

PROTEÇÃO DE PLANTAS**Atividade Tóxica de Extratos Orgânicos de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) Sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith)**ANTONIA R. ROEL¹, JOSÉ D. VENDRAMIM², ROSA T.S. FRIGHETTO³ E NELSON FRIGHETTO⁴¹Departamento de Pesquisa, EMPAER, 79114-000, Campo Grande, MS.²Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola, ESALQ/USP, 13418-900, Piracicaba, SP.³EMBRAPA/Meio Ambiente, Caixa postal 69, 13820-000, Jaguariúna, SP.⁴CPQBA/UNICAMP, 13081-970, Campinas, SP.

An. Soc. Entomol. Brasil 29(4): 799-808 (2000)

Toxic Activity of Organic Extracts from *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) Against *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith)

ABSTRACT - The objective of this research was to evaluate the toxic activity of different concentrations (weight/volume) of organic extracts (non-aqueous) of leaves and twigs of *Trichilia pallida* Swartz on *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) under laboratory conditions. Pieces of corn leaves were dipped in acetone solutions of *T. pallida* extracts at concentrations ranging from 0.008 to 1%. Larval mortality of *S. frugiperda* was evaluated during 10 days and acetone extracts of leaves and twigs and methanol extracts of twigs showed greater activity than methanol extract of leaves. Crude acetone extract was partitioned with hexane and ethyl acetate and evaluated by using the same methodology. Ethyl acetate fraction was more effective than hexane. Comparing the four solvents, the highest toxic activity of the extracts was obtained using acetone, followed by methanol, ethyl acetate and hexane.

KEY WORDS: Insecta, fall armyworm, insecticide plant.

RESUMO – Avaliou-se, em condições de laboratório, o efeito de diferentes concentrações (peso/volume) de extratos orgânicos (não aquosos) de folhas e ramos de *Trichilia pallida* Swartz em relação à lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). Inicialmente, foram testados os extratos acetônico e metanólico nas concentrações de 0,008 a 1% impregnados em folhas de milho, constatando-se, com base na mortalidade larval até os 10 dias, que os extratos acetônicos de folhas e de ramos e o extrato metanólico de ramos apresentaram maior atividade que o extrato metanólico de folhas. Empregando a mesma metodologia, foram testados os extratos acetato de etila e hexânico obtidos pela partição do extrato acetônico bruto, constatando-se que o extrato acetato de etila foi mais efetivo que o hexânico. Comparando-se os quatro solventes, a maior atividade tóxica dos extratos foi obtida com a utilização de acetona, seguindo-se metanol, acetato de etila e hexano.

PALAVRAS-CHAVE: Insecta, lagarta-do-cartucho-do-milho, planta inseticida.

A utilização de plantas com atividade inseticida não é uma técnica recente no controle de pragas, já que o seu uso era bastante comum nos países tropicais antes do advento dos inseticidas sintéticos. Os primeiros inseticidas botânicos utilizados foram a nicotina extraída do fumo *Nicotiana tabacum*, a piretrina extraída do crisântemo *Chrysanthemum cinerariaefolium*, a rotenona extraída de *Derris* spp. e *Lonchocarpus* spp., a sabadina e outros alcalóides extraídos de *Schoenocaulon officinale* e a rianodina extraída de *Rhynchospora speciosa* (Lagunes & Rodríguez 1992).

Atualmente, a família Meliaceae vem se destacando como fonte de plantas inseticidas dentre as diversas famílias botânicas, tanto pelo número de espécies vegetais com atividade inseticida como pela eficiência de seus extratos. Nessa família, incluem-se *Azadirachta indica* A. Juss (comumente denominada nim ou nime) e *M. azedarach* (conhecida popularmente por cinamomo, pára-raios ou santa-bárbara), sendo a primeira espécie considerada, dentre as plantas inseticidas atualmente estudadas, como a mais eficiente (Schmutterer 1988, Koul et al. 1990, Mordue (Luntz) & Blackwell 1993, Vendramim 1997).

Apesar de menos pesquisadas que *A. indica*, outras meliáceas pertencentes ao gênero *Trichilia* têm-se mostrado bastante promissoras para uso como inseticidas botânicos (Mikolajczak & Reed 1987, Mikolajczak et al. 1989, Rodríguez & Lagunes 1990 e 1992, Xie et al. 1994).

Trabalhos recentes desenvolvidos no Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da ESALQ, com o objetivo de avaliar o efeito de extratos de Meliaceae sobre *S. frugiperda*, revelaram a existência de diversas espécies com bioatividade, destacando-se, dentre elas,

Trichilia pallida Swartz como uma das mais promissoras (Rodríguez & Vendramim 1996, Vendramim & Torrecillas 1998), espécie, até então, não referida como tendo atividade tóxica contra insetos.

Estes trabalhos, entretanto, restringiram-se ao uso de extratos aquosos de *T. pallida*, razão pela qual desenvolveu-se a presente pesquisa com o objetivo de avaliar a atividade inseticida de extratos orgânicos (não aquosos) da referida meliácea em relação a lagartas de *S. frugiperda*.

Material e Métodos

A pesquisa foi desenvolvida no Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da ESALQ/USP, em condições de laboratório (25±2°C, UR de 60±10% e fotofase de 14 h), utilizando-se lagartas de *S. frugiperda* criadas em dieta artificial.

As folhas e ramos (galhos sem folhas) de *T. pallida* foram coletadas no Parque Ecológico “Mata de Santa Genebra”, município de Campinas, SP, sendo os extratos preparados no Centro de Pesquisa Pluridisciplinar de Química Biológica e Agrícola (CPQBA/UNICAMP) e no Centro Nacional de Pesquisa de Monitoramento e Avaliação de Impacto Ambiental (Embrapa - Meio Ambiente).

As folhas e ramos foram secos em estufa com circulação de ar (a 45°C, por 48 h) e triturados em moinho até a obtenção de um pó fino, o qual foi armazenado em frascos hermeticamente fechados até o preparo dos extratos. A extração foi feita através de maceração com metanol ou acetona, sendo que a cada 24 h, o extrato era decantado e filtrado em papel Whatman®, acrescentando-se novamente metanol ou acetona ao material vegetal, até completar a extração. O extrato

filtrado foi concentrado em rotaevaporador a 40°C, a pressão reduzida, mediante o uso da trompa de água. Os resíduos concentrados obtidos nas sucessivas extrações foram agrupados, resultando nos extratos metanólico e acetônico, respectivamente. Para cada solvente foram obtidos, separadamente, extratos de folhas e de ramos. Com esses extratos foram realizados os testes de atividade tóxica, selecionando-se o mais eficiente, o qual foi então submetido a uma cromatografia de partição com os solventes acetato de etila e hexano, obtendo-se, conseqüentemente, os extratos acetato de etila e hexânico, igualmente avaliados quanto à toxicidade a *S. frugiperda*.

No momento da utilização, os extratos foram diluídos em acetona, obtendo-se, para cada extrato, as concentrações 1,0; 0,2; 0,04 e 0,008%. Para tratamento com os extratos, pedaços de folhas de milho (genótipo Piranão) foram mergulhados por dois segundos, nas respectivas suspensões. Idêntico procedimento foi adotado em relação aos tratamentos testemunha água (folhas tratadas com água destilada) e testemunha acetona (folhas tratadas com acetona). Os pedaços de folhas foram, então, distribuídos sobre papel toalha para evaporação do solvente ou do excesso de água e posteriormente colocados em tubos de vidro (8,0 x 2,5 cm) contendo uma tira úmida de papel de filtro (3 x 1 cm) para manutenção da turgescência vegetal. Esse procedimento foi repetido diariamente. As lagartas recém-eclodidas foram mantidas individualmente nos tubos de vidro, utilizando-se 30 indivíduos por tratamento na 1ª etapa (extratos metanólico e acetônico) e 40 na 2ª etapa (extratos hexânico e acetato de etila), avaliando-se a mortalidade larval diariamente até o 10º dia.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado. Os dados de porcentagem de lagartas mortas foram analisados estatisticamente, quando, em pelo menos um dos tratamentos, foi constatada mortalidade larval de, no mínimo, 95%. Essa análise foi feita pelo pacote computacional SANEST (Versão 3.0). A comparação das

médias dos tratamentos foi feita pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Com os dados de mortalidade diária até o 10º dia, foi estimado, para cada tratamento, o tempo necessário para matar 50% da população (TL_{50}), através de análise de Probit. Os valores de TL_{50} foram comparados estatisticamente pelo sistema de sobreposição de intervalos de confiança ($P \leq 0,05$).

Resultados e Discussão

Atividade dos Extratos Acetônico e Metanólico. A mortalidade larval de *S. frugiperda*, no 3º dia após a aplicação dos extratos acetônico e metanólico de folhas e ramos de *T. pallida*, foi menor, para as quatro concentrações testadas, no extrato metanólico de folhas que nos demais extratos, sendo que estes não diferiram entre si dentro de cada concentração (Tabela 1). As mortalidades registradas na testemunha tratada com acetona (3,3%) e na testemunha tratada com água (10,0%) (Figs. 1 e 2) indicaram que o experimento foi desenvolvido em condições adequadas e que a acetona, utilizada na diluição dos extratos, não alterou a efetividade dos mesmos. A mortalidade acumulada nos dias subseqüentes até o final da avaliação (10º dia) também evidenciou menor atividade do extrato metanólico de folhas, no qual o valor 100% só foi registrado na concentração de 1% (6º dia). Nos demais tratamentos, a mortalidade total só não foi atingida na menor concentração (0,008%) do extrato acetônico de folhas, na qual, ainda assim, constatou-se valor superior a 90% de mortalidade aos 10 dias. Com extratos de ramos, ocorreu 100% de mortalidade em todos os tratamentos, sendo a atividade retardada na concentração mais baixa, na qual foram necessários oito dias (extrato acetônico) e sete dias (extrato metanólico) (Figs. 1 e 2). A menor atividade do extrato metanólico de folhas de *T. pallida* foi confirmada pelos dados de TL_{50} , cujos valores foram sempre maiores nesse tratamento quando comparados aos demais (Tabela 2).

Com base na mortalidade aos 3 e 10 dias

Tabela 1. Mortalidade larval (%) (média \pm EP) de *S. frugiperda* três dias após o início da alimentação com folhas de milho tratadas com os extratos acetônico e metanólico de folhas e ramos de *T. pallida*.

Extrato	Concentração (%)*			
	1	0,2	0,04	0,008
Acetona folhas	96,7 \pm 3,3 a	80,0 \pm 6,2 a	80,0 \pm 6,2 a	60,0 \pm 4,1 a
Acetona ramos	80,0 \pm 6,2 a	70,0 \pm 6,2 a	53,3 \pm 6,2 a	63,3 \pm 3,3 a
Metanol folhas	36,7 \pm 9,7 b	33,3 \pm 7,5 b	16,7 \pm 5,3 b	23,3 \pm 4,1 b
Metanol ramos	83,3 \pm 7,4 a	76,7 \pm 6,7 a	63,3 \pm 6,2 a	60,0 \pm 4,1 a

*Médias seguidas da mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

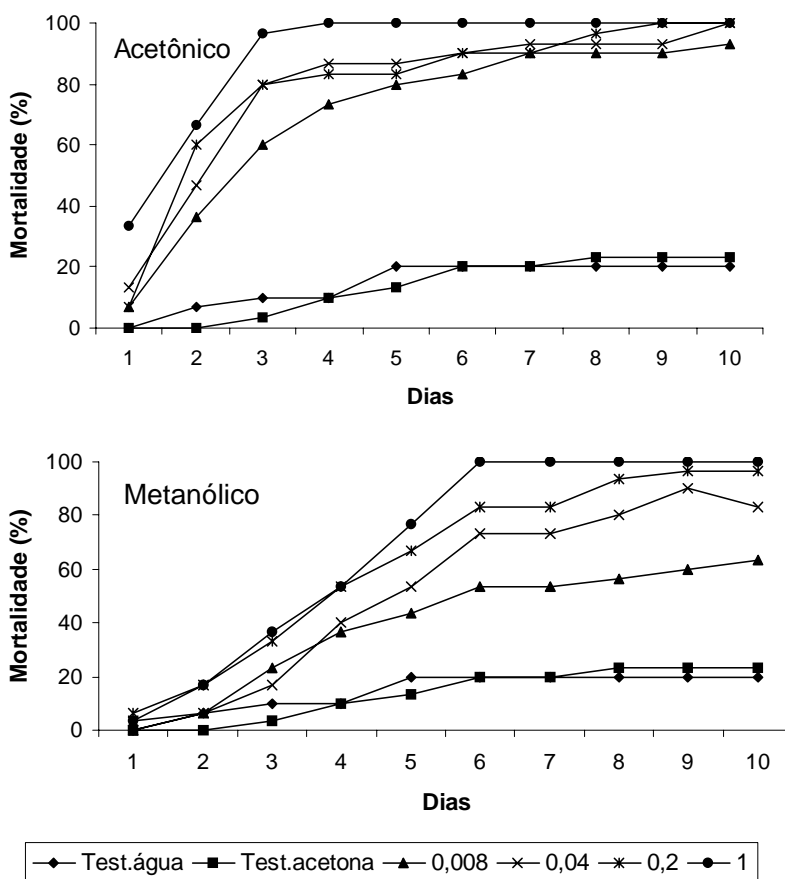


Figura 1. Mortalidade diária acumulada de lagartas de *S. frugiperda* criadas em folhas de milho tratadas com o extrato acetônico e metanólico de folhas de *T. pallida*.

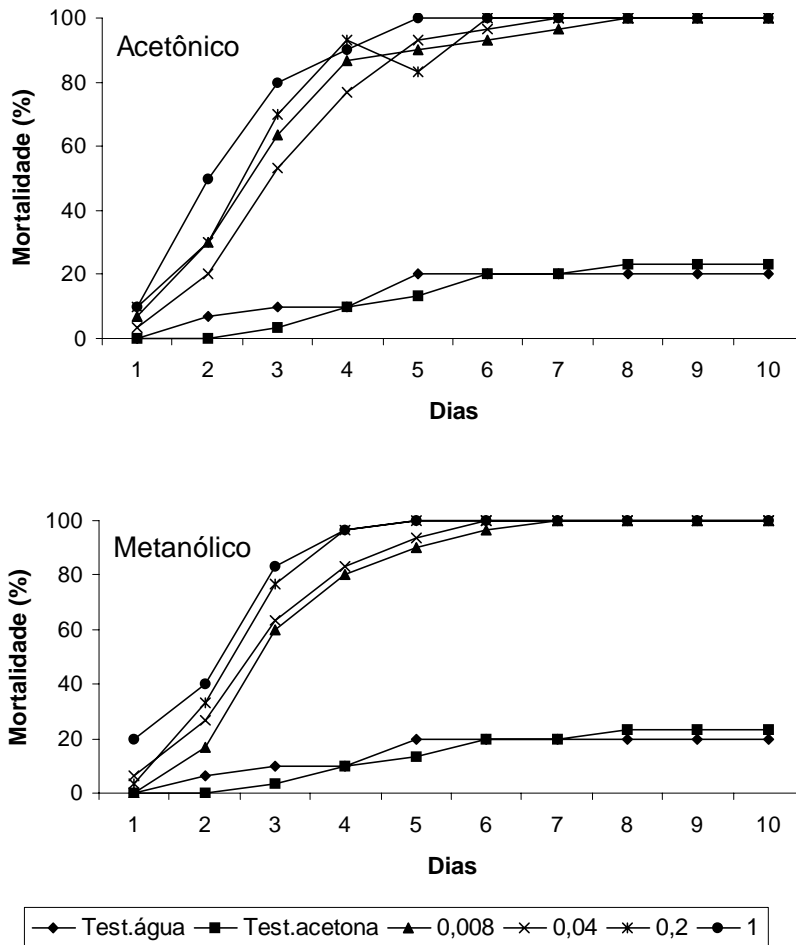


Figura 2. Mortalidade diária acumulada de lagartas de *S. frugiperda* criadas em folhas de milho tratadas com o extrato acetônico e metanólico de ramos de *T. pallida*.

e no TL_{50} obtidos para folhas e ramos, pôde-se concluir que o solvente acetona foi mais eficiente que o metanol na extração dos compostos ativos de *T. pallida*. Em função disso e por ser a acetona menos tóxica ao homem que o metanol durante o manuseio, esse solvente foi utilizado na segunda etapa do estudo. Considerando-se apenas o metanol, constatou-se que o extrato de ramos

apresentou maior toxicidade que o de folhas, o que também foi encontrado com o emprego de extratos aquosos dessa planta em relação a *S. frugiperda*, tanto quando incorporados em dieta artificial (Rodríguez & Vendramim 1996) como quando impregnados em folhas de milho (Vendramim & Torrecillas 1998).

Atividade dos extratos acetato de etila e

Tabela 2. TL_{50} e IC_{95} para lagartas de *S. frugiperda* alimentadas com folhas de milho tratadas com os extratos acetônico e metanólico de folhas e ramos de *T. pallida*.

Extrato	Concentração (%)*			
	1	0,2	0,04	0,008
Acetona folhas	1,5 (1,3-1,7) a	2,3 (1,8-2,9) a	2,4 (1,9-2,9) a	3,1 (2,7-3,5) a
Acetona ramos	2,2 (2,1-2,4) b	2,6 (2,5-2,7) a	3,1 (3,0-3,2) b	2,8 (2,6-3,0) a
Metanol folhas	3,7 (3,3-4,1) c	4,1 (4,0-4,3) b	5,2 (4,9-5,6) c	7,3 (6,4-8,3) b
Metanol ramos	2,1 (1,6-2,7) ab	2,4 (2,4-2,5) a	2,8 (2,7-2,9) a	3,1 (2,9-3,3) a

* Valores de TL_{50} seguidos de mesma letra, nas colunas, não diferem entre si ($P \leq 0,05$), pelo sistema de sobreposição de intervalos de confiança.

hexânico obtidos da partição do extrato acetônico. Os extratos obtidos pela partição do extrato acetônico bruto de *T. pallida* apresentaram atividade diferenciada, dependendo da concentração (Tabela 3).

extrato de ramos foi menos tóxico que o de folhas. Nas duas concentrações menores, não houve diferença significativa entre as médias dentro de cada concentração, embora a 0,04%, aparentemente o extrato hexânico de ramos

Tabela 3. Mortalidade larval (%) (média \pm EP) de *S. frugiperda* cinco dias após o início da alimentação com folhas de milho tratadas com os extratos acetato de etila e hexânico de folhas e ramos de *T. pallida*.

Extrato	Concentração (%)*			
	1	0,2	0,04	0,008
Acet. etila folhas	87,5 \pm 4,0 a	72,5 \pm 2,5 a	30,0 \pm 6,4 a	17,5 \pm 3,1 a
Acet. etila ramos	95,0 \pm 3,1 a	82,5 \pm 3,1 a	35,0 \pm 6,1 a	25,0 \pm 4,0 a
Hexano folhas	62,5 \pm 10,5 b	30,0 \pm 3,1 b	25,0 \pm 5,6 a	17,5 \pm 3,0 a
Hexano ramos	37,5 \pm 8,8 c	15,0 \pm 2,5 b	7,5 \pm 3,1 a	10,0 \pm 2,5 a

*Médias seguidas da mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

Considerando-se a mortalidade larval no 5º dia após a aplicação dos extratos, verificou-se que apenas nas duas maiores concentrações (1 e 0,2%) houve diferença na atividade tóxica dos extratos, constatando-se maior mortalidade com acetato de etila que com hexano. A diferença no efeito das duas partes vegetais só foi observada com o extrato acetato de etila a 1%, onde se verificou que o

tenha apresentado menor atividade. As mortalidades registradas aos 5 dias nas testemunhas acetona e água foram, respectivamente, 7,5 e 0% (Figs. 3 e 4), indicando que, também nessa etapa, o experimento foi desenvolvido em condições adequadas. As mortalidades acumuladas nos dias subsequentes, até o final da avaliação (10º dia), também evidenciaram maior atividade

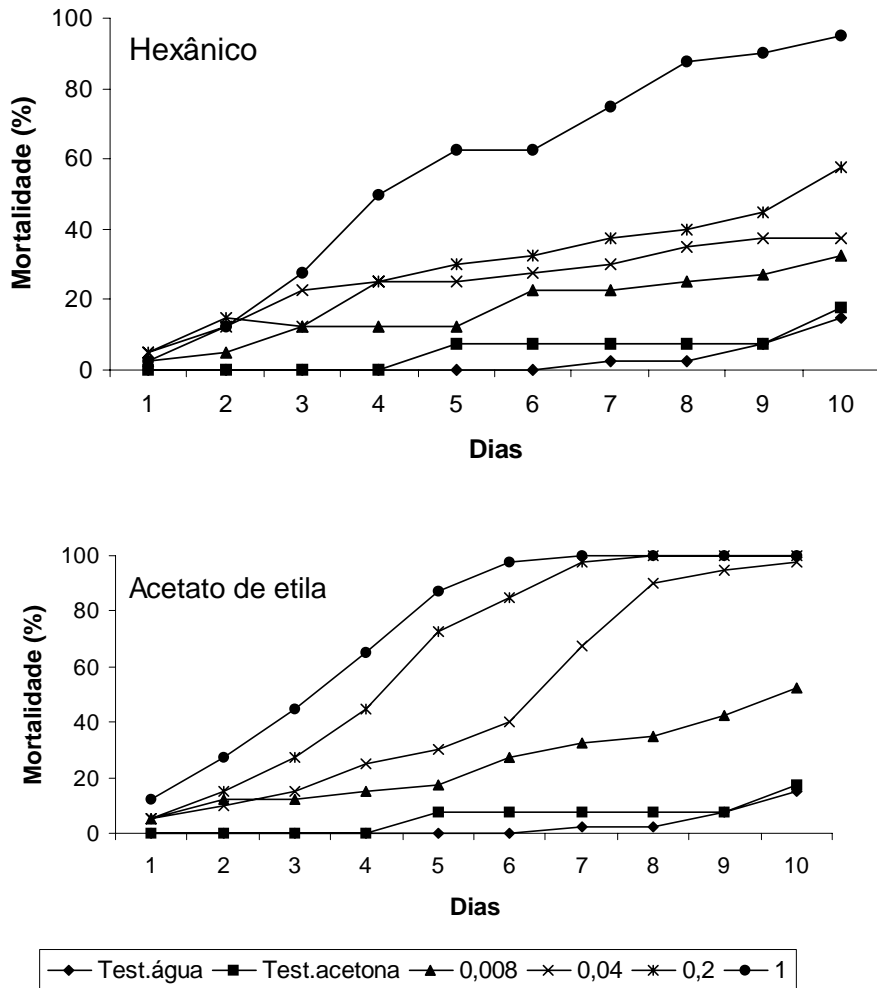


Figura 3. Mortalidade diária acumulada de lagartas de *S. frugiperda* criadas em folhas de milho tratadas com os extratos hexânico e acetato de etila de folhas de *T. pallida*.

do extrato acetato de etila em relação ao hexânico. Registrou-se para o extrato acetato de etila mortalidade total das lagartas nas duas concentrações maiores (aos 7 dias a 1% e aos 8 dias a 0,2%) tanto para o extrato de folhas quanto para o de ramos. Já para o extrato

hexânico, a mortalidade registrada aos 10 dias atingiu 100% somente com a concentração mais alta do extrato de ramos, na qual, para o extrato de folhas, a mortalidade foi de 95% (Figs. 3 e 4).

A maior atividade do extrato acetato de

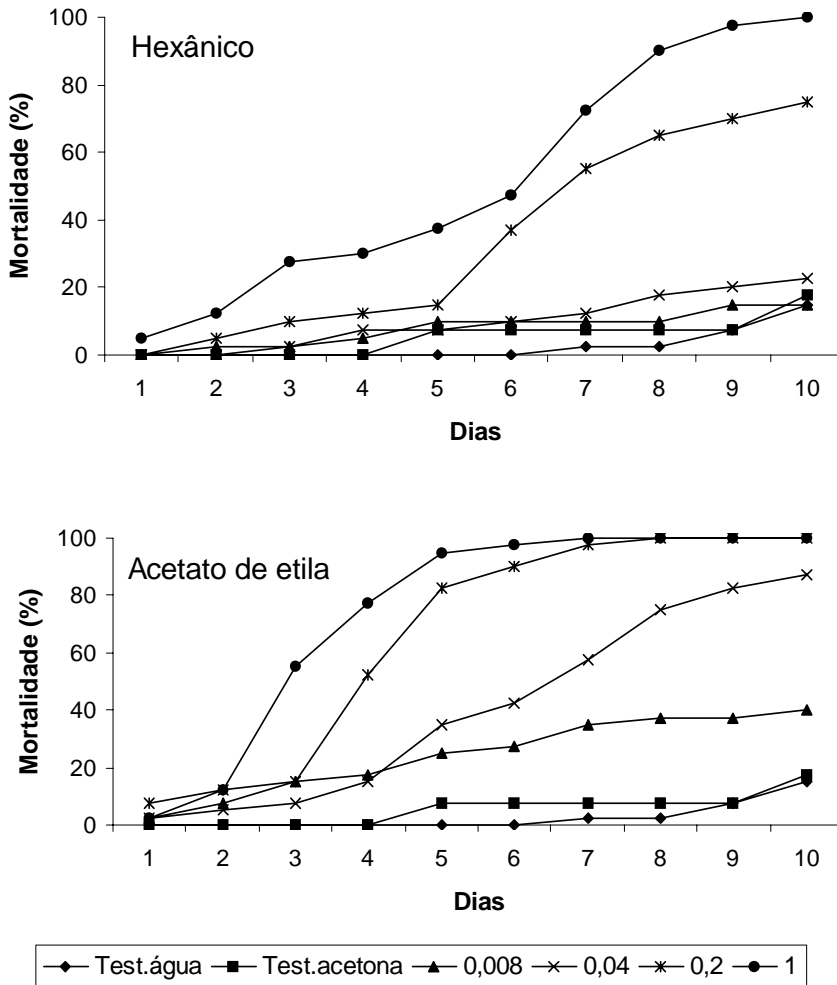


Figura 4. Mortalidade diária acumulada de lagartas de *S. frugiperda* criadas em folhas de milho tratadas com os extratos hexânico e acetato de etila de ramos de *T. pallida*.

etila em relação ao hexânico, nas duas maiores concentrações, pode ser confirmada pelos dados de TL_{50} , cujos valores foram sempre menores nesse extrato que no hexânico (Tabela 4). Para as duas concentrações menores, embora não tenha havido diferença

significativa entre os extratos na avaliação da mortalidade ao 5º dia (Tabela 3), pode-se constatar, através dos TL_{50} , que o extrato acetato de etila apresentou maior atividade que o hexânico obtido de folhas e ramos a 0,04% e de ramos a 0,008% (Tabela 4). Essa

Tabela 4. TL_{50} e IC_{95} para lagartas de *S. frugiperda* alimentadas com folhas de milho tratadas com os extratos acetato de etila e hexânico de folhas e ramos de *T. pallida*.

Extrato	Concentração (%)			
	1	0,2	0,04	0,008
Acet. etila folhas	2,9 (2,4-3,4) a	3,9 (3,5-4,3) a	5,6 (4,9-6,5) a	11,9 (9,5-14,9) a
Acet. etila ramos	3,1 (3,0-3,2) a	3,8 (2,5-5,8) a	6,4 (6,3-6,6) a	12,8 (11,0-14,9) a
Hexano folhas	4,5 (4,2-4,8) b	10,5 (8,9-12,3) c	16,7 (11,8-23,4) b	19,1 (13,7-26,8) ab
Hexano ramos	5,1 (4,3-5,9) b	7,3 (6,8-7,8) b	17,8 (15,3-20,7) b	29,0 (15,5-54,5) b

*Valores de TL_{50} seguidos de mesma letra, nas colunas, não diferem entre si ($P \leq 0,05$), pelo sistema de sobreposição de intervalos de confiança.

discrepância, quando se comparam os dois parâmetros utilizados para diferenciação da atividade dos extratos, pode ser explicada pelo maior incremento da mortalidade larval, a partir do 5º dia, no extrato acetato de etila que no hexânico, o que pode ser confirmado pela maior mortalidade acumulada aos 10 dias tanto a 0,04% (97,5 e 87,5% para acetato de etila e 37,5 e 22,5% para hexano) como a 0,008% (52,5 e 40,0% para acetato de etila e 32,5 e 15,0% para hexano), respectivamente, com folhas e ramos (Figs. 3 e 4).

Com base nestes dados, concluiu-se que o extrato acetato de etila apresentou maior atividade que o hexânico. No extrato acetato de etila, os dados com folhas e ramos foram semelhantes para os dois parâmetros analisados, podendo as duas partes vegetais ser utilizadas indistintamente no preparo de extratos de *T. pallida*.

Embora os solventes tenham sido avaliados em duas etapas, os dados de mortalidade e de TL_{50} permitem concluir que a maior atividade tóxica dos extratos foi obtida com a extração por acetona, seguindo-se o metanol, o acetato de etila e o hexano.

Literatura Citada

- Koul, O., M.B. Isman & C.M. Ketkar. 1990.** Properties and uses of neem, *Azadirachta indica*. Can. J. Bot. 68: 1-11.
- Lagunes T., A. & C. Rodríguez H. 1992.** Los extractos acuosos vegetales con actividad insecticida: el combate de la conchuela del frijol. Texcoco: USAID-CONACYT-SME-CP, 57p. (Temas Selectos de Manejo de Insecticidas Agrícolas, 3).
- Mikolajczak, K.L., B.W. Zilkowski & R.J. Bartelt. 1989.** Effect of meliaceous seed extracts on growth and survival of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). J. Chem. Ecol. 15: 121-128.
- Mikolajczak, K.L. & D.K. Reed. 1987.** Extractives of seeds of the Meliaceae: Effects on *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith), *Acalymma vittatum* (F.), and *Artemia salina* Leach. J. Chem. Ecol. 13: 99-111.
- Mordue (Luntz), A.J. & A. Blackwell. 1993.** Azadirachtin: an update. J. Insect Physiol. 39: 903-924.
- Rodríguez H., C. & A. Lagunes T. 1990.** Polvos vegetales y minerales; una opción de combate de insectos plaga en el almacenamiento rústico. Simpósio Nacional de Entomología de Productos Almacenados, 2., Oaxaca. 1990. Perspectivas de la Investigación en

México. Oaxaca: Sociedad Mexicana de Entomología, p.13-28.

Rodríguez H., C. & A. Lagunes T. 1992. Plantas con propiedades insecticidas: resultados de pruebas experimentales en laboratorio, campo y granos almacenados. *Agroproductividad 1*: 17-25.

Rodríguez, H. C. & J.D. Vendramim. 1996. Toxicidad de extractos acuosos de Meliaceae en *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Man. Integr. Plagas 42*: 14-22.

Schmutterer, H. 1988. Potential of azadirachtin-containing pesticides for integrated pest control in developing and industrialized countries. *J. Insect Physiol. 34*: 713-719.

Vendramim, J.D. 1997. Uso de plantas inseticidas no controle de pragas. Ciclo de Palestras sobre Agricultura Orgânica,

2, Campinas: 1997. Campinas: Fundação Cargill, p.64-69.

Vendramim, J.D. & S.M. Torrecillas. 1998. Efecto de extractos acuosos de *Trichilia pallida* (Meliaceae) y genotipos resistentes de maíz sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). Simpósio Internacional sobre Substancias Vegetales y Minerales en el Combate de Plagas, I., Acapulco, México, Colégio de Postgraduados. p. 133-144.

Xie, Y.S., M.B. Isman, P. Gunning, S. Mackinnon, J.T. Arnason, D.R. Taylor, P. Sánchez, C. Hasbun & G.H.N. Towers. 1994. Biological activity of extracts of *Trichilia* species and the limonoid hirtin against lepidopteran larvae. *Biochem. System. Ecol. 22*: 129-136.

Aceito em 14/09/2000.
