicente, 2008), trata-se de uma praga polífaga, (Busato *et al.*, 2005), que resulta em uma ampla capacidade de se alimentar de mais de 80 espécies de plantas economicamente importantes, entre elas podemos citar como exemplo o algodoeiro, o milho e a soja (Monnerat *et al.*, 2006).

Este inseto apresenta desenvolvimento holometabólico por passar pelas fases de ovo, larva, pupa e adulto (Valicente, 2008). Suas posturas são depositadas em massas irregulares que podem conter entre 30 e 300 ovos (King; Saunders, 1984), as fêmeas colocam seus ovos na face superior das folhas das plantas (Silva, 1998), os quais ficam unidos entre si e fixados ao substrato por uma substância produzida pelas glândulas coletéricas, e recobertas por pelos e escamas do abdome da fêmea (Patel, 1981).

Após a eclosão, as lagartas inicialmente alimentam-se do cório do ovo e completam seu desenvolvimento em aproximadamente 15 dias (Luccini, 1977), passando por 6 instares (Cruz; Filho, 1995). Ao final do período larval, as lagartas penetram no solo, onde se transformam em pupas (Gallo *et al.*, 2002), a princípio a lagarta passa por um período de pré-pupa no solo, podendo durar de um a cinco dias e por fim, o período pupal pode variar de 8 a 25 dias (Pinto *et al.*, 2004).

A fase adulta de *S. frugiperda* é uma mariposa, apresentam 35 a 45 mm de envergadura e comprimento que varia de 15 a 25 mm, possuem a coloração das asas anteriores parda-escuras e posteriores branco-acinzentadas, com pontos claros na região central de cada asa (Cruz; Filho, 1995; King; Saunders, 1984). Possuem asas anteriores mosqueadas e, no macho, existem duas manchas mais claras ovaladas, bem definidas e unidas em forma de V. As asas posteriores são esbranquiçadas, com bordas acinzentadas, em ambos os sexos (Santos; Meneguim; Neves, 2005). São insetos de hábito noturno, e, durante o dia, encontram-se abrigados sob a folhagem próxima ao solo (Ferreira, 2003), isso fica evidenciado em

seu hábito de acasalamento, tendo início 3 dias após a emergência dos adultos, é mais intenso no período da noite e logo após começa o processo de oviposição (Dantas, 2010).

Em função do seu hábito alimentar, o controle por métodos convencionais se torna limitado e o inseto, estando protegido pela própria planta, completa seu desenvolvimento larval no interior da espiga do milho, ocasionando maiores danos. As altas temperaturas na região central do Brasil durante todas as estações do ano e o plantio sequencial das culturas de milho, soja e algodão tem favorecido a ocorrência da praga e, em consequência, redução significativa da produção (Moraes; Lourenção; Paterniani, 2015).

A importância de *S. frugiperda* é dada principalmente pela dificuldade de controle (Santos *et al.*, 2004), intensificando-se ainda mais quando o ataque ocorre na fase inicial da cultura, o que torna o controle via pulverização das plantas pouco efetivo em razão das plantas possuírem reduzida área foliar, dificultam a retenção do produto nas folhas, diminuindo o poder residual (Ceccon *et al.*, 2004).

Ao se alimentarem, reduzem a área foliar, afetando a capacidade fotossintética da planta, além de danificarem estruturas frutíferas. Esses danos diferenciam-se de acordo com a espécie de planta atacada, época do ataque, estágio fenológico e intensidade de infestação (Sarmiento *et al.*, 2002), podendo abrir caminho para microorganismos (Siloto, 2002).

No manejo para o controle de *S. frugiperda*, a principal tática recomendada ainda é a utilização de produtos químicos (Cruz; Viana; Waquil, 1999), estes inseticidas químicos visam principalmente o controle das larvas de *S. frugiperda* (Yu; Nguyen; Abo-Elghar, 2003). Analisando o histórico desse manejo, observamos que até a década de 1980, os principais ativos usados no controle de *S. frugiperda* na maioria dos países da América eram: os inseticidas, de organofosforados (paration metílico, etc.), carbamatos (carbaril, etc.) e piretróides (cipermetrina, etc.). Atualmente, o controle químico é amplamente empregado em diversas culturas que sofre por seu dano, na cultura do milho existe 259 produtos registrados com diversos princípios ativos, como os carbamatos, organofosforados, piretróides, neonicotinóides, espinosinas, diamidas e antranilamidas (AGROFIT, 2023). Em razão do seu uso indiscriminado de produto no campo nas Américas, *S. frugiperda* desenvolveu resistência a mais de 29 inseticidas e seis modos de ação (Gutierrez-Moreno *et al.*, 2019).

Contamos com outra estratégia de controle de *S. frugiperda*, o qual diz respeito a utilização de plantas transgênicas que expressam toxinas do microrganismo *Bacillus thuringiensis Berliner* (Bt). Plantas transgênicas são organismos geneticamente modificados (OGM) que contém inserções gênicas em seu genoma, obtidas por meio de ferramentas da Engenharia Genética (Manual, 2015; Blanco *et al.*, 2016). Apesar de inicialmente a tecnologia Bt demonstrar controle satisfatório de lepidópteros pragas, atualmente o cenário não é o mesmo. A intensa utilização das plantas transgênicas, associada a não adoção das estratégias de manejo de resistência, gerou elevada pressão de seleção sobre os insetos, resultando em um desenvolvimento acelerado da resistência, o que compromete a eficiência da tecnologia (Storer *et al.*, 2010; Omoto *et al.*, 2013, Faretto *et al.*, 2017).

Além disso, características genéticas, biológicas e ecológicas de *S. frugiperda* como a frequência inicial de alelos de resistência, o custo adaptativo, a herança da resistência, o hábito polífago, a elevada capacidade reprodutiva, a capacidade de migração a longas distâncias e os mecanismos de detoxificação de compostos inseticidas também contribuem para a evolução acelerada da resistência a moléculas e proteínas inseticidas (Tabashink *et al.*, 2013; Giraudo *et al.*, 2015).

Outra estratégia para o manejo de *S. frugiperda* é o uso do controle biológico contribuindo com a redução da contaminação do meio ambiente e vem sendo uma solução econômica e ambientalmente mais segura aos inseticidas químicos atualmente sendo usado. No grupo dos inimigos naturais estão inclusos parasitóides, predadores e entomopatógenos. Entre eles, os parasitoides de ovos, *Trichogramma pretiosum* (Riley) (Hymenoptera: Trichogrammatidae), *Trichogramma atopovirilia* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygasteridae) (Beserra; Dias; Parra, 2005; Pomari *et al.*, 2013), parasitoides larvais, *Campoletis sonorensis* (Cameron) (Hymenoptera: Ichneumonidae) e *Chelonus insularis* (Hymenoptera: Braconidae) (Jourdie *et al.*, 2009), e parasitoides de pupas, *Diapetimorpha introit* e *Ichneumon promissorius* (Hymenoptera: Ichneumonidae) (Molina-Ochoa *et al.*, 2003).

A ocorrência de insetos predadores tanto de ovos quanto de larvas é importante para manter as populações de *S. frugiperda* sob controle. As tesourinhas *Doru lineare* (Eschs) e *Doru luteipes* (Scudder) (Dermaptera: Forficulidae) têm grande contribuição no controle populacional de *S. frugiperda* no Brasil, por se

alimentam das massas de ovos e larvas (Pasini; Parra; Lopes, 2007; Sueldo; Bruzzone; Virla, 2010). *Picromerus lewisi* (Scott) (Hemiptera: Pentatomidae) e *Arma chinensis* (Fallou) (Hemiptera: Pentatomidae) se demonstraram como importantes predadores da fase imatura da *S. frugiperda*, após seu aparecimento na China, principalmente larvas de 6º. instar. Duas espécies de insetos predadores, *Eocanthecona furcellata* (Wolff) e *Andrallus spinidens* (Fabricius) (Hemiptera: Pentatomidae) tem se destacado para o uso como agentes de controle (Shylesha; Sravika, 2018).

Ainda, estudos demonstraram o potencial do uso de entomopatógenos como agentes biopesticidas para o manejo da lagarta-do-cartucho (Bateman *et al.*, 2018; Chen *et al.*, 2019). Os fungos *Beauveria bassiana*, *Beauveria roningiartii*, *Metarhizium anisopliae*, *M. rileyi* e *Paecilomyces fumosoroseus* têm sido estudados como potenciais entomopatógenos para o controle de *S. frugiperda* (Altre; Vandenberg, 2001; Carneiro *et al.*, 2008; Grijalba *et al.*, 2018).

Devido aos constantes desequilíbrios em campos agrícolas oriundos de práticas de manejo incorretas, uma alternativa é a adoção de estratégias propostas pelo MIP. Quando este conjunto de práticas são utilizadas de forma integrada garantem o retardamento de resistência da lagarta-do-cartucho, pois, ocorre uma redução de pressão de seleção sobre o inseto alvo (Jakka; Knight; Jurat-Fuentes, 2014). Deste modo, manifesta-se a necessidade de novas substâncias para controlar esta praga, de modo a não provocar problemas ao homem e ao meio ambiente. Ressurge então as pesquisas com plantas inseticidas, que vem obtendo caráter relevante pelo fato do crescente cultivo e consumo de alimentos orgânicos nos últimos anos, por todo o mundo, onde esses alimentos oriundos destes sistemas sustentáveis de agricultura não permite o uso de produtos químicos sintéticos tais como certos fertilizantes e agrotóxicos sintéticos, assim o inseticida botânico pode ser utilizado como inseticida (Vendramim, 2000).

3.2 Extratos de plantas inseticidas

Os extratos de plantas inseticidas têm efeito comprovado, diversidade de compostos ativos, os quais agem sinergicamente, apresentando características atraentes ou repelentes, entre outras, que podem ser empregados em sistemas de

manejo integrado de pragas, como alternativas dirigidas para controle e monitoramento das populações de insetos (Navarro; Marques; Duque, 2009). A utilização de substâncias extraídas de plantas com propriedades inseticidas apresenta vantagens em relação aos produtos sintéticos, por serem renováveis (Wiesbrook, 2004).

Em relação aos seus princípios ativos, são compostos resultantes do metabolismo secundário das plantas, sendo acumulado em pequenas proporções nos tecidos vegetais. Além de degradarem-se com maior velocidade sem contaminação do meio ambiente e com reduzido impacto sobre organismos não-alvo, raramente levam ao desenvolvimento de resistência dos insetos, tem ação rápida, não deixam resíduos nos alimentos, apresentam baixa toxicidade a mamíferos e às plantas nas quais são aplicadas, são seguros aos operadores e apresentam baixo custo, sendo economicamente viáveis para pequenos produtores (Oliveira *et al.*, 2007; Hare; Morse, 1997; Pascual-Villalobos, 1996).

Apesar das vantagens do uso de inseticidas botânicos, temos que nos precaver de um ponto negativo de alguns deste, o qual está relacionado à fitotoxicidade presente em alguns bioinseticidas, a qual resulta em uma injúria na planta (Costa; Silva; Fiuza, 2004). A fitotoxicidade também pode ser causada por agroquímicos e/ou suplementação nutricional (Griffith, 2018).

Inseticidas botânicos possuem diferentes efeitos sobre os insetos, como a inibição da alimentação ou deterrência, redução do consumo alimentar, atraso no desenvolvimento, deformações, esterilidade e mortalidade (Dequech *et al.*, 2008). Alguns metabólitos secundários responsáveis por efeitos aos insetos, já são conhecidos, como a piretrinas, azadiractina, nicotina, cevadina, quassinoides, veratridina, rianodina, rotenona e biopesticidas voláteis (Isman, 2006).

Os óleos essenciais botânicos tóxicos a insetos herbívoros são comuns em plantas das famílias Asteraceae, Mirtaceae, Apiaceae e Lamiaceae (Regnault-Roger; Vincent; Arnason, 2012) o que podem desencadear ação neurotóxica, antialimentar ou repelente a insetos pragas de interesse agrícola (Lopez; Contreras; Pascual-Villalobos, 2010).

Em trabalho com *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae) (Hübner), alimentada com dieta artificial contendo diferentes dosagens de extrato de sementes de *A. indica* e do óleo comercial de nim, Azamax®, observou peso larval drasticamente reduzido em ambos tratamentos (Almeida, 2009). Souza e

Vendramim (2000) também encontraram resultados promissores com o uso de efeito de extratos aquosos de *Melia azedarach* e ramos de *Trichilia pallida* Swartz sobre a mosca-branca *Bemisia tabaci*.

Foi observado o prolongamento da fase larval de *S. frugiperda* por Almeida *et al.* (2017) ao oferecerem extrato etanólico de *Euphorbia pulcherrima* na fase vegetativa na concentração de 1% e na fase reprodutiva nas concentrações de 0,5% e 1%, resultando em um prolongamento de 5.2, 5.8 e 4.7 dias respectivamente.

Em trabalho realizado a partir de extratos de sementes de *A. indica* no controle de *Tuta absoluta*, os autores concluíram que os compostos inseticidas são capazes de penetrar o mesofilo foliar e, mesmo quando aplicados no solo, provocam níveis de mortalidade equiparados aos produtos aplicados diretamente sobre as lagartas, onde descrevem a ação sistêmica de extrato aquoso de nim aplicado no solo, obtendo mortalidade superior a 80% para concentração de 1% e 100% para concentração de 10% (Gonçalves-Gervásio; Vendramim, 2007).

Gonçalves-Gervásio e Vendramim (2007) relataram mortalidade superior a 90% para a ação translaminar de extratos aquosos de sementes de *A. indica*, comparados a 6% no controle sobre as lagartas de *Tuta absoluta*. Souza e Vendramim (2005) observaram a ação translaminar do óleo de nim em plantas de tomate sobre *Bemisia tabaci*, onde causou a mortalidade em dois ensaios conduzidos foi superior a 90% para o óleo de nim a 5%.

Ahmed *et al.* (2020) em trabalho realizado com extratos das folhas de *Citrullus colocynthis* (L.), *Cannabis indica* (L.) e *Artemisia argyi* (L.) no controle do pulgão do repolho, *Brevicoryne brassicae* L. (Hemiptera: Aphididae). Os resultados de toxicidade mostraram que *A. argyi* foi tóxico para *B. brassicae* com um LC50 de 3,91mgmL⁻¹, seguido por *C. colocynthis* e *C. indica*, exibindo valores de LC50 de 6,26 e 10,04mgmL⁻¹, respectivamente, obtidos através de um ensaio residual. No ensaio de contato, os valores de LC50 de *C. colocynthis*, *C. Indica* e *A. argyi* foram 0,22mgmL⁻¹, 1,96 e 2,87mgmL⁻¹, respectivamente.

3.3 *Asclepias curassavica*

O gênero *Asclepias* possui cerca de 490 espécies, e apresenta-se distribuído pelas regiões Paleotropical, Holártica e Neotropical (Pereira *et al.*, 2004) e quase metade deles são endêmicas. Sua polinização é realizada por abelhas,

vespas e borboletas (Berchtold, 1981). *A. curassavica* (Apocynaceae) é popularmente conhecida como: algodãozinho-do-mato, camará-bravo, capitão-de-sala, cavalheiro-da-sala, cega-olho, chibança, donajoana, erva-de-paina, erva-de-rato, erva-de-satã, erva-leiteira, falsa-erva-de-rato, flor-de-sapo, oficial-de-sala, mané-mole, margaridinha, mata-olho, Paina-de-sapo, paina-de-seda, paininha, leiteira (Matos *et al.*, 2011).

Trata-se de uma planta anual neotropical que se caracteriza por ser um arbusto pouco ramificado (Woodson, 1954), atingindo uma altura entre 1,40m e 1,80m e sua ocorrência é principalmente na beira de rios, em clareiras, pastagens e áreas com distúrbio antrópico (Lorenzi, 2000). Esta planta produz inflorescências ao longo de todo o ano, possuem flores com uma coloração vermelha e amarela vistosa e néctar copioso, atraindo diversos visitantes florais (Wyatt; Broyles, 1997).

Esta planta nativa é conhecida por ser tóxica para o gado e infestante de pastagens (Lorenzi, 1991), sua reprodução ocorre por semente e estaca, sendo de fácil brotamento (Scavone; Panizza, 1980) e folhas compridas e flores vermelho-alaranjadas (Fuhro, 2006).

Estudos prévios mostraram que, quando ingerida a planta inteira, atua no sistema nervoso central e apresenta características medicinais para o tratamento de reumatismo (Bernal; Correa, 1989). Outro estudo destaca a planta no tratamento de tumores, hemostasia e inflamações (Li *et al.*, 2009).

O gênero *Asclepias* demonstra diferentes tipos de compostos esteróides tais como cardenolidas, pregnanos e androstanos, geralmente como glicósidos, que são os principais metabolitos destas plantas (Roy *et al.*, 2005). No entanto, glicosídeos flavonóides, glicosídeos megastigmane, triterpenos e glicosídeos conduritól foram também isolados a partir destas plantas (Haribal; Renwick, 1996; Abe, 2000; Araya, 2012), além de hidrocarbonetos poliisoprénicos, triterpenos, ácidos graxos, fitoesteróis e alcaloides (Santos *et al.*, 2013). *A. curassavica* conta com 19,3% de proteína, 6,5% de polifenóis, 3,9% de óleo, 2,0% de hidrocarbonetos; 61% de ácidos livres; estudos demonstraram que a espécie tem um potencial promissor como fonte renovável de hidrocarbonetos e outros fitoquímicos (Marimuthu *et al.*, 1989).

Foram encontrados nas partes aéreas de *A. curassavica* cardenolidas, glicosídeos, lignano cardenolídeo e lignano cardenolídeo acilado (Warashina *et al.*, 2008); no caule uscaridina, voruscarina, calotropina, uscarina, triterpenóis esterificados, esteróis esterificados, ácido mirístico, ácido palmítico, ácido

palmitoléico, ácido esteárico, ácido oléico, ácido linoléico, ácido linolênico (Groeneveld *et al.*, 1994) e alcalóides nas raízes e partes aéreas dessa planta (Warashina *et al.*, 2008).

Dhiman (2018) realizou cromatografia gasosa-espectroscopia de massa (CG-MS) do extrato etanólico de *A. Curassavica*. Foi constatado a presença de 49 compostos fitoquímicos diversos, sendo muitos fitoquímicos importantes, especialmente glicosídeos, alcalóides, esteróides e compostos terpenoidais. Os dados demonstram não existir resíduos de pesticidas no extrato vegetal testado.

Estudo concluído por Shelke e Bhot (2019) determina os compostos bioativos no extrato etanólico de folha e caule de *A. curassavica*, através da Análise de espectrometria de massa por cromatografia gasosa (GC-MS) do extrato etanólico da folha e caule. Nos testes fitoquímicos mostraram a ausência de alcaloides e flavonoides; e a presença de glicosídeos cardíacos, fenóis, saponinas, esteróides, taninos e proteína / aminoácidos. Um total de 18 e 7 compostos foram identificados no extrato etanólico de folha e caule, respectivamente.

Segundo Leão (2018), em trabalho com extrato alcoólico de *A. curassavica*, colhida em fase reprodutiva, mostrou-se potencialmente efetivo no controle de *S. frugiperda*, pois provocou mortalidade de 100% das lagartas nas concentrações de 1%, 2% e 4%, e 98% na concentração de 0,5%, via ingestão; Além da ação de contato sobre lagartas de 2^o ínstar, nas concentrações de 1%, 2%, 4% e 6%, provocando no mínimo 85% de mortalidade, 72 horas após aplicação; e ação fagodeterrente nas concentrações de 1%, 2% e 4%, e, na concentração de 4%, inibindo quase ou completamente a alimentação das lagartas, mostrando-se viável para ser experimentado a campo.

3.4 Metabólitos secundários de plantas

O conjunto de reações químicas que ocorre em cada célula representa o metabolismo. Os compostos químicos que são formados, degradados ou transformados ser divididos em metabólitos primários e metabólitos secundários (Waksmundzka-Hajnos; Sherma; Kowalska, 2008) e recebem o nome de metabólitos (Simões *et al.*, 2010).

Metabólitos primários dos organismos vivos são compostos essenciais à sua sobrevivência como açúcares, aminoácidos, ácidos graxos, proteínas e lipídios. As

plantas são capazes de produzir outras substâncias que lhes garantem vantagens na sobrevivência e perpetuação da espécie no ecossistema, estes denominados metabólitos secundários, as quais não necessariamente são essenciais ao organismo (Fonseca, 2001).

Os metabólitos secundários têm origem no processo de conversão da energia luminosa em energia química (Castro; Kluge; Peres, 2005; Maraschin; Vepoorte, 1999). Segundo Santos (2001) sua produção é o resultado de complexas interações entre biossíntese, transporte, estocagem e degradação. Cada um desses processos é governado por genes e, portanto, influenciado por três fatores principais, sendo eles hereditariedade, estágio de desenvolvimento e ambiente. Diferentes compostos químicos podem ser produzidos durante toda a vida do vegetal, em determinadas épocas e em determinado instante.

São substâncias produzidas em pequenas quantidades, conhecidos por serem sintetizados em tipos celulares especializados e em distintos estágios de desenvolvimento. Isso torna seu isolamento e purificação mais trabalhosos, além do fato de seus constituintes químicos serem extremamente diversos. Uma categoria química característica ou uma mistura delas são produzidas em cada família, gênero, e espécie, e elas, desta forma, podem ser utilizadas como caracteres taxonômicos na classificação das plantas (Bell *et al.* 1980; Waksmundzka-Hajnos; Sherma; Kowalska, 2008).

Desempenham diferentes funções nos vegetais (García; Carril, 2009), sendo através deles que a planta responde aos diferentes fatores ambientais, sejam eles físicos ou biológicos, permitindo sua comunicação e interação com diferentes organismos, atraindo ou repelindo, sustentando ou destruindo (Martins *et al.*, 1995; Maraschin; Vepoorte, 1999).

Isso gera uma função de proteção aos ataques de predadores, conferindo à planta sabores amargos tornando-a indigesta ou venenosa ou atuam como pesticidas naturais (Gallo *et al.*, 2002). Outras funções vinculadas dizem respeito a conferir cor em flores e frutos e por possuir importância na reprodução ao atrair insetos polinizadores, ou atraindo animais que utilizam os frutos como fonte de alimento e contribuem para a disseminação das sementes (García; Carril, 2009).

Desta forma, evidenciasse dois tipos de resposta: específica e não específica. A específica e de curta duração ocorre em resposta a um determinado evento, como por exemplo, na relação simbiótica com micro-organismos, quando se

produzem substâncias fenólicas. Já não específica, fpo ser vista como na produção de flavonóides, onde possui ação protetora a raios UV, antifúngica, antibacteriana e atrativa a polinizadores, tornando-se necessário durante toda a vida da planta (Stoessl, 1985; Santos, 2001; Moyna; Menéndez, 2001).

Quando um vegetal é coletado para o estudo desses metabolitos, é visto variações na produção desses compostos dentre uma mesma espécie (Falkenberg; Santos; Simões, 2010). Isso ocorre em razão da síntese de metabolitos secundários ser influenciada por diversos fatores. Dentre esses fatores podemos citar a sazonalidade, ritmo circadiano e desenvolvimento; temperatura; disponibilidade hídrica; radiação ultravioleta; nutrientes; altitude; poluição atmosférica; indução por estímulos mecânicos ou ataque de patógenos alteram a sua quantidade e, muitas vezes, até a natureza dos constituintes ativos presentes no tecido (Gobbo-Neto; Lopes, 2007).

Compostos fenólicos, terpenos e alcaloides são os três grandes grupos de metabolitos secundários utilizados na defesa contra estresses bióticos e abióticos (Taiz; Zeiger, 2009), sendo compostos fenólicos derivados do ácido chiquímico e ácido mevalônico; Terpenos produzidos a partir do ácido mevalônico (no citoplasma) ou do piruvato e 3-fosfoglicerato (no cloroplasto); Alcaloides provenientes de aminoácidos aromáticos (triptofano, tirosina), os quais são derivados do ácido chiquímico e de aminoácidos alifáticos (ornitina, lisina). Exemplos de compostos fenólicos: flavonoides, taninos e ligninas; Exemplos de Terpenos: óleos essenciais, saponinas, carotenoides e a maioria dos fitoreguladorres; Exemplos de alcaloides: nicotina, cafeína e vincristina (Alves, 2001; Peres, 2004).

3.4.1 Compostos fenólicos

O termo polifenóis é utilizado para designar compostos que vão desde taninos condensados altamente polimerizados até simples ácidos fenólicos (White *et al.*, 2010), ou seja, desde moléculas simples até outras com alto grau de polimerização (Bravo, 1998). Constitui uma classe de fitoquímicos, comumente denominada decompostos fenólicos, amplamente difundida no reino vegetal e distribuída por toda a planta de forma heterogénea (Lin *et al.*, 2016). Os polifenóis contêm numerosas variedades de compostos incluindo os ácidos fenólicos,

flavonoides simples, flavonoides complexos e antocianinas coloridas (Babbar *et al.*, 2014).

Os compostos fenólicos são substâncias, em termos químicos, que apresentam pelo menos um anel aromático no qual, ao menos um hidrogênio é substituído por um grupamento hidroxila (OH-) (Carvalho; Gosmann; Schenkel, 2002), a qual resulta em uma grande variedade de compostos fenólicos na natureza, os quais são categorizados em classes (Balasundram; Sundram; Samman, 2006), é o fato de ocorrerem complexado a carboidratos (mono e polissacarídeos), proteínas e outros componentes vegetais.

Sua classificação é dada através de classes, as quais são divididas de acordo com o tipo e número de anéis fenólicos, e em subclasses de acordo com as substituições específicas na estrutura básica, associações com carboidratos e formas polimerizadas, assim sendo dividido em dois grupos desses compostos: os flavonoides e os não flavonoides, presentes em frutas e vegetais (Farah *et al.*, 2006). São biossintetizados nas plantas por meio de diferentes rotas, sendo as rotas metabólicas básicas são a rota do ácido malônico e a do ácido chiquímico, a qual, o último citado também participa na biossíntese da maioria dos fenóis vegetais (Taiz; Zeiger, 2009).

A importância destes compostos está intimamente relacionada com o mecanismo de as respostas de defesa da planta. Contudo, estes metabolitos secundários também desempenham um papel importante noutros processos, como por exemplo, na ajuda da polinização, como agentes de coloração para camuflagem e de defesa contra herbívoros e no exercício de atividades antibacterianas e antifúngicas contra predadores naturais (Acamovic; Brooker, 2005; Alasalvar *et al.*, 2001; Velderrain-Rodríguez *et al.*, 2014). O seu espectro de ação abrange bactérias e fungos, inibindo o seu crescimento, a animais herbívoros, diminuindo a digestibilidade das forragens e ainda à proteção das plantas das radiações solares (Lin *et al.*, 2010; Moussa-Ayoub *et al.*, 2011).

3.4.2 Flavonóides

Flavonóides é um grupo de metabolitos secundários, de baixo peso molecular o qual presentes em todas as plantas vasculares, muitas vezes em concentrações relativamente elevadas (Sala *et al.*, 2003; Sharma *et al.*, 2008).

Constituem um grupo amplamente distribuído na natureza e sua presença nos vegetais pode estar relacionada com funções de defesa e de atração de polinizadores (Simões *et al.*, 2010). Com uma classificação estrutural baseada em um núcleo comum de três anéis, quimicamente, são compostos polifenólicos biossintetizados a partir da via dos fenilpropanóides e do acetato, são fenil-benzopironas (fenilcromonas) (Nomura *et al.*, 2008).

Ao analisar sua estrutura básica, deparamos com difenilpropano, 15 átomos de carbono (C6-C3-C6), arranjados em três anéis registrados como A, B e C, sendo dois anéis fenólicos substituídos (A e B) ligados através de um anel heterocíclico pirano (anel C) no meio (Sala *et al.*, 2003). Esses metabólitos são subdivididos de acordo com três grandes fatores, sendo a natureza química da molécula, a variação do número e distribuição dos grupos hidroxilas fenólicas ao redor da molécula e os seus substituintes. Podendo ainda ser baseado em um grupo oxi na posição 4, uma ligação dupla entre os átomos de carbono 2 e 3 (C2-C3 ligação dupla), bem como a presença de um grupo OH na posição 3 (3-OH) do anel C (Sala *et al.*, 2003; Bonfili *et al.*, 2008).

A origem desses metabólitos se faz basicamente por duas rotas bioquímicas diferentes, a do ácido chiquímico e a do acetato, via ácido malônico (Quideau *et al.*, 2011). A exemplo, através da via ácido malônico é realizada a partir de uma unidade de cinamoil-CoA, a qual reage através de reações de eliminação, catalisada pela enzima PKS tipo III, com três moléculas de malonil-CoA, formando um policetídeo. Este, através de reações de Claisen e enolizações leva a formação de anéis aromáticos, formando os flavonóides (Dewick, 2009).

Diversas funções são desempenhadas pelos flavonóides na planta, entre elas, proteção contra radiação ultravioleta B (os pigmentos formados pelos flavonóides atuam como absorventes da radiação UV-B agindo como filtro e evitando que a radiação incida sobre outras moléculas celulares como o DNA) e produção de fitoalexinas contra ataques microbianos. É importante destacar os isoflavonóides, flavonas e flavanonas que inibem o crescimento das micelas, esporos e partículas virais (Dôres, 2007). Sendo assim, são caracterizados como importantes agentes de defesa contra insetos e microrganismos fitopatogênicos, como vírus, bactérias e fungos, atuando como defensores naturais das plantas na forma de resposta química à invasão de patógenos (Zuanazzi, 2000; Yao-Lan *et al.*, 2002).

3.4.3 Terpenos

Pertencentes ao maior grupo de metabólitos secundários, os terpenos ou terpenóides são derivados do isopreno (C5). São classificados em monoterpenos (C10), sesquiterpenos (C15), diterpenos (C20), triterpenos (C30) e tetraterpenos (C40) (Dewick, 2009). Constituem uma classe de produtos naturais obtidos das plantas que apresentam uma grande variedade estrutural e funcional (Raven *et al.*, 2001; Phillips *et al.*, 2008). Estes são formados pela fusão de unidades isoprênicas de cinco carbonos, os quais quando submetidos a altas temperaturas podem se decompor em isoprenos, desta forma pode-se referi-los todos os terpenos como isoprenoides (Taiz; Zeiger, 2009).

Em organelas diferentes da célula vegetal ocorrem as duas rotas principais na biossíntese de terpenos. Na rota do ácido mevalônico três moléculas de acetil-CoA reagem para formar o ácido mevalônico no citoplasma, após sofrer reações de pirofosforilação, descarboxilação e desidratação, resulta no isopentenil-difosfato (IPP) (Taiz; Zeiger, 2009). Na rota do MEP, ocorre a reação de condensação entre uma molécula de gliceraldeído-3-fosfato e piruvato que origina o DMAPP o qual converte em seu isômero IPP (Dewick, 2009).

O IPP e seu isômero DMAPP são os precursores na biossíntese dos terpenos. Existem combinações, também, por meio de reações de condensação para formar moléculas maiores (Taiz; Zeiger, 2009; García; Carril, 2009; Dewick, 2009). De acordo com o número de unidades de isopreno, onde através dela é feita a classificação dos terpenos, vão se ligando entre si, orientadas em sentido inverso (cabeça-cauda) podendo ser: hemiterpenoides (C5), monoterpenoides (C10), sesquiterpenoides (C15), diterpenoides (C20), triterpenoides (C30) e carotenoides (C40) (Peres, 2004; Oliveira; Godoy; Costa, 2003).

Principais constituintes dos óleos essenciais, os monoterpenos são importantes na indústria de perfumes e fragrâncias. Dentre seus compostos, muitos atuam como herbicidas, pesticidas, agentes antimicrobianos e agentes anticarcinogênicos em alimentos. Em razão de serem biodegradáveis são utilizados também no controle de pragas (Silva, 2005). Compostos por duas unidades de isopreno, baixo peso molecular, costumam ser voláteis, sendo, portanto, os constituintes dos óleos essenciais e das essências voláteis, tem funções principalmente na atração de polinizadores. Esses compostos podem ser isolados

através de destilação ou extração e atualmente são conhecidos mais de 1.000 monoterpenoides naturais (Oliveira; Godoy; Costa, 2003).

Cerca de 5000 compostos, os sesquiterpenos são a classe de terpenos com maior número de representantes. Estão presentes em óleos essenciais de várias plantas, vários são conhecidos por suas atividades biológicas, dentre eles destacam-se o beta-bisaboleno e o bergamoteno (que têm ação alelopática, inibindo o crescimento de raízes), o capsidiol e o hemigossipol (fitoalexinas, substâncias que atuam no sistema de defesa das plantas) e o debneiol, que apresenta atividade fungitóxica (Seigler, 1998; Guedes, 2004). Sendo assim, em geral, podem atuar como compostos antimicrobianos contra fungos e bactérias (fitoalexinas) e anti-herbivoria (Niero; Malheiros, 2007).

Os diterpenoides compreendem um grande grupo de compostos não voláteis, possuindo uma vasta gama de atividades diferentes que incluem os hormônios, ácidos resínicos e agentes anticancerígenos (Robbers; Speedie; Tyler, 1997; Croteau; Kutchan; Lewis, 2000; Oliveira; Godoy; Costa, 2003). Peres (2004) descreve que talvez o principal papel desempenhado por um diterpeno a importante classe de hormônio vegetal, responsável pela germinação de sementes, alongamento caulinar e expansão dos frutos de muitas espécies vegetais. Também possui de importantes fármacos como o taxol (agente anticancerígeno) e forskolin (composto utilizado no tratamento de glaucoma) (Vizzotto; Krolow; Weber, 2010). Euforbiáceas possuem o látex rico em diterpenos do tipo éster de forbol, que possuem atividade citotóxica, como por exemplo o casbeno éster de forbol, encontrado em *Ricinus communis*, composto com certificada atividade antifúngica (Dewick, 2009).

Componentes das resinas, látex, ceras e cutícula das plantas, os triterpenos possui uma importante classe de substâncias, tanto para vegetais quanto para animais. Os esteroides são componentes dos lipídios de membrana e precursores de hormônios esteroides em mamíferos, plantas e insetos. Outra classe importante de triterpenos são as saponinas que desempenham um importante papel na defesa contra insetos e microorganismos (Peres, 2004). Os limonóides são triterpenos que possuem características amargas e atuam contra herbívoros. A azadiractina é um potente repelente de insetos usado na indústria alimentícia e na agricultura para o controle de pragas. Os esteróides são formados a partir dos triterpenos. Eles participam da formação das membranas celulares na planta. A ecdisona é um esteróide que possui função protetora contra insetos (García; Carril, 2009).

Carotenoides e xantofilas, são exemplos de tetraterpenos, as quais são os pigmentos intimamente ligados aos processos fotossintéticos e especialmente, na pigmentação de flores e frutos. Existe ainda um grupo complexo de terpenos cujas moléculas são resultantes da síntese de mais de oito unidades de isoprenoides, ou seja, com mais de 40 carbonos na sua estrutura, estes são chamados de politerpenoides, que contêm compostos como coenzima Q10 ubiquinona, poliprenoides e polímeros longos encontrados, por exemplo, no látex Robbers; Speedie; Tyler, 1997; Croteau; Kutchan; Lewis, 2000; Oliveira; Godoy; Costa, 2003).

3.4.4 Compostos Nitrogenados

Os alcaloides são compostos orgânicos cíclicos que possuem ao menos um átomo de nitrogênio (N) em um estado de oxidação negativo e cuja distribuição é limitada entre os organismos vivos. Compostos ativos encontrados predominantemente em angiospermas (Henriques; Kerber; Moreno, 2002), são derivados de aminoácidos aromáticos (triptofano, tirosina), os quais são derivados do ácido chiquímico, e também de aminoácidos alifáticos como a ornitina e a lisina (Peres, 2004), podendo ser classificados de acordo com o aminoácido precursor e sua forma estrutural (Dewick, 2002).

De baixa massa molecular e características alcalinas, são compostos nitrogenados ativos, com facilidade no isolamento e a purificação destes compostos. Contudo, o grau de basicidade depende da estrutura molecular do alcaloide e da presença e localidade de outros grupos funcionais. (Dewick, 2009). De acordo com alguns trabalhos, esses metabólitos são de grande interesse para os pesquisadores, devido a heretogeneidade química do grupo, a distribuição restrita na natureza e ao grande potencial bioativo (Robbers; Speedie; Tyler, 1997).

Aproximadamente 14,2% dos gêneros de plantas superiores (Cordell; Quinn-Beattie; Farnsworth, 2001), principalmente em diversas partes de um vegetal como em tecidos com crescimento ativo, células epidérmicas e hipodérmicas, bainhas vasculares e vasos lactíferos São encontrados alcalóides (Simões *et al.*, 2010). Conhecidos por serem compostos solúveis em água e apresentam várias atividades biológicas, como exemplo a atividade inseticida na proteção da planta contra insetos predadores (Taiz; Zeiger, 2009).

Na biossíntese dos alcaloides os principais aminoácidos envolvidos são ornitina, lisina, ácido nicotínico, tirosina, triptofano, ácido antranílico e histidina (Dewick, 2009). As enzimas triptofano na sua rota biossintética descarboxilase e tirosina descarboxilase modificam estes aminoácidos transformando-os em precursores de alcalóides e desviando-os do processo de síntese de proteínas (Porto, 2009). Na planta no período de floração são encontrados quantidades maiores de alcaloides, porém as partes mais ricas em alcaloides são as sementes, o que indica que a planta madura é mais tóxica (Sandini; Udo; Spinosa, 2013).

3.5 Maceração e extração líquido-líquido

A fim da obtenção de compostos químicos a partir das plantas ou das suas partes vegetais, a extração é uma etapa fundamental, onde através do uso de uma técnica adequada é fundamental para separação e/ou purificação, identificação e caracterização de compostos bioativos, além de evitar a sua perda ou degradação (Sasidharan *et al.*, 2011; Jin Dai; Mumper, 2010; Gurib-Fakim, 2006). Estudos comprovam que na seleção do solvente, a escolha do mais apropriado tem por base a sua seletividade em relação às substâncias a serem extraídas (Seidel, 2006). Extrações podem ser seletivas ou totais, quando seletivas um solvente de polaridade adequada é utilizado para extrair seletivamente os constituintes do material vegetal. Já quando totais, um solvente orgânico polar (como metanol, etanol, ou mistura de álcool e água) é usado para facilitar e maximizar a extração de possíveis componentes a partir da amostra vegetal (Seidel, 2006).

Maceração é descrita com a função da operação na qual a extração da matéria-prima vegetal realiza-se em recipiente fechado, em diversas temperaturas, durante um período prolongado (horas ou dias), sob agitação ocasional e sem renovação do líquido extrator (Där, 1981; Simões *et al.*, 2010). Nesta operação, pela sua natureza não reduz ao esgotamento a matéria-prima vegetal, seja devido a saturação do líquido extrator ou ao estabelecimento de um equilíbrio difusional entre o meio extrator e o interior da célula. Deste modo, é imprescindível evitar o emprego de água ou de misturas hidroalcoólicas com concentrações etanólicas inferiores a 20%, dadas às circunstâncias favoráveis à proliferação microbiana. Simões *et al.*, 2010).

Sendo assim, o princípio do processo compreende-se em manter o vegetal em contato com o solvente. Rendimento extrativo apresenta sensível tendência a

diminuir com o tempo, pois a capacidade extrativa é dependente de um gradiente de concentração (Där, 1981; Voigt; Bornschein, 1982; Prista; Alves; Morgado, 1996; Ansel *et al.*, 2000; Simões *et al.*, 2010). Alguns fatores que influenciam a eficiência da maceração, sendo os principais vinculados ao material vegetal, ao líquido ou misturas de líquidos extratores e às condições do sistema, em conjunto (Där, 1981; Voigt; Bornschein, 1982; Prista; Alves; Morgado, 1996; Ansel *et al.*, 2000; Simões *et al.*, 2010).

Na Técnica de extração líquido-líquido, também descrito como método de partição de solvente, é um processo de separação e/ ou purificação de componentes (solutos) de uma mistura líquida (solução), que se transferem para um líquido imiscível ou parcialmente miscível, o solvente, quando este entra em contacto direto com a mesma (solução) (Ignat; Volt; Popa, 2011; Dutta, 2007). Através da afinidade ou seletividade a um ou mais componentes da mistura ou solução e uma densidade diferente é escolhido o solvente a ser utilizado (Otsuka, 2006).

Ocorre a partição da amostra entre duas fases imiscíveis (orgânica e aquosa). A eficiência da extração está atrelada a afinidade do soluto pelo solvente de extração, da razão das fases e do número de extrações (Queiroz; Collins; Jardim 2001). Após a obtenção do extrato, os métodos de partição entre solventes eliminam uma grande parte do material indesejado. Testes biológicos combinados a esta técnica resulta em frações enriquecidas com a substância desejada (Hostettmann; Queiroz; Vieira, 2003). Este extrato pode ser submetido a um processo de partição líquido-líquido, com solventes de polaridade crescente, visando uma separação (semipurificação) das substâncias através de suas polaridades (Yunes; Calixto, 2001).

A extração líquido-líquido é eficaz no uso como uma das primeiras etapas de separação de extratos de produtos naturais, permite obter informações preliminares sobre a polaridade e classes existentes dos componentes biologicamente ativos num extrato. Contudo, apresenta como desvantagens, como a utilização de grandes volumes de solventes; impurezas concentradas sendo necessária a utilização de solventes com elevado grau de pureza; etapas adicionais de evaporação para remover o excesso de solvente; determinação de um solvente adequado para cada amostra; alta probabilidade de contaminação durante o processo; tempos de extração, principalmente quando se forma emulsões sendo difícil a separação das duas fases e possibilidade de degradação dos compostos mais sensíveis; finalizando,

não é um método adequado para utilizar como etapa final de separação (Ajila *et al.*, 2011; Otsuka, 2006; Garcia-Salas, *et al.*, 2010).

4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado na Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), em Presidente Prudente – SP, no Laboratório de Entomologia Agrícola (L.E.A.), em sala climatizada, à temperatura de $26,0^{\circ}\text{C} \pm 1,0^{\circ}\text{C}$, umidade $60\% \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas; casa de vegetação climatizada à temperatura de $25,0^{\circ}\text{C} \pm 1,0^{\circ}\text{C}$, umidade $70\% \pm 5\%$; campo, constando para seu desenvolvimento os procedimentos a seguir descritos.

4.1 Criação de *Spodoptera frugiperda*

Os insetos usados no estudo foram provenientes da criação estabelecida no LEA-UNOESTE. Na criação, as mariposas emergentes foram acondicionadas em caixa de plástico (gaiolas) com $32,5 \times 37,5 \times 55,5$ (AxLxC), revestidos internamente com papel filtro, mantidas em temperatura de $26,0^{\circ}\text{C} \pm 1,0^{\circ}\text{C}$, umidade relativa (UR) $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

As mariposas foram alimentadas diariamente com mel a 10%, acondicionado em placas de Petri com algodão para a alimentação por capilaridade. As posturas foram transferidas para potes plásticos de 75 ml com tampa contendo dieta artificial (Parra, 2001). A partir da criação massal, foi obtido ovos e posteriormente as lagartas que foram utilizadas no experimento.

4.2 Confecção dos extratos

Para a obtenção do extrato, plantas no estágio reprodutivo de *A. curassavica* foram coletas no campus 2 da Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE) na cidade de Presidente Prudente SP, e na área rural de Faxinal PR. Apesar de tecidos mais novos geralmente possuem maior taxa biossintética de metabólitos (Hartmann, 1996), nota-se uma correlação inversa entre alta atividade metabólica e produção de aleloquímicos, isto significa que existe um decréscimo na produção de metabólitos secundários em períodos de crescimento tecidual rápido (Waterman; Mole, 1989), por isso plantas no estágio reprodutivo apresentam uma maior quantidade de metabólicos secundários.

Após coleta, as plantas foram armazenadas em sacos de papel Kraft e secas em estufa de ar circulante a 60°C por 48h, ao final obtendo matéria verde e matéria seca de 12,724 kg e 3,888 kg respectivamente. Posteriormente, trituradas (moídas) por um moinho de facas do Tipo *Willye*, até a granulometria de 0,45 mm, para a obtenção um pó fino, que foi armazenado em recipientes de vidro hermeticamente fechados, mantidos em temperatura de 24°C sem a presença de luz até a manipulação dos extratos.

O pó obtido da planta passou por processo de maceração durante uma semana com solução de etanol 96° para posterior filtragem. A filtragem foi realizada em funil de vidro convencional, utilizando-se como filtro, o papel de germinação. Após a filtragem, o etanol 96° foi repostado no frasco até cobrir 4 cm do volume preenchido pelo pó. Esse procedimento foi repetido até atingir a exaustão na 7 vezes, onde ocorreu a máxima perda de coloração do extrato no momento da filtragem, visando a obtenção do extrato etanólico (Santana *et al.*, 2013).

Após o processo completo de filtragem, todo o solvente foi evaporado sob pressão reduzida no rotaevaporador, para a obtenção do extrato etanólico bruto da falsa-erva-de-rato, obtendo 237 gramas do mesmo, concluindo um rendimento de 1,86% entre a matéria verde e o extrato. A eliminação de todo álcool era confirmada levando o extrato bruto na capela de exaustão por 3 dias, sendo diariamente pesado. A constância do peso confirmava a não presença do solvente.

O extrato etanólico bruto foi armazenado em recipientes de vidro hermeticamente fechados, envoltos em papel alumínio, mantidos em temperatura de 24°C sem a presença de luz, onde permaneceram até a utilização do mesmo nos diferentes ensaios.

4.3 Ação do extrato etanólico de *A. curassavica* sobre os insetos e plantas em casa de vegetação climatizada

A metodologia foi realizada a partir da descrita por Souza, Favero E Conte (2010), adaptada. Para verificar a ação do extrato etanólico de *A. curassavica* sobre os insetos e plantas, sem interferência de fatores externos, foi conduzido um ensaio em casa de vegetação climatizada. Os testes foram executados em plantas de milho cultivadas em vasos mantidos a 25 + 1 °C de temperatura e 70 + 5 % de umidade relativa do ar. Foram semeadas em tubetes (280ml) sementes milho 30F53

(Pionner®), onde ficaram por 7 dias. Após, os milhos vigorosos foram transferidos em vasos com capacidade para 8 L, preenchidos com latossolo vermelho, utilizando adubação química de acordo com as recomendações agronômicas para cultura, umidade do solo foi mantida por meio de irrigações manuais diárias.

Os tratamentos foram: extrato etanólico de *A. curassavica* com concentrações 0,5%, 0,25% e 0,1% diluídos em água destilada e tensoativo (Haiten, ARYSTA®, 0,02mL/L, além dos controles água destilada + Haiten ARYSTA® e controle químico com flubendiamida BELT® (BAYER) i.a. 480g/L na dose de 150 ml p.c./ha. Antes da pulverização, foram realizadas as infestações artificiais com uma lagarta de 2º instar no interior do cartucho de cada planta, a qual ocorrerá após 15 dias da emergência das plantas (1 lagarta/planta).

A aplicação por pulverização foi realizada às 8 horas da manhã, uma vez para cada tratamento com volume de calda estimado em 150 L/ha. O equipamento utilizado foram três pulverizadores manuais de compressão prévia, a fim de evitar contaminação dos tratamentos, modelo PCP-1P 1,2L (GUARANY®), com ponta de pulverização do tipo leque 80.02 a 43,5 psi (libras por polegada quadrada). Cada vaso foi mantido sob proteção de tecido tipo voil (1m²) e uma elástico na base do vaso a fim de evitar a fuga do inseto e entrada de outros insetos.

O volume de calda estimado em 200 ml por tratamento ou 10 ml por planta, o que corresponde ao volume de calda de 600 L/ha, considerando uma população média de 60000 plantas/ha no espaçamento de 0,5m x 0,30 m.

Foram utilizados 5 tratamentos num total de 100 vasos, sendo 20 repetições para cada tratamento em delineamento experimental inteiramente causalizado. Após a pulverização foram realizadas avaliações de dano - utilizando uma escala visual adaptada da proposta por Smith, Khan e Pathak (1994) (Tabela 2).

Para fitotoxicidade foi utilizado a “escala percentual de fitotoxicidade” adaptada de Frans e Crowley (1986) (Tabela 3), sendo as notas de ambos parâmetros atribuídas após o 3º, 6º, 9º, 12º dias da infestação. A mortalidade das lagartas foi avaliada durante os primeiros dias (24, 48 e 72 horas) após a pulverização, e após esse período a avaliação foi semanal, até a formação das pupas.

TABELA 1 – Escala de notas de danos por *S. frugiperda*, adaptada por Smith; Khan; Pathak (1994)

Nota	Danos causados nas folhas
0	Sem danos visíveis.
1	Com pontuações em folhas novas.
2	Com pontuações e pequenos orifícios circulares no cartucho.
3	Com pontuações, pequenos orifícios e lesões alongadas com até 1,3 cm no cartucho e folhas enroladas.
4	Lesões entre 1,3-2,5 cm no cartucho.
5	Lesões maiores que 2,5 cm e/ou poucos orifícios irregulares nas folhas.
6	Lesões nas folhas e muitos orifícios irregulares.
7	Muitas lesões de diversos tamanhos.
8	Muitas lesões de médio e grande tamanho.
9	Folhas totalmente destruídas.

TABELA 2 – Escala percentual de fitotoxicidade, adaptada de Frans e Crowley (1986).

(%)	Descrição das categorias principais	Descrição detalhada da fitotoxicidade na cultura
0	Sem efeito	Sem injúria ou redução
10		Leve descoloração ou atrofia
20	Efeito leve	Alguma descoloração ou atrofia, ou perda por atrofia
30		Injúria mais pronunciadas, mas não duradoura
40		Injúria moderada, mas normalmente recupera-se
50	Efeito moderado	Injúria mais duradoura, recuperação duvidosa
60		Injúria duradoura, sem recuperação
70		Injúria pesada, redução de estande
80	Efeito severo	Cultura próxima da desnutrição-poucas plantas vivas
90		Raramente resta algumas plantas
100	Efeito total	Desnutrição completa da cultura

4.4 Avaliação da ação translaminar de *A. curassavica*

Foi avaliado a ação translaminar do extrato etanólico de *A. curassavica* sobre as plantas, sem interferência de fatores externos, onde foi conduzido em casa de vegetação climatizada. Foi utilizado plantas de milho cultivadas em vasos, e mantidos a 25 + 1 °C de temperatura e 70 + 5 % de umidade relativa do ar.

Foram semeadas em tubetes (280ml) sementes milho 30F53 (Pionner®), onde ficaram por 7 dias. Após, os milhos vigorosos foram transferidos em vasos com capacidade para 8 L, preenchidos com latossolo vermelho, com uso de adubação química de acordo com as recomendações agronômicas para cultura e a umidade do solo foi mantida por meio de irrigações manuais diárias.

Nesse ensaio os tratamentos foram: extrato etanólico de *A. curassavica* com concentrações 0,5%, 0,25% e 0,1% diluídos em água destilada e tensoativo (Haiten, ARYSTA®, 0,02mL/L, além dos controles água destilada + Haiten ARYSTA® e controle químico com flubendiamida BELT® (BAYER) i.a. 480g/L na dose de 150 ml p.c./há, cada tratamento continha 20 vasos (repetições) em delineamento experimental inteiramente casualizado.

Após 20 dias da emergência do milho, a primeira folha abaixo da folha com colar visível foi selecionada de cada planta. Essa folha foi feita infestações artificiais com uma lagarta de 2º instar na folha selecionada de cada planta de milho. Para impedir a fuga do inseto, foi confeccionado uma bolsa de tecido (voil)(10 cm de diâmetro e 12 cm de comprimento), presa entre a bainha e o limbo foliar.

Após 24 horas da infestação, com o auxílio de um pincel, o extrato foi aplicado na superfície adaxial das que possuir os insetos, considerando que a penetração das lagartas se realiza, preferencialmente, pela face abaxial das folhas (Imenes *et al.*, 1990).

Foram realizadas avaliações 24horas, 48 horas e 72 horas após a inoculação das lagartas nas folhas. O efeito antialimentar foi avaliado com base na área consumida após 3 após a inoculação das larvas, utilizando uma escala visual adaptada da proposta por Smith; Khan; Pathak (1994) (Tabela 1). Considerava-se a lagarta morta quando tocadas com pincel de cerdas finas e não se observava movimento.

4.5 Avaliação da ação sistêmica via foliar

Esse ensaio foi realizado a fim de verificar a ação sistêmica do extrato etanólico de *A. curassavica* sobre as plantas, eliminando a interferência de fatores externos, pois foi conduzido em casa de vegetação climatizada (Gomes, 2017). Plantas de milho cultivadas em vasos serão utilizadas no ensaio, foram mantidos a 25 + 1 °C de temperatura e 70 + 5 % de umidade relativa do ar.

Sementes milho 30F53 (Pionner®) foram semeadas em tubetes (280ml) e permaneceram por 7 dias. Após, os milhos vigorosos foram transferidos em vasos com capacidade para 8 L, preenchidos com latossolo vermelho e adubação química recomendada para cultura e a umidade do solo foi mantida por meio de irrigações manuais diárias.

Nesse ensaio os tratamentos foram: extrato etanólico de *A. curassavica* com concentrações 0,5%, 0,25% e 0,1% diluídos em água destilada e tensoativo (Haiten, ARYSTA®, 0,02mL/L, além dos controles água destilada + Haiten ARYSTA® e controle químico com tiametoxam Engeo pleno (SYNGENTA®) i.a. 141 g/L na dose de 200 ml p.c./ha.

Em todos tratamentos foram aplicados com 20 repetições, representado por cada vaso em delineamento experimental inteiramente casualizado. No vigésimo dia após emergência, em cada planta foi infestada com 1 lagartas de segundo instar. Após 24 horas, quando começaram a aparecer as raspagens nas folhas, sinal de que a praga se estabeleceu, foi aplicado no solo, próximo ao colo da planta, 10 ml de cada tratamento com auxílio de uma seringa cirúrgica.

A análise dos resultados foi realizada após uma semana da aplicação dos tratamentos, avaliando o dano, utilizando uma escala visual adaptada da proposta por Smith; Khan; Pathak (1994) (TABELA 1) e avaliando a taxa de mortalidade das lagartas.

4.6 Bioensaio de interferência de oviposição da *S. frugiperda* sobre ambiente contendo extrato etanólico de *A. curassavica*

Neste ensaio, foi realizado sem chance de escolha, apenas entre ambientes tratados com o extrato. Esses testes tiveram como objetivo determinar se o extrato tem ação de atratividade a oviposição em ambientes contendo o extrato de *A. curassavica*.

Este bioensaio foi conduzido no LEA-UNOESTE em sala climatizada sobre a temperatura de $26,0^{\circ}\text{C} \pm 1,0^{\circ}\text{C}$, umidade relativa (UR) $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. Foram utilizadas pupas da criação laboratorial sobre sala climatizada, onde as mesmas foram observadas em lupa binocular para a determinação do sexo. As pupas que apresentaram duas protuberâncias arredondadas no 9º segmento foram

determinadas como macho e as pupas que apresentaram uma linha entre o 8º e 9º segmento foram determinadas como fêmeas (Butt; Cantu, 1962). Após 24 horas as pupas foram acondicionadas em placas de Petri.

Casais de mariposas emergentes de mesma idade foram acondicionados em gaiolas de PVC (10 cm de diâmetro x 15 cm de altura) em número de 7 para cada tratamento, sendo as gaiolas revestidas com papel-filtro para oviposição das fêmeas. As soluções contendo extrato foram preparadas com água destilada e extrato bruto nas concentrações de 0,5%, 1%, 2% e 4%, então posteriormente aplicado sobre o papel filtro de cada gaiola nos testes com e sem chance de escolha.

Cada casal foi alimentado com solução aquosa de mel a 10%. As gaiolas contaram com tampas em sua extremidade superior e com tecido tipo voil, tendo sua base fechada com filme plástico com auxílio de fita adesiva.

4.7 Avaliação da bioatividade de *A. curassavica* sobre oviposição

Para este ensaio, foram utilizadas gaiolas de PVC (10 cm de diâmetro x 15 cm de altura) em número de 7 para cada tratamento, sendo as gaiolas revestidas com papel-filtro para oviposição das fêmeas.

Cada gaiola de PVC de cada tratamento 100% revestido de papel-filtro, onde foi aplicada solução contendo o extrato de *A. curassavica*. Sendo água destilada a testemunha, foram aplicadas soluções contendo o extrato (0,5%, 1%, 2% ou 4%) e flubendiamida i.a. 480g/l.

As posturas foram recolhidas diariamente, transferidas para recipientes plásticos e armazenadas em sala climatizada. Os ovos referentes ao segundo dia da postura de cada ambiente dentro de cada tratamento foram contados, a fim de avaliar a preferência de oviposição, acondicionados em potes plásticos de 75 ml até a eclosão das lagartas, a fim de se calcular a sua viabilidade a partir da porcentagem de eclosão.

4.8 Ação do extrato etanólico de *A. curassavica* sobre os insetos e plantas ao campo

A fim de verificar a ação do extrato etanólico de *A. curassavica* sobre os insetos e plantas ao campo, foi conduzido esse ensaio em campo na Área Experimental da Faculdade de Agronomia da UNOESTE, Campus II em Presidente Prudente/SP, altitude de 475 m, em Latossolo Vermelho eutrófico, típica textura argilosa.

A semeadura da cultura de milho foi realizada em dois anos distintos, com 3 ensaios. Primeiro no dia 22 de Outubro de 2019, segundo no dia 19 de novembro de 2019, e terceiro no dia 5 fevereiro de 2020 de forma mecanizada utilizando a cultivar 30F53 (Pionner®) utilizando o espaçamento 0,50 m x 0,3m, profundidade de 5 cm realizada sobre a palhada com uso plantadeira John Deere® 1107. A unidade experimental do milho de cada ensaio foi constituída de blocos casualizados com 5 tratamentos e 4 repetições, sendo cada unidade experimental constituída por 4 linhas e tamanho 4x5 metros (20 m²), onde considerou-se as 2 linhas centrais como área útil.

Os tratos culturais foram os recomendados para a cultura, sendo as capinas realizadas até o final do experimento. Devido aos baixos índices pluviométricos que ocorreu na região nos anos experimentados, foi utilizado a irrigação até 15 dias após semeadura, através do uso de aspersores, suplementando a demanda hídrica exigida pela cultura na fase inicial de seu estabelecimento.

O monitoramento foi realizado de 3 em 3 dias pós emergência das plantas, até atingir nível de controle, onde foi pulverizado nas parcelas com os respectivos tratamentos. Após pulverização foi monitorado 1 vez por semana até ao termino de 21 dias pós aplicação. Foi monitorado através a avaliação visual do dano e de lagartas em plantas. Plantas com menos de 30 dias deve-se controlar o inseto quando houver 20% de plantas atacadas. Para plantas de 40 e 60 dias deve-se controlar com 10% de plantas atacadas conforme Rosa (2010).

Para avaliação foi selecionado 20 plantas ao acaso por parcela. Foi avaliado o número de plantas, número de folhas e altura. Os danos nas plantas de milho foram avaliados utilizando uma escala visual adaptada da proposta por Smith; Khan; Pathak (1994), avaliação de fitotoxicidade utilizando a “escala percentual de fitotoxicidade”, adaptada de Frans e Crowley (1986).

Nas aplicações do bioensetecida foram utilizadas a dose de 0,90 L para o volume de 150 L ha⁻¹ para manter a mesma concentração das caldas utilizadas. Os tratamentos do primeiro ensaio foram: extrato etanólico de *A. curassavica* com concentrações 1%, 2% e 4% diluídos em água destilada e tensoativo (Haiten ARYSTA®, 0,02mL/L, além dos controles água destilada+ Haiten ARYSTA®, controle químico com flubendiamida BELT® (BAYER) i.a. 480g/L na dose de 150 ml p.c./ha. No segundo e terceiro bioensaio seguiram os mesmos métodos supracitados, diferenciando apenas em relação as concentrações do extrato etanólico de *A. curassavica*, onde foi ensaiado com 0,5%, 0,25% e 0,1%.

A aplicação foi realizada uma única vez em todos ensaios assim que os mesmos atingiram o nível de controle da população de *S. frugiperda*. As condições climáticas preferíveis e horário da aplicação foram de temperatura 30 °C, umidade relativa 60% e ventos de até 3 km h⁻¹. O equipamento utilizado foram três pulverizadores manuais de compressão prévia, a fim de evitar contaminação dos tratamentos, modelo PCP-1P 1,2L (GUARANY®), com ponta de pulverização do tipo leque 80.02 a 43,5 psi (libras por polegada quadrada).

4.8.1 Avaliação de mortalidade *A. curassavica* sobre os insetos e sua persistência em plantas

Esse ensaio foi realizado para todos experimentos ensaiados a campo, supracitados no tópico “Ação do extrato etanólico de *A. curassavica* sobre os insetos e plantas ao campo”. Para avaliações de mortalidade e persistência foram coletas duas folhas de quatro plantas por parcela de cada tratamento no intervalo de 0 e 48 horas após a aplicação, assim formando dois ensaios: primeiro logo após a aplicação a campo (0 horas) e o segundo 2 dias após aplicação (48 horas).

As plantas de milho foram levadas ao laboratório em sala climatizada, à temperatura de 26,0°C ± 1,0°C, umidade 60% ± 10% e fotofase de 12 horas, onde foi retirada 2 folhas/planta. Posteriormente, as folhas foram cortadas em formato quadrado com 9 cm². As folhas cortadas de milho foram colocadas em potes plásticos e oferecidos para lagartas de segundo ínstar de *S. frugiperda*, sendo 1 disco por lagarta. Após o terceiro dia, foi oferecido dieta artificial (Parra, 2001) para todas as lagartas.

Foi avaliado o consumo alimentar, peso larval (3^o, 6^o, 9^o e 12^o dia), peso de fezes e mortalidade. A avaliação de mortalidade procedeu até a fase de pupa. Considerava-se a lagarta morta quando tocadas com pincel de cerdas finas e não se observava movimento.

4.9 Obtenção das frações

Foi utilizado método descrito por Costa *et al* (2017). Foi pesado 40 gramas do extrato etanólico bruto de *Asclepias curassavica* e solubilizado em 300,00 ml de água deslitalada e 100,00 ml de metanol (3:1). Através do processo de extração líquido-líquido com solventes de polaridade crescente, hexano (6x 200,00ml), diclorometano (6x 200,00ml) e acetato de etila (6x 200,00ml) em funil de separação visando a semipurificação das substâncias através da sua polaridade.

Sendo assim, foi adicionado primeiramente a solução do extrato etanólico bruto solubilizada (água:metanol) no funil de separação, posteriormente cada solvente de acordo com a ordem de polaridade, após, funil foi fechado, agitado por três vezes e aberto para a liberação da pressão e formação das duas fases imiscíveis.

Cabe esclarecer que cada solvente foi parcionado em 6 vezes, como já supracitado acima, onde uma parcela de solvente era adicionada junto a solução do extrato etanólico bruto solubilizada (água:metanol) por vez. Ao final de cada separação através do funil, a solução solubilizada voltava ao balão para ser adicionado a uma nova parcela de solvente e a fase com solvente era armazenada. Ao término da sexta parcela de cada solvente, passava-se para o próximo respeitando a ordem de polaridade.

A fase que continha o solvente armazenado foi coletada e acondicionada em recipientes de 3 litros fechados hermeticamente, sendo esse procedimento realizado em todas repetições para cada solvente. Posteriormente, as frações foram evaporadas sob pressão reduzida no rotaevaporador (600 mm hg) e temperatura de banho de 45° C para eliminação dos resíduos dos solventes e concentração das frações (Cechinel Filho; Yunes, 1998). Ao final, foram obtidas as frações: hexano, diclorometano, acetato de etila e extrato residual.

4.9.1 Bioensaio de contato do extrato etanólico de *A. curassavica*

Para verificar a ação de contato do extrato etanólico de *A. curassavica* sobre os insetos, foi conduzido um ensaio contendo *S. frugiperda* no segundo instar. Será avaliados tratamentos contendo extrato bruto e fracionado previamente diluídos em água destilada. Utilizando uma seringa Hamilton, foram colocadas individualmente lagartas em recipientes plásticos de 75 ml, e em seguida aplicada uma gota de aproximadamente 0,1 µl de extrato no dorso de cada lagarta uma única vez. Após, as lagartas foram inoculadas em dieta artificial, conforme Parra (2001), e então observadas (Tabela 3).

TABELA 3 Tratamentos contendo extrato etanólico e frações de *A. curassavica* aplicados sobre o dorso de lagartas de *S. frugiperda* de segundo e quinto instar, na dose de 0,1 µl.

Tratamentos	Concentração do extrato	Polaridade
Testemunha	-	-
Hexano	0,5%	0
Diclorometano	0,5%	3,4
Acetato de etila	0,5%	4,3
Extrato residual	0,5%	-
Extrato bruto	0,5%	5,2

Após a aplicação do extrato, foi feita a contagem das lagartas mortas, para a determinação da mortalidade larval ocasionada pelos tratamentos. As observações deram-se após os seguintes intervalos: 30 minutos, 1 hora, 2 horas, 4 horas, 8 horas, 10 horas, 12 horas, 24 horas, 48 horas e 72 horas. Para cada tratamento, foram utilizadas 20 lagartas do respectivo instar avaliado e cada uma representando uma repetição.

4.10 Caracterização e determinação dos teores dos compostos químicos

A fim de determinar e caracterizar os compostos químicos, extrato bruto etanólico de *A. curassavica* foi submetido a análise que identificam compostos fenólicos, flavonóides e alcaloides, através dos seguintes métodos.

4.10.1 Flavonoides

A metodologia para determinar a quantidade de flavonoides presentes em extrato bruto e frações de *A. curassavica* foi realizada conforme Yao *et al.* (2013). Nela, as amostras continham 0,100 mL de extrato + 0,400 mL de etanol 70% + 0,050 mL NaNO_2 (5%), sendo que o branco contendo tudo, menos o extrato. Após 6 minutos foi acrescentado 0,050 mL de AlCl_3 (10%) + 0,300 mL de NaOH (1 M) + 0,100 mL água. Posteriormente as amostras descansarão por 15 minutos no escuro. A absorvância utilizada foi de 510 nm.

Para a curva padrão, foi preparada uma solução de rutina 1000 $\mu\text{g/mL}$ e diluída para 25, 50, 75, 100, 250 e 500 $\mu\text{g/mL}$. Assim, determinamos a curva e equação da reta, e os resultados foram expressos em $\mu\text{g/mL}$.

Todas as análises foram realizadas em triplicata e as médias foram calculadas.

4.10.2 Polifenóis totais

Para determinar a quantidade de polifenóis totais presentes em extrato bruto e frações de *A. curassavica* foi adotada a metodologia de Stagos *et al.* (2012). Na curva padrão, foi preparada uma solução de ácido gálico (1000 $\mu\text{g/mL}$) e diluída para 25, 50, 75, 100, 250 e 500 $\mu\text{g/mL}$.

As amostras continham 25 μL de extrato + 1275 μL de água destilada + 125 μL de folin. Após 3 minutos, adicionou-se 350 μL NaCO_3 + 750 μL de água. O branco tinha tudo, menos o extrato. Descansou por 1 hora e então se procedeu a leitura analisadas na absorvância de 765 nm.

4.10.3 Alcalóides

Foi utilizado o método baseado na reação com verde de bromocresol (BCG) com modificações. O preparo da solução de verde de bromocresol (1×10^{-4}) foi preparada aquecendo 69,8 mg de verde de bromocresol com 3ml de 2N NaOH e 5ml água destilada até a completa diluição e posteriormente a solução foi diluída em 1000 ml de água destilada. A solução de tampão de fosfato (pH 4,7) foi preparada ajustando o pH de fosfato de sódio 2 M (71,6 g de Na_2HPO_4 em 1 L de água

destilada) a 4,7 com 0,2 M ácido cítrico (42,02 g de ácido cítrico em 1 L de água destilada).

Para curva padrão foi utilizado uma solução de atropina (1mg diluída em 10 ml de água destilada). A solução padrão de atropina foi transferida para funis de separação em diferentes quantidades (0,4; 0,6; 0,8; 1; 1,2 ml), em seguida, foi adicionado 5 ml de fosfato tampão (ph 4,7) e 5 ml de solução BCG, a mistura foi agitada e em cada balão foi adicionado 1, 2, 3 e 4 ml de clorofórmio, para cada acréscimo foi coletado a solução de cada funil separadamente. A absorbância do complexo em clorofórmio foi medida a 470 nm contra o branco preparado conforme os demais, porém sem atropina.

A determinação do teor de alcalóides nos extratos e frações de *A. curassavica*, foram pesados 0,02mg de cada amostra e diluídos em 10 ml de álcool etílico 99⁰. Com auxílio de funis de separação, foram acrescentados 3ml de cada solução, na sequência 5 ml de solução BCG e 5ml de tampão fosfato (ph 4,7). Essas misturas foram agitadas e as soluções extraídas com 1,2,3 e 4ml de clorofórmio, as soluções foram coletadas em tubos de ensaio e medidas em espectrofotômetro a 470 nm e as análises realizadas em triplicata.

4.11 Delineamento Experimental

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado. No experimento no ensaio com as mariposas serão 6 tratamentos e 7 repetições (casais); nos demais ensaios serão 5 tratamentos e 20 repetições. O ensaio a campo o delineamento experimental utilizado foi blocos ao acaso com quatro repetições nos ensaios envolvendo a mortalidade das larvas, este índice será sempre corrigido em função da mortalidade no tratamento testemunha, de acordo com Abbott (1925). Ao final, todos os parâmetros avaliados serão submetidos ao teste de normalidade Shapiro-Wilk; em seguida, os dados normais serão submetidos ao teste ANOVA comparando-se as médias pelo teste de Tukey, e os dados que não seguirem distribuição normal serão submetidos ao teste não paramétrico de comparação de médias de Kruskal-Wallis, através do programa Action 2.9 (Estatcamp).

5 RESULTADOS

5.1 Pulverização do extrato em plantas de milho

Avaliando a mortalidade no 12º dia após a pulverização, através deste bioensaio foi possível analisar que o extrato etanólico na concentração de 0,25% e 0,5% causaram uma mortalidade das lagartas de 50% e 65% respectivamente (Tabela 4). Na menor concentração ministrada (0,1%), é possível notar que neste tratamento a mortalidade foi inferior desde a primeira avaliação (3º dia), mantendo-se inferior aos demais tratamentos com extrato até o último dia de avaliação (12º dia) (Tabela 4). Vale ressaltar que houve apenas uma única pulverização, e talvez em uma segunda pulverização a taxa de controle pudesse ser maior nos tratamentos com o extrato.

TABELA 4 – Mortalidade (%) de lagartas de *S. frugiperda* de 2º instar após aplicação do extrato etanólico de *A. curassavica* via pulverização, ao decorrer de 12 DAT (Testemunha = água, Extrato = extrato etanólico de *A. curassavica* e Químico = flubendiamida i.a 480g/L).

Tratamentos	Mortalidade 3º dia	Mortalidade 6º dia	Mortalidade 9º dia	Mortalidade 12º dia
Testemunha	0 c	0 c	0 d	0 c
Extrato 0,1%	10 ± 0,06 bc	15 ± 0,06 bc	15 ± 0,06 cd	20 ± 0,06 c
Extrato 0,25%	25 ± 0,08 b	25 ± 0,08 b	40 ± 0,08 b	50 ± 0,08 b
Extrato 0,5%	15 ± 0,08 bc	20 ± 0,08 bc	35 ± 0,08 bc	65 ± 0,08 b
Químico	100 a	100 a	100 a	100 a
P-valor	0	0	0	0

Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Kruskal-Wallis à 5% de probabilidade.

É possível notar que a taxa de dano sofrido pelas plantas de milho nos tratamentos com extrato, no o último dia de avaliação (12º dia), diferenciam da testemunha. As maiores concentrações (0,25% e 0,5%) são as detentoras dos menores danos nos tratamentos contendo extrato, sendo a menor média de dano de todos o tratamento químico (Tabela 5).

TABELA 5 - Média de dano* de lagartas de *S. frugiperda* em plantas de milho após pulverização do extrato etanólico de *Asclepias curassavica* ao decorrer de 12 dias (Testemunha = água, Extrato = extrato etanólico de *A. curassavica* e Químico = flubendiamida i.a 480g/L) (* segundo escala de Smith, Khan e Pathak (1993).

Tratamento	3º dia	6º dia	9º dia	12º dia
Testemunha	4,5 ± 0,2 a	4,6 ± 0,2 b	7,5 ± 0,3 a	8,3 ± 0,2 a
Extrato 0,1%	3,4 ± 0,2 ab	5,2 ± 0,4 ab	6,4 ± 0,5 ab	6,8 ± 0,5 b
Extrato 0,25%	3,3 ± 0,2 b	4,4 ± 0,4 a	5,4 ± 0,5 b	5,8 ± 0,6 bc
Extrato 0,5%	3,1 ± 0,3 b	4,6 ± 0,5 b	5,7 ± 0,6 b	5,5 ± 0,6 c
Químico	0,4 ± 0,1 c	0,4 ± 0,1 c	0,4 ± 0,1 c	0,4 ± 0,1 d
P-valor	0	0	0	0

Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Kruskal-Wallis à 5% de probabilidade.

Paramentando a escala percentual de fitotoxicidade Frans e Crowley (1986), nenhum tratamento ensaiado causou injúria ou sofreram algum dano as plantas de milho. De modo que nem a concentração mais alta do extrato (0,5%) apresentou sintomas de fitotoxicidez.

5.2 Ação sistêmica do extrato de *A. curassavica* aplicado no solo

Através deste ensaio (Tabela 6) é demonstrado no parâmetro de mortalidade de lagartas que apenas o tratamento químico diferiu significativamente dos demais, causando 60% de mortalidade, essa taxa parcialmente baixa deve-se ao fato de o inseticida utilizado apesar de ser recomendado para *S. frugiperda*, ter maior efeito sobre inseto sugadores, e visto que lagartas são mastigadoras o controle não foi tão efetivo.

Os tratamentos com extrato que causaram maior mortalidade foi o de 0,1% e 0,5%, que ocasionaram 15% de mortalidade nas lagartas, fato que demonstra um efeito sistêmico não significativo do extrato nas plantas de milho via solo, isto é, demonstra-se inviável sua recomendação no controle de lagartas sob esta metodologia de aplicação (Tabela 6).

TABELA 6 – Mortalidade (%) e dano* de lagartas de *S. frugiperda* de 2º instar com aplicação do extrato etanólico de *Asclepias curassavica* via solo (Testemunha = água, Extrato = extrato etanólico de *A. curassavica* e Químico = Tiametoxami.a 141 g/L) (* segundo escala de Smith; Khan; Pathak (1994)).

Tratamentos	Mortalidade	Dano
Testemunha	5% ± 0,05 b	7± 0,4 a
Extrato 0,1%	15% ± 0,08 b	6± 0,7 a
Extrato 0,25%	10% ± 0,06 b	6± 0,6 a
Extrato 0,5%	15% ± 0,08 b	6± 0,6 a
Químico	60% ± 0,10 a	2± 0,7 b
P-valor	0	0

Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Kruskal-Wallis à 5% de probabilidade.

Em relação ao dano, o tratamento químico obteve o menor dano, sendo o único a apresentar diferença (Tabela 6). Sobre avaliação de fitotoxicidade, nenhuma das plantas de milho pulverizadas com extrato etanólico de *A. curassavica* apresentaram injúria ou sofreram algum dano ocasionado pelo extrato.

5.3 Ação translaminar do extrato de *A. curassavica*

Os resultados deste ensaio (Tabela 7) mostram que nos 3 dias de avaliação, o parâmetro de mortalidade de lagartas não foi significativo, embora o valor de mortalidade na concentração de 0,25% tenha contabilizado 10 %. Em relação aos danos, apesar dos menores danos dos tratamentos 0,25% e 0,5%, não diferenciaram.

TABELA 7- Mortalidade (%) e dano de lagartas de *S. frugiperda* de 2º instar com aplicação do extrato etanólico de *Asclepias curassavica* via translaminar (Testemunha = água, Extrato = extrato etanólico de *A. curassavica*) (* segundo escala de Smith; Khan; Pathak (1994).

Tratamentos	Mortalidade	Dano	Mortalidade	Dano	Mortalidade	Dano
	1º		2º		3º	
Testemunha	0 a	2 ± 0,1 a	0 a	7 ± 0,3 a	0 a	9 ± 0,08 a
Extrato 0,1%	0 a	2 ± 0,1 a	5 ± 0,05 a	7 ± 0,4 a	5 ± 0,05 a	8 ± 0,4 a
Extrato 0,25%	5 ± 0,05 a	2 ± 0,1 a	5 ± 0,05 a	7 ± 0,4 a	10 ± 0,06 a	7 ± 0,5 a
Extrato 0,5%	0 a	2 ± 0,1 a	0 a	7 ± 0,4 a	5 ± 0,05 a	7 ± 0,4 a
P-Valor	0	0	0	0	0	0

Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Kruskal-Wallis à 5% de probabilidade.

5.4 Bioensaio: aplicação tópica do extrato bruto de *A. curassavica* e suas frações

No primeiro teste do bioensaio de ação de contato, os tratamentos foram conduzidos na concentração de 0,5 %. A mortalidade não foi verificada em nenhum tratamento ministrado nesta concentração.

Em segundo teste (Tabela 8 e 9), foram utilizadas as frações e o extrato bruto na concentração de 4%. Todos os tratamentos contendo as frações e o extrato bruto apresentaram dados de mortalidade superior comparados aos tratamentos testemunha (Tabela 8 e 9).

Nas primeiras horas avaliadas os tratamentos hexano e extrato bruto apresentaram maiores mortalidade significativa em relação ao demais tratamentos, sendo o extrato bruto o melhor atingindo 50% de mortalidade após 4 horas de aplicação (Tabela 8).

TABELA 8- Mortalidade (%) diária acumulada de lagartas de *Spodoptera frugiperda* de 30 minutos à 8 horas após aplicação tópica de 0,1 µl/lagarta do extrato etanólico bruto e frações de *Asclepias* na concentração de 4%.

Tratamentos	30m	1h	2h	4h	8h
H2O	0 b	0 b	0 c	0 c	0 c
Álcool	0 b	0 b	0 c	0 c	0 c
Bruto	20 ± 0,09 a	25 ± 0,09 a	35 ± 0,1 a	50 ± 0,1 a	50 ± 0,1 a
Hexano	10 ± 0,06 ab	10 ± 0,06 ab	20 ± 0,09 ab	30 ± 0,1 ab	30 ± 0,1 ab
Dicloro	5 ± 0,05 b	5 ± 0,05 b	10 ± 0,05 bc	10 ± 0,06 bc	10 ± 0,08 bc
A. Etila	0 b	5 ± 0,05 b	10 ± 0,06 bc	10 ± 0,06 bc	10 ± 0,06 bc
Resíduo	5 ± 0,05 b	5 ± 0,05b	10 ± 0,06 bc	15 ± 0,08 bc	15 ± 0,08 bc
P-Valor=	0,06	0,03	0	0	0

Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Kruskal-Wallis à 5% de probabilidade.

No decorrer das avaliações, 72 horas após a aplicação, o tratamento extrato bruto não diferencia dos tratamentos fracionados hexano, diclorometano e acetado de etila. Tratamento resíduo apresentou 30% de mortalidade, diferenciando-se das demais frações, porém apresentando-se maior que as testemunhas (Tabela 9).

TABELA 9- Mortalidade (%) diária acumulada de lagartas de *Spodoptera frugiperda* de 10 à 72 horas após aplicação tópica de 0,1 µl/lagarta do extrato etanólico bruto e frações de *Asclepias curassavica* concentração de 4%.

Tratamentos	10 H	12H	24H	48 h	72 H
H2O	0 c	0 b	0 c	0 d	0 d
Alcool	0 c	0 b	0 c	0 d	0 d
Bruto	60 ± 0,1 a	60 ± 0,1 a	65 ± 0,1 a	70 ± 0,1 a	75 ± 0,1 a
Hexano	35 ± 0,1 b	40 ± 0,1 ab	40 ± 0,1 ab	60 ± 0,1 ab	60 ± 0,1 ab
Dicloro	20 ± 0,09 bc	30 ± 0,1 b	35 ± 0,1 bc	40 ± 0,1bc	45 ± 0,1 ab
A. Etila	15 ± 0,08 bc	25 ± 0,09 b	30 ± 0,1 bc	35 ± 0,1 bc	40 ± 0,1 ab
Residuo	15 ± 0,08 bc	20 ± 0,09 bc	25 ± 0,09 bc	25± 0,09 cd	30 ± 0,1 c
P-Valor=	0	0	0	0	0

Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Kruskal-Wallis à 5% de probabilidade.

5.5 Fertilidade e fecundidade

Nesse ensaio utilizando diferentes concentrações do extrato bruto observou-se que nenhum dos tratamentos afetaram significativamente o número de posturas, de ovos ou porcentagem de eclosão das lagartas. Porém, pode-se observar que nos tratamentos ministrados na concentração de 4% obteve um percentual de 62,5% de aumento em relação a Testemunha H₂O no que diz respeito ao número médio de posturas em relação aos demais tratamentos. Pode-se observar também que, mesmo não significativo, uma redução de aproximadamente 58% em relação a testemunha H₂O, em relação ao número de ovos (Tabela 10).

TABELA 10- Fecundidade e fertilidade de adultos de *S. frugiperda* sob ambiente sem chance de escolha contendo diferentes concentrações de extrato etanólico de *A. curassavica* (Testemunha = água, Extrato = extrato etanólico de *A. curassavica* e Químico = flubendiamida).

Tratamentos	Nº de posturas (média)	Nº de ovos (média)	Viabilidade (%)
H ₂ O	2,5 ± 0,6 a	364,3 ± 31 a	100%
Alcool	3 ± 0,2 a	288,6 ± 20 a	100%
Químico	3 ± 0,4 a	249,6 ± 9 a	100%
Extrato 1 %	2,2 ± 0,3 a	212 ± 13 a	100%
Extrato 2%	2,2 ± 0,4 a	251,3 ± 13 a	100%
Extrato 4%	4 ± 0,3 a	223,6 ± 7 a	100%
Extrato 0,5%	3,2 ± 0,4 a	231,8 ± 11 a	100%
P-Valor=	0,76	0,71	0

Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Kruskal-Wallis à 5% de probabilidade.

5.6 Caracterização e identificação química do extrato de *A. curassavica*

Em todos os tratamentos avaliados foi identificada a presença dos compostos químicos analisados (Tabela 11). Na análise de polifenóis, foi possível observar que acetato de etila foi portador da maior quantidade em µg/ml, seguidos

pelos tratamentos extrato bruto, diclorometano e residual. Hexano possui a menor quantidade desse metabólito, sendo aproximadamente 9 vezes menor do que a presente em acetato de etila.

Na análise de flavonoides, foi detectada a presença deste metabólito no extrato bruto e suas frações, onde o bruto apresentou o maior valor, diferindo estatisticamente, dos demais tratamentos. Acetato de etila contém a segunda maior quantidade (715,27 µg/ml), porém isso corresponde a aproximadamente 38% do total encontrado no extrato bruto 1890,27 µg/ml) (Tabela 11).

Quando avaliado os teores de alcaloides, o tratamento bruto, hexano e acetato de etila não diferem e apresentaram os maiores valores, seguidos de dicloro metano e resíduo (Tabela 11).

TABELA 11 - Caracterização química e teores (µg/ml) de polifenóis totais, flavonóides totais e alcaloides do extrato etanólico bruto e frações de *Asclepias curassavica* coletadas na fase reprodutiva.

Tratamentos	Polifenóis (µg/ml)	Flavonoides (µg/ml)	Alcaloides (µg/ml)
Bruto	66,61 a	1890,27 a	32,86 a
Hexano	10,31 b	526,38 b	35,80 a
Dicloro	62,16 a	312,50 c	18,86 b
A. Etila	97,16 a	715,27 b	24,02 a
Residuo	55,31 a	45,83 c	15,91 b
P-Valor=	0	0	0

Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Kruskal Wallis à 5% de probabilidade.

5.7 Análise fitoquímica qualitativa do extrato etanólico de *A. curassavica* e suas frações

Nesse ensaio pode constatar a presença de polifenóis totais, triterpenos, glicosídeos cardiotônicos (Keller-Kiliani e Raymond) e cumarinas no extrato bruto e em todas as frações analisadas. O extrato bruto é o único a apresentar todos os metabólitos analisados (Tabela 12).

No acetato de etila e hexano (Tabela 12) estão ausentes apenas de purinas e taninos, respectivamente. Também não foram encontrados taninos nas frações diclorometano, assim como saponinas e purinas.

No resíduo apresenta a menor quantidade das classes analisadas. encontrado vários compostos, a exemplo a ausência de alcalóides. Porém, foram encontrados alguns importantes, como flavonoides, polifenóis totais, triterpenos, taninos, cumarinas, saponinas (Tabela 12).

TABELA 12 - Caracterização química qualitativa dos compostos químicos presentes no extrato etanólico bruto e frações de *Asclepias curassavica*.

	Extrato bruto	Hexano	Diclorometano	Acetato de etila	Resíduo
Flavonoides	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Polifenóis totais	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Alcaloides Dragendorff	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Ausência
Alcaloides Mayer	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Ausência
Alcaloides Bouchardat	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Ausência
Taninos	Positivo	Ausência	Ausência	Positivo	Positivo
Triterpenos Burchard	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Triterpenos Salkowski	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Glicosídeos Cardiotônicos Salkowski	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Ausência
Glicosídeos Cardiotônicos Kedde	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Ausência

Glicosídeos Cardiotônicos Keller-Kiliani	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Glicosídeos Cardiotônicos Liebermann- Burchard	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Ausência
Glicosídeos Cardiotônicos Baljet	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Ausência
Glicosídeos Cardiotônicos Raymond	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Saponinas	Positivo	Positivo	Ausência	Positivo	Positivo
Cumarinas	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
Purinas	Positivo	Positivo	Ausência	Ausência	Positivo

5.8 Teste de condução a campo do extrato etanólico de *A. curassavica* no controle de *S. frugiperda* no milho

No primeiro ensaio a campo, ministrados com maiores concentrações, foi realizada a pulverização ao atingir 20% de plantas atacadas. Após 6 dias de aplicação, todos os tratamentos contendo extrato atingem 100% na escala percentual de fitotoxicidade, adaptada de Frans; Crowley, 1986, chegando a desnutrição total da cultura, inviabilizando a sequência das análises na presente condição apresentada (Tabela 13).

TABELA 13 - Fitotoxicidade plantas de *Z. mays* tratadas com diferentes concentrações do extrato etanólico de *A. curassavica* adaptada de Frans e Crowley (1986) (Testemunha = água, Extrato = extrato etanólico de *A. curassavica* e Químico = flubendiamida i.a 480 g/L).

Tratamentos	26/11	29/11	02/12	3 DAA	6 DAA
Testemunha	0 a	0 a	0 a	0 b	0 b
BELT	0 a	0 a	0 a	0 b	0 b
T 1%	0 a	0 a	0 a	90 ± 0,9 a	100 a
T 2%	0 a	0 a	0 a	87 ± 1,0 a	100 a
T 4%	0 a	0 a	0 a	89 ± 1,0 a	100 a
P-valor	-	-	-	0	0

Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Kruskal-Wallis ao nível de 5%.

Sendo assim, novos testes a campo foram conduzidos com menores concentrações do extrato de *A. curassavica*. Dentre as parcelas que foram tratadas, nenhuma apresentou média de dano diferente antes da aplicação (Tabela 14 e 20), garantindo que no ato da pulverização, quando atingiu 20% das plantas atacadas, apresentando nota igual ou superior a 3 (Escala de Davis), todas parcelas escolhidas no bloco para o ensaio estavam nas mesmas condições.

Nestes ensaios todos os tratamentos não apresentaram fitotoxidez na cultura ensaiada, de acordo com Frans e Crowley (1986). No ensaio do primeiro ano, 3º dia após aplicação, os tratamentos contendo o extrato foram similares ao tratamento químico (Tabela 14), diferenciando-se após 1 semana de aplicação. Na última avaliação, 21 DAA, tratamento químico atingiu o menor dano, seguido dos tratamentos contendo extrato, os quais foram diferentes da testemunha.

TABELA 14 - Danos causados por *S. frugiperda* em plantas de *Z. mays* em condições de campo tratadas com diferentes concentrações do extrato etanólico de *A. curassavica* de acordo com a escala de notas adaptada por Smith; Khan; Pathak (1994) (Testemunha = água, Extrato = extrato etanólico de *A. curassavica* e Químico = flubendiamida i.a 480g/L).

Tratamentos	23/12	26/12	3DAA	7 DAA	14 DAA	21 DAA
Testemunha	1 ± 0,1 a	3 ± 0,1 a	5 ± 0,2 a	5 ± 0,1 a	7 ± 0,1 a	9 ± 0,1 a
Químico	0 a	3 ± 0,1 a	3 ± 0,1 b	3 ± 0,1 c	4 ± 0,1 c	5 ± 0,1 c
Extrato 0,1%	0 a	3 ± 0,1 a	3 ± 0,1 b	5 ± 0,1 a	6 ± 0,1 a	7 ± 0,1 b
Extrato 0,25%	0 a	3 ± 0,1 a	3 ± 0,1 b	5 ± 0,1 a	6 ± 0,1 a	7 ± 0,2 b
Extrato 0,5%	0,6 ± 0,07 ab	3 ± 0,1 a	3 ± 0,1 b	4 ± 0,1 b	5 ± 0,1 b	7 ± 0,1 b
P- valor	0	0	0	0	0	0

Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Kruskal-Wallis ao nível de 5%.

Neste ensaio, observou-se que o número de plantas, assim como o número de folhas não diferem em nenhum momento da avaliação diante dos tratamentos ensaiados, permanecendo iguais até 21 dias após aplicação (Tabela 15). Em relação a altura, nos 3º dias após aplicação, todos tratamentos contento extrato e o tratamento químico foram similares entre si, e diferentes da testemunha (Tabela 16), prosseguindo a diferença de altura dos tratamentos contento extrato da testemunha até 14º dias após aplicação.

TABELA 15- Número de plantas e folhas de *Z. mays* 21 dias após aplicação diferentes concentrações do extrato etanólico de *A. curassavica* em condições de campo (Testemunha = água, Extrato = extrato etanólico de *A. curassavica* e Químico = flubendiamida i.a 480g/L).

Tratamentos	Plantas (%)	N ° folhas
Testemunha	100% a	7 ± 0 a
Extrato 0,1%	100% a	7 ± 0 a
Extrato 0,25%	100% a	7 ± 0 a
Extrato 0,5%	100% a	7 ± 0 a
Químico	100% a	7 ± 0 a
P-valor	0,4	0,4

Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Kruskal-Wallis ao nível de 5%.

TABELA 16 – Altura (cm) de plantas de *Z. mays* tratadas com diferentes concentrações do extrato etanólico de *A. curassavica* (Testemunha = água, Extrato = extrato etanólico de *A. curassavica* e Químico = flubendiamida i.a 480g/L).

Tratamentos	23/12	26/12	3 DAA	7 DAA	14 DAA	21 DAA
Testemunha	7 ± 0,1 a	8 ± 0,1 b	9 ± 0,1 b	11 ± 0,1 d	20 ± 0,3 d	30 ± 0,5 b
Químico	7 ± 0,09 a	9 ± 0,1 a	10 ± 0,1 a	14 ± 0,1 a	29 ± 0,3 a	42 ± 0,5 a
Extrato 0,1%	6 ± 0,09 b	8 ± 0,1 b	10 ± 0,1 a	12 ± 0,1 c	25 ± 0,4 b	33 ± 0,8 b
Extrato 0,25%	6 ± 0,1 b	9 ± 0,1 a	10 ± 0,1 a	12 ± 0,1 c	23 ± 0,4 c	31 ± 0,6 b
Extrato 0,5%	6 ± 0,09 b	9 ± 0,1 a	10 ± 0,1 a	13 ± 0,1 b	26 ± 0,4 b	31 ± 0,7 b
P- valor	0	0	0	0	0	0

Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Kruskal-Wallis ao nível de 5%.

O ensaio de *S. frugiperda* em condições de laboratório alimentadas com folhas de milho coletas nas parcelas experimentais após 0 horas, demonstra que os tratamentos extrato a 0,1% e o tratamento químico não se diferem, atingindo 100% de mortalidade. Outro ensaio com lagartas alimentadas com folhas de milho após 48 horas, apesar da baixa mortalidade para o padrão agrônomo, os tratamentos 0,1% e 0,25% diferem do tratamento químico (Tabela 17).

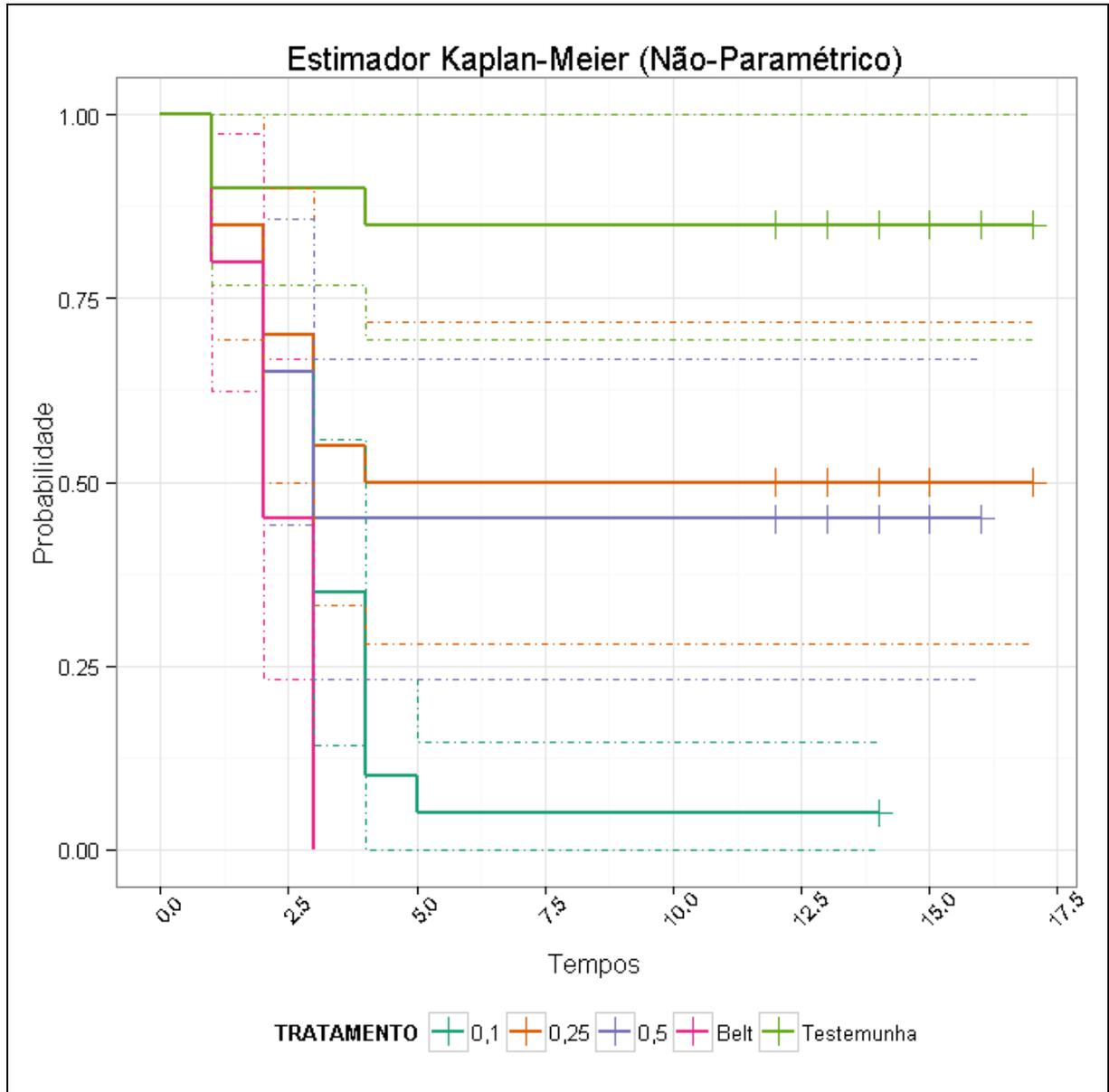
TABELA 17- Mortalidade de *S. frugiperda* em condições de laboratório alimentadas com folhas de milho coletadas à campo nas parcelas experimentais, 0 e 48 horas após aplicação dos tratamentos (Testemunha = água, Extrato = extrato etanólico de *A. curassavica* e Químico = flubendiamida i.a 480g/L).

Tratamentos	Mortalidade	Mortalidade
	0h	48h
Testemunha	15 ± 0,08 c	0 b
Belt	100 a	85 ± 0,08 a
T 0,1	100 a	5 ± 0,05 b
T 0,25	50 ± 0,1 b	10 ± 0,06 b
T 0,5	60 ± 0,1 b	0 b
P-Valor=	0	0

Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Kruskal-Wallis ao nível de 5%.

As curvas obtidas pelo estimador de Kaplan-Meier (Figura 1 e 2) para os tratamentos contendo extrato etanólico bruto de *A. curassavica* e testemunha nos mostra o tempo em que o evento mortalidade aconteceu e a probabilidade de sobrevivência. Em 0 horas após a aplicação, na concentração 0,1% causou mortalidade efetiva nos três primeiros dias após a inoculação das lagartas. Os tratamentos que também apresentaram mortalidade superior ao tratamento testemunha obtiveram resultados em média 5 dias após o início do bioensaio (Figura 1).

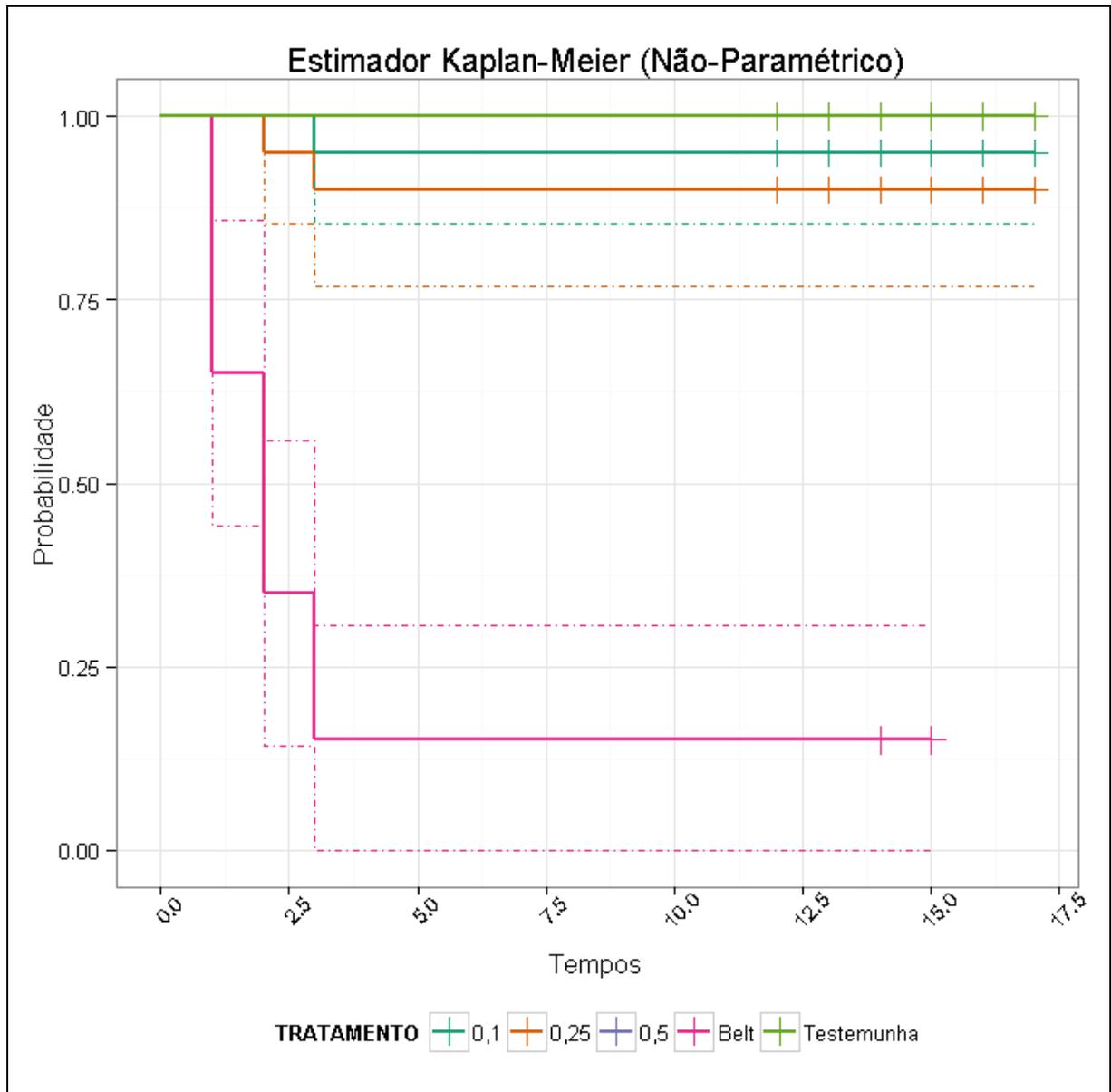
Figura 1 - Curva de sobrevivência (Kaplan-Meier) de lagartas de *Spodoptera frugiperda* alimentadas com folhas de milho pulverizadas com extrato etanólico bruto *A. curassavica* após 0 horas.



Fonte: O Autor (2021).

Após 48 horas de aplicação, apenas o tratamento químico (flubendiamida) causou mortalidade efetiva nos três primeiros dias após a inoculação das lagartas. Os demais tratamentos tiveram a probabilidade de sobrevivência superior a 80% (Figura 2).

Figura 2 - Curva de sobrevivência (Kaplan-Meier) de lagartas de *Spodoptera frugiperda* alimentadas com folhas de milho pulverizadas com extrato etanólico bruto *A. curassavica* após 48 horas.



Fonte: O Autor (2021)

Em relação aos dados do consumo alimentar (Tabela 18), as lagartas submetidas a alimentação de folhas de milho coletada 0 horas após aplicação, observa-se diferença na ingestão desse alimento em relação a testemunha no tratamento extrato 0,25%. No consumo alimentar após 48 horas, é possível observar diferença do tratamento 0,5% sendo maior que a testemunha.

TABELA 18- Consumo alimentar de *S. frugiperda* em condições de laboratório alimentadas com folhas de milho coletadas à campo nas parcelas experimentais, 0 e 48 horas após aplicação dos tratamentos (Testemunha = água, Extrato = extrato etanólico de *A. curassavica* e Químico = flubendiamida i.a 480g/L).

Tratamentos	Consumo alimentar	
	0h	48h
Testemunha	0,019 ± 0,0 a	0,008 ± 0,0 bc
Belt	0,015 ± 0,0 ab	0 c
T 0,1	0,015 ± 0,0 ab	0,009 ± 0,0 bc
T 0,25	0,010 ± 0,0 b	0,014 ± 0,0 ab
T 0,5	0,014 ± 0,0 ab	0,015 ± 0,0 a
P-Valor=	0	0

Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Kruskal-Wallis ao nível de 5%.

Sobre a conversão dos alimentos em peso, os dados mostram que ao final do 12^o dia, ambos ensaios de 0 e 48 horas, todos os tratamentos foram iguais (Tabela 19). Tratamento químico e 1% não contem dados de 0 horas em razão da mortalidade de 100%.

TABELA 19- Peso de *S. frugiperda* tratadas com diferentes concentrações do extrato etanólico de *A. curassavica*.

Tratamentos	3 dia		6 dia		9 dia		12 dia	
	0h	48h	0h	48h	0h	48h	0h	48h
Testemunha	0,00 ± 0,00 a	0,02 ± 0,0 ab	0,043 ± 0,00 a	0,12 ± 0,01 ab	0,196 ± 0,01 a	0,43 ± 0,03 a	0,459 ± 0,04 a	0,44 ± 0,03 a
Belt	-	0,00 ± 0,0 b	-	0,04 ± 0,00 b	-	0,30 ± 0,02 a	-	0,39 ± 0,10 a
T 0,1	-	0,02 ± 0,0 a	-	0,10 ± 0,01 ab	-	0,39 ± 0,02 a	-	0,49 ± 0,04 a
T 0,25	0,00 ± 0,00 a	0,01 ± 0,0 ab	0,033 ± 0,00 a	0,11 ± 0,00 ab	0,178 ± 0,02 a	0,41 ± 0,02 a	0,486 ± 0,03 a	0,40 ± 0,04 a
T 0,5	0,00 ± 0,00 a	0,02 ± 0,0 ab	0,023 ± 0,00 a	0,14 ± 0,01 a	0,146 ± 0,02 a	0,46 ± 0,03 a	0,460 ± 0,05 a	0,41 ± 0,02 a
P-Valor =	0,2	0	0,1	0	0,2	0	0,8	0,5

Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Kruskal-Wallis ao nível de 5%.

No ensaio a campo do segundo ano de avaliação, no 3º dia após aplicação podemos observar, os danos causados pós *S. frugiperda*, os tratamentos extrato 0,25%, extrato 0,5% e tratamento químico são detentores das menores notas na escala adaptada por Smith; Khan; Pathak (1994), seguidos de 0,1% e testemunha. Após 21º dias de aplicação (Tabela 20), verifica-se melhor resultado sendo o tratamento químico, seguido do tratamento 0,25%, o qual diferenciam-se da testemunha.

TABELA 20 - Danos causados por *S. frugiperda* em plantas de *Z. mays* em condições de campo tratadas com diferentes concentrações do extrato etanólico de *A. curassavica* de acordo com a escala de notas adaptada por Smith; Khan; Pathak (1994) (Testemunha = água, Extrato = extrato etanólico de *A. curassavica* e Químico = flubendiamida i.a 480g/L).

Tratamentos	29/01	01/02	04/02	06/02	3 DAA	7 DAA	14 DAA	21 DAA
Testemunha	1 ± 0,09 a	1 ± 0,10 a	2 ± 0,13 a	4 ± 0,10 a	5 ± 0,15 a	5 ± 0,14 a	6 ± 0,17 a	7 ± 0,14 a
BELT	1 ± 0,09 a	1 ± 0,09 a	2 ± 0,14 ab	2 ± 0,15 c	2 ± 0,12 d	2 ± 0,10 c	4 ± 0,15 b	5 ± 0,10 c
T 0,1%	0 ± 0,08 a	1 ± 0,09 a	1 ± 0,14 b	3 ± 0,11 b	4 ± 0,15 b	5 ± 0,15 b	6 ± 0,17 a	7 ± 0,13 a
T 0,25%	0 ± 0,08 a	1 ± 0,10 a	2 ± 0,14 ab	3 ± 0,13 b	4 ± 0,12 bc	4 ± 0,15 b	6 ± 0,16 a	6 ± 0,11 b
T 0,5%	1 ± 0,09 a	1 ± 0,09 a	1 ± 0,17 b	2 ± 0,14 c	3 ± 0,17 c	4 ± 0,13 b	6 ± 0,17 a	7 ± 0,15 a
P-valor	0,4	0,5	0	0	0	0	0	0

Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Kruskal-Wallis ao nível de 5%.

Apesar dos danos diferentes, o número de plantas e folhas não diferem entre os tratamentos, seguindo mesmo padrão do ano anterior (Tabela 21).

TABELA 21 – Número de plantas e folhas de *Z. mays* tratadas com diferentes concentrações do extrato etanólico de *A. curassavica* (Testemunha = água, Extrato = extrato etanólico de *A. curassavica* e Químico = flubendiamida i.a 480g/L).

Tratamentos	Plantas (%)	N ° folhas
Testemunha	100% a	8 a
Extrato 0,1%	100% a	8 a
Extrato 0,25%	100% a	8 a
Extrato 0,5%	100% a	8 a
Químico	100% a	8 a
P-valor	0,4	0,4

Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Kruskal-Wallis ao nível de 5%

Ao analisar a alturas das plantas de milho, nota-se que o tratamento contendo 0,5% do extrato etanólico de *A. curassavica* foi igual ao tratamento químico do primeiro até o último dia de avaliação pós aplicação nos ensaios (Tabela 22). Após 14 dias de aplicação todos os ensaios contendo os extratos de *A. curassavica* tiveram suas alturas similares ao tratamento químico (Tabela 22).

TABELA 22 – Altura (cm) de plantas de *Z. mays* tratadas com diferentes concentrações do extrato etanólico de *A. curassavica* (Testemunha = água, Extrato = extrato etanólico de *A. curassavica* e Químico = flubendiamida i.a 480g/L).

Tratamentos	29/01	01/02	04/02	06/02p	3 DAA	7 DAA	14 DAA	21 DAA
Testemunha	7 ± 0 a	10 ± 0,1 b	16 ± 0,2 a	20 ± 0,2 b	21 ± 0,3 c	23 ± 0,3 b	37 ± 0,8 a	46 ± 0,4 b
Químico	7 ± 0 a	10 ± 0,1 b	16 ± 0,1 a	22 ± 0,2 a	24 ± 0,2 a	30 ± 0,2 a	42 ± 0,6 a	53 ± 0,6 a
Extrato 0,1%	7 ± 0 a	11 ± 0,1 a	16 ± 0,1 a	20 ± 0,2 b	23 ± 0,4 b	31 ± 0,3 a	40 ± 0,8 a	45 ± 0,6 b
Extrato 0,25%	7 ± 0 a	10 ± 0,1 b	16 ± 0,1 a	20 ± 0,1 b	22 ± 0,3 b	26 ± 0,3 a	44 ± 0,7a	48 ± 0,7 b
Extrato 0,5%	7 ± 0 a	10 ± 0,1 b	15 ± 0,2 b	21 ± 0,2 b	24 ± 0,4 a	30 ± 0,4 a	42 ± 0,7 a	52 ± 0,8 a
P- valor	0,4	0	0	0	0	0	0,2	0

Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Kruskal-Wallis ao nível de 5%

No ensaio laboratorial (Tabela 23) sobre mortalidade de *S. frugiperda* alimentadas com folhas de milho coletadas à campo após 0 horas de aplicação dos tratamentos, observa-se o tratamento químico sendo o mais eficiente. Porém, todos dados de mortalidade dos tratamentos contendo extrato diferenciam da testemunha, atingindo valores de 75% de mortalidade (extrato 0,1 %), sendo a menor mortalidade (extrato 0,25%) mais de 50% dos indivíduos. Após 48 horas, tratamento químico se demonstra eficiente, os demais tratamentos não diferem da testemunha.

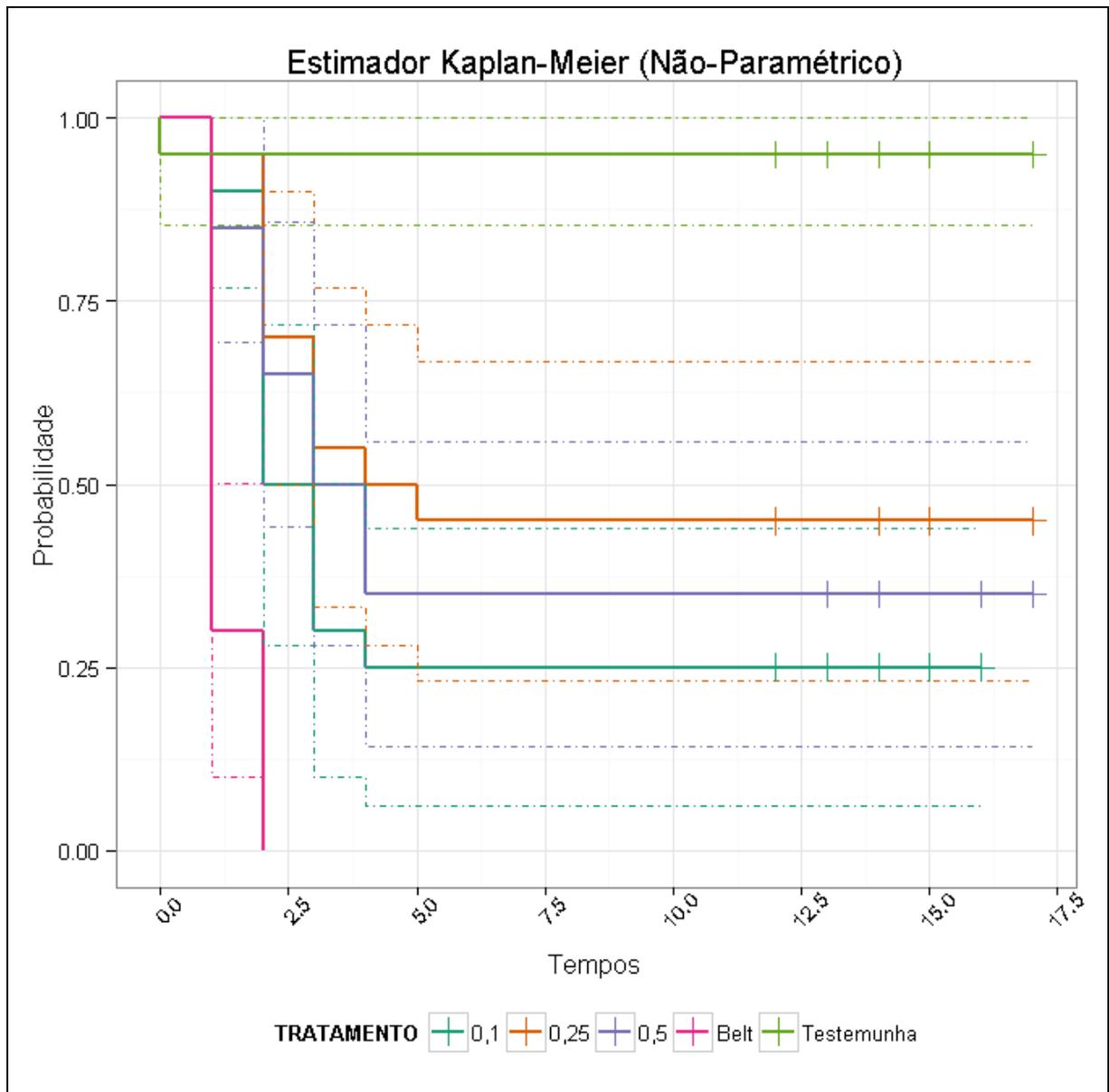
TABELA 23 - Mortalidade de *S. frugiperda* em condições de laboratório alimentadas com folhas de milho coletadas à campo nas parcelas experimentais, 0 e 48 horas após aplicação dos tratamentos (Testemunha = água, Extrato = extrato etanólico de *A. curassavica* e Químico = flubendiamida i.a 480g/L).

Tratamentos	Mortalidade 0h	Mortalidade 48h
Testemunha	5 ± 0,05c	5 ± 0,05 b
Belt	100 a	85 ± 0,08 a
T 0,1	75 ± 0,09 b	20 ± 0,09 b
T 0,25	55 ± 0,11 b	20 ± 0,09 b
T 0,5	65 ± 0,10 b	15 ± 0,08 b
P-Valor=	0	0

Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Kruskal-Wallis ao nível de 5%

De acordo com as curvas obtidas pelo estimador de Kaplan-Meier (Figura 3 e 4) demonstra que 0 horas após a aplicação no segundo ano, após o quinto dia a probabilidade de sobrevivência de todos tratamentos contendo o extrato etanólico de *A. curassavica* foram menores que 50%, sendo a concentração 0,1% causou maior mortalidade efetiva, tendo apenas 25% probabilidades de sobrevivência (Figura 3).

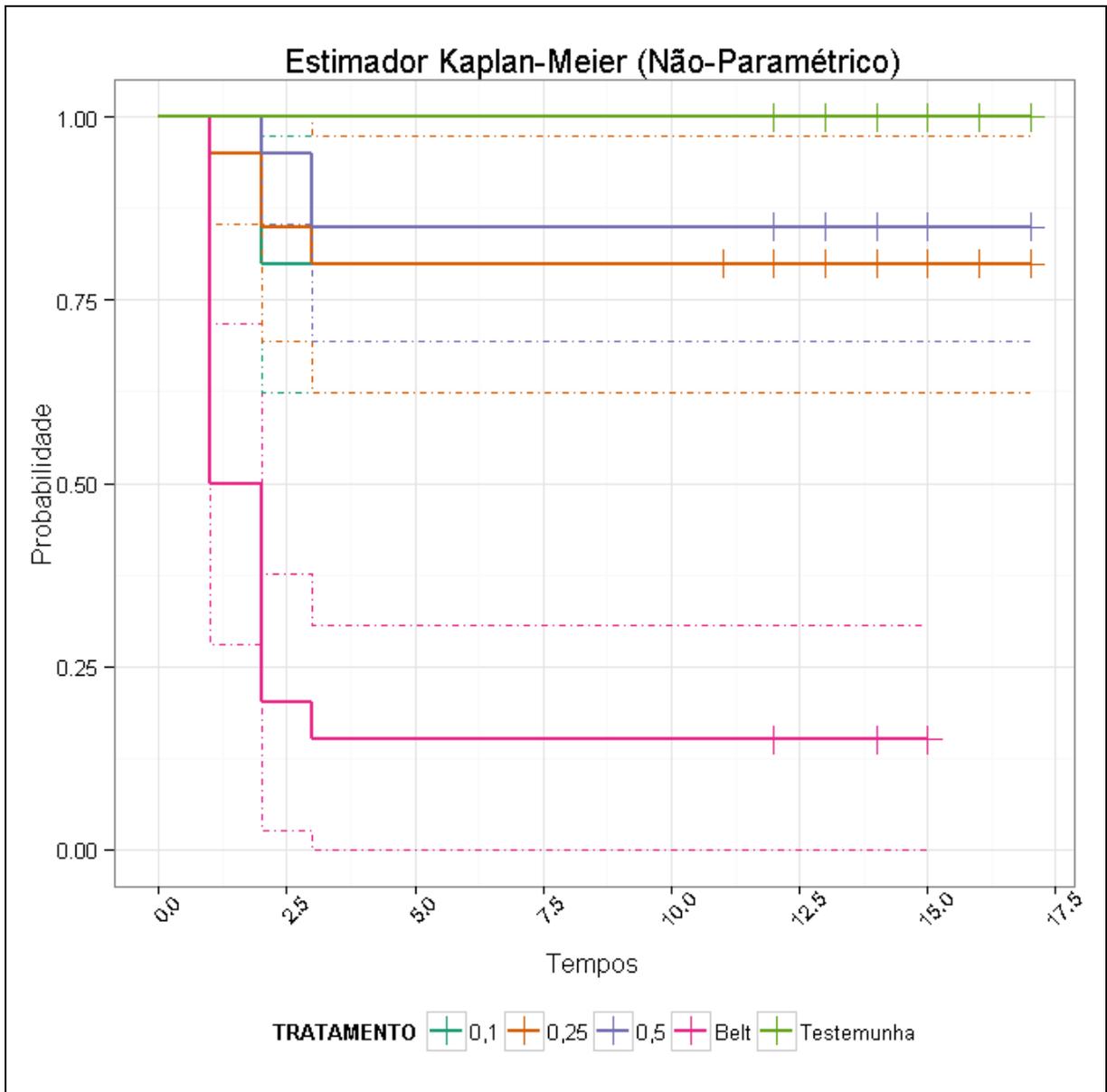
Figura 3 - Curva de sobrevivência (Kaplan-Meier) de lagartas de *Spodoptera frugiperda* alimentadas com folhas de milho pulverizadas com extrato etanólico bruto *A. curassavica* após 0 horas.



Fonte: O Autor (2021).

De forma similar ano, ano anterior, os dados de 48 horas após aplicação demonstram através do estimador de Kaplan-Meier (Figura 2 e 4) que todos tratamentos contendo extrato etanólico de *A. curassavica* apresentarão probabilidade de sobrevivência superior a 80%. Após o terceiro dia as concentrações 0,1% e 0,25% causaram as maiores mortalidade efetiva (Figura 4).

Figura 4 - Curva de sobrevivência (Kaplan-Meier) de lagartas de *Spodoptera frugiperda* alimentadas com folhas de milho pulverizadas com extrato etanólico bruto *A. curassavica* após 48 horas.



Fonte: O Autor (2021).

Lagartas submetidas a alimentação de folhas de milho coletada 0 e 48 horas após aplicação, menor consumo foi no tratamento químico. Em 0 horas, o menor consumo dentre os tratamentos contendo extrato foi o extrato 0,25%, sendo aproximadamente 50% menor que da testemunha. Já no ensaio de 48 horas, e a menor concentração 0,1% teve o menor consumo, seguido de 0,25% (Tabela 24).

TABELA 24 - Consumo alimentar de *S. frugiperda* em condições de laboratório alimentadas com folhas de milho coletadas à campo nas parcelas experimentais, 0 e 48 horas após aplicação dos tratamentos (Testemunha = água, Extrato = extrato etanólico de *A. curassavica* e Químico = flubendiamida i.a 480g/L).

Tratamentos	Consumo alimentar 0h	Consumo alimentar 48h
Testemunha	0,022 ± 0,0 a	0,033 ± 0,0 a
Químico	0,000 ± 0,0 c	0,000 ± 0,0 d
Extrato 0,1%	0,021 ± 0,0 a	0,009 ± 0,0 c
Extrato 0,25%	0,011 ± 0,0 b	0,014 ± 0,0 bc
Extrato 0,5%	0,018 ± 0,0 a	0,015 ± 0,0 b
P-Valor=	0,08	0

Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Kruskal-Wallis ao nível de 5%.

Na conversão dos alimentos em peso, observa-se que ao 12^o dia, em 0 horas, todos os tratamentos não diferiram (Tabela 25). Porém, no ensaio de 48 horas, tratamento químico diferiu dos demais tratamentos, seguido do tratamento extrato 0,1%. Os tratamentos contendo extrato não diferem entre si, porém o tratamento 0,1% difere da testemunha.

TABELA 25- Peso de *S. frugiperda* tratadas com diferentes concentrações do extrato etanólico de *A. curassavica*. Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Kruskal-Wallis ao nível de 5%

Tratamentos	3 dia		6 dia		9 dia		12 dia	
	0h	48h	0h	48h	0h	48h	0h	48h
Testemunha	0,00 ± 0,0 a	0,00 ± 0,0 a	0,04 ± 0,0a	0,13 ± 0,0 a	0,21 ± 0,0 a	0,23 ± 0,0 b	0,47 ± 0,0 a	0,51 ± 0,0 a
Belt	-	0,04 ± 0,0 b	-	0,04 ± 0,0 b	-	0,07 ± 0,0 c	-	0,12 ± 0,0 c
T 0,1	0,00 ± 0,0 a	0,00 ± 0,0 b	0,02 ± 0,0 b	0,12 ± 0,0 b	0,22 ± 0,0 ab	0,22 ± 0,0 b	0,41 ± 0,0 a	0,45 ± 0,0 b
T 0,25	0,00 ± 0,0 a	0,00 ± 0,0 ab	0,03 ± 0,0 ab	0,13 ± 0,0 ab	0,23 ± 0,0 ab	0,27 ± 0,0 b	0,51 ± 0,0 a	0,51 ± 0,0 ab
T 0,5	0,00 ± 0,0 a	0,00 ± 0,0 ab	0,03 ± 0,0 ab	0,14 ± 0,0 ab	0,22 ± 0,0 b	0,28 ± 0,0 b	0,51 ± 0,0 a	0,48 ± 0,0 ab
P-Valor=	0,83	0,10	0,07	0,13	0,89	0	0,42	0

6 DISCUSSÃO

6.1 Pulverização do extrato em plantas de milho

Os resultados de mortalidade obtidos no presente trabalho permitiram demonstrar a promissora ação inseticida do extrato etanólico *A. curassavica* sobre *S. frugiperda*, com bioatividade comparada a inseticidas comerciais registrados para o controle deste inseto-praga no Brasil. Importante destacar que houve apenas uma única pulverização, e talvez em uma segunda pulverização a taxa de controle pudesse ser maior nos tratamentos com o extrato.

Leão *et al.* (2020), ofertou o extrato etanólico de *A. curassavica* para lagartas de *S. frugiperda* por meio de dieta artificial, em condições de laboratório, nas concentrações de 0,05%, 0,1% e 0,5% e notou mortalidade crescente de 10%, 16% e 98% respectivamente. A menor taxa de mortalidade de 0,5% desse estudo comparado ao de Leão *et al.* (2020) está atrelada ao fato de que em condições de laboratório o controle ambiental é alto, e os metabólitos secundários são facilmente degradados pela luz solar, umidade e calor (Morais; Marinho-Prado, 2016), fato decorrente em casa de vegetação e campo.

Já em mesmas condições do presente trabalho, porém maiores concentrações, a taxa de mortalidade também foi aumentando de acordo com o aumento das concentrações do extrato. Esses dados são corroborados por Cruz (2020), o qual ao utilizando extrato etanólico de *A. curassavica* em condições similares ao presente trabalho, o autor verificou mortalidade crescente ao aplicar nas concentrações de 1%, 2% e 4%, obtendo mortalidades de 10%, 35% e 65%, respectivamente.

Segundo Silva *et al.* (2005), plantas com potencial bioinseticidas devem causar uma mortalidade superior a 40%, desta forma o extrato de *A. curassavica* pode ser inserido em um programa de manejo integrado de pragas, pode trazer resultados positivos, visto que o valor de 65% de mortalidade alcançado nesse estudo pode ser suficiente para reduzir a densidade populacional, resultando na diminuição da quantidade de inseticidas químicos empregados no controle, totalmente desejável em um programa de manejo integrado de pragas.

No que diz respeito ao dano, é de suma importância realçar que nas técnicas de manejo a desejável a interrupção imediata do dano às plantas, mesmo que ainda não ocorra a morte imediata das pragas. Portando-se desse raciocínio, o dado de dano desse trabalho é possível perceber que as lagartas, apesar da mortalidade reduzida, cessam e/ou diminuem sua alimentação, demonstrando então efeito fagodeterrente. Isso evidencia aos efeitos tóxicos dos extratos, onde o residual dos mesmos pode 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.

Segundo Kathrina e Antonio (2004), a utilização de produtos vegetais com ação inseticida apresenta exacerbados efeitos sobre os insetos. Dentre eles, pode-se destacar repelência, inibição da oviposição, inibição do crescimento, alterações morfogenéticas, alterações do sistema hormonal, alterações no comportamento sexual, esterilização de adultos, mortalidade na fase imatura ou adulta. Vale destacar que a extensão dos efeitos e o tempo de ação destes inseticidas botânicos são dependentes da dosagem utilizada, de maneira que a mortalidade ocorre nas dosagens maiores e os efeitos menos intensos e mais duradouros nas dosagens menores (Roel, 2001), isso explica o fato ocorrido no presente trabalho onde o tratamento com maior concentração do extrato contendo o menor danos às plantas.

Os dados obtidos neste ensaio corroboram com os apresentados por Cruz, (2020), onde tratamentos com extrato etanólico de *A. curassavica* sob ambiente similar ao presente trabalho, encontrou dano gradual, decaindo de acordo com o aumento da concentração do extrato trabalhada (1%, 2% e 4%), onde na maior concentração (4,0%) apresentou o menor consumo das lagartas de *S. frugiperda*, no 3º dia até 12º dia. Leão *et al.* (2020), e teste de consumo alimentar sem chance de escolha, ofertando discos de milho tratados com extrato etanólico de *Asclepias curassavica* nas concentrações de 1,0%, 2,0% e 4,0% para lagartas de *S. frugiperda* em condições de laboratório, encontrou efeito fagodeterrente, contudo o tratamento ministrado a concentração de 4,0% inibiu a alimentação das lagartas quase por completo.

Sobre o efeito fagodeterrente, dados de presença compostos bioativos no extrato bruto no presente trabalho (Tabela 9), caracteriza, dentre outras substâncias, taninos e saponinas, sendo corroborados por Shelke e Bhot (2019), onde ao determinaram os compostos bioativos presentes em folhas e caules de *A. curassavica* através de cromatografia e encontraram estas substâncias. Os taninos, compostos formados pela polimerização de unidades de flavonóides são dissuasivos (fagodeterrentes) de alimentação por herbívoros, onde as propriedades defensivas dos taninos são geralmente atribuídas a sua habilidade em se ligar às proteínas, como outros compostos fenólicos, dificultando a digestão nos insetos. A limitação da disponibilidade de proteínas também deve ser fator de inibição do crescimento e desenvolvimento do inseto-alvo (Taiz; Zeiger, 2009).

As saponinas, também presentes no extrato de *A. curassavica*, são glicosídeos de esteróides ou de terpenos policíclico. Possuem uma parte com característica lipofílica (triterpeno ou esteróide) e outra parte hidrofílica (açúcares), o que determina as propriedades surfactantes das saponinas, assemelhando-se aos detergentes (Simões *et al.* 2010), são substâncias que atuam na defesa das plantas contra o ataque de pragas e patógenos, em função da capazes de afetar a palatabilidade (Osbourn; Goss; Field, 2011). Esses metabólitos secundários presentes em *A. curassavica* explicam o comportamento das lagartas cessarem ou reduzirem sua alimentação nas plantas de milho tratadas, com o passar dos dias, neste experimento.

Em relação a avaliação de fitotoxicidade, nenhuma das plantas de milho pulverizadas com extrato etanólico de *A. curassavica* apresentaram injúria ou sofreram algum dano ocasionado pelo extrato. De modo que nem a concentração mais alta do extrato (0,5%) apresentou sintomas de fitotoxicidez.

6.2 Ação translaminar do extrato de *A. curassavica*

O extrato etanólico de *A. curassavica*, mesmo em condições das plantas cultivadas em vasos em ambiente controlado, não apresentaram efeito translaminar significativo sobre *S. frugiperda* em todos os períodos de avaliação (Tabela 4), já

que a translocação do extrato na planta se daria também por via sistêmica, potencializando o resultado. De acordo com os resultados, conclui-se que o extrato não foi capaz de penetrar no mesófilo foliar e atingir as lagartas. Alto índice de dano e mortalidades baixas foram verificadas para nas três concentrações testadas, e estas não diferiram do controle, indicando que os extratos não foram capazes de ultrapassar os tecidos da folha (Tabela 4). Cuidados especiais, conforme a metodologia descrita foram tomados para evitar o contato dos extratos com os insetos, que não fossem os exclusivos para o modo de ação avaliado.

Diferentemente deste estudo, Souza e Vendramim (2005) verificaram que o extrato aquoso de sementes de nim apresenta ação translaminar, sistêmica e de contato sobre a mosca-branca. Gonçalves-Gervásio e Vendramim (2007) avaliaram as atividades translaminar extrato aquoso de sementes de nim sobre a traça-do-tomateiro *T. absoluta*. Nesse estudo foram realizados três experimentos envolvendo extratos aquosos de sementes de nim em concentrações de 0,5; 1,0; 5,0 e 10,0 g por 100 mL de água. Esses extratos foram na superfície adaxial de folíolos de tomateiro onde ocorreu mortalidade larval de 57,0 a 100,0% evidenciando o efeito translaminar.

Ferreira de Brito *et al.* (2020), em estudo avaliando extrato etanólico de diferentes partes de algumas espécies de *Annona* contra *T. absoluta*, as folhas e sementes de *A. muricata* promoveu pronunciada letalidade e inibição do crescimento de larvas de *T. absoluta* por meio de contato residual e ação translaminar. A ação translaminar e sistêmica constatada pelos referidos autores pode ser explicado em função de a planta hospedeira utilizada (tomateiro) ser mais tenra e, portanto, mais propensa à penetração dos extratos nos tecidos foliares e da raiz, ao contrário das plantas de milho, cujas folhas apresentam substâncias como ceras, ligninas e suberinas que podem dificultar esse tipo de ação.

6.3 Ação sistêmica do extrato de *A. curassavica* aplicado no solo

As baixas mortalidades seguidas de altos índices de danos foram observadas com o uso do extrato nas três concentrações testadas no experimento com ação sistêmica, e estas não diferiram do controle, indicando que não houve absorção e circulação dos extratos através da seiva da planta (Tabela 5). Da mesma forma que o mencionado no experimento de ação translaminar, também nesse caso

mesmo no uso de uma concentração relativamente alta (0,5%), não afetou a sobrevivência do inseto. Contudo, não houve efeito de fitotoxicidade dentre os tratamentos avaliados. Esses fatos que demonstram um efeito sistêmico não significativo do extrato nas plantas de milho via solo, isto é, demonstra-se inviável sua recomendação no controle de lagartas sob esta metodologia de aplicação.

Da mesma forma, Vasconcelos *et al.* (2011), na avaliação sobre aplicação no solo em plantas de milho mantidas em casa de vegetação, na concentração de 10% (v/v), observou-se que o extrato pirolenhoso de casca de arroz não interfere nos aspectos biológicos e comportamentais de *S. frugiperda* estudados, em nenhuma das formas de aplicação avaliadas, evidenciando sua ineficiência como método de controle desse inseto-praga.

Diferentemente, Cruz (2020), encontrou diferença em relação ao dano trabalhando com concentrações de 1%, 2% e 4% do extrato etanólico de *A. Curassavica*, onde o tratamento químico e, aparentemente, as plantas tratadas com o extrato à 2% foram tão consumidas pelas lagartas quanto as plantas tratadas com o produto químico, incorrendo no mesmo dano. O autor ainda destaca que mesmo o tratamento químico tendo provocado mortalidade de 45% da população experimental, a população sobrevivente foi suficiente para causar um dano de semelhante expressão às concentrações 1% e 2% do extrato, que ocasionaram apenas 5% e 10% de mortalidade, respectivamente.

Na literatura encontra-se diferentes resultados da ação sistêmica de uma mesma espécie de planta quando ministrado em diferentes concentrações do extrato, assim como a planta hospedeira e o inseto-praga. Essa hipótese é corroborada por Hossain *et al.* (2008), onde ao examinar o impacto do neem aplicado ao sistema radicular de plantas de tomateiro em *Liriomyza sativae* (Diptera: Agromyzidae). No estudo, 0,75, 1,50, 2,25 e 3,00 g de concentrações L-1 de NeemAzal®-U preparação foram utilizados, onde a mortalidade larvar foi significativamente afetada sistemicamente apenas por neem a 3,00 g de concentração L-1.

Já Pavela, Barnet e Kocourek (2004), ao realizarem a aplicação no solo de neem em baixas concentrações (0.25, 0.05, 0.005, 0.0005 and 0.00005 mg ml⁻¹) para o sistema radicular da planta de *Brassica napus* subsp. *Napus* e explorou os seus efeitos sistêmico sobre *Brevicoryne brassicae* L. (Homoptera: Aphididae). De acordo com os resultados de o estudo, a mortalidade ninfal da praga, especialmente

durante os períodos de moldagem, foi significativamente aumentada com concentrações crescentes. Longevidade dos adultos e alimentação foram diminuídas com o aumento das concentrações.

Mao *et al.* (2019), testando Bruceine D, um isolado de *Brucea Javanica* (L.) Merr. foi aplicada às raízes numa concentração de 100 µg/mL durante 24 e 48 h, em da couve (*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* var.) infestadas com *Plutella xylostella* L., atingindo 93,80% e 96,83% de efeitos antialimentares, que são significativamente maiores do que as de azadirachtin. Semelhante ao azadiractina, a bruceina D também apresentou um potente efeito de inibição do crescimento sobre as larvas de insetos. Trata-se de um botânico antialimentar eficaz para insetos com propriedades sistêmicas excepcionais, causando atividade inibitória do crescimento de pragas.

6.4 Bioensaio: aplicação tópica do extrato bruto de *A. curassavica* e suas frações

Os extratos em diferentes concentrações e frações sobre *S. frugiperda*, ao ser realizada a aplicação tópica, dos possui ação nociva, observando-se que o extrato bruto e a fração hexano na concentração 4% obtiveram maior porcentagem de mortalidade, seguida da fração diclorometano e acetato de etila que também demonstrou boa ação por contato após 72 horas de aplicação. Deve ser considerado que a aplicação tópica, além da mortalidade, também pode interferir no desenvolvimento, ciclo de vida e desempenho dos insetos. Assim, esses efeitos tornam-se desejáveis tão quanto a mortalidade direta, tornando-se uma promissora opção de controle de pragas. Uma hipótese para a ação de contato, pode ser explicada pela presença nos extratos vegetais de vários produtos químicos bioativos como alcalóides, saponinas, taninos, flavonóides e esteroides.

Sabe-se que as saponinas são livremente solúveis e podem ser extraídas em solventes aquosos e orgânicos, e agem atacando a cutícula das larvas, resultando em perfuração, que é a principal causa de morte larval (Hostettmann; Marston, 2005), todas essas presentes neste trabalho (Tabela 9). Lopes *et al.* (2019) demonstrou a ação toxica dos extratos etanólicos de folhas e casca de *Anadenanthera macrocarpa* (BENTH.) por aplicação tópica foram eficientes no controle de *Helicoverpa armigera*, *Spodoptera frugiperda* e *Spodoptera cosmioides* reduzindo a sobrevivência em 75, 60 e 50%, respectivamente, além de alterações

nos parâmetros biológicos como, aumento do período larval, redução de peso das larvas e pupas.

Vários são os estudos do efeito de solventes (acetona, água deionizada, diclorometano, dimetilsulfóxido, metanol e etanol) utilizados na ressuspensão de extratos vegetais sobre os diferentes táxons de insetos (Castillo-Sánchez *et al.*, 2010). O fato de o extrato bruto ter evidenciado o melhor resultado de mortalidade, torna-se imprescindível ao agregar na literatura esta informação, pois o etanol, diferentemente dos demais solventes supracitados utilizados no fracionamento, não é tóxico para o meio ambiente e para quem o masuseia.

Almeida (2020) realizou aplicação tópica de 0,1 µl/lagarta dos extratos de Bico-de-papagaio (*Euphorbia pulcherrima*) em diferentes concentrações e frações sobre *S. frugiperda*, o qual constatou ação nociva, onde a fração hexano 2% obtiveram maior porcentagem de mortalidade (40%), seguida da fração diclorometano (35%) e extrato bruto (30%), o qual também demonstrou boa ação por contato 48 horas de aplicação. Em outro bioensaio de aplicação tópica, com diferentes concentrações do extrato etanólico bruto, atingiu 50% de mortalidade após 48 horas de aplicação.

Desse modo, ao definir entre aumentar a concentração ou fracionar devemos analisar os preceitos de sustentabilidade, que são econômico, social e ambiental. Os solventes utilizados no fracionamento, comparados ao etanol, são caros, nocivos e perigosos. Sendo assim, tem que haver muita cautela para ao realizar sua escolha fora do âmbito de pesquisa, pois os resultados positivos podem ser diluídos aos problemas ao longo prazo. Além disso, alguns solventes podem ocasionar efeitos letais ou subletais passíveis de serem utilizados na ressuspensão dos extratos vegetais, confundindo assim a real atividade do extrato botânico.

Corroborando, Anasante (2014) em bioensaio verificou-se, que o solvente acetato de etila incorporados a dieta artificial (1.000 mg kg⁻¹) ocasionou significativa mortalidade (42,70%) de larvas de *S. frugiperda* e reduziu significativamente o peso das larvas sobreviventes, aspecto mensurado ao sétimo dia de exposição, o que indica precaução na utilização desse solvente orgânico na solubilização dos derivados em teste, demonstrando-se inadequado para utilização nos bioensaios.

6.5 Fertilidade e fecundidade

Em relação ao número de posturas, ovos e viabilidade de *S. frugiperda* pelo extrato etanólico de *A. curassavica* ministrado em diferentes concentrações estudados no presente trabalho, o qual não diferem das testemunhas, pode ser devido à polifagia da espécie. A observação de oviposição em locais fora do hospedeiro bem como à alta mobilidade das lagartas suporta a hipótese de ausência de preferência hospedeira. Este fato é corroborado por Renwick e Chew (1994), onde relatam que fêmeas de *S. frugiperda* preferem ovipositar em áreas ranhuradas e picadas em vez de superfícies lisas. A textura da superfície, além de outras dicas, influencia a oviposição de muitas espécies de mariposas.

Dependendo nas características de suas plantas hospedeiras ou a condição ótima dependente da espécie para a sobrevivência dos ovos, as fêmeas preferem lisos, peludos ou ásperos superfícies. Sparks (1979) relatou também que, em altas populações, *S. frugiperda* deposita seus ovos em objetos e plantas não-hospedeiras. Isso apoia os resultados da alta frequência de posturas nas paredes da casa telada e na tela das gaiolas durante os testes com e sem chance de escolha para oviposição e o fato de *S. frugiperda* não demonstrar preferência entre os hospedeiros estudados.

Rojas, Virgen e Cruz-Lopez, (2003), estudando o comportamento de oviposição de *S. frugiperda*, notaram que estímulos táteis são mais importantes do que os voláteis da planta, e encontraram mais fêmeas ovipositando em superfícies corrugadas ao invés de superfícies tratadas com extratos de plantas hospedeiras como o milho, o tomateiro e o algodoeiro. Fêmea adulta *S. frugiperda* parecia não depender dos voláteis da planta para orientação às plantas hospedeiras, porém o extrato hexano de milho inibiu a oviposição em doses de 1 e 0,2 g / ml, mas não em 0,005 e 0,001 g / ml.

O efeito inibitório dos extratos na oviposição das fêmeas sugere a presença de compostos deterrentes em plantas hospedeiras. Williamset *et al.* (1986) observaram que *S. frugiperda* oviposição em toalhas de papel tratadas com água, metanol, diclorometano e extrato hexano folhas de milho diferiram da toalha tratada apenas com solvente. Uma possível explicação para os resultados do presente estudo é que, durante a preparação dos extratos, o as plantas podem liberar níveis

anormalmente elevados de compostos detergentes voláteis em função do dano mecânico na preparação dos extratos. Sendo assim, dentro dos limites do nosso ensaio, este trabalho mostra que as indicações tácteis podem ser de importância durante a seleção de locais de postura de ovos por *S. frugiperda*.

6.6 Caracterização e identificação química qualitativa do extrato de *A. curassavica*

A análise fitoquímica qualitativa do extrato e suas frações foi realizada com etapa preliminar do estudo, com o objetivo de detectar as principais classes de metabólitos secundários presentes nessa espécie vegetal. Além disso, por falta de dados na literatura sobre a espécie em questão, assim como suas frações, traçar esses metabólitos através desses testes é importante na contribuição de dados químicos sobre a espécie, bem como do gênero e família. Segundo Boland (2012) as plantas produzem grande quantidade de metabólitos secundários, que são armazenados como compostos de defesas contra ataques de herbívoros e patógenos. Esses compostos pertencem a diferentes classes químicas, tais como, terpenoides derivados de isopreno, incluindo mono, sesqui, di e triterpenoides, e esteroides. Para minimizar a autointoxicação, muitos desses compostos são armazenados em compartimentos de atividade metabólica limitada, tais como, vacúolo ou o apoplasto.

No presente estudo, a triagem fitoquímica detectou que o extrato bruto foi o único a apresentar todos os metabólitos analisados, sendo eles polifenóis totais, flavonoides, triterpenos, alcaloides, taninos, glicosídeos cardiotônicos, saponinas e cumarinas. O polifenóis totais, triterpenos, glicosídeos cardiotônicos (Keller-Kiliani e Raymond) e cumarinas no extrato bruto e em todas as frações analisadas. Diferentemente, Shelke e Bhot (2019), através de uma avaliação fitoquímica em folhas e caules de *A. curassavica* verificaram a presença apenas de glicosídeos, fenóis, saponinas, esteróides, taninos, terpenóides e proteínas/aminoácidos. O autor não detecta alcaloides e flavonoides nas folhas e caules, assim como não registra presença de saponina na raiz. Kalidass, Abrugam e Mohan (2009) mostra resultados da triagem fitoquímica preliminar de extratos de plantas inteiras de *A. curassavica* onde foi fracionado com éter, benzeno, cloroformio e metanol. Os dados

apresentados demonstram que extratos de metanol de toda a planta demonstra a maior quantidade de classes metabólicas, tendo a presença de alcaloide, antraquinona, cumarina, flavonóides, fenol, saponina, esteróide, tanino, terpenóide, açúcar e xantoproteína. Nenhuma das frações foi detectada a presença de glicosídeos.

Uma das hipóteses dessa diferença fica devido que a alteração de cor do extrato bruto, em algumas situações a presença de coloração decorrente da presença de uma substância pode ser interferente na observação de cor de alguma outra substância também contida no extrato. Isso comumente ocorre em extrato brutos de matrizes vegetais, sobretudo em extratos obtidos de folhas, por conter uma mistura grande de metabólitos. Para minimizar essas interferências cada ensaio é realizado várias vezes para uma mesma classe de metabólitos secundários, com diferentes reações químicas, como aconteceu em ambos trabalhos. Além disso, de acordo com Miranda, Moreira e Siqueira (2016) e Matos (2009) os resultados preliminares da prospecção fitoquímica avaliando os metabólitos secundários constituintes de várias espécies vegetais podem diferenciar, isso se deve a fatores extrínsecos e intrínsecos como teores de minerais no solo, faixa de temperatura, água disponível e do próprio metabolismo secundário vegetal.

Os Compostos fenólicos são importantes no mecanismo de defesa aos estresses ambientais, como elevada luminosidade, baixas temperaturas, infecção por patógenos, herbívoros e deficiência de nutrientes. São responsáveis por participar de importantes funções no crescimento, desenvolvimento e na defesa dos vegetais contra o ataque de patógenos (Dixon; Harrison, 1990). Taninos, lignina, flavonóides e alguns compostos fenólicos simples servem como defesa contra herbívoros e patógenos (Chalker-Scott; Fuchigami, 2018). A síntese de flavonoides é intensificada em situações que favoreçam o estresse oxidativo, tanto abiótico quanto biótico (Kumar; Pandey, 2013). Os Taninos são toxinas que reduzem significativamente o crescimento e a sobrevivência de muitos herbívoros quando adicionados a suas dietas gera consequências as pragas uma vez que se ligam a proteínas digestivas de insetos inativando enzimas importantes (Solla *et al.*, 2016).

Os alcaloides são compostos nitrogenados, os quais nas sementes representam importantes fontes de nitrogênio durante a germinação, além de possuir propriedade de defensivo químico natural (Isah, 2019). Para exemplificar, podemos citar a nicotina, um alcaloide extraído de algumas espécies do gênero

Nicotiana (Solanaceae), a qual age no sistema nervoso dos insetos, competindo com o neurotransmissor acetilcolina, com efeito de contato, ingestão e repelência' (Dederer; Werr, 2011) Já o triterpeno possuem uma diversificada classe de metabólitos secundários, a utilização da então chamada regra do isopreno permitiu classificá-los e estudá-los num primeiro momento, quando inúmeros terpenos foram isolados a partir de plantas superiores, muitos deles com valor comercial. Atualmente sabe-se que terpenos com aroma agradável são extraídos de essências de plantas, outros são a base de medicamentos convencionais ou as plantas que os contém são fitoterápicos, alguns são precursores de vitaminas e outros inseticidas (Simões *et al.*, 2010).

Em relação aos glicosídeos cardiotônicos, estes são divididos em dois grupos, um com compostos de cadeia de vinte e três carbonos chamada cardenólídeos, e outro composto de cadeias de vinte e quatro carbonos chamados bufadienólídeos. São amplamente utilizados na medicina para o tratamento da insuficiência cardíaca, e intoxicações, podem ocorrer depois do consumo de chás preparados por partes de plantas ou depois do consumo de flores, folhas ou sementes de plantas que contêm glicosídeos cardiotônicos (Vickery; Vickery, 1981). *S frugiperda* e *Anticarsia gemmatalis*, foram negativamente afetados pela digitoxina no crescimento e sobrevivência, respectivamente (Cohen, 1983). O ambiente químico influencia a toxicidade do cardenolide. Por exemplo, sabe-se há um tempo, de acordo com Glynn (1957) que o efeito inibidor dos cardenólidos é antagonizado pelos íons K⁺. Como os lepidópteros (e talvez outros insectos fitofágicos) têm frequentemente concentrações muito elevadas de K⁺ na sua hemolinfa (Florkin; Jeuniaux, 1974, a toxicidade de cardenolide nos insetos pode ser menos aguda do que o previsto apenas pelos seus atributos químicos (Vaughan; Jungreis, 1977).

De acordo com Puentes (2009) e Mazid, Khan e Mohammad (2011), as saponinas participam do sistema de defesa do vegetal, protegendo-o do ataque de insetos, além de sua ação antifúngica e antibacteriana, principalmente contra microrganismos patogênicos. A classificação das saponinas se dá de duas maneiras: por meio do núcleo da aglicona, ou pelo seu caráter ácido, básico ou neutro. Referindo-se a aglicona, podem ser categorizadas em saponinas esteroidais ou triterpênicas. Já as cumarinas constituem uma classe de metabólitos secundários derivados do ácido cinâmico, encontrados em abundância no reino vegetal, nos fungos e bactérias. A esta classe de compostos atribui-se uma grande variedade de

atividades biológicas, como a antimicrobiana, a antiviral, a anti-inflamatória, a antiespasmódica e antitumoral (Machado *et al.*, 2001). Outra classe estudada são as purinas, derivadas de aminoácidos como a glicina, ácido L-aspartico e L-glutamina. Essa classe de compostos orgânicos cíclicos do metabolismo secundário das plantas possui no mínimo um átomo de nitrogênio no seu anel sendo largamente utilizado na indústria farmacêutica como medicamentos alucinógenos e também como veneno (Vizzotto; Krolow; Weber, 2010).

A presença de polifenóis totais, flavonoides e alcaloides já era esperada durante a realização da triagem fitoquímica, por serem metabólitos secundários amplamente encontrados em diversas espécies de vegetais do gênero *Asclepias*. A confirmação de alcaloides, polifenóis totais e flavonoides presentes no extrato vegetal e suas frações direcionou o trabalho para a análise fitoquímica quantitativa nessas classes.

6.7 Caracterização e identificação química quantitativa do extrato de *A. curassavica*

Através do processo de partição líquido-líquido, com usos solventes apresentando polaridade crescente, como hexano, diclorometano e acetato de etila objetiva-se obter uma semi-purificação das substâncias através da polaridade presente nestes solventes (Cechinel Filho; Yunes, 1998). Sabido disto, no presente trabalho observa-se que, através da polaridade do solvente usado no fracionamento do extrato etanólico de *A. curassavica*, ocorreram significativas diferenças quanto a presença das classes dos metabólitos, assim como os teores de polifenóis totais, flavonóides e alcaloides.

De forma semelhante, Reddy *et al.* (2012) realizando análise fitoquímica qualitativa dos extratos utilizando diversos solventes (álcool de petróleo, hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol), oriundos de folhas e raízes de *A. curassavica*, indicou diferença quanto a detecção em relação as partes da planta, assim como dentre os solventes utilizados. Comparativamente, os extratos de raiz de todos os solventes verificados contêm mais metabólitos secundários do que os extratos das folhas. Metanol e o acetato de etila apresentaram as maiores contatações da presença das classes metabólicas em ambas partes da planta. Nas folhas os alcaloides, taninos e cumarinas foram encontrados completamente

ausentes em todos os cinco extratos solventes, já no extrato das raízes não foram encontrados em todos solventes apenas os alcaloides.

Esses dados diferenciam do presente estudo, onde todas frações apresentam alcaloides (Tabela 9), assim como foi possível quantificar seu teor presente no extrato e suas frações (Tabela 8). Dentre as hipóteses, pode ser explicado pelo fato de, mesmo sendo as mesmas espécies, estão em localidades diferentes sendo passíveis de mudanças em sua composição. Corroborando, Freitas *et al.* (2004) relata que variações temporais e espaciais no conteúdo total, bem como as proporções relativas dos metabólitos secundários em plantas ocorrem em diferentes níveis (sazonais e diárias; intraplanta, inter e intraespecífica) e, apesar da existência de um controle genético, a expressão pode sofrer modificações resultantes da interação de processos bioquímicos, fisiológicos, ecológicos e evolutivos. Representam uma interface química entre as plantas e o ambiente circundante, portanto, sua síntese é frequentemente afetada por condições ambientais.

Em relação ao extrato bruto, este demonstra alto teor de flavonoides, o qual pode ser atribuído ao fato de que o álcool etílico é um solvente universal que tem a capacidade de extrair várias substâncias, independente da sua polaridade, portanto em sua composição pode conter substâncias com propriedades inseticidas e substâncias que desempenham outros papéis. São ácidos fracos, solúveis em metanol, etanol ou combinações de solventes com água, por possuir características polares (Bernardes; Pessanha; Oliveira, 2010). São compostos fenólicos e podem ser atraentes, deterrentes, repelentes e tóxicos aos insetos (Simmonds, 2001). Porém, comparados a muitos outros compostos secundários vegetais, os flavonóides não são especialmente tóxicos, e têm baixa atividade fisiológica em muitos insetos. No entanto, muitos flavonóides podem agir como deterrente alimentar para insetos fitófagos, em concentrações relativamente baixas. Além disso, flavonóides com estrutura relativamente parecidas, podem agir de forma diferente no mesmo inseto (Harborne; Grayer, 1993).

Os compostos de fenol são metabólitos secundários com importância fisiológica e metabólica considerável nas plantas (Abe *et al.*, 2010) e que se desenvolvem em situações de estresse (Angelo; Jorge, 2007). Almeida (2014), os compostos fenólicos fazem parte de um grupo abundante bem diversificado apresentando estruturas simples e complexas e ao menos um anel aromático.

Dados do presente trabalho obtém um maior teor de compostos fenólicos concentrou-se nas frações Acetato de etila e bruto, frações hexano são as de menor teor desses compostos. Esses resultados devem-se ao fato de que a maioria dos compostos fenólicos é de média a alta polaridade, como flavonoides, taninos e ácidos fenólicos (Cechinel Filho; Yunes, 1998, 1998). Esses dados são corroborados por Amparo (2016), onde os polifenóis totais de folhas e galhos de *Protium spruceanum* concentraram-se nas frações acetato de etila e hidrometanólicas e as frações hexânicas são as de menor teor desses compostos.

Segundo Strong; Lawton; Southwood, (1984), alcalóides são ácidos não-protéicos, classificados como tóxicos qualitativos, pois agem mesmo em pequenas quantidades. São particularmente tóxicos para insetos e, freqüentemente, causam sua morte (Mello; Silva-Filho, 2002). Os alcaloides são compostos nitrogenados que atuam na defesa química contra herbívoros e na atração de polinizadores. As quatro classes mais importantes são: alcaloides, betalainas, glicosídeos cianogênicos e glucosinolatos (Cabral; Pita; Salguero, 2015; Rezende *et al.*, 2016). São conhecidos, também, por apresentarem efeitos contra os insetos. Alcaloides podem ser encontrados em todas as partes da planta, com acúmulo em um ou mais órgãos, atuam como um mecanismo de defesa contra insetos em função do seu amargor e toxicidade (Kittakoop; Mahidol; Ruchirawat, 2014; Rodrigues *et al.*, 2010; Simões *et al.*, 2010).

No que tange as substâncias detectadas no extrato etanólico de *A. curassavica* neste estudo (alcaloides, flavonoides e polifenóis), como supracitadas acima, são conhecidas por sua capacidade repelente contra insetos, contribuindo com a defesa contra ataques de herbívoros e demais patógenos. Com isto, permitimos concluir que a presença dessas substâncias aliada à sua quantidade (Tabela 8 e 9) corrobora com os demais dados desta pesquisa, mostrando que provavelmente a mortalidade das lagartas e a fagodeterrência das plantas de milho ocorreram devido à presença destes componentes presentes no extrato etanólico de *A. curassavica*, com origem no seu metabolismo secundário. Dessa forma, também é possível concluir que os compostos de maior polaridade, presentes na fração extrato bruto, são responsáveis pela maior parte da atividade inseticida no extrato etanólico de *A. curassavica*.

6.8 Teste laboratorial de plantas coletadas a campo do extrato etanólico de *A. curassavica* no controle de *S. frugiperda* no milho

Analisando ambos anos ensaiados no presente trabalho, pode-se notar que os tratamentos 0 Hora pós aplicação, independentemente da concentração do extrato etanólico de *A. curassavica* ingerido pela lagarta, ocorreram significativas mortalidades em *S. frugiperda* quando comparadas à testemunha. Porém, em relação peso larval, ambos os anos demonstram que na última avaliação não houve diferença em relação a testemunha, não influenciando assim na conversão alimentar do inseto. Contudo, em relação ao consumo alimentar, dos tratamentos contendo extrato, em ambos anos o tratamento 0,25% diferenciou da testemunha, havendo assim uma redução do consumo.

Segundo Vendramim e Castiglioni (2000) algumas substâncias estimulam a alimentação do inseto, sendo denominadas de substâncias estimulantes ou fagoestimulantes. No caso do inseto ser induzido a paralisar a alimentação, a substância que provoca este estímulo será chamada de fagodeterrente ou fagoinibidora, como aconteceu neste experimento. É importante destacar que quando existe pouca inibição da alimentação causada pela dose do tóxico, o inseto cresce, mas é afetado nos estados subsequentes. Por outro lado, quando a inibição da alimentação é grande, devido a altas dosagens, o inseto é afetado no mesmo estado biológico em que adquiriu a substância inseticida.

No ensaio de 48 horas pós aplicação, conseguimos notar os efeitos da exposição do extrato etanólico de *A. curassavica* sobre condições a campo. Nos dados de mortalidade em ambos os anos, podemos notar uma diferença ao confrontar com dados de mortalidade após 0 horas de aplicação, onde ambos anos não diferem da testemunha. Assim, deparamos com uma das desvantagens ao seu uso dos extratos, a qual diz respeito sobre sua baixa persistência (Rampelotti-Ferreira *et al.*, 2017). Segundo Viana, Prates e Ribeiro (2006) para que o extrato tenha uma boa distribuição e aderência às folhas do milho, recomenda-se que seja adicionado um adjuvante na calda de pulverização. Apesar do uso do presente trabalho, Myasnik *et al.* (2001) relata que a sensibilidade a radiação UV-B continua a ser uma grande limitação no desenvolvimento comercial de biopesticida, o que pode ter levado a esses dados.

A baixa persistência do ensaio de 48 horas após aplicação também foi observada através da curva de sobrevivência (Kaplan-Meier) (Figura 3 e 4) do presente trabalho em ambos anos ensaiados. Porém, nos ensaios de 0 horas após a aplicação, pode-se observar que em ambos os anos houve uma diminuição drástica da probabilidade de sobrevivência logo nos primeiros dias de aplicação (Tabela 1 e 2), corroborando os dados de campo onde o decréscimo dos danos foram encontrados com maior intensidade nos primeiros dias após aplicação (Tabela 14 e 20), evidenciando um defensivo de ação imediata. Sendo assim, a baixa persistência não desconfigura o seu uso a campo, visto que sua ação inseticida ocorre logo após a aplicação com uma promissora ação de choque. Além disso, a baixa persistência no ponto de vista ambiental se torna vantajosa graças ao menor impacto ambiental. De acordo com Kathrina e Antonio (2004), a baixa persistência possui a vantagem de o menor risco das pragas desenvolverem resistência e reduzido risco aos organismos benéficos e não-alvo. Com isso, muitas vezes sua aplicação pode ser feita um pouco antes da colheita do alimento, por possuir baixo ou nenhum poder residual. Ação rápida, embora a morte possa não ocorrer em poucas horas ou dias, os insetos podem parar de se alimentar quase que imediatamente após a aplicação do inseticida botânico.

No primeiro ano, os tratamentos 0,25% e 0,5% tiveram os maiores consumos alimentares. Ainda segundo Vendramim e Castiglioni (2000), algumas substâncias estimulam a alimentação do inseto, sendo denominadas de substâncias estimulantes ou fagoestimulantes. Apesar do aumento no consumo, o peso larval manteve-se o mesmo em todos tratamentos, tendo assim as mesmas conversões. Entretanto, no segundo ano, o consumo alimentar de todos os tratamentos contendo extrato etanólico foram diferentes e menores do que a testemunha, sendo o tratamento 0,1% contendo a maior redução. Em relação ao peso larval, tratamento 0,1% na última análise é portador do menor peso, diferenciando da testemunha. Sendo assim, os efeitos deletérios sobre o inseto ficam evidenciados. A inibição ou redução da alimentação esta frequentemente relacionada com a inibição do crescimento e do desenvolvimento, diminuição do peso de lagarta e pupa, e alongamento da fase larval (Saxena, 1987).

6.9 Teste de condução a campo do extrato etanólico de *A. curassavica* no controle de *S. frugiperda* no milho

Dentre as limitações ao uso de extratos vegetais no campo, pode ser apontada a falta de dados, principalmente no Brasil, relacionados à fitotoxicidade, à persistência e aos efeitos sobre organismos benéficos (Costa; Silva; Fiuza, 2004). Em posse desses dados, foi realizado ensaio a campo onde foi pulverizado na cultura do milho tratamentos contendo altas concentrações do extrato etanólico de *A. curassavica* (1%, 2% e 4%) uma única vez, visando avaliar seu desempenho agrônômico no controle de *S. frugiperda* a campo. Após 3 dias da aplicação, foi constatada um resultado 100% na escala percentual de fitotoxicidade em todos tratamentos contendo extrato, adaptada de Frans e Crowley, 1986, a qual chegou a desnutrição total da cultura, inviabilizando a sequência das análises na presente condição apresentada.

As plantas apresentaram fitotoxicidade a partir do primeiro dia de aplicação iniciando um processo de clorose inter nerval seguido de necrose pontual nas folhas mais novas e clorose com secamento total das folhas. De acordo com Caires e Caires (2011), em trabalho utilizando óleo de Nim orgânico (10 % v/v) observaram que o produto foi efetivo no controle do pulgão da couve, contudo as plantas apresentaram fitotoxicidade a partir do segundo dia de aplicação iniciando um processo de clorose inter nerval seguido de necrose pontual nas folhas mais novas e clorose com secamento total das folhas mais velhas, ocorrendo a abscisão foliar no terceiro dia. Corroborando, Dequech *et al.* (2008) observaram que plantas tratadas com DalNeem (produto comercial, à base de frutos maduros de *Azadirachta indica* A. Juss) a 10% v/v apresentaram sintomas de fitotoxicidade. As folhas novas apresentaram aspecto enrugado e as folhas velhas manifestaram escurecimento das nervuras e um bronzeamento em diversos pontos do limbo foliar reduzindo a produtividade.

De acordo com Karlsson (2005), a fitotoxicidade é definida como a capacidade de um produto provocar danos temporários ou permanentes a uma planta. As partes mais afetadas pelos extratos de plantas inseticidas são as folhas, causando nas mesmas, necrose no limbo foliar, engrulhamento, descoloração e redução do tamanho com efeito direto na capacidade de realizar fotossíntese. Pinheiro e Quintela (2004) relataram que óleo de *A. indica* com doses maiores que

2%, causaram fitotoxicidade às folhas primárias do feijoeiro, exceto o produto comercial Ninkol®, que é composto de uma mistura de óleo e extrato de folhas de *A. indica*. As concentrações dos extratos aquosos dos produtos comerciais Organic Neem® 0,75% e Azamax® 0,50% a base de óleo de nim, não provocaram efeito fitotóxico significativo, com a classificação “sem injúria ou redução”, semelhante à testemunha. Isso ocorreu possivelmente devido a baixa concentração dos mesmos.

Sendo, pode-se concluir que ao ministrar extratos em concentrações maiores, a alta quantidade de metabólitos na superfície foliar pode resultar um efeito tóxico mais acentuado. Além disso, existem fitotoxicidades conhecidas de alguns metabólitos secundários ao serem aplicados sobre plantas. Segundo Aguiar-Menezes (2005), os inseticidas saponáceos podem ser tóxicos a alguns vegetais, o que levou Souza (2009) a deduzir que o nível de fitotoxicidade encontrado para as soluções de extrato hidroetanólico do resíduo líquido de sisal seria devido a presença de saponinas. Portanto, os dados de toxicidade foliar relatados na presente pesquisa podem ser atribuídos à presença desses metabólitos detectados na triagem fitoquímica (Tabela 8).

Em posse dos desses dados supracitados, novos ensaios repetidos por 2 anos em épocas diferentes, foram realizados com concentrações menores de *A. Curassavica* (0,1%, 0,25% e 0,5%), além das testemunhas positivas e negativas, objetivando verificar seu potencial agrônomo, obedecendo fielmente a metodologia do ensaio anterior. A princípio foi verificada a diferença dos danos dentre os tratamentos, sendo esta importante pois segundo Valicente e Tulher (2009), depois do segundo ou terceiro instar, as larvas começam a fazer buracos nas folhas, se alimentando em seguida do cartucho das plantas de milho, produzindo uma característica fileira de perfurações nas folhas. Sabido disso, na avaliação sobre os danos causados por *S. frugiperda*.

Nesta avaliação, constatou-se, no primeiro ano de semeadura, diminuição do percentual de danos nas plantas atacadas por *S. frugiperda*, após a única pulverização do extrato etanólico de *A. curassavica* com diferentes concentrações, onde ao terceiro dia após aplicação todos os tratamentos contendo extrato não diferiram da testemunha positiva e após 21 dias de aplicação ainda diferem da testemunha negativa (Tabela 11). De forma parecida, nos danos na segunda semeadura, pode-se observar no 3º dia pós aplicação todos diferem da testemunha negativa, e os tratamentos 0,25% e 0,5% não diferem da testemunha positiva.

Porém, após 21 de aplicação apenas 0,25% e o tratamento químico diferem da testemunha negativa (Tabela 17).

Essa diferença pode ser explicada pela diferença populacional do inseto nas diferentes épocas do ano em que o experimento foi ensaiado, corroborando com a hipótese, Sosa (2002) descreve que o crescimento populacional de *S. frugiperda* nos meses de novembro e dezembro, chegando ao ponto máximo em janeiro, concluindo que as semeaduras tardias estão mais expostas à presença da praga. As culturas ao redor presentes nas diferentes épocas também podem interferir, segundo Grützmacher *et al.* (2000), a proximidade de áreas cultivadas com arroz e sorgo intensifica o ataque do inseto aos milharais, já que ambas as espécies são hospedeiras alternativas da lagarta-do-cartucho. Além disso, Silva (1999) demonstrou que a eficiência de inseticidas no controle de *S. frugiperda* varia em função da época, sendo menor em épocas tardias, constatando que o insucesso no controle da praga deve-se à realização do controle em forma tardia, mesmo que seja realizado quando existem altas infestações e presença de lagartas grandes.

Em relação a fitotoxicidade (Tabela 10), diferentemente do ensaio com maiores concentrações, não foi verificado efeitos nas concentrações menores. Em relação a altura (Tabela 13 e 18) na semeadura do primeiro ano podemos notar que no 3º dia após aplicação os tratamentos contendo extrato não diferiram na testemunha positiva e diferiram da negativa, se igualando a testemunha negativa apenas na última avaliação no 21º dia de aplicação. Isto ocorre de forma similar no segundo ano de ensaio, onde, apesar que no 14º de avaliação todos os tratamentos não diferem da testemunha negativa, ao 21º dia de avaliação todos os tratamentos contendo extratos diferirem da testemunha positiva.

Apesar disso, o número de plantas e folhas (Tabela 12 e 18), em ambas épocas ensaiadas os tratamentos não diferiram das testemunhas positiva e negativa. Isto resulta em um efeito positivo, pois é neste estágio com seis a oito folhas (estádios V6 a V8) desenvolvidas, conhecido como estágio do “cartucho” em que o ponto de crescimento e o pendão já estão acima do nível do solo e o colmo está iniciando um período de alongação acelerada (Weismann, 2008). Outra conclusão é que, apesar dos maiores danos e menores alturas em relação ao tratamento químico, as plantas de milhos tratadas com diferentes concentrações do extrato etanólico de *A. curassavica* consegue compensar mantendo o número de

plantas e folhas, sendo a última citada responsável pela produtividade através da relação fonte-dreno.

Assim ao comparar os resultados do tratamento com extrato de *A. curassavica* e inseticida químico, devemos ponderar que de acordo com Mendes *et al.* (2011) a utilização de inseticidas químicos na tentativa de minimizar os prejuízos provocados por essa praga, muitas vezes, não produz o efeito esperado, o que acarreta no aumento de riscos de contaminação ambiental e a elevação de custos de produção, além de uma seleção natural de insetos resistentes. Respalhando dos dados do presente trabalho, os mesmos dão crédito às recomendações feitas por Vendramim (1997), que sugere a utilização de inseticidas naturais quando existam baixas densidades populacionais da praga, já que o controle deve ser feito mais preventivamente do que como curativo. Conclui-se desta forma que uso de *A. Curassavica* é uma promissora ferramenta para ser inclusa no Manejo Integrado e Pragas, visando o controle de *S. frugiperda* no milho.

7 CONCLUSÃO

Extrato etanólico de *Asclepias curassavica* L. na concentração de 0,5% interferiu na biologia de *S. frugiperda* afetando sua sobrevivência sobre plantas de milho *Zea mays* L em condições laboratorial, casa de vegetação e campo.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Na pulverização do extrato em plantas de milho em casa de vegetação nas concentrações de 0,25% e 0,5% causaram uma mortalidade das lagartas de 50% e 65% respectivamente. Estas mesmas concentrações são detentoras dos menores danos nos tratamentos contendo extrato, sendo a menor média de dano de todos o tratamento químico.
- Não houve ação sistêmica e translaminar do extrato etanólico de *A. Curassavica*.
- No bioensaio de ação de contato, conduzidos na concentração de 0,5 %, não foi verificada mortalidade em nenhum tratamento ministrado nesta concentração. Já, na concentração de 4% todos os tratamentos contendo as frações e o extrato bruto apresentaram dados de mortalidade superior comparados aos tratamentos testemunha, 72 horas após a aplicação, o tratamento extrato bruto não diferencia dos tratamentos fracionados hexano, diclorometano e acetado de etila.
- Quanto a fertilidade, não houve alteração na fertilidade e fecundidade.
- Na análise de polifenóis foi possível observar que acetato de etila foi portador da maior quantidade em $\mu\text{g/ml}$, seguidos pelos tratamentos extrato bruto, diclorometano e residual. Hexano possui a menor quantidade desse metabólito, sendo aproximadamente 9 vezes menor do que a presente em acetato de etila.
- Na análise de flavonoides, acetato de etila contém a segunda maior quantidade (715,27 $\mu\text{g/ml}$), porém isso corresponde a aproximadamente 38% do total encontrado no extrato bruto 1890,27 $\mu\text{g/ml}$). Quando avaliado os teores de alcalóides, o tratamento bruto, hexano e acetato de etila não diferem e apresentaram os maiores valores, seguidos de dicloro metano e resíduo.
- Na análise qualitativa de compostos químicos, pode constatar a presença de polifenóis totais, triterpenos, glicosídeos cardiotônicos (Keller-Kiliani e Raymond) e cumarinas no extrato bruto e em todas as frações analisadas. O extrato bruto é o único a apresentar todos os metabólitos analisados.

- No primeiro ensaio a campo, ministrados com maiores concentrações (1%, 2% e 4%), todos os tratamentos contendo extrato atinge 100% na escala percentual de fitotoxicidade, adaptada de Frans; Crowley, 1986.
- Ensaio a campo nas concentrações menores (0,1%, 0,5% e 0,25%), todos os tratamentos não apresentaram fitotoxicidade na cultura ensaiada. Na última avaliação, 21 DAA, tratamento químico atingiu o menor dano, seguido dos tratamentos contendo extrato, os quais foram diferentes da testemunha. Observou-se que o número de plantas, assim como o número de folhas não diferem. Em relação à altura, nos 3º dias após aplicação, todos tratamentos contendo extrato e o tratamento químico foram similares entre si, e diferentes da testemunha.
- O ensaio de *S. frugiperda* em condições de laboratório alimentadas com folhas de milho coletadas nas parcelas experimentais após 0 horas, demonstra que os tratamentos extrato a 0,1% e o tratamento químico não se diferem, atingindo 100% de mortalidade. Outro ensaio com lagartas alimentadas com folhas de milho após 48 horas, apesar da baixa mortalidade para o padrão agrônomo, os tratamentos 0,1% e 0,25% diferem do tratamento químico. As curvas obtidas pelo estimador de Kaplan-Meier, na concentração 0,1% causou mortalidade efetiva nos três primeiros dias após a inoculação das lagartas.
- Em relação aos dados do consumo alimentar, as lagartas submetidas a alimentação de folhas de milho coletada 0 horas após aplicação, observa-se diferença na ingestão desse alimento em relação a testemunha no tratamento extrato 0,25%. No consumo alimentar após 48 horas, é possível observar diferença do tratamento 0,5% sendo maior que a testemunha.
- Sobre a conversão dos alimentos em peso, os dados mostram que ao final do 12º dia, ambos ensaios de 0 e 48 horas, todos os tratamentos foram iguais. Tratamento químico e 1% não contem dados de 0 horas em razão da mortalidade de 100%.
- No ensaio a campo do segundo ano de avaliação, os danos causados por *S. frugiperda*, os tratamentos extrato 0,25%, extrato 0,5% e tratamento químico são detentores das menores notas na escala adaptada por Smith; Khan; Pathak (1994), seguidos de 0,1% e testemunha.

- Apesar dos danos diferentes, o número de plantas e folhas não diferem entre os tratamentos, seguindo mesmo padrão do ano anterior.
- Ao analisar a alturas das plantas de milho, nota-se que o tratamento contendo 0,5% do extrato etanólico de *A. curassavica* foi igual ao tratamento químico do primeiro até o último dia de avaliação pós aplicação nos ensaios.
- No ensaio laboratorial sobre mortalidade de *S. frugiperda* alimentadas com folhas de milho coletadas à campo após 0 horas de aplicação dos tratamentos, observa-se o tratamento químico sendo o mais eficiente. Porém, todos dados de mortalidade dos tratamentos contendo extrato diferenciam da testemunha, atingindo valores de 75% de mortalidade (extrato 0,1 %), sendo a menor mortalidade (extrato 0,25%) mais de 50% dos indivíduos. Após 48 horas, tratamento químico se demonstra eficiente, os demais tratamentos não diferem da testemunha.
- De acordo com as curvas obtidas pelo estimador de Kaplan-Meier todos tratamentos contendo o extrato etanólico de *A. curassavica* foram menores que 50%, sendo a concentração 0,1% causou maior mortalidade efetiva, tendo apenas 25% probabilidades de sobrevivência. De forma similar ano, ano anterior, os dados de 48 horas após aplicação demonstram através do estimador de Kaplan-Meier que todos tratamentos contendo extrato etanólico de *A. curassavica* apresentaram probabilidade de sobrevivência superior a 80%. Após o terceiro dia as concentrações 0,1% e 0,25% causaram as maiores mortalidades efetivas.
- Lagartas submetidas a alimentação de folhas de milho coletada 0 e 48 horas após aplicação, menor consumo foi no tratamento químico. Em 0 horas, o menor consumo dentre os tratamentos contendo extrato foi o extrato 0,25%, sendo aproximadamente 50% menor que da testemunha. Já no ensaio de 48 horas, e a menor concentração 0,1% teve o menor consumo, seguido de 0,25%.
- Na conversão dos alimentos em peso, observa-se que ao 12^o dia, em 0 horas, todos os tratamentos não diferiram. Porém, no ensaio de 48 horas, tratamento químico diferiu dos demais tratamentos, seguido do tratamento extrato 0,1%. Os tratamentos contendo extrato não diferem entre si, porém o tratamento 0,1% difere da testemunha.

REFERÊNCIAS

- ABE, F.; YAMAUCHI, T. 5, 11-Epoxy megastigmanes from the Leaves of *Asclepias fruticosa*. **Chemical and pharmaceutical bulletin**, v. 48, n. 12, p. 1908-1911, 2000.
- ABE, L. T. *et al.* Comparison of phenol content and antioxidant capacity of nuts. **Food Science and Technology**, v. 30, p. 254-259, 2010.
- ACAMOVIC, T.; BROOKER, J. D. Biochemistry of plant secondary metabolites and their effects in animals. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 64, p. 403-412, 2005.
- AGUIAR-MENEZES, E. L. **Inseticidas botânicos**: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. Seropédia: Embrapa Agrobiologia, 2005. 58 p.
- AGROFIT. **Sistemas de Agrotóxicos Fitossanitários**. 2023. Disponível em: https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 18 mar. 2023.
- AHMED, M. *et al.* Insecticidal activity and biochemical composition of *Citrullus colocynthis*, *Cannabis indica* and *Artemisia argyi* extracts against cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae* L.). **Scientific reports**, v. 10, n. 1, p. 1-10, 2020.
- AJILA, C. M. *et al.* Extraction and analysis of polyphenols: recent trends. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 31, n. 3, p. 227-249, 2011.
- ALASALVAR, C. *et al.* Comparison of volatiles, phenolics, sugars, antioxidant vitamins, and sensory quality of different colored carrot varieties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 1410-1416, 2001.
- ALMEIDA, G. D. **Potencial de produtos derivados de *Azadirachta indica* no controle de *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae)**. 2009. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 2009.
- ALMEIDA, V. T. *et al.* Bioactivity of ethanolic extracts of *Euphorbia pulcherrima* on *Spodoptera frugiperda* (JE Smith)(Lepidoptera:Noctuidae). **African Journal of Biotechnology**, v. 16, n. 13, p. 615, 2017.
- ALTRE, J. A.; VANDENBERG, J. D. Comparison of blastospores of two *Paecilomyces fumosoroseus* isolates: in vitro traits and virulence when injected into fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 78, p. 170-175. 2001.
- ALVES, H. M. A diversidade química das plantas como fonte de fitofármacos. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**, v. 3, p. 10-15. 2001.
- AMPARO, T. R. **Análise fitoquímica e bioprospecção para atividade antimicrobiana de *Protium spruceanum* (Benth.) Engler**. 2016. 151 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Escola de Farmácia, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2016.

ANDERSON, J. A.; COATS, J. R. Acetylcholinesterase inhibition by nootkatone and carvacrol in arthropods. **Pesticide Biochemistry Physiology**, v. 102, n. 2, p. 124-128, 2012. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.pestbp.2011.12.002>

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – uma breve revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 1-9, 2007.

ANSANTE, T. F. **Metabólitos secundários de Annonaceae**: triagem, fracionamento biomonitorado e bioatividade frente a *Spodoptera frugiperda* (JE Smith, 1797)(Lepidoptera: Noctuidae). 2014. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, 2014.

ANSEL, H. C.; POPOVICH, N. G.; ALLEN JR., L. V. **Farmacotécnica**: formas farmacêuticas & sistemas de liberação de fármacos. 6. ed. São Paulo: Premier, 2000. p. 516-518.

ARAYA, J. J.; KINDSCHER, K.; TIMMERMANN, B. N. Cytotoxic cardiac glycosides and other compounds from *Asclepias syriaca*. **Journal of natural products**, v. 75, n. 3, p. 400-407, 2012.

BABBAR, N. *et al.* Influence of different solvents in extraction of phenolic compounds from vegetable residues and their evaluation as natural sources of antioxidants. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, p. 2568-2575, 2014.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99, n. 1, p. 191-203, 2006.

BARROS, E. M.; TORRES, J. B.; BUENO, A. F. Oviposição, desenvolvimento e reprodução de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes hospedeiros de importância econômica. **Neotropical Entomology**, v. 39, p. 996-1001, 2010.

BARROS E. M., **História de vida de *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH) (Lepidoptera: Noctuidae) em diferentes hospedeiros**. 2009. 49f. Dissertação (Mestrado em Entomologia Agrícola) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2009.

BATEMAN, M. L. *et al.* Assessment of potential biopesticide options for managing fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) in Africa. **Journal of Applied Entomology**, v. 142, p. 805–819. 2018.

BELL, E. A.; CHARLWOOD, B. V. **Secondary plant products**, in **Encyclopedia Plant Physiology**. New York: Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 1980. v. 8.

BERCHTOLD, E. **Contribuição ao estudo da germinação e da biologia floral de *Asclepias curassavica* L. (Asclepiadaceae)**. 1981. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, 1981.

BERNAL, H. Y.; CORREA, J. E. (Eds.). **Espécies vegetales promisorias de los países Del convenio Andrés Bello**. Bogotá: Guadalupe, 1989. 462 p.

BERNARDES, N. R.; PESSANHA, F. F.; OLIVEIRA, D. B. Alimentos funcionais: uma breve revisão. **Ciência e Cultura - Revista Científica Multidisciplinar do Centro Universitário da FEB**. 6: 11-19, 2010.

BESERRA, E. B.; DIAS, C. T.; PARRA, J. R. Behavior of *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner and *T. pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) on *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) egg masses. **Brazilian Journal of Biology**, v. 65, p. 9–17, 2005.

BLANCO, C. A. *et al.* Current situation of pests targeted by Bt crops in Latin America. **Insect Science**, v. 15, p. 131-138, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cois.2016.04.012>

BONFILI, L. *et al.* Natural polyphenols as proteasome modulators and their role as anti-cancer compounds. **FEBS Journal**, v. 275, p. 5512–5526, 2008.

MANUAL de transformação genética de plantas. 2. ed. rev. ampl. Brasília: EMBRAPA, 2015. 453 p.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. **Nutrition Reviews**, v. 56, n. 11, p. 317-38, 1998.

BUSATO, G. R. *et al.* Estrutura e diversidade molecular de populações de *Spodoptera Frugiperda* (J.E. SMITH) (Lepidoptera: noctuidae) associadas às culturas do milho e arroz no Rio Grande do Sul. **Neotropical entomology**, v. 33, p. 709-716, 2004a.

BUSATO, G. R. *et al.*, Preferência para alimentação de biótipos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) por milho, sorgo, arroz e capim-arroz. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 10, p.215-218, 2004b.

BUSATO, G. R. *et al.* Biologia comparada de populações de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em folhas de milho e arroz. **Neotropical Entomology**, v. 33, n. 5, p. 743-750, sept./oct. 2005.

BREWER, A. M. F.; JAIMES, V. J.; ZARRAGA, L. C. Usos de las especies del género *Asclepias* L. (Apocynaceae, Asclepiadoideae), información del Herbario Nacional de México, MEXU. **Polibotánica**, n. 25, p. 155-171, 2008. Disponível em: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-27682008000100012&lng=es&nrm=iso

BRITO, E. F. *et al.* Growth inhibition, residual contact and translaminar toxicity of annona-based bioinsecticides on tomato leafminer: laboratory and greenhouse assessments. **Gesunde Pflanzen**, v. 72, n. 2, 2020.

BUTT, B. A.; CANTU, E. **Sex determination of lepidopterous pupae**. USDA, 1962.

CABRAL, C.; PITA, J. R.; SALGUEIRO, L. **Plantas medicinais: entre o passado e o presente: a coleção de fármacos vegetais da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (séculos xix-xx)**. Coimbra: Coimbra University Press, 2014.

CAIRES, S. M.; DE CAIRES, R. P. S. Uso do Nim para o controle de ácaros e pulgões em horta agroecológica de Araçuaí, Semi-árido de Minas gerais. **Cadernos de Agroecologia**, v. 6, n. 2, 2011.

CARVALHO, J. C. T.; GOSMANN, G.; SCHENKEL, E. P. Compostos fenólicos simples e heterosídicos. *In*: SIMÕES, C. M. O. *et al.* **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 4. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. da Universidade, 2002. p. 443-461.

CARNEIRO, A.A. *et al.* Molecular characterization and pathogenicity of isolates of *Beauveria* spp. to fall armyworm. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 43, p. 513–520. 2008.

CASTRO, P. R. C.; KLUGE, R. A.; PERES, L. E. P. **Manual de fisiologia vegetal: teoria e prática**. Piracicaba: Agronômica Ceres, 2005.

CECCON, G. *et al.* Efeito de inseticidas na semeadura sobre pragas iniciais e produtividade de milho safrinha em plantio direto. **Bragantia**, v. 63, n. 2, p. 227-237, 2004.

CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais: conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química nova**, v. 21, n. 1, p. 99-105, 1998.

CHALKER-SCOTT, L.; FUCHIGAMI, L. H. The role of phenolic compounds in plant stress responses. *In*: **Low temperature stress physiology in crops**. CRC Press, 2018. p. 67-80.

CHEN, W. B. *et al.* Entomopathogen resources of fall armyworm *Spodoptera frugiperda*, and their application status. **Plant Protection**, v. 45, p. 1–9. 2019.

COHEN, J. A. **Chemical interactions among milkweed plants (Asclepiadaceae) and lepidopteran herbivores**. 1983. Tese (Doutorado) - University of Florida, 1983.

COSTA, E. S. *et al.* Use of lignins from sugarcane bagasse for assembling microparticles loaded with *Azadirachta indica* extracts for use as neem-based organic insecticides. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 28, n. 1, p. 126-135, 2017.

COSTA, E.L.N.; SILVA, R.F.P.; FIUZA, L.M. Efeitos, aplicações e limitações de extratos de plantas inseticidas. **Acta Biologica Leopoldensia**, v. 26, p. 173-185. 2004.

CORDELL, G. A.; QUINN-BEATTIE, M. L.; FARNSWORTH, N. R. The potential of alkaloids in drug discovery. **Phythererapy Research**, v. 15, p. 183-205, 2001.

CROTEAU, R.; KUTCHAN, T. M.; LEWIS, N. Natural Products (Secondary Metabolites). *In*: BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. **Biochemistry & molecular biology of plants**. New York: Americam Society of Plant Physiologists, 2000, p. 1250-1318.

CRUZ, J. V. S. **Bioatividade do extrato de *Asclepias curassavica* L. no controle de *Spodoptera frugiperda***. 2020. Dissertação (Mestrado) - Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, 2020.

CRUZ, I.; FILHO, A. B. Manejo integrado de pragas de milho com ênfase para o controle biológico. *In*: CICLO DE PALESTRAS SOBRE CONTROLE BIOLÓGICO DE PRAGAS, 4., 1995, Campinas. **Anais [...]**. Campinas: Sociedade Entomológica do Brasil, 1995. p. 48-92. <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/476304>.

CRUZ, I.; FIGUEIREDO, M. L. C.; SILVA, R. B. Controle biológico de pragas de milho. **Ciência & Ambiente**, v. 43, p. 165-190, 2011.

CRUZ, I.; VIANA, P. A.; WAQUIL, J. M. Manejo das pragas iniciais de milho mediante o tratamento de sementes com inseticidas sistêmicos. **EMBRAPA-CNPMS, Circular técnica**, 1999.

DÄR, A. **Tecnologia farmacêutica**. Zaragoza: Acribia, 1981.

DANTAS, G. C. Efeito da adição de colesterol e ecdisona na produção *in vitro* do Baculovírus *Spodoptera frugiperda*. **MNPV**, 2010.

DAI, J.; MUMPER, R. J. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. **Molecules**, v. 15, p. 7313-7352, 2010.

DEQUECH, S. T. B. *et al.* Efeito de extratos de plantas com atividade inseticida no controle de *Microtheca ochroloma* Stal (Col:Chrysomelidae) em laboratório. **Biotemas**, v. 21, n. 1, p. 41-46, 2008b.

DEQUECH, S. T. B. *et al.* Fitotoxicidade causada por inseticidas botânicos em feijão-devagem (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivado em estufa plástica. **Revista da FZVA, Uruguaiana**, v. 15, n. 1, p. 71-80, 2008b. Disponível em: Acesso em: 18 nov. 2023.

DHIMAN, A. Gas chromatography-mass spectroscopy analysis of bioactive compounds in the whole plant parts of ethanolic extract of *Asclepias Curassavica* L. **International Journal of Green Pharmacy (IJGP)**, v. 12, n. 02, 2018.

DEDERER, H.; WERR, M.; IIG, T. Differential sensitivity of *Ctenocephalides felis* and *Drosophila melanogaster* nicotinic acetylcholine receptor $\alpha 1$ and $\alpha 2$ subunits in

recombinant hybrid receptors to nicotinoids and neonicotinoid insecticides. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 41, n. 1, p. 51-61, 2011.

DEWICK, P.M. The mevalonate and methylerythritol phosphate pathways: terpenoids and steroids. *In*: DEWICK, P.M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. 3. ed. Chichester: John Wiley & Sons, 2009. cap. 5, p. 187-306.

DIXON, A. R.; HARRISON, M. J. Activation, structure, and organization of genes involved in microbial defense in plants. **AdvGenet**, v. 28, n. 2, p. 165-234, 1990.

DÔRES, R. G. R. **Análise formológica e fitoquímica da fava d'anta (*Dimorphandra mollis* Benth)**. 2007. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 2007. Cap. 4.

DUTTA, B. K. **Principles of mass transfer and separation process**. New Delhi: Prentice-Hall, 2007.

ENDRESS, M. E.; BRUYNS, P. V. A revised classification of the Apocynaceae sl. **The Botanical Review**, v. 66, n. 1, p. 1-56, 2000.

FARAH, A. *et al.* Correlation between cup quality and chemical attributes of Brazilian coffee. **Food Chemistry**, v. 98, p. 373- 380, 2006.

FALKENBERG, M. B.; SANTOS, R. I.; SIMÕES, C. M. O. Introdução à análise fitoquímica. *In*: **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 2. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Universidade/Universidade Federal do Rio Grande do Sul/Ed. Universidade Federal de Santa Catarina, 2000. p. 163-179

FATORETTO, J. C. *et al.* Adaptive potential of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) limits Bt trait durability in Brazil. **Journal of Integrated Pest Management**, v. 8, p. 1-10, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1093/jipm/pmx011>

FERREIRA, M. A. F. **Comportamento de oviposição, dispersão e alimentação de *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH, 1797), (Lepidoptera: Noctuidae) em algodoeiro herbáceo**. 2003. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade Federal do Mato Grosso, Cuiabá, 2003.

FONSECA, M. C. M. **Crescimento, composição do óleo essencial, teores de óleo e de tanino em *Porophyllum ruderale* (Jacq.) Cassini**. 2001. 120 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2001.

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

FLORKIN, M.; JEUNIAUX, C. Hemolymph: composition. *In*: ROCKSTEIN, M. (Ed.). **The physiology of insecta**. New York: Academic Press, 1974. p. 255–307.

FRANS, R.; CROWLEY, H. Experimental design and techniques for measuring and analyzing plant responses to weed control practices. *In*: SOUTHERN WEED SCIENCE SOCIETY. **Research methods in weed science**. 3. ed. Champaign: WSSA, 1986. p 29-45.

FREITAS, M. S. M. *et al.* Crescimento e produção de fenóis totais em carqueja [*Baccharis trimera* (Less.) D.C.] em resposta à inoculação com fungos micorrízicos arbusculares, na presença e na ausência de adubação mineral. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 6, n.3, p.30-34, 2004.

FUHRO, D. **O sistema *Asclepias Curassavica* L., *Epidendrum Fulgens* Brongn., e *Lantana Camara* L. constitui um complexo mimético com borboletas como operadores?** Um estudo no parque estadual de Itaipava, Torres, RS. 2006. 80 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

GALLO, D. *et al.* **Entomologia agrícola**. 3. ed. Piracicaba: FEALQ, 2002. v. 10.

GARCÍA, A. A.; CARRIL, E. P.-U. Metabolismo secundário de plantas. Reduca (Biología). **Serie Fisiología Vegetal**, v. 2, n. 3, p. 119-145, 2009.

GARCIA-SALAS, P. *et al.* Phenolic-compound-extraction systems for fruit and vegetable samples. **Molecules**, v. 15, p. 8813-8826, 2010.

GLYNN, I. M. The action of cardiac glycosides on sodium and potassium movements in human red cells. **The Journal of Physiology**, v. 136, n. 1, p. 148-173, 1957.

GIRAUDO, M. *et al.* Cytochrome P450s from the fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*): responses to plant allelochemicals and pesticides. **Insect Molecular Biology**, v. 24, p. 115-128, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1111/imb.12140>

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Medicinal plants: factors of influence on the content of secondary metabolites. **Química Nova**, v. 30, n. 2, 2007.

GOMES, F. H. T. *et al.* Atividade inseticida de extratos vegetais sobre o pulgão-preto do feijoeiro. **Revista de Ciências Agroambientais**, v. 15, n. 1, 2017.

GONÇALVES-GERVÁSIO, R. C. R.; VENDRAMIM, J. D. Bioatividade do extrato aquoso de nim sobre *Tuta absoluta* (MEYRICK, 1917) (Lepidóptera: Gelechiidae) em três formas de aplicação, **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 1, p. 28-34, 2007.

GRIFFITH, L. **Understanding phytotoxicity**. Disponível em: <http://www.spraytec.com/articles/actnov79/understandphyto.asp>. Acesso em: 24 abr. 2018.

GRIJALBA, E. P. *et al.* *Metarhizium rileyi* biopesticide to control *Spodoptera frugiperda*: stability and insecticidal activity under glasshouse conditions. **Fungal Biology**, v. 122, p. 1069-1076, 2018.

GROENEVELD, H. W. *et al.* Some quantitative aspects of cardenolide synthesis from malonate in *Asclepias curassava* vica. **Phytochemistry**, v. 37, n. 6, p. 1605-1610, 1994.

GRÜTZMACHER, A. D. *et al.* Efeito de inseticidas e de tecnologia de aplicação no controle da lagarta-do-cartucho na cultura do milho no agroecossistema de várzea. *In*: REUNIÃO TÉCNICA ANUAL DO MILHO, 45.; REUNIÃO TÉCNICA ANUAL DO SORGO, 28., 2000, Pelotas, RS. **Anais [...]**. Pelotas: Embrapa-CPACT, 2000. p.567-573. (Embrapa-CPACT. Documentos, 70).

GURIB-FAKIM, A. Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 27, p. 1–93, 2006.

GUTIERREZ-MORENO, R. *et al.* Field-evolved resistance of the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) to synthetic insecticides in Puerto Rico and Mexico. **Journal of Economic Entomology**, v. 112, p. 792–802. 2019.

HARBORNE, J. B.; GRAYER, R. J. Flavonoids and insects. *In*: HARBORNE, J. B. (Ed.). **The flavonoids**: advances in research since 1986. London: Chapman and Hall, 1993. p. 589–618.

HARE, D. I. J.; MORSE, J. G. Toxicity, persistence, and potency of sabadilla alkaloid formulations to citrus thrips (Thysanoptera: Thripidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 90, n. 2, p. 326-332, 1997.

HARIBAL, M.; RENWICK, J. A. A. Oviposition stimulants for the monarch butterfly: flavonol glycosides from *Asclepias curassavica*. **Phytochemistry**, v. 41, n. 1, p. 139-144, 1996.

HARTMANN, T. Diversity and variability of plant secondary metabolism: a mechanistic view. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, n. 80, v. 177, 1996.

HENRIQUES, A. T.; KERBER, V. A.; MORENO, P. R. H. Alcalóides: generalidades e aspectos básicos. **Farmacognosia – da planta ao medicamento**. 4. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. da Universidade, 2002, p.651-666.

HOSSAIN, M. B. *et al.* Effects of soil application of neem (NeemAzal®-U) on different life stages of *Liriomyza sativae* (Diptera: Agromyzidae) on tomato in the humid tropics. **Journal of Plant Diseases and Protection**, v. 115, n. 2, p. 80-87, 2008.

HOSTETTMANN, K.; QUEIROZ, F. E.; VIEIRA, C. P. **Princípios ativos de plantas superiores**. São Carlos: EdUFSCar, 2003. (Séries de textos da Escola de Verão em Química; v. IV).

HOSTETTMANN, K.; MARSTON, A. **Saponins chemistry and pharmacology of natural products**. Cambridge University Press, 2005.

IGNAT, I.; VOLF, I.; POPA, V. I. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. **Food Chemistry**, v. 126, n. 4, p. 1821-1835, 2011.

ISAH, T. Stress and defense responses in plant secondary metabolites production. **Biological Research**, v. 52, n. 39, p. 52- 39, 2019.

ISMAN, M. B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology**, v. 51, p. 45-66, 2006.

ISIDRO, R. Consumo foliar de *Spodoptera frugiperda* em amendoim cultivares TATU e CNPA BR-1'. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, v. 1, p. 37-42, 1997.

IMENES, S. D. L. *et al.* Aspectos biológicos e comportamentais da traça do tomateiro *Scrobipalpula absoluta* (Meyrick, 1917), (Lepidoptera-Gelechiidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 57, n. 1/2, p. 63-68, 1990.

JAKKA, S. R. K.; KNIGHT, V. R.; JURAT-FUENTES, J. L. Fitness costs associated with field-evolved resistance to Bt maize in *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 107, n. 1, p. 342-351, 2014.

JIN DAI, J. E.; MUMPER, R. J. Plant Phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. **Molecules**, v. 15, p. 7313-7352, 2010.

JOURDIE, V. *et al.* Isolation and characterization of polymorphic microsatellite loci in two primary parasitoids of the noctuid *Spodoptera frugiperda*: *Chelonus insularis* and *Campoletis sonorensis* (Hymenoptera). **Molecular Ecology Resources**, v. 9, p. 171-173. 2009.

KALIDASS, C.; ABRAGAM, D. A.; MOHAN, V. R. Pharmacognostic studies of the whole plant of *Asclepias curassavica* Linn. **Journal of Pharmacy Research**, v. 2, n. 7, p. 1214-1217, 2009.

KARLSSON, M. F. **Control de mosca blanca *Aleurotrachelus socialis* Bondar (Hemiptera: Aleyrodidae) Minor Field Studies**. 2005. Tese (Doutorado) - Universidad Sueca de Agricultura, 2005.

KATHRINA, G. A; ANTONIO, L. P. J. Control biológico de insectos mediante extractos botánicos. *In*: CARBALLO, M; GUAHARAY, F. (Eds.). **Control biológico de plagas agrícolas**. Managua: CATIE, 2004. p. 137-160.

KING, A. B. S.; SAUNDERS, J. L. **The invertebrate pests of annual food crops in Central America**: a guide to their recognition and control. Bib. Orton IICA/CATIE, 1984.

KITTAKOOP, P.; MAHIDOL, C.; RUCHIRAWAT, S. Alkaloids as important scaffolds in therapeutic drugs for the treatments of cancer, tuberculosis, and smoking cessation. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 14, n. 2, 2014.

KUMAR, S.; PANDEY, A. K. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. **The Scientific World Journal**, v. 2013, p. 10-16, 2013.

KRASOWSKI, M. D.; HONG, X.; HOPFINGER, A. J.; HARRISON, N. L. 4D-QSAR analysis of a set of propofol analogues: mapping binding sites for an anesthetic phenol on the GABA(A) receptor. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, n. 15, p. 3210-3221, 2002. DOI: <https://dx.doi.org/10.1021/jm010461a>.

LEÃO, R. M. **Controle de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera:Noctuidae) (J.E.SMITH,1917) COM EXTRATO ETANÓLICO DE *Asclepias curassavica* L.** 2018. Dissertação (Mestrado) - Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, 2018.

LEÃO, R. M. *et al.* Secondary metabolites of *Asclepias curassavica* (Apocynaceae) and its effects on food preference and mortality of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Emirates Journal of Food and Agriculture**, p. 583-590, 2020.

LEIDERMAN, L. M.; SAUER, H. F. G. A lagarta dos milharais. **O biológico**, v. 19, n. 6, p. 105-113, 1953.

LI, J. Z. *et al.* Citotoxicity of cardenolides and cardenolide glycosides from *Asclepias Curassavica*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 19, n. 7, p. 1956-1959, 2009.

LIN, D. R. *et al.* Initial screening studies on potential of high phenolic-linked plantclonal systems for nitrate removal in cold latitudes. **Journal of Soils and Sediments**, v. 10, p. 923- 932, 2010.

LIN, D. *et al.*, An overview of plant phenolic compounds and their importance in human nutrition and management of type 2 Diabetes. **Molecules**, v. 21, p. 1374-1392, 2016.

LOPEZ, M. D.; CONTRERAS, J.; PASCUAL-VILLALOBOS, M. J. Selection for tolerance to volatile monoterpenoids in *Sitophilus oryzae* (L.), *Rhyzopertha dominica* (F.) and *Cryptolestes pusillus* (Schoenherr). **Journal of Stored Products Research**, v. 46, n. 1, p. 52-58, 2010.

LOPES G. S. *et al.*, Biologia de *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em folhas de mandioca (*Manihot esculenta*, Crantz). **Caatinga**, v. 21, p. 134-140, 2008.

LOPES, R. M. *et al.* Flavonóides. Farmacologia de flavonóides no controle hiperlipidêmico em animais experimentais. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, ano 3, n. 17, p. 18-22, 2000.

LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas, tóxicas e medicinais.** 2. ed. Nova Odessa: Plantarum, 1991.

LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil.** Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2000.

LUCCHINI, F. **Biologia de *Spodoptera frugiperda* (Smith & Abbot, 1797) (Lepidoptera:Noctuidae). níveis de prejuízos e avaliação toxicológica de**

inseticidas para o seu combate em milho. 1977. 114 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1977.

MACAGNAN, R. *et al.* Eficácia de extratos vegetais no controle de *Spodoptera frugiperda* (JE SMITH, 1797) em milho. **Biosaúde**, v. 14, n. 2, p. 74-80, 2016.

MACHADO, A. E. H. Photophysical properties of two new psoralen analogues. **Journal of Photochemistry and Photobiology**, v. 14, n. 6, p. 72-76, 2001.

MAO, G. *et al.* Bruceine D isolated from *Brucea javanica* (L.) Merr. as a systemic feeding deterrent for three major lepidopteran pests. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 67, n. 15, p. 4232-4239, 2019.

MARASCHIN, M. E.; VERPOORTE, R. Engenharia do metabolismo secundário: otimização da produção de metabólitos secundários em culturas de células vegetais. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 2, n. 10, p. 24-28, 1999.

MARIMUTHU, S. *et al.* Laticiferous taxa as a source of energy and hydrocarbon. **Economic Botany**, v. 43, n. 2, p. 255-261, 1989.

MARTINS, E. R. *et al.* **Plantas medicinais.** Viçosa: Imprensa Universitária/UFV, 1995. 220 p.

MATOS, F. J. A. *et al.*, **Plantas tóxicas:** estudo de fitotoxicologia química de plantas brasileiras. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudo da Flora, 2011. 31 p.

MAZID, M.; KHAN, T. A.; MOHAMMAD, F. Role of secondary metabolites in defense mechanisms of plants. **Biology and Medicine**, v. 3, n. 2, p. 232-249, 2011.

MELLO, M. O.; SILVA-FILHO, M. C. Plant-insect interactions: an evolutionary arms race between two distinct defense mechanisms. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 14, p. 71-81, 2002.

MENDES, S. M. *et al.* Respostas da lagarta-do-cartucho a milho geneticamente modificado expressando a toxina Cry 1A (b). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 3, p. 239-244, 2011.

MENEZES, C. W. G. *et al.* Effects of crude extract fractions of *Adenocalymma nodosum* (Bignoniaceae) on duration of pupa stage emergence of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) and phytotoxicity on vegetable crops. **Allelopathy Journal**, v. 33, n. 1, p. 141, 2014.

MIRANDA, J. E.; MOREIRA, M. D.; SIQUEIRA, J. R. Aspectos biológicos e exigências térmicas da lagarta-militar no algodoeiro. **Revista Brasileira Oleaginosas e Fibrosas**, v. 14, p. 107-113, 2010.

MONNERAT, R. *et al.* Genetic variability of *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera : Noctuidae) populations from Latin America is associated with variations in susceptibility to *Bacillus thuringiensis* cry toxins. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 72, n. 11, p. 7029-7035. 2006.

- MOLINA-OCHOA, J. *et al.* Parasitoids and parasites of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in the Americas and Caribbean Basin: an inventory. **Florida Entomologist**, v. 86, p. 254–289, 2003.
- MORAES, A. R. A. D.; LOURENÇÃO, A. L.; PATERNIANI, M. E. A. G. Z. Resistência de híbridos de milho convencionais e isogênicos transgênicos a *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Bragantia**, v. 74, p. 50-57, 2015.
- MORAES, R. F. **Categorias e mecanismos de resistência de genótipos de couve a *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH, 1797) (Lepidoptera:Noctuidae)**. 2014. 94f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Uiversidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2014.
- MORILLO, F.; NOTZ, A. Resistencia de *Spodoptera frugiperda* (Smith)(Lepidoptera: Noctuidae) a lambdacihalotrina y metomil. **Entomotropica**, v. 16, n. 2, p. 79-87, 2007.
- MOUSSA-AYOUB, T. *et al.* Identification and quantification of flavonol aglycons in cactus pear (*Opuntia ficus indica*) fruit using a commercial pectinase and cellulose preparation. **Food Chemistry**, p. 1177-1184, 2011.
- MOYNA, P.; MENÉNDEZ, P. Biotransformação de produtos naturais. *In*: SERAFINI, L. A.; BARROS, N. M.; AZEVEDO, J. L. (Eds.). **Biociencia na agricultura e na agroindústria**. Guaíba: Agropecuária, 2001. Cap.5, p. 201-226.
- MURÚA, M. G. J. *et al.* Natural de distribuição de parasitóides de larvas da lagarta do cartucho, *Spodoptera frugiperda*, na Argentina. **Jornal Inseto Ciência**, v. 9, p. 1-17, 2009.
- MYASNIK, M. *et al.* Comparative sensitivity to UV-B radiation of two *Bacillus thuringiensis* subspecies and other *Bacillus* sp. **Current Microbiology**, v. 43, p. 140-143, 2001.
- NAGOSHI, R. N.; MEAGHER, R. L. Review of fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) genetic complexity and migration. **Florida Entomologist**, v. 91, n. 4, p. 546-554, 2008.
- NAVARRO-SILVA, M. A.; MARQUES, F. A.; DUQUE L, J. E. Review of semiochemicals that mediate the oviposition of mosquitoes: a possible sustainable tool for the control and monitoring of Culicidae. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 53, n. 1, p. 1-6, 2009.
- NIERO, R.; MALHEIROS, A. Principais aspectos químicos e biológicos de terpenos. *In*: CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. **Química de produtos naturais: novos fármacos e a moderna farmacognosia**. Itajaí: Univali, 2007. p. 239-257.
- NOMURA, T. *et al.* Inhibitory mechanisms of flavonoids on insulinstimulated glucose uptake in MC3T3-G2/PA6 adipose cells. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 31, n. 7, p. 1403-1409, 2008.

- OLIVEIRA, M. S. S. *et al.* Eficiência de produtos vegetais no controle da lagarta-do-cartucho-do-milho *Spodoptera frugiperda* (JE Smith, 1797)(Lepidoptera: Noctuidae). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 2, p. 326-331, 2007.
- OLIVEIRA, R. B.; GODOY, S. A. P.; COSTA, F. B. **Plantas tóxicas: conhecimento e prevenção de acidentes**. Ribeirão Preto: Holos, 2003. 64p.
- OMOTO, C. *et al.* **Manejo da resistência de *Spodoptera frugiperda* a inseticidas e plantas Bt**. Piracicaba: IRAC-BR, 2013.
- OSBOURN, A.; GOSS, R. J. M.; FIELD, R. A. The saponins: polar isoprenoids with important and diverse biological activities. **Natural Product Reports**, v. 28, n. 7, p. 1261, 2011.
- OTSUKA, H. Purification by solvent extraction using partition coefficient. *In*: SARKER, S. D.; LATIF, Z.; GRAY, A. I. (Eds). **Natural products isolation**. 2. ed. New Jersey: Humana Press, 2006. p. 269-273.
- PARRA, J. R. P. **Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico**. Piracicaba: ESALQ/FEALQ, 2001.
- PASINI, A.; PARRA, J. R.; LOPES, J. M. Artificial diet for rearing *Doru luteipes* (Scudder) (Dermaptera: Forficulidae), a predator of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology**, v. 36, p. 308-311, 2007.
- PATEL, P. N. **Estudos de fatores bióticos de controle natural em populações de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae)**. 1981. 98p. Dissertação (Mestrado em Ecologia) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1981.
- PAVELA, R.; BARNET, M.; KOCOUREK, F. Effect of azadirachtin applied systemically through roots of plants on the mortality, development and fecundity of the cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae*). **Phytoparasitica**, v. 32, n. 3, p. 286-294, 2004.
- PEREIRA, G. F. *et al.* As plantas. apocinaceas-asclepiadoideas. *In*: **Flora ilustrada Catarinense**. 1 parte. Itajaí: Herbario Barbosa Rodrigues, 2004. 250 p.
- PERES, L. E. P. **Metabolismo secundário**. Piracicaba: ESALQ, 2004. p. 1-10.
- PETZOLD-MAXWELL, J. L. *et al.* Effect of maize lines on larval fitness costs of Cry1F resistance in the european corn borer (Lepidoptera: Crambidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 107, p. 764-772, 2014.
- PHILLIPS, M. A. *et al.* The plastidial MEP pathway: unified nomenclature and resources. **Trends in Plant Science**, v. 13, n. 12, p. 619-23, 2008.
- PINHEIRO, P. V.; QUINTELA, E. D. **Efeito de Extratos de Plantas Sobre a Mortalidade de Ninfas de *Bemisia Tabaci* (Genn.) Biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae) em Feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.)**. 2004. (Circular técnica; 95).

PINTO, A. S. *et al.* **Guia ilustrado de pragas e insetos benéficos do milho e sorgo**. Piracicaba: PLD, 2004. 108p.

POMARI, A. F. *et al.* Releasing number of *Telenomus remus* (Nixon) (Hymenoptera: Platygasteridae) against *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera: Noctuidae) in corn, cotton and soybean. **Ciencia Rural**, v. 43, p. 377–382. 2013.

PORTO, D. D. **Papel do alcalóide branquicerina na resposta ao estresse por radiação ultravioleta e dano mecânico em *Psychotria brachyceras* Müll Arg.** 2009. 138 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Centro de Biotecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

PRISTA, L. N.; ALVES, A. C.; MORGADO, R. **Tecnologia farmacêutica**. 4. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1996. v. I, p. 1113-1127.

PUENTES, L. N. D. Interacciones moleculares entre plantas y microorganismos: saponinas como defensas químicas de las plantas y su tolerancia a los microorganismos. Una revisión. **RET. Revista de Estudios Transdisciplinarios**, v. 1, n. 2, p. 32-55, 2009.

QUEIROZ, S. C.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. Métodos de extração e/ou concentração de compostos encontrados em fluidos biológicos para posterior determinação cromatográfica, **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 68-76, 2001.

QUIDEAU, S. *et al.* Plant polyphenols: chemical properties, biological activities, and synthesis. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 50, n. 3, p. 586-621, 2011.

RAMPELOTTI-FERREIRA, F. T. *et al.* Selectivity of plant extracts for *Trichogramma pretiosum* Riley (Hym.: Trichogrammatidae). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 138, p. 78-82, 2017.

RAVEN, P. H. *et al.* **Biologia Vegetal**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. 906 p.

REDDY, H. S. *et al.* Phytochemical screening and antibacterial studies on leaf and root extracts of *Asclepias curassavica* (L). **Journal of Pharmacy and Biological Sciences (IOSRJPBS)**, v. 2, n. 1, p. 39-44, 2012.

REGNAULT-ROGER, C.; VINCENT, C.; ARNASON, J. T. Essential oils in insect control: low-risk products in a high-stakes world. **Annual Review of Entomology**, v. 57, 2012.

RENWICK, J. A. A.; CHEW, F. S. Oviposition behavior in lepidoptera. **Annual Review of Entomology**, v. 39, 1994.

REZENDE, F. M. *et al.* **VI Botanica no inverno**. São Paulo, 2016. p. 223.

ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, M. K.; TYLER, V. E. **Farmacognosia & farmacobiotecnologia**. São Paulo: Premier, 1997. 372p.

RODRIGUES, K. A. F. *et al.* Prospecção fitoquímica e atividade moluscicida de folhas de *Momordica charantia* L. **Caderno de Pesquisa**, v. 17, p. 69-76, 2010.

ROEL, A. R. Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o desenvolvimento rural sustentável. **Revista Internacional de Desenvolvimento Local**, v. 1, n. 2, p. 43-5, 2001.

ROJAS, J. C.; VIRGEN, A.; CRUZ-LOPEZ, L. Chemical and tactile cues influencing oviposition of a generalist moth, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Environmental Entomology**, v. 32, p. 1386-1392, 2003.

ROSA, A. P. S. A. **Monitoramento da lagarta-do-cartucho do milho**. Embrapa Clima Temperado (INFOTECA-E), 2010.

ROY, M. C. *et al.* Cytotoxic principles from the formosan milkweed, *Asclepias curassavica*. **Journal of Natural Products**, v. 68, n. 10, p. 1494-1499, 2005.

SÁ, V. G. M. *et al.* Sobrevivência e desenvolvimento larval de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em hospedeiros alternativos. **Neotropical Entomology**, v. 38, p. 108-115, 2009.

SALA, A. *et al.* Assessment of the anti-inflammatory activity and free radical scavenger activity of tiliroside. **European Journal of Pharmacology**, v. 461, p. 53-61, 2003.

SANDINI, T. M.; UDO, M. S. B.; SPINOSA, H. D. S. Senecio brasiliensis e alcaloides pirrolizidínicos: toxicidade em animais e na saúde humana. **Biotemas**, v. 26, n. 2, p. 83-92, 2013.

SANTANA, L. C. L. R. Avaliação do potencial antioxidante, atividade antimicrobiana e antihelmíntica do extrato etanólico padronizado das folhas de *Mikania glomerata* Sprengel. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 94, n. 2, p. 120-129, 2013.

SANTOS, A. C. B. *et al.* Levantamento etnobotânico, químico e farmacológico de espécies de Apocynaceae Juss. Ocorrentes no Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 3, p. 442-458, 2013.

SANTOS, K. B. D.; MENEGUIM, A. M.; NEVES, P. M. Biology and consumption of *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepidoptera: Noctuidae) in different hosts. **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 6, p. 903-910, 2005.

SANTOS, L. M. *et al.* Fertilidade e longevidade de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em genótipos de milho. **Ciência Rural**, v. 34, p. 345-350, 2004.

SANTOS, R. I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. *In*: SIMÕES, C. M. O. *et al.* (ed.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3. ed. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/Ed.UFSC, 2001. Cap.16, p.333-364.

SANTOS, W. J. Manejo das pragas do algodão com destaque para o cerrado brasileiro. **Algodão no cerrado do Brasil**. Brasília: Associação Brasileira dos Produtores de Algodão, 2007. p. 403-478.

SARMENTO, R. A. *et al.* Biology review, occurrence and control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera, Noctuidae) in corn in Brazil. **Bioscience Journal (Brazil)**, 2002.

SASIDHARAN, S. *et al.* Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plants extracts. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines**, v. 8, n. 1, p. 1-10, 2011.

SAXENA, R. C. Antifeedants in tropical pest management. **Insect Science and its Application**, n. 8, v. 4/6, p. 731-736, 1987.

SEIDEL, V. 2006. Initial and bulk extraction. *In*: SARKER, S. D.; LATIF, Z.; SARKER, S. D. (Eds). **Natural products isolation**. 2. ed. New Jersey: Humana Press, 2006. p. 27-46.

SHARMA, B. *et al.*, Effects of flavonoid-rich extract from seeds of *Eugenia jambolana* (L.) on carbohydrate and lipid metabolism in diabetic mice. **Food Chemistry**, v. 110, p. 697–705, 2008.

SHELKE, V.; BHOT, M. GC-MS Analysis of bio-active compounds in ethanolic extract of leaf and stem of *Asclepias curassavica* L. **International Journal of Pharmaceutical Investigation**, v. 9, n. 2, p. 67-70, 2019.

SHYLESHA, A. N.; SRAVIKA, A. Natural occurrence of predatory bugs, *Eocanthecona furcellata* (Wolff) and *Andrallus spinidens* (Fabr.) on *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Hemiptera: Pentatomidae) in maize and their potential in management of fall armyworm. **Journal of Biological Control**, v. 32, p. 209–211, 2018.

SCAVONE, O.; PANIZZA, S. **Plantas tóxicas**. São Paulo: CODAC/USP, 1980.

SMITH, C. M.; KHAN, Z. R.; PATHAK, M. D. **Evaluation of plants for insect resistance: techniques for Evaluating Insect Resistance in Crop Plants**. Boca Raton: CRC, 1994. p. 17-114.

SILOTO, R. C. **Danos e biologia de *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith, 1797) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) em genótipos de milho**. 2002. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

SILVA, C. P. **Poiretia latifolia e Poiretia tetraphylla: estudo dos óleos voláteis e atividades biológicas preliminares**. 2005. 120f. Dissertação (Mestrado em

Química)- Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2005.

SILVA, G. *et al.* Búsqueda de plantas com propriedades insecticidas para el control de *Sitophilus zeamais* em maiz armazenado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, p. 11-17, 2005.

SILVA, M. T. B. Fatores que afetam a eficiência de inseticidas sobre *Spodoptera frugiperda* Smith em milho. **Ciência Rural**, v. 29, n. 3, p. 383-387, 1999.

SILVA, M. T. B. Insetos–pragas: aspectos ecológicos, danos e controle. *In*: CAMPOS, B. C. (Org). **A cultura do milho no plantio direto**. Cruz Alta: FUNDACEP/SENAR, p 95-123,1998.

SIMMONDS, M. S. J. Importance of flavonoids in insect-plant interactions: feeding and oviposition. **Phytochemistry**, v. 56, p. 245-252, 2001.

SIMÕES, C. M. O. *et al.* **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Universidade/ Universidade Federal do Rio Grande do Sul/ Da Universidade Federal de Santa Catarina, 2010.

SOLLA, A. *et al.* Genetic determination of tannins and herbivore resistance in *Quercus ilex*. **Tree genetics & genomes**, v. 12, n. 6, 117, 2016.

SOSA, M. A. **Estimación del daño de *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera: Noctuidae) en maíz con infestación natural en tres fechas de siembra en el noroeste santafesino**. Santa Fe: INTA. EEA Reconquista, 2002. p.45. (Información para Extensión, 70).

SOUZA, A. P.; VENDRAMIM, J. D. Atividade ovicida de extratos aquosos de meliáceas sobre a mosca branca *Bemisia tabaci* (Gennadius) biótipo B em tomateiro. Ovicidal activity of aqueous extracts of meliaceae on the silverleaf whitefly for tomato. **Scientia Agricola**, v. 57, n. 3, p. 403-406, 2000.

SOUZA, A. P.; VENDRAMIM, J. D. Efeito translaminar, sistêmico e de contato de extratos aquosos de sementes de nim sobre *Bemisia tabaci* (genn.) Biótipo B em tomateiro. **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 1, 2005.

SOUZA, M. F. **Atividade inseticida de extratos obtidos a partir do resíduo líquido de *Agave sisalana* Perrine no controle da praga *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho**. 2009. 64f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2009.

SOUZA, T. F.; FEVERO, S.; CONTE, C. D. O. (2010). Bioatividade de óleos essenciais de espécies de eucalipto para o controle de *Spodoptera frugiperda* (JE Smith, 1797)(Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 5, n. 2, p. 157-164, 2010.

SPARKS, A. N. A review of the biology of the fall armyworm. **Florida Entomologist**, v. 62, p. 82-87, 1979.

STOESSL, A. Secondary plant metabolites in plant disease resistance. Part I: preformed resistance factors. **Fitopatologia Brasileira**, v. 10, p. 391-416, out. 1985.

STORER, N. P. *et al.* Discovery and characterization of field resistance to Bt maize: *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Puerto Rico. **Journal of Economic Entomology**, v. 103, p. 1031-1038, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1603/ED10040>

STRONG, D. R. **Insects on plants**: community patterns and mechanisms. London: Blackwell Scientific, 1984. 313p.

SUELDO, M. R.; BRUZZONE, O. A.; VIRLA, E. G. Characterization of the earwig, *Doru lineare*, as a predator of larvae of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*: A functional response study. **Journal of Insect Science**, v. 10, p. 38. 2010.

TABASHNIK, B. E.; BRÉVAULT. T.; CARRIÈRE, Y. Insect resistance to Bt crops: lessons from the first billion acres. **Nature Biotechnology**, v. 31, p. 510-521, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1038/nbt.2597>

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.

TOKARNIA, C. H.; BRITO, M. F.; CUNHA, B. R. Intoxicação experimental por *Asclepias Curassavica* (Asclepiadaceae) em bovinos. Dados complementares. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 21, n. 1, p. 1-4, 2001.

VALICENTE, F. H. Controle biológico da lagarta do cartucho, *Spodoptera frugiperda*, com *Bacillus thuringiensis*. **Circular Técnica**, 2008.

VALICENTE, F. H. **Manejo integrado de pragas na cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2015. p. 2015.

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

VASCONCELOS, C. J. Ação do extrato pirolenhoso de casca de arroz sobre aspectos biológicos e comportamentais de *Spodoptera frugiperda* (JE Smith)(Lepidoptera: Noctuidae) em milho. **Brazilian Journal of Agriculture - Revista de Agricultura**, v. 86, n. 3, p. 207-214, 2011.

VAUGHAN, G. L.; JUNGREIS, A. M. Insensitivity of lepidopteran tissues to ouabain: physiological mechanisms for protection from cardiac glycosides. **Journal of Insect Physiology**, v. 23, n. 5, p. 585-589, 1977.

VELDERRAIN-RODRÍGUEZ, G. R. *et al.* Phenolic compounds: their journey after intake. **Food & Function**, v. 5, p. 189-197, 2014.

VENDRAMIM, J. D.; CASTIGLIONI, E. Aleloquímicos, resistência de plantas e plantas inseticidas. *In: Bases e Técnicas do Manejo de Insetos*. Santa Maria: Ed. Pallotti, 2000. p. 113-128.

VENDRAMIM, J. D. Plantas inseticidas e controle de pragas. **Informativo da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 25, n. 2, p. 1-5, 2000.

VENDRAMIM, J.D. **Uso de plantas inseticidas no controle de pragas**. In: CICLO DE PALESTRAS SOBRE AGRICULTURA ORGÂNICA, 2., 1997, São Paulo

VELOSO E. S. **Resistência de cultivares de soja a *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae)**. 56 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2010.

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

VICKERY, M. L.; VICKERY, B. **Secondary plant metabolism**. Hong Kong: The Macmillan Press, 1981.

PASCUAL-VILLALOBOS -, M. J. *et al.* **Plaguicidas naturales de origen vegetal: estado actual de la investigación**. Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria, 1996.

VIZZOTTO, M.; KROLOW, A. C.; WEBER, G. E. B. **Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado- Documentos, 2010.

VOIGT, R.; BORNSCHEIN, M. **Tratado de tecnologia farmacêutica**. Zaragoza: Acribia, 1982. p. 496-769.

WAKSMUNDZKA-HAJNOS, M.; SHERMA, J.; KOWALSKA, T. Thin layer chromatography in phitochemistry. **Chromatographic Science Series**, v. 99, 2008.

WARASHINA, T. *et al.* New cardenolide and acylated lignan glycosides from the aerial parts of *Asclepias curassavica*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 56, n. 8, p. 1159-1163, 2008.

WATERMAN, P. G.; MOLE, S. **Insect-plant interaction**. 1. ed. Boca Raton: CRS Press, 1989. v. 1, cap. 4.

WEISMANN, M. Fases de desenvolvimento da cultura do milho. *In: Tecnologias e produção: milho safrinha e culturas de inverno*. Maracaju: Fundação MS, 2008. p. 31-38.

WHITE, B. L. *et al.* Release of bound procyanidins from cranberry pomace by alkaline hydrolysis. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 7572-7579, 2010.

WIESBROOK, M. L. Natural indeed: are natural insecticides safer and better than conventional insecticides? **Illinois Pesticide Review**, v. 17, n. 304, 2004.

WILLIAMSET, A. L. *et al.* Oviposition deterrents for fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) from larval frass, corn leaves, and artificial diet. **Environmental Entomology**, 1986.

WOODSON, R. E. The North American species of *Asclepias* L. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 41, n. 1, p. 1-211, 1954.

WYATT, R.; BROYLES, S. B. The weedy tropical milkweeds *Asclepias curassavica* and *A. fruticosa* are self-compatible. **Biotropica**, v. 29, n. 2, p. 232-234, 1994.

YAO-LAN, L. *et al.* Antiviral activities of flavonoids and organic acid from *Trollius chinensis* Bunge. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 79, p. 365-8, 2002.

YU, S. J.; NGUYEN, S. N.; ABO-ELGHAR, G. E. Biochemical characteristics of insecticide resistance in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 77, p. 1-11, 2003.

YUNES, R. A., CALIXTO, J. B. **Plantas Medicinais sob a ótica da química medicinal moderna**. Chapecó: Argos, 2001.

ZUANAZZI, J. A. S. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 2. ed. Porto Alegre: Ed. Universidade, 2000. p. 489-515.