ANA REGINA LUCENA HOFFMANN
EFEITO DAS MUDANÇAS CLIMÁTICAS SOBRE A LAGARTA HELICOVERPA NOS BIOMAS MATOGROSSENSES E A FITOQUIMICA COMO ALTERNATIVA PARA O MANEJO DESTA PRAGA

ANA REGINA LUCENA HOFFMANN

EFEITO DAS MUDANÇAS CLIMÁTICAS SOBRE A LAGARTA HELICOVERPA NOS BIOMAS MATOGROSSENSES E A FITOQUIMICA COMO ALTERNATIVA PARA O MANEJO DESTA PRAGA

Dissertação apresentada à Universidade do Estado de Mato Grosso, como parte das exigências do Programa de Pós graduação Stricto Sensu em Ambiente e Sistemas de Produção Agrícola para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dra Mônica Josene

Barbosa Pereira.

Co-orientador: Rivanildo Dallacort

TANGARÁ DA SERRA/MT - BRASIL 2016

ANA REGINA LUCENA HOFFMANN

EFEITO DAS MUDANÇAS CLIMÁTICAS SOBRE A LAGARTA HELICOVERPA NOS BIOMAS MATOGROSSENSES E A FITOQUIMICA COMO ALTERNATIVA PARA O MANEJO DESTA PRAGA

Dissertação apresentada a Universidade do Estado de Mato Grosso, como parte das exigências do programa de Pós-Graduação em Ambiente e Sistemas de Produção Agrícola, para qualificação.

APROVADA em 25 de Fevereiro de 2016.

Banca Examinadora

Prof. Dra. Mônica Josene Barbosa Pereira (orientadora) Universidade do Estado de Mato Grosso-UNEMAT

Prof. Dra. Lucia Madalena Vivan (membro externo)

FUNDAÇÃO-MT

Rucie m Tivau

Prof. Dra. Sandra Mara Alves da Silva Neves (membro interno) Universidade do Estado de Mato Grosso-UNEMAT

> TANGARÁ DA SERRA/MT - BRASIL 2016

DEDICATÓRIA

Ao meu marido	Cassio Hoffmann	e toda minha	família que	sempre me a	poiou.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me conceder esta oportunidade, por me dar diariamente suas bênçãos, seu amparo poderoso.

Ao meu marido Cassio Hoffmann, minha família, minha mãe Glacieli Quadros e minha avó Maria D. C. Quadros que sempre me incentivaram apoiaram e me deram ombro amigo, ao meu parceiro das madrugadas Algodão e amiga alegre Frida. A grande amiga em que me espelho e que me deu apoio Angélica Massaroli, as companheiras Thais Braga, Aluizian Fernandes, Nayara Evelin da Silva e Hellen Kozelynk.

À minha "família científica" em especial a minha "mãe" (orientadora), Dra. Mônica Josene Barbosa Pereira, por ter acreditado em mim ao me conceder esta oportunidade me ensinando cada dia mais. Ao meu co-orientador Dr. Rivanildo Dallacort pelas tardes dedicadas ao meu aprendizado e crescimento, muito obrigada. E ao meu "avô científico" Dr. Antônio Euzébio Goulart Santana e toda sua equipe, por serem tão pacientes e queridos ao transmitirem seus conhecimentos, por me receber em seu Laboratório de Química de Produtos Naturais, Departamento de Química, Universidade Federal de Alagoas, para desenvolver parte da pesquisa.

Estas pessoas foram fundamentais na elaboração deste processo e merecem ser lembradas. A equipe do Laboratório de Entomologia da Universidade do Estado de Mato Grosso, em especial a equipe de criação de lepidópteros, Cristina Sanini, Thais Braga, Fabrício Coletti, e também Bruna Camila Gualda Bersani e Leandra Amorim. Ao Cleonir Andrade Faria Junior por disponibilizar seu bem mais precioso, o TEMPO, para me ajudar.

A Associação de Produtores de Soja e Milho do Estado de Mato Grosso (APROSOJA), pelo financiamento do projeto. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida.

A todos do programa de pós-graduação em Ambiente e Sistema de Produção Agrícola e aos professores convidados que compartilharam seus conhecimentos.

Peço perdão pelos nomes não citados, pois seria impossível citar um por um, mesmo assim agradeço profundamente a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a execução deste trabalho.

À Todos meu Muito Obrigada!!!!

EPÍGRAFE

Senhor Deus, dai-me a invasão da inteligência, a faculdade de lembrar-me, o método e a facilidade do estudo, a profundidade na interpretação e uma graça abundante de expressão.

(Oração de Dom Aquino - Antes dos estudos)

SUMÁRIO

RESUMO	5
ABSTRACT	7
INTRODUÇÃO	1
REFERÊNCIAS	7
Efeitos das mudanças climáticas sobre <i>Helicoverpa armigera</i> Hübner (L Noctuidae) nos biomas matogrossenses	• •
Fitoquímica dos compostos ativos de Annona mucosa no controle de I	Helicoverpa
armigera hübner (Lepidoptera: Noctuidae)	24
CONSIDERAÇÕES FINAIS	46

RESUMO

O clima de uma localidade pode mudar ao longo do tempo através de alterações ambientais antrópicas, como o desmatamento para implantação de monoculturas, o que favorece o aumento da temperatura e altera o ciclo de vida das pragas. Na cultura da soja, a lagarta Helicoverpa armigera ataca desde a fase vegetativa até a reprodutiva, causando prejuízos na produção. Para seu controle são utilizados produtos químicos causadores de problemas ambientais, desta maneira as plantas com potencial inseticida são uma alternativa promissora no controle de pragas por não agredirem o ambiente. Assim, este trabalho teve como objetivo conhecer o impacto das mudanças climáticas nas gerações de H. armigera nos municípios produtores de soja sobre influência dos biomas matogrossenses e avaliar o potencial fitoquímico da fruta do conde Annona mucosa sobre esta praga. Para quantificar o número de gerações de H. armigera no período atual (2010-2014) e em 2100 com as mudanças previstas no cenário A2 foram usados modelos matemáticos. Foram elaborados mapas para avaliar o efeito do aumento da temperatura no número de gerações da praga, nos biomas presentes no estado. Para conhecer a atividade inseticida de *A. mucosa* foram testados sobre lagartas de H. armigera o extrato bruto, quatro frações (hidrometanólica, acetato de etila, hexânica e clorofórmica) e frações ricas em acetogeninas. Nestes bioensaios foi avaliada a mortalidade de lagartas. A identificação dos compostos foi feita através de uma análise de ressonância magnética nuclear e cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas. Após testar a distribuição dos dados foi aplicado o teste de comparação de médias. No período atual e na projeção para o ano de 2100 os municípios do Estado apresentaram temperatura ótima para o desenvolvimento de *H. armigera*, fazendo com que a praga expresse seu maior potencial reprodutivo. Na projeção para o ano de 2100 a praga apresentará entre 13,86 e 17,30 gerações anuais e o ambiente mais propício para seu desenvolvimento será em áreas de soja no Bioma amazônia. As maiores concentrações do extrato bruto de A. mucosa causaram a mortalidade de lagartas de H. armigera. Nos bioensaios com frações, a hexânica apresentou melhores resultados na mortalidade de lagartas. Os compostos ativos identificados nesta fração foram acetogeninas e ácidos carboxílicos. Os resultados desta pesquisa trazem um alerta, pois indicam que no futuro a lagarta

helicoverpa pode ser um fator limitante na produção de soja no Bioma amazônia, que é a nova fronteira agrícola do País. A fruta do conde apresenta-se como fonte de moléculas ativas, para a geração de novos produtos a serem utilizados no manejo desta lagarta na cultura da soja.

Palavras chave: Número de gerações, temperatura ótima, acetogeninas, ácidos carboxílicos, frações.

ABSTRACT

The climate of a location can change over time through anthropogenic environmental changes such as deforestation for monoculture, which favors increasing temperature and changes the life cycle of pests. On soybeans, the Helicoverpa caterpillar attacks from the leaf to the pod, causing losses in production. For their control chemicals are used causing environmental problems, this way the plants with insecticide potential are a promising alternative in pest control because they don't harm the environment. This paper aimed to know the impact of climate change on generations of *H. armigera* in soy producing cities under the influence of Mato Grosso biomes and evaluate the phytochemical potential of count fruit about this plague. To quantify the number of *H. armigera* generations in the current period (2010-2014) and in 2100 with the expected changes in the A2 scenario mathematical models were used. Maps were designed to evaluate the effect of temperature increase in the number of pest generations on the biomes present in the state. To know the insecticide A. mucosa activity for H. armigera caterpillars, the crude extract, four fractions (hydromethanol, ethyl acetate, hexane and chloroform) and rich fractions acetogenins were tested. In these bioassays and mortality of caterpillars was evaluated. The identification of compounds was performed by a nuclear magnetic resonance analysis and gas chromatography-mass spectrometry. After testing the data distribution, comparison test of averages was used (Kruskal-Wallis). In the current period and in the projection for the year 2100 the state municipalities showed optimum temperature for the development of *H. armigera*, causing the pest to express their greatest reproductive potential. In the projection for the year 2100 the pest presents between 13.86 and 17.30 generations per year and the best environment for their development is in soybean fields of biome Amazon. The highest concentrations of crude extract of A. mucosa caused the caterpillars of H. armigera mortality. In bioassays with fractions, the hexane showed better results in caterpillar mortality. The active compounds identified in this fraction were acetogenins and carboxylic acids. The results of this research bring a warning, since they indicate that in the future Helicoverpa caterpillar may be a limiting factor in soybean production in the Amazon biome, which is the new agricultural frontier of the country. The fruit of Count presents itself as a source of active molecules for the generation of new products to be used in the management of this caterpillar in soybean.

Keywords: Number of generations , optimum temperature , acetogenins , carboxylic acids, fractions.

INTRODUÇÃO

O clima a nível regional é determinado por fatores como incidência dos raios solares conforme a posição geográfica, a altitude, as massas de ar, a continentalidade e também pelas correntes marítimas. Estes fatores que determinam a variação de temperatura, de umidade do ar, variação dos ventos e chuvas de uma localidade ao longo do ano (RIBEIRO, 1993).

As mudanças climáticas regionais ocorrem através das alterações ambientais que podem ser decorrentes do processo de antropização, no qual a vegetação original de uma determinada área é substituída por produtos de interesse agrícola ou até mesmo para habitação. Estas mudanças vão alterar a capacidade de retenção de água do solo, a taxa de evapotranspiração e consequentemente alterará o regime pluviométrico local, permitindo assim, alterações na variação de temperatura durante as estações climáticas anuais (NOBRES, 2008).

As mudanças climáticas estão descritas no relatório do Painel Intergovernamental onde são registradas diferentes possibilidades de mudanças climáticas, gerando cenários futuros diferentes (A1, A2, B1, B2), os quais exploram caminhos alternativos de desenvolvimento e incorporam uma série de possibilidades demográficas, econômicas e tecnológicas resultantes das emissões de gases do efeito estufa. Estas previsões são usadas para prever futuras alterações climáticas, e seus pressupostos básicos sobre o desenvolvimento socioeconômico, tecnológico e demográfico, sendo estas o ponto de partida de muitos estudos sobre as avaliações de impacto das mudanças climáticas (IPCC, 2007).

O cenário A1 pressupõe um crescimento econômico global muito rápido, um máximo de população mundial até a metade do século, e a rápida introdução de novas tecnologias mais eficientes. Este cenário é subdividido em três direções alternativas de mudança tecnológica, sendo elas: A1FI - uso intensivo de combustíveis fósseis com aumento de temperatura em uma estimação ótima de 4,0°C com intervalo provável de 2,4°C a 6,4°C; A1T- fontes de energia não fóssil, com aumento de temperatura em uma estimação ótima de 2,4°C com intervalo provável de 1,4°C a 3,8°C; - A1B equilíbrio entre as fontes de energia fóssil e não fóssil com aumento de temperatura em uma estimação ótima de 2,8°C com intervalo provável de 1,7°C a 4,4°C (IPCC, 2007).

O cenário B1 descreve um mundo convergente com a mesma população global que A1, mas com uma evolução mais rápida de estrutura econômica em direção a uma economia de serviços e informação. Neste cenário o aumento de temperatura é estimado em 1,8°C, com intervalo provável de 1,1°C a 2,9°C (IPCC, 2007).

O cenário B2 descreve um mundo com população intermediária e crescimento econômico intermediário, mais focado em soluções locais para alcançar a sustentabilidade econômica, social e ambiental. O aumento de temperatura em uma estimação ótima é de 2,4°C com intervalo provável de 1,4°C a 3,8°C (IPCC, 2007).

O cenário A2 descreve um mundo muito heterogêneo com forte crescimento da população, com desenvolvimento econômico lento e mudança tecnológica lenta. O aumento de temperatura em uma estimação ótima de 3,4 °C com intervalo provável de 2,0 °C a 5,4 °C (IPCC, 2007).

A partir dos cenários do IPCC a EMBRAPA - Meio Ambiente, (2010) lançou o atlas digital dos cenários climáticos projetados para o Brasil, no qual estima as temperaturas mensais e por estações do ano para cada região do País. No Mato Grosso a anomalia de temperatura entre 2070 e 2100 no cenário A2 pode chegar à 5,4°C.

Nos últimos trinta anos o Cerrado foi palco da expansão da fronteira agrícola visando incrementar a produção de carnes e grãos para exportação, tamanha expansão pode ter causado a extinção de 20% de espécies endêmicas (BRASIL, 2016). Cerca de 67% das áreas de Cerrado são consideradas altamente modificadas e apenas 20% encontra-se em seu estado original (SIQUEIRA NETO et al., 2011).

O clima no Cerrado é do tipo Tropical de savana segundo a classificação de Köppen, as chuvas ficam concentradas durante o verão nos meses de outubro à abril sendo o mês com maior precipitação o de dezembro. A estação seca vai de maio à setembro, sendo junho, julho e agosto os meses mais secos. Este período também compreende o inverno, além do mais, é uma época em que podem ocorrer fenômenos conhecidos como friagens decorrentes da invasão do anticiclone polar que podem acarretar chuvas e queda nas temperaturas por até três dias (PICCILLI, 2007).

Irigaray et al. (2011) alertam que as alterações causadas no bioma Cerrado devido ao avanço do agronegócio podem alterar o período de chuvas e deixar o período de seca mais extenso e quente, colocando a produção de grãos e outros produtos sob risco.

A Amazônia é a mais recente fronteira agrícola no estado de Mato Grosso, com a necessidade contínua de produção de alimentos, o avanço sobre o território amazônico só necessita de mercado, infraestrutura e tecnologia para acontecer (MUELLER e MARTHA, 2008). Atualmente cerca de 80% da área que o bioma ocupa no estado permanece sem desmate (ALENCAR et al., 2004). A Amazônia do estado de Mato Grosso possui clima Tropical de monções, segundo a classificação de Köppen, com inverno ausente em relação à queda nas temperaturas e precipitação o ano todo, com volumes maiores durante o verão (1500mm) e menores durante o inverno (60 mm).

As mudanças no ambiente como a substituição da floresta por pastagens ou áreas de monocultura vem contribuir com o aumento de temperatura local auxiliando ainda mais o processo de savanização de parte da Floresta Amazônica onde apenas espécies mais adaptadas à seca prolongada e ao fogo sobreviveriam, neste ambiente. A agricultura e pecuária seriam beneficiadas com condições de seca na Amazônia, pois o excesso de chuvas é apontado como o responsável pela baixa produtividade nesta região (NOBRE, 2001).

Dentre os fatores ambientais a temperatura do ar é quem promove os maiores efeitos na fisiologia dos insetos, podendo interferir diretamente na taxa de reprodução, no período de oviposição, na fecundidade e na fertilidade destes organismos (RODRIGUES, 2004). Estas influências variam conforme o clima de cada localidade, logo seus efeitos devem ser elucidados com maior precisão possível, a fim de gerar conhecimento que auxilie no planejamento agrícola (MEDEIROS et al., 2005).

Estes aumentos de temperatura vão interferir diretamente na agricultura alterando o regime pluviométrico, aumentando a temperatura e também alterando a taxa de evapotranspiração do solo, além de interferir no ciclo de organismos relacionados com a agricultura como pragas e inimigos naturais (PARRY et al., 1990). Wilson e Maclean, (2011) afirmam que as mudanças climáticas alteram as condições ambientais, podendo tornar determinado local mais propício para o desenvolvimento de lepidópteros ou até mesmo impedir o estabelecimento de populações.

Segundo Silveira Neto et al. (1976), para completar o desenvolvimento, os insetos necessitam de calor e este é medido em graus dia recebidos. Se o valor de graus dia for maior, seu desenvolvimento será completado em menos tempo e consequentemente haverá mais gerações em determinado intervalo de tempo.

A interferência das mudanças climáticas sobre o número de gerações de pragas agrícolas pode ser determinada por modelos matemáticos como o uso de graus dia, neste caso utiliza-se a quantidade de graus dia que a espécie em estudo requer para completar seu desenvolvimento e a temperatura do ar, sendo esta uma variável independente dos demais fatores ambientais, gerando assim as previsões de ocorrência, as quais podem ser utilizadas para melhor entendimento sobre a dinâmica populacional da espécie, conforme cada localidade (AFONSO et al., 2009; PESSOA et al., 2014).

Dentre as pragas ocorrentes atualmente na cultura da soja, a lagarta *Helicoverpa* armigera (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) é quem apresenta maior adaptabilidade às condições ambientais e as possíveis mudanças climáticas, pois possui alta taxa de reprodução e pode sobreviver em condições ambientais desfavoráveis. Esta praga já ocorre na Europa, Ásia, África e Oceania e recentemente América do Sul, além de apresentar uma grande mobilidade podendo se deslocar até 1.000 km (EPPO, 1981; CZEPAK et al., 2013).

Esta praga teve seu primeiro registro no Brasil no ano de 2013 nos estados de Goiás, atacando cultivos de soja e algodão, nos estados de Mato Grosso e Bahia (CZEPAK et al., 2013). Contudo esta lagarta já consome mais de 60 plantas cultivadas em outras partes do mundo, conferindo assim, seu hábito polífago (PAWAR et al., 1986).

Entre as culturas atacadas por *H. armigera* destaca-se a soja, que é uma das principais *commodities* de Mato Grosso, com uma produção estimada de 28 milhões de toneladas para a safra 2015/2016 (CONAB, 2016). Estes valores, todavia, podem ser afetados pela ocorrência desta praga que permanece durante todo o ciclo da planta, consumindo desde folhas e caule, até as estruturas reprodutivas, gerando assim danos diretos à produção (ÁVILA et al., 2013).

Kretschmar et al. (2014) afirmam que em países de clima subtropical *H. armigera* pode ter em um ano de três a cinco gerações durante a primavera e que em países de clima tropical a mesma pode completar até 12 gerações por ano. Em estudo, Qureshi et al. (1999) baseados na temperatura e fotoperíodo de 1964 até 1994 estimaram quatro gerações de *H. armigera* a cada ano em Okayama no Japão onde o clima é temperado.

Por ser uma praga introduzida, *H. armigera* tem causado muita preocupação, pois pode disseminar-se pelo País, onde não encontra inimigos naturais específicos que controlem suas populações além de adaptar-se rapidamente às condições ambientais, como excesso de calor, frio e seca (FITT, 1989; ÁVILA et al., 2013). O principal método

empregado para o controle desta praga é o controle químico, o qual apresenta desvantagens como a contaminação ambiental, ressurgência de pragas, diminuição dos inimigos naturais e até problemas de saúde para o homem. Uma alternativa promissora aos produtos químicos é o uso de plantas com propriedades inseticidas para o controle de pragas, pois possuem rápida degradação no ambiente reduzindo assim, o impacto a organismos não alvo e ainda podem ser associados a outras estratégias de controle (CAVALCANTE; MOREIRA; VASCONCELOS, 2006; MOREIRA, et al., 2006).

No Brasil são autorizados temporariamente o uso de 11 produtos químicos para o controle de *H. armigera*, logo, a busca por novas moléculas com menor impacto no meio ambiente e que sejam eficientes no controle da praga se faz necessária, uma vez que, o processo de expansão da agricultura deve seguir o caminho da sustentabilidade, visando a preservação do ambiente (ÁVILA et al., 2013)

Segundo Medeiros et al. (2005) produtos naturais extraídos de plantas são fontes de substâncias bioativas compatíveis com programas de manejo integrado de pragas (MIP). Estas substâncias, na sua maioria, são provenientes do metabolismo secundário de plantas com potencial inseticida e podem ser encontradas nas raízes, folhas e sementes, sendo caracterizadas como rotenóides, piretróides, alcalóides e terpenóides (VASCONCELOS, 2006).

Dentre os vários compostos presentes nas plantas, apenas os provenientes do metabolismo secundário são separados pela fitoquímica clássica. Para chegar à identificação dos compostos bioativos de uma planta muitas etapas são necessárias, como a obtenção de extrato bruto, extratos semi-puros, frações e compostos puros, além dos testes para determinação da concentração letal (CECHINEL FILHO e YUNES, 2008).

Para a separação dos compostos secundários primeiramente é extraído da parte da planta o extrato bruto com solvente pouco polar como etanol ou metanol, como resultado obtém-se uma mistura rica em compostos com polaridade afim ao do solvente extrator. Em seguida deve-se realizar o fracionamento destes compostos, o principal método utilizado é o líquido-líquido, no qual solventes de polaridades crescentes vão sendo adicionados à massa da planta, visando a semi-purificação dos compostos conforme sua polaridade, selecionando assim grupos de compostos químicos diferentes (CECHINEL FILHO e YUNES, 2008). Após testes biológicos e a comprovação da eficácia de algumas frações provenientes de extrato bruto, se faz necessária a identificação dos

compostos presentes e as proporções destes nestas misturas (CECHINEL FILHO e YUNES, 2008).

Para tanto, o emprego de técnicas cromatográficas, inicialmente com colunas abertas com fase estacionária de sílica gel e a fase móvel com solventes de diferentes polaridades. O acompanhamento da eluição das substâncias ao longo dos procedimentos de purificação e isolamento pode ser feito por cromatografia de camada delgada, cromatografia líquida de alta eficiência e até mesmo bioensaios de atividade biológica. Com produtos mais puros a fase móvel empregada pode ser alterada usando, em alguns casos, sefadex, poliamida ou celulose e a fase móvel sendo um único solvente. Estes procedimentos devem ser realizados até que se obtenham as substâncias bioativas (CECHINEL FILHO e YUNES, 2008).

De acordo com Jacobson (1989), as famílias de plantas que podem ser usadas como fontes de metabólitos secundários são Annonaceae, Asteraceae, Fabaceae, Euphorbiaceae, Meliaceae, Piperaceae e Rutaceae. Dentre estas famílias destaca-se a Annonaceae que é uma das mais promissoras fontes de moléculas bioativas, devido à diversidade de metabólitos secundários (PINHEIRO, 2009).

Visto que a família anonaceae tem potencial para ser fonte de novas moléculas para o controle de praga e as mudanças climáticas podem interferir no desenvolvimento da praga de formas diferentes em cada bioma do Mato Grosso, este trabalho teve como objetivo analisar o impacto das mudanças climáticas nas gerações de *H. armigera* nos municípios produtores de soja sobre influência dos biomas matogrossenses e avaliando o potencial fitoquímico de *Annona mucosa* sobre esta praga.

Esta dissertação é composta por dois artigos, o primeiro intitulado de "Efeitos das mudanças climáticas sobre *Helicoverpa armigera* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) nos biomas mato-grossenses". E o segundo apresenta como título "Fitoquímica dos compostos ativos de *Annona mucosa*, no controle de *Helicoverpa armigera* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae)

REFERÊNCIAS

AFONSO, A.P.S.; WREGE, M.; MARTINS, J.F. DA S; NAVA, D.E. Simulação do zoneamento ecológico da lagarta-do-cartucho no Rio Grande do Sul com o aumento de temperatura. **Arquivos do Instituto Biológico.** v.76, n.4, p.607-612, 2009.

ALENCAR, A.; NEPSTAD, D.; McGRATH, D.; MOUTINHO,P.; PACHECO, P.; DIAZ, M.D.C.V.; SOARES FILHO, B. Desmatamento na Amazônia isso além da "emergência crônica". **IPAM – Instituto de pesquisa ambiental da Amazônia**. P. 1 – 84, 2004.

ÁVILA, C.J.; VIVAN, L.M.; TOMQUELSKI, G.V. Ocorrência, aspectos biológicos, danos e estratégias de manejo de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) nos sistemas de produção agrícolas. **(Circular técnica 23).** p. 1 – 12, 2013.

BRASIL: MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, BIOMAS. 2016 Disponível em:http://www.mma.gov.br/biomas > Acessado em: 06/01/2016. BRASIL, 2016

CAVALCANTE, G.M.; MOREIRA, A.F.C.; VASCONCELOS, S.D. Potencialidade inseticida de extratos aquosos de essências florestais sobre mosca-branca. **Pesquisa agropecuária brasileira**. Brasília, v.41, n.1, p. 9 - 14, 2006.

CECHINEL FILHO, V.C.; 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.

CONAB Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira** de grãos. v. 1, n.3, 2016.

CZEPAK, C; ALBERNAZ, K.C.; VIVAN, L.M.; GUIMARÃES, H.O.; CARVALHAIS, T. Primeiro registro de ocorrência de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) no Brasil. **Agropecuária Tropical,** v. 43, n. 1, p. 110 - 113, 2013.

EMBRAPA MEIO AMBIENTE: Atlas digital dos cenários climáticos futuros projetados para o Brasil com base no Terceiro Relatório do IPCC (2001): variáveis de interesse agrícola. Jaguariúna Embrapa Meio Ambiente, 2010. Disponível em: http://www.cnpma.embrapa.br/climapest/atlasdigital/apresentacao.html. Acessado em: 22/08/2015.

EPPO EUROPEAN AND MEDITERRANEAN PLANT PROTECTION ORGANIZATION Data sheets on quarantine PESTS nº 110: Helicoverpa armigera. Paris: **EPPO** (Boletin,110),1981.

FITT, G. P. The ecology of Heliothis species in relation to agroecosystems. **Annual Review of Entomology.** v. 34, p. 17-52, 1989.

IPCC, 2007 Cambio climático 2007: Informe de síntesis. Contribución de los Grupos de trabajo I, II y III al Cuarto Informe de evaluación del Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático [Equipo de redacción principal: Pachauri, R.K. y Reisinger, A. (directores de la publicación)]. **IPCC**, Ginebra, Suiza, 2007.

IRIGARAY, C.T.; SILVA, C.J.; MEDEIROS,H.Q.; GIRARD, P.; FAVA, G.C.; MACIEL, J.C.; SOBRINHO, L.G.N.; GALLO,R.L. O Pantanal Matogrossense enquanto patrimônio nacional no contexto das mudanças climáticas. *In* SILVA, Solange T., CUREAU, Sandra e LEUZINGER, Márcia (Orgs.). **Mudança do Clima. Desafios jurídicos, econômicos e socioambientais.** ISBN 978-85-62354-27-4. 2011.

JACOBSON, M. Botanical pesticides: Past, present and future. *In*: ARNASAN, J.T.; PHILOGENE, B.J.R.; MORAND, P.: Inseticide of plant origin. **American chemical society**. p. 1 – 10. 1989.

KRETSCHMAR, J.B.V.; HARDIN, J.A.; MAGUYLO, K. New Pest Response Guidelines *Helicoverpa armigera* (Hübner) Old World Bollworm. **First Edition Issued**, 2014.

LAMMERS, J.W.; MACLEOD, A. Report of a pest risk analysis *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1808). **Plant Protection Service and Central Science Laboratory**. n.1, v.1 p. 1 – 18, 2007.

MEDEIROS, S.S.; CECÍLIO, R.A.; MELO JÚNIOR, J.C.F.; SILVA, J.L.C. Estimativa e especialização das temperaturas do ar mínimas, médias e máximas na região Nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.9, n.2, p.247 – 255, 2005.

MOREIRA, M. D.; PICANÇO, M. C.; SILVA, E. M.; MORENO, S. C. & MARTINS, J. C. Uso de inseticidas botânicos no controle de pragas in: Venzon, M.; Júnior, T. J. P.; Pallini, A. 2006. **Controle alternativo de pragas e doenças**. cap.5 – p.89.

MUELLER, C.C.; MARTHA JR, G.B. A agropecuária e o desenvolvimento sócio-econômico recente do Cerrado. *In*: SIMPÓSIO NACIONAL CERRADO, 9.; **Simpósio internacional savanas tropicais**, Embrapa Cerrados, p. 1-41, 2008.

NOBRE, C.A. Mudanças climáticas globais: possíveis impactos nos ecossistemas do país. **Modelos e cenários para a Amazônia: o papel da ciência. Parcerias estratégicas**. v.1, n. 12, p. 240 – 258, 2001.

NOBRES, C. Mudanças climáticas e o Brasil – Contextualização. Parcerias estratégicas. **Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (Inpe**). Brasília, n.27, n.1, p.7-17, 2008.

PARRY, M.L.; PORTER, J.H.; CARTER, T.R. Agriculture: Climatic change and its implications. **Tree**, n.9, v.5, 1990.

PAWAR, C.S.; BHATNAGAR, V.S.; JADHAV, D.R. Heliothis species and their natural enemies, with their potential for biological control. **Indian Acad. Sci. (Anim. Sci.)**, v. 95, n.6, p. 695-703. 1986.

PESSOA, M.C.P.Y.; MARINHO-PRADO, J.S.; SÁ, L.A.N. Avaliação do potencial desenvolvimento de *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1808) (Lepidoptera: Noctuidae) em cultivo de soja na região de Barretos – norte do estado de São Paulo. **Embrapa Meio Ambiente**, 2014.

PICCILLI, D.G.A. Avaliação da previsão hidroclimática no Alto Paraguai. **Tese de doutorado**, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1 – 195, 2007.

PINHEIRO, M.L.B; XAVIER, C.M.; SOUZA, A.D.L.; RABELO, D.M.; BATISTA, C.L.; BATISTA, R.L.; COSTA, E.V.; CAMPOS, F.R.; BARISON, A.; VALDEZ, R.H.; UEDA-NAKAMURAC, T.; NAKAMURAC, C.V. Acanthoic Acid and other Constituents from the Stem of Annona amazonica (Annonaceae). **J. Braz. Chem. Soc.** v. 20, n. 6, p.1095-1102, 2009.

PORTER, J.H.; PARRY, M.L.; CARTER, T.R. The potential effects of climatic change on agricultural insect pests. **Agricultural and Forest Meteorology**, v. 57, n.1, p.221 – 240, 1991.

QURESHI, M.H.; MURAI, T.; YOSHIDA, H.; SHIRAGA, T.; TSUMUKI, H. Effects of photoperiod and temperature on development and diapause induction in the Okayama population of *Helicoverpa armigera* (Hb.) (Lepidoptera: Noctuidae). **Appl. Entomol.** v. 34, n. 3, p. 327 – 331, 1999.

RIBEIRO, A.G. As escalas do clima. **Boletim de geografia teorética**. v. 23, n.46, p. 288 – 294, 1993.

RODRIGUES, W.C. Fatores eu influenciam no desenvolvimento dos insetos. Entomologistas do Brasil. n.1, v.4, p. 1 – 4, 2004.

SIQUEIRA NETO, M.; PICCOLO, M.B.; COSTA JUNIOR, C.; CERRI, C.C.; MARTIAL BERNOUX, M. Emissão de gases do efeito estufa em diferentes usos da terra no bioma Cerrado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.35, n. 1, p. 63 – 76, 2011.

SILVEIRA NETO, S., O. NAKANO, D. BARBIN & N. A. Villa. **Manual de ecologia dos insetos**. São Paulo, Ceres, p. 419, 1976.

VASCONCELOS, G. J. N. et al. Extratos aquosos de *Leucaena leucocephala* e *Sterculia foetida* no controle de *Bemisia tabaci* biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae). **Ciência Rural**, v. 36, n. 5, p. 1353-1359, 2006.

WILSON, R.J.; MACLEAN, I.M.D. Recent evidence for the climate change threat to Lepidoptera and other insects. **J. Insect Conserv**. v. 15, n.1, p. 259 –268, 2011.

Efeitos das mudanças climáticas sobre *Helicoverpa armigera* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) nos biomas matogrossenses

Effects of climate change on *Helicoverpa armigera* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) in Mato Grosso biomes

[Ciência rural]

RESUMO

Helicoverpa armigera pode ter seu desenvolvimento alterado em função do aumento de temperatura proveniente das alterações no clima. Este trabalho teve como objetivo avaliar o impacto do aumento da temperatura, derivado das mudanças climáticas, no número de gerações de *H. armigera* nas áreas produtoras de soja situadas nos biomas Amazônia e Cerrado presentes no estado de Mato Grosso. Os dados diários de temperatura do estado foram preenchidos no software Clima. Para quantificar o número de gerações de H. armigera no período atual (2010-2014) e na projeção para 2100 foram usados modelos matemáticos. Foram elaborados mapas para avaliar o efeito do aumento da temperatura no número de gerações da praga em função dos biomas presentes no estado. Na atualidade e no ano de 2100 a temperatura média das localidades estudadas concentrou-se dentro da faixa ótima para desenvolvimento de H. armigera, fazendo com que a praga expresse seu maior potencial reprodutivo, com uma previsão de 10 a 17 gerações anuais. Neste contexto esta praga que ocorre nos municípios produtores de soja do Cerrado acompanhará o avanço da fronteira agrícola sobre o Bioma amazônia no estado de Mato Grosso.

Palavras chave: Temperatura, Número de gerações, Amazônia Cerrado, lagarta

ABSTRACT

Helicoverpa armigera can have their development changed due to the temperature rise from the climate changes. This study aimed to know the impact of climate change in the number of *H. armigera* generations under the influence of Mato Grosso biomes in soy producing areas. Daily data of the state temperatures were filled on software Clima. To quantify the number of *H. armigera* generations in the current period (2010-2014) and in the projection for 2100 mathematical models have been used. Maps were designed to evaluate the effect of temperature increase in the number of pest generations according to the present biomes in the state. Nowadays and in the year 2100 the average temperature of the locations studied were concentrated within the optimum range for *H. armigera* development, making the pest express its greatest reproductive potential, with a forecast 10-17 generations per year. In this context this plague that already occurs in the cerrado soy producing municipalities monitor the advance of the agricultural frontier into the Amazon biome in the state of Mato Grosso.

Keywords: Temperature, number of generations, Amazonia, Cerrado , caterpillar

INTRODUÇÃO

A ocorrência de insetos praga pode ser determinada pelas condições climáticas de uma localidade, pois afetam diretamente o desenvolvimento e o comportamento e indiretamente a alimentação (SILVEIRA NETO et al. 1976). Porter et al. (1991) destacam que, os locais de ocorrência, o período de hibernação, a taxa de desenvolvimento, o número de gerações, bem como o período de ocorrência de pragas pode ser alterado pelas mudanças climáticas.

As mudanças climáticas para o Centro Oeste do Brasil foram previstas pela Embrapa Meio Ambiente (2010). Estas alterações são descritas para cada mês do ano e variam entre 3,4 °C e 4,7 °C para o período de 2070 a 2100 no cenário pessimista (A2), onde ocorrerá forte crescimento populacional e o desenvolvimento econômico e as mudanças tecnológica serão lentas (IPCC, 2007). De acordo com Assad e Pinto (2008) com estas mudanças a soja, que possui o maior valor de produção da agricultura brasileira, deve ser a cultura mais afetada com perdas de 41,39% (7,6 bilhões de reais) em 2070 no estado de Mato Grosso.

Os insetos necessitam de calor para completar seu desenvolvimento, e este é medido em graus dia recebidos. Se o valor de graus dia for maior, seu desenvolvimento será completado em menos tempo e consequentemente haverá mais gerações em determinado intervalo de tempo (SILVEIRA NETO et al., 1976).

Helicoverpa armigera (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) teve seu primeiro registro no Brasil no ano de 2013. Originária da Austrália, a praga se disseminou e hoje ocorre em vários continentes, tais como: Europa, Ásia e África (CZEPAK et al., 2013; EPPO, 1981). Esta praga apresenta grande mobilidade e alta capacidade de sobrevivência, podendo completar várias gerações ao ano (FITT, 1989). Desde sua ocorrência no Brasil, vem causando prejuízos às principais culturas agrícolas do País (SUGAYAMA et al., 2015).

Insetos herbívoros como *H. armigera* podem ser influenciados diretamente pelas mudanças climáticas, sofrendo impactos em sua fisiologia e comportamento. A temperatura exerce efeitos mais relevantes sobre estes organismos do que qualquer outro fator do clima (BALE et al., 2002).

Os graus dia e a temperatura do ar podem ser utilizados para prever o número de gerações de pragas agrícolas, estas informações podem ser geradas através de modelagem matemática (AFONSO et al., 2009; PESSOA et al., 2014).

Afonso et al. (2009) estimaram o número de gerações de dois biótipos de lagarta do cartucho no arroz e no milho, nas condições atuais e em três cenários futuros de aumento de temperatura, com aquecimento de 1°C, 3°C e 5,8°C, nos próximos 90 anos. No ano de 2009, o número de gerações do biótipo arroz foi de 6 e no biótipo de milho variou de 7 à 8 por ano. Com o incremento na temperatura estes biótipos podem apresentar até 14 gerações anuais. Esta previsão de crescimento das populações de *S. frugiperda* pode ser um fator limitante, para a expansão da cultura do milho e do arroz no Rio Grande do Sul.

Moraes et al. (2014), com dados de temperatura atuais e previsões de mudanças climáticas, estimou o número de gerações para a atualidade e para o final do século em dois cenários (B1 e A2) para populações da mosca negra do citros *Aleurocanthus woglumi* Autor (Hemiptera: Aleyrodidae). Durante os anos de 2001 a 2007 foram estimadas 15 gerações anuais e verificou-se que com as mudanças climáticas até o final do século, o número de gerações terá um aumento de até 50% na população, dessa forma, isso pode acarretar prejuízos às safras de citros e queda na qualidade e produtividade dos frutos.

Pessoa et al. (2014) estimaram que *H. armigera* apresenta 3 gerações durante o período de cultivo da soja (outubro a fevereiro) na região Guaíra, São Paulo. A quarta geração da praga estaria na fase de pupa (enterrada no solo) durante a colheita. Se restos de plantas de soja, soja tiguera ou guaxa ficassem no local, o número de gerações poderia chegar até oito, permitindo assim, que esta praga migrasse para outras culturas na região.

Mediante as possíveis alterações climáticas que vão interferir no desenvolvimento de pragas é notória a necessidade de conhecer como esse processo ocorrerá no Mato Grosso, portanto este trabalho teve como objetivo analisar* o impacto do aumento da temperatura, derivado das mudanças climáticas, no número de gerações de *H. armigera* nas áreas produtoras de soja situadas nos biomas Amazônia e Cerrado presentes no estado de Mato Grosso.

MATERIAL E MÉTODOS

Local e instalações

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Meteorologia, vinculado ao Centro de pesquisas e Desenvolvimento Agro ambientais – CPEDA da Universidade do estado de Mato Grosso, *Campus* de Tangará da Serra. Os dados diários de temperaturas máxima, mínima e média em °C das estações meteorológicas do estado do Mato Grosso foram cedidos pelo Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) (Tabela 1). As falhas nas séries temporais dos anos de 2010 a 2014 foram preenchidas no *software* Clima.

Para esta pesquisa foram selecionados os municípios com maior produção de soja, por meio dos dados disponibilizados *on-line* pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2015) e identificados através de números para melhor entendimento dos mapas. Para delimitar a qual bioma o município pertence utilizouse como referência Missawa et al. (2008).

Tabela 1: Estações meteorológicas do estado do Mato Grosso.

Estação	Latitude	Longitude	Altura (m)	Estação	Latitude	Longitude	Altura (m)
Água Boa	14°00'S	52°12'W	400	Juína	11°22'S	58°43'W	442
Alta Floresta	09°50'S	56°06'W	283	Nova Maringá	13°02'S	57°05'W	370
Alto Araguaia	17°33'S	53°22'W	692	Novo Mundo	12°31'S	58°13'W	330
Alto Taquari	17°48'S	53°17'W	851	Paranatinga	14°25'S	54°02'W	460
Apiacás	09°33'S	57°23'W	220	Pontes e Lacerda	15°15'S	59°20'W	254
Cáceres	16°02'S	57°41'W	118	Porto Estrela	15°21'S	57°13'W	134
Campo Novo dos Parecis	13°47'S	57°50'W	572	Querência	12°37'S	52°13'W	350
Campo Verde	15°31'S	55°08'W	736	Rondonópolis	16°27'S	54°34'W	227
Carlinda	10°00'S	55°47'W	290	Santo Antônio do Leste	14°55'S	53°53'W	648
Comodoro	13°42'S	59°45'W	600	São José do Rio Claro	13°27'S	56°39'W	350
Confresa	10°39'S	51°34'W	240	Salto do Céu	15°08'S	58°06'W	300
Cotriguaçu	09°54'S	58°34'W	200	São Félix do Araguaia	11°37'S	50°43'W	195
Cuiabá	15°37'S	56°06'W	176	Sinop	11°58'S	55°33'W	345
Gaúcha do Norte	13°11'S	53°15'W	388	Sorriso	12°33'S	55°43'W	365
Guarantã do Norte	09°57'S	54°53'W	345	Tangará da Serra	14°39'S	57°25'W	387
Guiratinga	16°20'S	53°45'W	510	Nova Ubiratã	13°24'S	54°45'W	396
Itiquira	17°10'S	54°30'W	522	Vila Bela da Santíssima Trindade	15°03'S	59°52'W	198
Juara	11°16'S	57°31'W	292				

14

Determinação do número de gerações de H. armigera

O número provável de gerações anuais de H. armigera foi estimado com

base em suas exigências térmicas (SILVEIRA NETO et al. 1976), para este, foram

utilizados os valores de temperatura média do ar e temperatura base de H. armigera

(Tb), que de acordo com Jallow e Matsumura (2001) é 10,5 °C. O cálculo de soma

térmica foi realizado por meio da fórmula:

GD=Tmed-Tbase

Onde: GD = Graus dia

Tmed = Temperatura média

Tbase = Temperatura base

O número de gerações de 2010 até 2014 para cada município produtor de

soja do Mato Grosso foi calculado com os dados das estações meteorológicas no

presente estado, por meio do somatório de graus dias acumulados (GDA) dividido

pela quantidade de graus dias que este inseto requer para completar seu

desenvolvimento (SILVEIRA NETO et al., 1976). Conforme Jallow e Matsumura,

(2001), H. armigera necessita de 416,1 GDA, na temperatura de 25°C, considerada

ótima para o desenvolvimento desta praga. O calculo de número de gerações foi

realizado por meio da fórmula:

Σ <u>GD</u> 416,1

Onde:

GD = Graus dias

Para verificar a influência das mudanças climáticas sobre o número de

gerações de H. armigera em 2100 foram somados à temperatura média de cada

mês do ano de 2014 o acréscimo de temperatura (AT), previsto no cenário A2

(EMBRAPA- MEIO AMBIENTE, 2010). O calculo foi realizado por meio da fórmula

abaixo adaptada de Afonso et al. (2009):

(Tmed mês + AT) - Tb*(Qd) 416,1

Onde: Tmed = Temperatura média por mês

AT = Adicional de temperatura

Tb = Temperatura base do inseto

Qd = Quantidade de dias do mês

Para a geração dos mapas de temperatura do ar no estado e o número de gerações de *H. armigera* no cenário A2 no Mato Grosso, foi utilizado o *software* ArcGIS. Neste, foram inseridos os dados de número de gerações de 2010 a 2014 e de 2100, estes dados de número de gerações de cada estação climática foram interpolados pelo método de krigagem a fim de representarem todo o estado (JAKOB, 2002). Nos mapas, ainda foram acrescidos dois *shapes*: o primeiro delimita os biomas (BRASIL, 2004) e o segundo delimita os municípios produtores de soja (IBGE, 2001).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos dois períodos avaliados, a temperatura no estado forneceu condições ótimas para o desenvolvimento de *H. armigera*. Nos anos de 2010 a 2014 as temperaturas variaram entre 22°C e 26°C. Na projeção, a temperatura variou entre 25°C e 29°C. Estes intervalos de temperatura de 22°C a 30°C são relatados por Mironidis e Savopoulou-Soutani (2008) como faixa ótima para o desenvolvimento e reprodução desta espécie.

No bioma amazônia, durante os anos de 2010 a 2014, os municípios de Sinop(14), Santa Carmem(1), Brasnorte(0), Nova Ubiratã(12) ,Vera(4), Nova Maringá(2), Tapurah(11) e Ipiranga do Norte(13) apresentaram temperaturas entre 24 e 26°C (Figura 1A). Na projeção de temperatura para 2100 estes municípios apresentará uma variação de 27°C e 30°C (Figura 1B), indicando que a praga encontra, neste bioma, ótimas condições para o seu desenvolvimento.

Com o avanço da fronteira agrícola neste bioma, as mudanças climáticas agravadas por este processo podem trazer resultados alarmantes para o mesmo, tal como a redução de precipitação em 27% (CÂNDIDO et al., 2007). Com condições de seca na Amazônia, a agricultura e a pecuária seriam beneficiadas, pois o excesso de chuvas é apontado como o responsável pela baixa produtividade nesta região

(FEARNSIDE, 2009), com o avanço da cultura da soja sobre o bioma amazônia facilitaria a disseminação de *H. armigera*.

Outros modelos climáticos estimam que as elevações de temperatura na Amazônia possam chegar à 14°C em média, com picos de temperatura de até 50°C, acarretando a morte de grande parte das árvores nativas (FEARNSIDE, 2009). Com um aumento na temperatura nestas proporções, o número de gerações que pode ocorrer neste cenário seria superior às 17 gerações relatadas neste trabalho.

O incremento na temperatura favorece diretamente o desenvolvimento de *H. armigera*, reduzindo o ciclo de vida da praga e consequentemente aumentando o número de gerações, como pode ser observado nos municípios de Santa Carmem(1), Nova Ubiratã(12), Sinop(14), Brasnorte(0), Vera(4), Nova Maringá(2), Tapurah(11) e Ipiranga do Norte(13) que apresentaram de 12 a 14 gerações anuais para o período de 2010 à 2014 (Figura 2A). Estes resultados são próximos aos indicados por Kretschmar et al. (2014) que relatam a ocorrência de 13 gerações ao ano em países com clima tropical. Na projeção para 2100, o número de gerações de *H. armigera* aumentará para 15 a 17 gerações/ano nas mesmas localidades (Figura 2B).

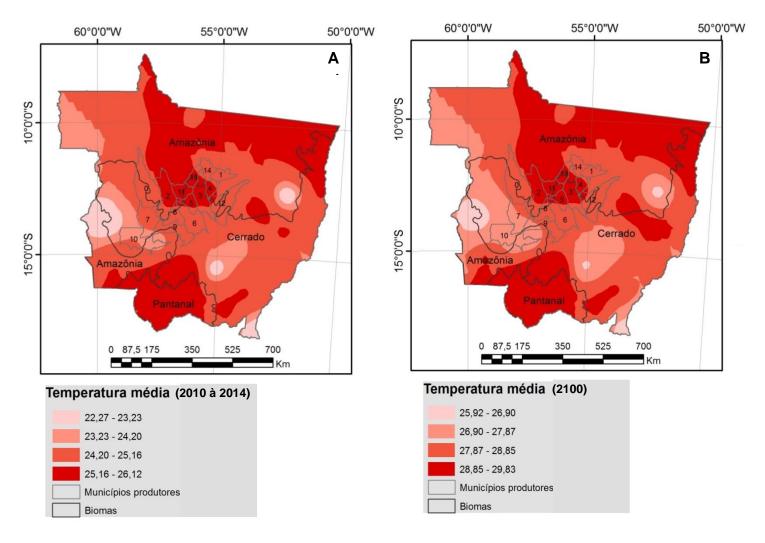


Figura 1: Temperatura média no estado de Mato Grosso nos anos de 2010 a 2014(A) e no ano de 2100 (B).

Nos municípios inseridos nos Biomas Amazônia e Cerrado, como Nova Mutum(6), São José do Rio Claro(8) e Sorriso(3), a variação de temperatura foi semelhante a dos municípios presentes exclusivamente, no Bioma Amazônia, ou seja, de 3°C para o período de 2010-2014 e 4°C, para a projeção de 2100, dentro da mesma faixa de temperatura (Figura 1A).

O número de gerações de *H. armigera* variou de 12 a 14 gerações/ano nos municípios de Sorriso(3), Nova Mutum(6) e São José do Rio Claro(8). A projeção para 2100 indica que esta espécie poderá apresentar de 16 a 17 gerações/ano (Figura 2B), assim a praga encontra neste bioma, ótimas condições para sua propagação.

Na municipalidade de Tangará da Serra(10) com extensão territorial no Bioma Cerrado, a temperatura variou entre 23,0 °C e 24,0°C sendo a menor apresentada dentre os municípios produtores de soja, em Campo Novo do Parecis(7) e Diamantino(9), a temperatura média variou entre 24,0°C e 25,0°C durante os anos de 2010 a 2014. E no município de Lucas do Rio Verde(5) a temperatura variou entre 25,0°C e 26,0°C (Figura 1A), indicando que em consequência deste bioma apresentar temperatura mais baixa em relação aos demais o desenvolvimento de *H. armigera* será mais lento, acarretando em menor número de gerações.

No ano de 2100, o município de Diamantino(9) apresentará média de temperatura que pode variar entre 28,0°C e 29,0°C; Lucas do Rio Verde(5) entre 29,0°C e 30,0°C; Tangará da Serra(10) e Campo Novo do Parecis(7) entre 27,0°C e 28,0°C (Figura 1B), indicando que a praga terá condições para se desenvolver e favorecendo sua migração para o Bioma amazônia.

Nos municípios de Campo Novo do Parecis(7) e Diamantino(9), o número de gerações durante os anos de 2010 a 2014 variaram entre 12,0 e 13,0 por ano. Já em Tangará da Serra(10), o número de gerações variou entre 11,18 e 12,04 e no município Lucas do Rio Verde(5) o número de gerações variou entre 12,90 e 13,76 por ano. Na projeção para o ano de 2100, estas localidades apresentarão entre 14,72 e 17,30 gerações da praga (Figura 2A).

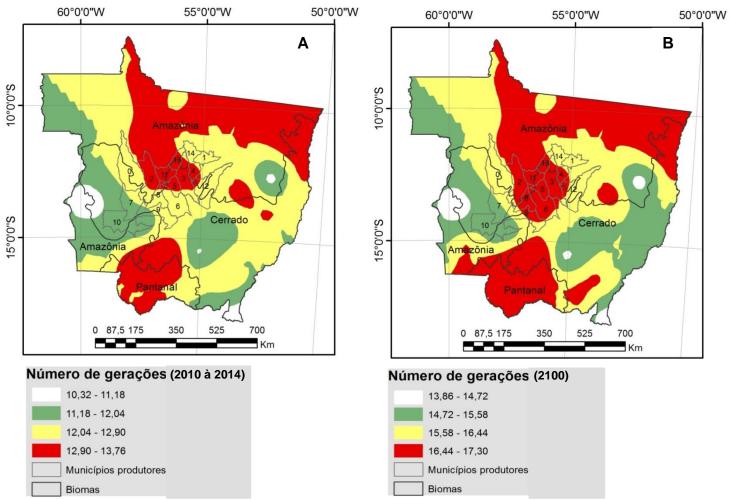


Figura 2: Número de gerações de *Helicoverpa armigera* no estado de Mato Grosso nos anos de 2010 a 2014(A) e no ano de 2100 (B).

Neste contexto, esta praga que ocorre nos municípios produtores de soja do bioma Cerrado acompanhará o avanço da fronteira agrícola sobre o bioma Amazônia no estado de Mato Grosso.

CONCUSÃO

Os municípios produtores de soja no bioma Cerrado apresentam condições *H. armigera* favoráveis para o desenvolvimento da praga, tanto na atualidade como na projeção, permitindo o avanço de *H. armgera* no Bioma Amazônia apresentando número maior de gerações em municípios localizados na fronteira agrícola.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de aperfeiçoamento de pessoal de nível superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos; à Associação de Produtores de soja e milho do estado de Mato Grosso pelo financiamento do projeto, bem como ao laboratório de Meteorologia do Centro de pesquisas agroambientais da Universidade do Estado de Mato Grosso.

REFERÊNCIAS

AFONSO, A.P.S.; WREGE, M.; MARTINS, J.F. DA S; NAVA, D.E. Simulação do zoneamento ecológico da lagarta-do-cartucho no Rio Grande do Sul com o aumento de temperatura. *Arq. Inst. Biol.* v.76, n.4, p.607-612, 2009.

ASSAD, E.; PINTO, E.S. Aquecimento Global e Cenários Futuros da Agricultura Brasileira. (Cepagri/Unicamp). 2008.

BALE J. S., MASTERS G. J., HODKINSON I. D., AWMACK C., BEZEMER T. M., BROWN V. K., et al. Herbivory in global climate change research: direct effects of rising temperatures on insect herbivores. **Global Change Biol**. n.8, v.1 p.1 – 16. 2002.

Brasil: Ministério do meio ambiente, Mapas de Cobertura Vegetal Mapas de Cobertura Vegetal dos Biomas Brasileiros 2004. Disponível em: http://mma.gov.br/component/k2/item/7626-mapas-de-cobertura-vegetal>. Acessado em: 05/03/2016.

CÂNDIDO, L.A.; MANZI, A.O.; JULIO TOTA, J.; SILVA, P.R.T.; SILVA, F.S.M.; SANTOS, R.M.N.; CORREIA, F.W.S. O clima atual e futuro da amazônia nos cenários do IPCC: a questão da savanização. **Cienc. Cult**. v.59, n.3, p. 4 – 47, 2007.

CZEPAK, C.; ALBERNAZ, K.C.; VIVAN, L.M.; GUIMARÃES, H.O.; CARVALHAIS, T. Primeiro registro de ocorrência de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) no Brasil. **Agropecuária. Trop.**, Goiânia, v. 43, n. 1, p. 110-113, 2013.

EMBRAPA: Atlas digital dos cenários climáticos futuros projetados para o Brasil com base no Terceiro Relatório do IPCC (2001): variáveis de interesse agrícola **Embrapa Meio Ambiente, 2010**. Disponível em: http://www.cnpma.embrapa.br/climapest/atlasdigital/apresentacao.html. Ascessado em: 22/08/2015.

EUROPEAN AND MEDITERRANEAN PLANT PROTECTION ORGANIZATION (EPPO). Data sheets on quarantine PESTS nº 110: Helicoverpa armigera. Paris: EPPO (Boletin,110),1981.

FITT, G. P. The ecology of Heliothis species in relation to agroecosystems. **Annual Review of Entomology**, v. 34, p. 17-52, 1989.

FEARNSIDE, M. P. A vulnerabilidade da floresta amazônica perante as mudanças climáticas. **Oecologia Brasiliensis**. v.13, n.5, p. 609-618, 2009.

IBGE: Mapeamento das Unidades Territoriais – Produtos. Malha Municipal Digital 2001. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/geociencias/cartografia/territ_doc1.shtm Acessado EM: 05/03/2016

JAKOB, A.A.E. A Krigagem como Método de Análise de Dados Demográficos. XIII Encontro da Associação Brasileira de Estudos Populacionais, realizado em Ouro Preto, Minas Gerais, Brasil de 4 a 8 de novembro de 2002.

JALLOW, M.F.A.; MATSUMURA, M. Influence of temperature on the rate of development of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). **Appl. Entomol. Zool.** n. 36 v. 4, p. 427–430, 2001.

- KRETSCHMAR, J. B. V.; HARDIN, J. A.; MAGUYLO, K. New Pest Response Guidelines *Helicoverpa armigera* (Hübner) Old World Bollworm. (**First Edition Issued**), 2014.
- MIRONIDIS, G.K.; SAVOPOULOU-SOULTANI, M. Development, Survivorship, and Reproduction of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) Under Constant and Alternating Temperatures. **Environ. Entomol**. v.37, n.1, p.16-28, 2008.
- MISSAWA, N.A.; MACIEL, G.B.M.L.; RODRIGUES, H. Distribuição geográfica de *Lutzomyia (Nyssomyia) whitmani* (Antunes & Coutinho, 1939) no Estado de Mato Grosso. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. n.**41, v.4, p.369-373, 2008.
- MORAES, B.C.; SOUZA, E.B.; RIBEIRO, J.B.M.; FERREIRA, D.B.S.; MELLO, W.J.; MAIA, S. Impactos das mudanças climáticas na ecoclimatologia de *Aleurocanthus woglumi* Ashby, 1903 (Hemiptera: Aleyrodidae) no estado do Pará. **Revista Brasileira de Meteorologia**, v.29, n.1, p. 77 84, 2014.
- MORTON, D.C.; DEFRIES, R.S.; SHIMABUKURO, Y.E.; ANDERSON L.O.; ARAI, E.; ESPIRITO-SANTO, F.D.B.; FREITAS, R.; MORISETTE, J. Cropland expansion changes deforestation dynamics in the southern Brazilian Amazon. **PNAS**, v. 103, n. 39, p. 14637–14641, 2006.
- NOBRE, C.A. **Mudanças climáticas globais**: possíveis impactos nos ecossistemas do país. Modelos e cenários para a Amazônia: o papel da ciência. Parcerias estratégicas, v.1, n. 12, p. 240 258, 2001.
- PESSOA, M.C.P.Y.; MARINHO-PRADO, J.S.; SÁ, L.A.N. Avaliação do potencial desenvolvimento de *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1808) (Lepidoptera: Noctuidae) em cultivo de soja na região de Barretos norte do estado de São Paulo. **Embrapa Meio Ambiente**, 2014.
- PORTER, J.H.; PARRY, M.L.; CARTER, T.R. The potential effects of climatic change on agricultural insect pests. **Agricultural and Forest Meteorology**, v. 57, n.1, p.221-240, 1991.
- SILVEIRA NETO, S., O. NAKANO, D. BARBIN & N. A. Villa. **Manual de ecologia dos insetos.** São Paulo, Ceres, 419p, 1976.
- SUGAYAMA, R.L.; SILVA, F.M.A.; OMOTO,C.; OKUMA, D.M. Projetos: Helicoverpa, *Helicoverpa armigera*. Comitê Brasileiro de Ação à Resistência de Inseticidas **IRAC-BR** -2015.

Fitoquímica dos compostos ativos de *Annona mucosa* no controle de *Helicoverpa armigera* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae)

Phytochemistry of the active compounds of *Annona mucosa* the control of *Helicoverpa armigera* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae)

[Pesquisa Agropecuária Brasileira]

Resumo

A produção de soja pode ser afetada pela ocorrência de pragas, bem como Helicoverpa armigera e para o controle de tais pragas são utilizados produtos químicos que causam prejuízos ao ambiente. Como alternativa as plantas com potencial inseticida. O objetivo desta pesquisa foi avaliar o potencial inseticida de *Annona mucosa* sobre *H. armigera*. As concentrações testadas foram 0,5; 1,0; 2,0; 4,0 e 8,0%, para extrato bruto e frações. Foram utilizadas lagartas de 1º e 3º instar para bioensaios com aplicação tópica e avaliada a mortalidade das lagartas. A identificação dos compostos foi feita através de uma análise de ressonância magnética nuclear e cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas. As maiores concentrações do extrato bruto de *A. mucosa* causaram a mortalidade de lagartas. Nos bioensaios com frações, a hexânica apresentou melhores resultados. Os compostos ativos presentes nesta fração foram acetogeninas e ácidos carboxílicos. O isolamento de substâncias ativas mostrou-se eficiente contendo frações com substâncias ativas, podendo ser considerada uma importante alternativa para o manejo desta praga.

Palavras chave: lagarta, soja, frações, isolamento, acetogeninas, ácidos carboxílicos.

ABSTRACT

Soybean production may be affected by the occurrence of pests such as *Helicoverpa armigera* and to control these pests chemicals that cause damage to the environment are commonly used. As an alternative plants with insecticide potential. The aim of this research was to evaluate the insecticide potential of *Annona mucosa* over *H. armigera*. The concentrations tested were 0.5; 1.0; 2.0; 4.0 and 8.0% for crude extract and fractions. First and third instar caterpillars were used for bioassays with topical application and the mortality of caterpillars was evaluated. The identification of compounds was performed by a nuclear magnetic resonance analysis and gas chromatography-mass spectrometry. The highest concentrations of crude extract of *A. mucosa* caused the s and caterpillars mortality. In bioassays with fractions, the hexane showed better results. The active compounds present in this fraction were acetogenins and carboxylic acids. Isolation of active substances showed efficiency containing fractions with active substances being considered an important alternative for pests control.

Keywords: pest, soybeans, alternate control.

Introdução

A soja (*Glycine max*) é a *commodity* de maior importância para o País, sendo o principal produto de exportação no meio agrícola. O estado de Mato Grosso destacase no cenário nacional pela alta produção deste grão com produtividade estimada de 26.441 milhões de toneladas (CONAB, 2015).

A produção de soja pode ser afetada pela ocorrência de insetos praga, dentre os quais se ressalta *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) que ocorre desde os estágios iniciais do desenvolvimento da soja até a colheita (ÁVILA et al., 2013).

O principal método de controle utilizado para *H. armigera* é o controle químico, porém no Brasil, por ser exótica, são poucos os produtos liberados para seu controle (ÁVILA et al., 2013). Uma alternativa promissora para o combate a esta praga são as plantas com propriedades inseticidas, as quais ainda podem ser associadas com outros métodos de controle (CAVALCANTE et al., 2006).

Ansante et al. (2015) ofertaram dieta artificial para lagartas recém-nascidas de *S. frugiperda*, tratadas com extratos bruto de folhas, galhos e sementes de *Anonna cacans*, *A. montana*, *A. mucosa*, *A. reticulata* e *A. sylvatica*. O extrato com maior ação inseticida foi o de sementes de *A. mucosa* que causou mortalidade de 83,4% das lagartas. Após estes resultados, eles particionaram o extrato bruto de *A. mucosa* em duas frações, hidrometanólica e hexânica e ofertaram 842,9 mg KG⁻¹ do extrato misturada à dieta artificial, assim obtiveram na partição hexânica 63,5 % de mortalidade e, na partição hidroalcólica, 100% de mortalidade das lagartas após sete dias da aplicação. Neste trabalho, os autores ainda isolaram a acetogenina roliniatatin-1 a qual causou 87,5% de morte das lagartas após sete dias da aplicação na concentração de 84,3 mg KG⁻¹.

Ahmad et al. (2013) aplicaram NeemAzal (1 % de azadiractina CE) sobre lagartas de *H. armigera* e obtiveram como resultado, a morte das lagartas foi alta nos estádios iniciais em comparação aos estádios tardios, em todas as concentrações.

Sable et al. (2011) obtiveram 70 e 73,33% de mortalidade em lagartas de terceiro instar *H. armigera* após cinco dias de tratamento com extratos metanólicos de frutos de *Azadirachta indica* e *Callophyllum inophyllum*, respectivamente.

Com a alta capacidade de gerar danos econômicos à cultura da soja, é evidenciada a necessidade de novos produtos para o controle de *H. armigera*, assim este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial inseticida de *Annona mucosa* sobre diferentes fases de desenvolvimento de *H. armigera*.

Material e métodos

Na Universidade do Estado de Mato Grosso, *Campus* de Tangará da Serra, onde fica localizado o laboratório de Entomologia no Centro de Pesquisa e Desenvolvimento Agroambientais – CPEDA, foram realizados os bioensaios de atividade inseticida, bem como o processo de obtenção do extrato bruto e a partição através do método líquido-líquido. Na Universidade Federal de Alagoas, *campus* de Maceió, no Laboratório de Pesquisas em Recursos Naturais – LPqRN, foi realizado o processo de isolamento e identificação dos compostos químicos presentes no extrato, bem como o bioensaio de monitoramento de atividade biológica.

Cultivo de soja em casa de vegetação

Para alimentar as lagartas dos bioensaios, foi cultivada a soja convencional da variedade ST 660 em vasos de 8 quilos de capacidade em casa de vegetação na UNEMAT, campus de Tangará da Serra – MT. O cultivo ocorreu durante os meses de fevereiro a setembro de 2015 e a adubação utilizada foi o NPK comercial (nitrogênio, fósforo e potássio) com 10% de cada composto.

Para o plantio de soja durante o período de vazio sanitário, de 1º de junho a 15 de setembro, foi requerida uma solicitação de autorização para o plantio de cultivo excepcional junto ao INDEA-Instituto de Defesa Agropecuária do Estado de Mato Grosso. Após a autorização realizou-se o cultivo da soja em casa de vegetação com aplicação semanal dos seguintes fungicidas: Trifloxistrobina + Protioconazol (0,4L\ha); Azoxistrobina + Ciproconazol (0,3L\ha); Azoxistrobina + Benzovindiflupir (300g\ ha) e Fluxapiroxade + Piraclostrobina (0,2 L\ha).

Criação de Helicoverpa armigera

As lagartas de *H. armigera* foram obtidas, inicialmente, através da Empresa BUG, em São Paulo, para estabelecimento da criação. Estas foram mantidas em

sala climatizada 24,7°C ± 1,0 °C e U.R. 60% ±10 % no Laboratório de Entomologia da UNEMAT/CUTS.

Os adultos foram mantidos em gaiolas de acasalamento de PVC de 300 mm revestidas internamente com papel sulfite. A extremidade superior foi fechada com tecido tipo *voil* preso por um elástico que serviu de substrato de oviposição, e na base por um papel *kraft*. No interior desta, foram colocados dois recipientes: um com algodão embebido em água e outro com solução de mel e cerveja a 40%, que servia como alimento para os adultos de *H. armigera*. Os recipientes eram substituídos a cada dois dias, metodologia adaptada de Vilela (2014).

O tecido do tipo *voil* contendo ovos de *H. armigera* foi recortado em tiras, e estas, colocadas em potes plásticos de 1L até a eclosão. Posteriormente, as lagartas eram transferidas para potes de 145 ml contendo dieta artificial de Greene et al. (1976) modificada para *H. armigera*. Neste recipiente, as lagartas permaneceram por aproximadamente 2 dias, quando foram transferidas para tubos de vidro (8x2x2 cm) com tampa de algodão do tipo boneca contendo a mesma dieta. Ao atingirem a fase de pupa, estas foram sexadas e colocadas em potes plásticos de 1L forrados em seu interior com uma folha de papel toalha até sua emergência, metodologia adaptada de Vilela (2014).

Os machos, durante este período, permaneciam na temperatura de 25°C, e as fêmeas eram colocadas em estufas do tipo B.O.D. na temperatura de 23°C a fim de sincronizar a emergência dos mesmos. Os adultos emergidos eram transferidos para gaiolas de acasalamento, metodologia adaptada de Vilela (2014).

Obtenção e fracionamento dos extratos

Exsicata de *A. mucosa* foi depositada sobre o número do Voucher 964 no Herbário - TANG da Universidade do Estado de Mato Grosso *campus* de Tangará da Serra (UNEMAT/CUTS).

Frutos de *A. mucosa* foram coletados e dissecados e as sementes foram levadas à estufa de circulação de ar a 40°C por 72 horas. Após a secagem, as sementes foram trituradas em moinho tipo faca rotativa para obtenção do pó.

Para preparar o extrato bruto, foram utilizados 500 gramas do pó misturados a 1.500 ml de solvente metanol, ficando em imersão por 72 horas. Este extrato foi filtrado em papel filtro e concentrado em rotaevaporador à temperatura de 40°C à pressão reduzida (PITON et al., 2014). Este processo de extração foi repetido por três vezes com o mesmo pó sendo todos reunidos em um único recipiente de extrato.

Foi utilizado o processo de partição líquido – líquido suspendendo o extrato bruto em metanol e fazendo-se a partição com hexano três vezes cada com 300 ml (300ml x 3). Ao metanol adicionou-se água até atingir uma relação de 6:4 (metanol: água), seguindo-se a partição com clorofórmio (300ml x 3) e acetato de etila (300ml x 3). Ao final, obteve-se as frações em hexano (138,27 g), clorofórmio (95,08 g), acetato de etila (3,73 g), e hidrometanólica (11,72 g). Este procedimento foi adaptado de (CECHINEL FILHO e YUNES, 2008).

A fração hexano foi selecionada por apresentar maior atividade inseticida. Em seguida foi submetida à uma filtração em sílica, para tanto, foi solubilizada em clorofórmio e impregnada na sílica. Após 12 horas de repouso, para evaporação total do solvente, este produto foi macerado e submetido a uma filtração em sílica com um litro dos seguintes solventes: hexano, hexano \ clorofórmio 15%, hexano \ clorofórmio 1:1, clorofórmio e clorofórmio \ metanol 1:1. Após a filtração, os produtos foram reduzidos em rotavapor à pressão de 600 mmHg e à temperatura de 35°C. Este procedimento foi adaptado de (ANSANTE et al., 2015).

Após testes de atividade biológica, foi constatado que a fração de hexano obtida na filtração em sílica foi novamente a mais ativa e, esta foi submetida a uma coluna de sílica, para isso, foi solubilizada em clorofórmio e impregnada na sílica após 12 horas de repouso para evaporação total do solvente. Este produto foi macerado e colocado na coluna de sílica a fim de purificar o material. Neste procedimento foram utilizados os seguintes solventes em ordem crescente de

polaridade: hexano, hexano \ clorofórmio 5%, hexano \ cloroformio 10%, hexano \ cloroformio 15%, hexano \ clorofórmio 20%, hexano \ cloroformio 1:1, clorofórmio e clorofórmio \ metanol 1:1. Apenas as frações hexano e hexano / clorofórmio 15% apresentaram material em quantidade suficiente para prosseguir com o processo de isolamento, sendo que, após a confirmação da inatividade biológica as demais foram descartadas. Este procedimento foi adaptado de (ANSANTE et al., 2015).

Após o acompanhamento da retenção das substâncias através de cromatografia em camada delgada, realizada com o hexano e hexano clorofórmio provenientes da coluna de sílica, pôde-se observar que a fração hexano apresentava maior pureza, então foi submetida a uma coluna de sefadex e em seguida foi solubilizada em metanol e submetida a uma coluna de sefadex com metanol. Este procedimento foi realizado duas vezes, sendo o primeiro com 200mg e o segundo com 500 mg de produto. Neste procedimento, a maior quantidade de material ficou retida no intervalo de 9 à 18, sendo os demais reunidos em três grupos de 1 à 8; de 9 ao 54 ficaram individualizadas; 55 - 66 foram reunidas bem como do 69 ao 75. Este procedimento foi adaptado de (GARCEZ et al., 2007).

Monitoramento

As cromatografias em camada delgada (CDD) das frações obtidas foram realizadas para monitorar a distribuição qualitativa dos grupos químicos presentes nas amostras. Esta separação se dá por adsorção sólido-líquido onde os componentes da mistura são carreados pela fase móvel (líquida) e separados pela sua diferença de afinidade com a fase estacionária sólida. Neste caso, utilizamos cromatoplaças de sílica gel 60 F254 de alumínio. A amostra foi impregnada na plaça a meio centímetro da base e colocadas na cuba, contendo a fase móvel hexano \ clorofórmio 75% e eluídas por capilaridade até a extremidade superior da plaça. Após a eluição, as plaças eram retiradas da cuba e secas a temperatura ambiente, mergulhadas em solução reveladora sulfato cérrico e colocadas em estufa de esterilização para a queima do revelador, este procedimento permitia a visualização do resultado da eluição. Este procedimento foi adaptado de (ANSANTE et al., 2015).

A análise do perfil químico das amostras ativas foi realizada em um cromatógrafo líquido de alta eficiência da marca Shimadzu, equipado com bomba e degaseificador LC- 10 AD vp; Amostrador proeminense SIL 20A HT; Detector SPD m 20^a; Controladora SCL – 10A. A concentração das amostras foi de 0,0001%, o

volume da amostra injetada foi de 20µL, a coluna cromatográfica utilizada foi C18 e as condições da cromatografia foram de 5% de metanol de 0 até 25 minutos, 100% de metanol de 25 até 30 minutos e retorno à 5% de metanol de 30 até 40 minutos. A vazão utilizada foi de 1 mL por minuto, conforme metodologia de ANSANTE et al. (2015).

Bioensaios

Os bioensaios foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado (DIC) em salas climatizadas à temperatura de 24,7°C ± 0,5°C e U.R. 62% ± 8%. Foram testadas as concentrações de 0,5%; 1,0%; 2,0%; 4,0% e 8,0% do extrato e grupo controle com o solubilizante. Nos bioensaios com lagartas haviam 30 repetições, cada uma contendo uma lagarta. Nos bioensaios com ovos, eram 15 repetições contendo 30 ovos em cada.

Os folíolos de soja utilizados para alimentar as lagartas durante o bioensaio foram coletados das plantas em casa de vegetação e lavados em água corrente para posteriormente serem oferecidas as lagartas.

Para os bioensaios com extrato bruto, as lagartas de 1º instar de 0 a 24 horas foram acondicionadas em potes de plástico de 145 ml contendo um papel filtro no fundo, um folíolo de soja para servi-las de alimento e um algodão umedecido com água foi colocado na base do pecíolo da folha para mantê-la turgida. Dentro destes recipientes as lagartas eram submetidas aos tratamentos através da aplicação tópica de uma (1 μL) no dorso, após a aplicação o pote era fechado com tampa plástica. Como controle, foi utilizado o solubilizante DMSO (20%). Diariamente era avaliada a mortalidade larval e novos folíolos sem extrato eram fornecidos sempre que necessário. O mesmo procedimento foi aplicado nos biensaios com lagartas de terceiro instar.

As frações foram avaliadas sobre as lagartas de 1º instar conforme procedido nos bioensaios com extrato bruto. Para solubilizar a fração hexânica foi utilizado Tween (10%); para a fração clorofórmica, DMSO (10%); para a fração acetato de etila, metanol (20%) e hidrometanólica com água.

Para a realização dos bioensaios com as frações provenientes do sefadex, inicialmente foram realizados bioensaios para monitorar onde estavam as substâncias inseticidas dentre as frações obtidas na filtração em sílica. Os tratamentos foram a fração em hexano, fração em hexano \ clorofórmio 15%, fração

em hexano \ clorofórmio 1:1, fração em clorofórmio e fração em clorofórmio \ metanol 1:1, na concentração de 0,1% e diluídos em álcool etílico P.A. que também foi utilizado como controle. Foi aplicado no dorso das lagartas 1µL da solução e as lagartas foram alimentadas com dieta artificial de Greene. As avaliações ocorreram a cada 24 horas durante três dias.

Em seguida foram testadas a fração hexano, e as que foram originadas do procedimento em sefadex (F9 C1, F9 C2, F12 C2, F15 C1 e F32 C1). As frações C1 e C2 são provenientes do primeiro e segundo sefadex, respectivamente. Foram realizados bioensaios com lagartas de primeiro e terceiro instares com as concentrações de 0,05%, 0,1% e 0,2% e como controle o solubilizante álcool etílico PA. O método de aplicação utilizado foi tópico no qual 1µL foi aplicado no dorso das lagartas. Em todos os bioensaios foram adotadas 30 repetições por tratamento. A avaliação foi realizada a cada 24 horas durante 15 dias e, após a aplicação, as lagartas eram alimentadas com folhas de soja.

Identificação

A identificação dos compostos foi realizada através de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogenio¹ e Carbono¹³, em equipamento Bruker 400 onde foi injetada a amostra diluída em clorofórmio deuterado. A cromatografia gasosa foi realizada em cromatógrafo a gás da marca Shimadzu equipado com injetor Split. O método utilizado SPL: 250 °C; pressão do gás de arraste 83,4KPa; vasão de 61,7 mL/min; razão de separação 50 e coluna Rtx – 1 de 30 metros. A rampa de aquecimento iniciou com 40°C durante 5 minutos e a cada minuto a temperatura era elevada em 8°C até que chegasse à 300°C onde permaneceu por dez minutos. Acoplado ao cromatógrafo, foi utilizado um detector por ionização em chama do tipo FID 300°C.

Análise estatística

Para as análises foi usado o programa estatístico R Studio[®]. Foi realizado um teste de normalidade (*Shapiro-Wilk*) para verificar se há normalidade na distribuição dos dados, em seguida foi realizado um teste de homocedasticidade das variâncias (*Bartlett*). Como os dados de mortalidade de lagartas não apresentaram normalidade, nem a homocedasticidade, foi aplicado o teste de comparação de médias não paramétrico (*Kruskal-Wallis*).

Resultados e discussão

As lagartas de primeiro instar submetidas ao tratamento com extrato bruto apresentaram nas concentrações de 2,0, 4,0 e 8,0% mortalidade acima de 96,0% (Tabela 1). Em lagartas de terceiro instar, houve diferença significativa entre os tratamentos, com mortalidade de 83,33 a 96,67% das lagartas nas concentrações de 1,0, 2,0, 4,0 e 8,0% (Tabela 1).

As altas mortalidades registradas nos bioensaios com extrato bruto reafirmam o potencial inseticida de *A. mucosa* constatada em outros trabalhos com lepidópteros a exemplo do realizado por Ribeiro et al. (2014) que, ao misturar na dieta artificial das lagartas de *T. ni*, extrato bruto de *A. mucosa* e de *A. sylvatica* obteve 97,5% e 60,0%, respectivamente, de mortalidade das lagartas.

Ansante et al. (2015) usaram o mesmo método de aplicação do extrato bruto de *A. mucosa* que Ribeiro et al. (2014), porém sobre lagartas da espécie *S. frugiperda* e obtiveram 83,4% de mortalidade das lagartas sete dias após a aplicação.

Tabela 1: Porcentagem ± EP da mortalidade durante a fase larval com aplicação de extrato bruto de *Annona mucosa* sobre lagartas de primeiro e terceiro instar de *Helicoverpa armigera* por aplicação tópica.

	N	Primeiro instar	Terceiro instar
Controle	30	$50,00 \pm 0,50 \text{ b}^1$	$53,33 \pm 0,50$ c
0,5%	30	56,66 ± 0,50 b	$70,00 \pm 0,46$ bc
1,0%	30	66,66 ± 0,47 b	83,33 ± 0,37 ab
2,0%	30	100,00 ± 0,00 a	96,67 ± 0,18 a
4,0%	30	100,00 ± 0,00 a	90,00 ± 0,30 ab
8,0%	30	96,00 ± 0,17 a	$87,00 \pm 0,34$ ab
Valor P		0,00423	0,00027
Valor T		1,97361	1,97361

¹Médias seguidas pela mesma letra (minúscula) nas colunas não são significativamente diferentes (p>0,05) segundo o Teste *Kruskal-Wallis* a 5%. Médias seguidas pela mesma letra (maiúscula) nas linhas não são significativamente diferentes (p>0,05) segundo o Teste *Kruskal-Wallis* a 5%.

Nos bioensaios com as frações provenientes do procedimento de partição líquido-líquido, a fração hexânica causou mortalidade acima de 93,33% das lagartas de primeiro instar nas concentrações de 2,0%, 4,0% e 8,0%.

A Fração clorofórmica apresentou 86,66% de mortalidade das lagartas. Já a fração de acetato de etila as concentrações testadas diferiram do grupo controle. A fração hidrometanólica não apresentaram atividade sobre as lagartas de primeiro ínstar (Tabela 2).

Na comparação entre os bioensaios, frações mais eficientes para o controle de lagartas de primeiro instar de *H. armigera* foram hexânica seguida de acetato de etila.

Tabela 2: Porcentagem ± EP da mortalidade durante a fase larval com aplicação das frações hexânica, clorofórmica, acetato de etila e hidrometanólica do extrato bruto de *Annona mucosa* sobre lagartas de primeiro instar de *Helicoverpa armigera* por aplicação tópica.

	N	Hexânica*	Clorofórmica**	Acetato de etila***	Hidrometanólica****
Controle	30	$46,66 \pm 0,50 \text{ c}^{-1}$	$43,33 \pm 0,50$ c	26,66 ± 0,44 b	$36,66 \pm 0,49$ N.S.
0,5%4	30	66,66 ± 0,47 ab	$73,33 \pm 0,44$ ab	$83,33 \pm 0,37$ a	$50,00 \pm 0,50$
1,0%4	30	$50,00 \pm 0,50 \text{ b}$	$60,00 \pm 0,49 b$	$90,00 \pm 0,30$ a	$53,33 \pm 0,50$
$2,0\%^{4}$	30	93,33 ± 0,25 a	$60,00 \pm 0,49$ bc	$76,66 \pm 0,43$ a	$46,66 \pm 0,50$
4,0%4	30	96,66 ± 0,18 a	$73,33 \pm 0,44$ b	86,66 ± 0,34 a	$43,33 \pm 0,50$
8,0%4	30	100,00 ± 0,00 a	$86,66 \pm 0,34$ a	-	$36,66 \pm 0,49$
Valor P		0,00502	0,72094	0,02511	0,72094
Valor T		1,97369	1,97369	1,97646	1,97369

Solubilizante: *Tween; **DMSO, ***Álcool metílico, ****Água. ¹Médias seguidas pela mesma letra (minúscula) nas colunas não são significativamente diferentes (p>0,05) segundo o Teste *Kruskal-Wallis* a 5%.

No bioensaio de monitoramento de atividade biológica, após 72 horas da aplicação, apenas a fração hexânica causou mortalidade das lagartas. Este resultado indica que o isolamento das substâncias ativas deveria prosseguir com esta fração (Tabela 3). Este procedimento de triagem com material biológico é importante, pois através deles que se reduz o número de amostras a serem trabalhadas, tornando o trabalho mais simples, objetivo e viável (CECHINEL FILHO e YUNES, 2008).

Tabela 3: Porcentagem ± EP da mortalidade após 72 horas da aplicação das frações de *Annona mucosa* obtidas na filtração em sílica: Hexano, Hexano \ Clorofórmio 15% Hexano \ Clorofórmio 1:1, Clorofórmio, Clorofórmio \ Metanol 1:1 e controle com Álcool etílico PA sobre lagartas de terceiro instar de *Helicoverpa armigera* por aplicação tópica.

Tratamento		Porcentagem ± EP
Controle	n	$0.0 \pm 0.00 \text{ b}$
Hexano 3	4	50,0 ± 0,57 a
Hexano \ Clorofórmio 15%	4	$0.0 \pm 0.00 b$
Hexano \ Clorofórmio 1:1	4	$0.0 \pm 0.00 b$
Clorofórmio	4	$0.0 \pm 0.00 b$
Clorofórmio \ Metanol 1:1	4	$0.0 \pm 0.00 b$
P valor		0,06333394
T valor		2,100922

¹Médias seguidas pela mesma letra (minúscula) nas colunas não são significativamente diferentes (p>0,05) segundo o Teste *Kruskal-Wallis* a 5%.

Nos bioensaios com as frações provenientes do sefadex, os resultados mais promissores foram obtidos com a fração hexano 3 e F15C1 que, na concentração de 0,05% sobre lagartas de primeiro ínstar causaram a mortalidade acima de 96,0% das lagartas. Na fração F9 C1 e F9 C2 apresentam mortalidade abaixo de 65%.

A fração F12 C2 nas concentrações 0,1 e 0,2% apresentaram mortalidade acima de 86,0% das lagartas. A Fração F32 C1, na concentração de 0,1%, causou 86,66% de mortalidade das lagartas (Tabela 4).

As frações mais promissoras nestes bioensaios foram a hexano 3, que deu origem às demais frações, seguida da Fração F15 C1, que se apresentou rica em ácidos carboxílicos saturados e insaturados, seguida da fração F12 C2, que é rica em acetogeninas.

O ácido hexadecanóico é um ácido carboxílico saturado. Este, foi identificado como principal constituinte do óleo presente nas sementes de *Pachira aquática* (Bombacaceae) e o extrato bruto da semente desta planta apresentou atividade inseticida sobre a broca-do-café (*Hypothenemus hampei*) (Coleoptera: Scolytidae), todavia não há qualquer confirmação de que este composto seja responsável pela atividade inseticida (SOUZA et al., 2012).

Outro ácido carboxílico é o hexadecanoato de metila, que representa (5,95%) da fração com maior potencial inseticida sobre lagartas *S. frugiperda*. Esta fração é derivada do extrato metanílico de *Trichilia claussenii* (MELIACEAE), entretanto não há qualquer confirmação de que este composto seja responsável pela atividade inseticida (NEBO et al., 2010).

As acetogeninas são as principais componentes dos extratos de plantas do gênero *Annona*, são compostos com cadeia longas de carbono, cerca de 35 à 37 compõem sua estrutura. Atualmente existem aproximadamente 500 acetogeninas provenientes de anonáceas identificadas (MOGHADAMTOUSI et al., 2015).

Colom et al. (2007) testaram acetogeninas provenientes do extrato metanólico de sementes de *A. cherimolia* sobre *S. frugiperda* (Neoannonin, Itrabin, Almuñequin, Asimicin, Squamocin, Motrilin, Cherimolin – 1, Cherimolin 2 e Tucumanin). sendo que o resultado mais promissor foi com Squamcin, que causou 100% de mortalidade das lagartas, já as demais acetogeninas apresentaram entre 10 e 30% de mortalidade.

Ansante et al. (2015) identificaram e isolaram a acetogenina Rolliniastatin-1 do extrato de semente de *A. mucosa*. Ao misturar esta substância à dieta artificial e ofertarem para as lagartas, eles obtiveram 87,5% de mortalidade após sete dias da aplicação.

Tabela 4: Porcentagem ± EP da mortalidade com 15 dias após a aplicação das frações hexano 3, F9 C1, F9 C2, F12 C2, F15 C1 e F32 C1 provenientes do sefadex (hexano 3) sobre lagartas de primeiro instar de *Helicoverpa armigera* por aplicação tópica.

	Hexano 3	F9 C1	F9 C2	F12 C2	F15 C1	F32 C1
Controle	$13,33 \pm 0,34 \text{ c}^{1}$	16,00 ± 0,37 b	10,00 ± 0,30 b	16,67 ± 0,37 c	16,66 ± 0,37 c	13,33 ± 0,34 c
0,05%	100,00 ± 0,00 a	$50,00 \pm 0,50$ a	$63,33 \pm 0,49 a$	$50,00 \pm 0,50 b$	96,66 ± 0,18 a	$60,00 \pm 0,49 b$
0,1%	$76,66 \pm 0,43 \text{ b}$	$63,33 \pm 0,49$ a	56,66 ± 0,50 a	86,66 ± 0,34 a	$63,33 \pm 0,49 b$	86,66 ± 0,34 a
0,2%	$76,66 \pm 0,43 \text{ b}$	$46,66 \pm 0,50$ a	$60,00 \pm 0,49$ a	$86,66 \pm 0,34 a$	$63,33 \pm 0,49 b$	$70,00 \pm 0,46$ ab
Valor P	0,0000050323	0,002849343	0,023314350	0,0037361690	0,00096	0,0719488300
Valor T	1,98063	1,98063	1,98063	1,98063	1,98062600	1,98063

¹Médias seguidas pela mesma letra (minúscula) nas colunas não são significativamente diferentes (p>0,05) segundo o Teste Kruskal-Wallis a 5%.

Resultados promissores também puderam ser observados nos testes com lagartas de terceiro instar. A fração hexano causou 93,33% de mortalidade nas lagartas de terceiro instar quando foram tratadas com a concentração de 0,05%. As concentrações testadas das frações F9 C1, F12C2, F15C1 e F32C1 diferiram estatisticamente do controle. Não obstante, mortalidades acima de 80% foram registradas apenas nas frações hexano 3, F9C1, F9C2 e F12C2(Tabela 5).

Tabela 5: Porcentagem ± EP da mortalidade com 15 dias após a aplicação das frações hexano 3, F9 C1, F9 C2, F12 C2, F15 C1 e F32 C1 provenientes do sefadex (hexano 3) sobre lagartas de terceiro instar de *Helicoverpa armigera* por aplicação tópica.

	Hexano 3	F9 C1	F9 C2	F12 C2	F15 C1	F32 C1
Controle	$16,66 \pm 0,37 \text{ c}^{-1}$	16,66 0,37 b	20,00 ± 0,40 c	13,33 ± 0,34 b	10,00 ± 0,30 b	10,00 ± 0,30 b
0,05%	93,33 ± 0,25 a	96,66 0,18 a	$83,33 \pm 0,37$ ab	$83,33 \pm 0,37$ a	$63,33 \pm 0,49$ a	76,66 ± 0,43 a
0,1%	86,66 ± 0,34 ab	83,33 0,37 a	$73,33 \pm 0,44$ b	$73,33 \pm 0,44$ a	56,66 ± 0,50 a	$63,33 \pm 0,49$ a
0,2%	$73,33 \pm 0,44$ b	90,00 0,30 a	93,33 ± 0,25 a	$73,33 \pm 0,44$ a	60,00 ± 0,49 a	63,33 ± 0,49 a
Valor P	0,0001002902	0,00000048	0,0019187750	0,023314350	0,023314350	0,071953700
Valor T	1,98063	1,98063	1,98063	1,98063	1,98063	1,98063

¹Médias seguidas pela mesma letra (minúscula) nas colunas não são significativamente diferentes (p>0,05) segundo o Teste *Kruskal-Wallis* a 5%.

A menor concentração (0,05%) das frações testadas sobre lagartas de terceiro instar causou maior mortalidade nas frações hexano 3, F9C1 e F12C2 (tabela 5). Neste caso, as maiores concentrações testadas causaram um fenômeno conhecido como hormese, que é uma resposta compensatória do inseto sob a exposição a um agente prejudicial ou tóxico (FORBES, 2000). Como resposta, os insetos amenizaram a ação do produto testado causando a diminuição da mortalidade em relação às menores concentrações. Em lagartas de primeiro instar este fenômeno pode ser observado nas frações Hexano 3 e na fração F15C.

As frações F9C1 e F9C2 provavelmente não causaram alta mortalidade das lagartas de primeiro instar, pois estas teriam realizado o processo de ecdise no terceiro dia de vida, liberando a ctina impregnada com produto permanecendo assim pouco tempo exposta para ação. No entanto as lagartas de terceiro instar permaneceram neste estágio de desenvolvimento por mais tempo permitindo ação do produto.

Nos bioensaios com as lagartas de terceiro ínstar as frações mais eficazes foram: F9 C1; hexano 3, F9 C2 e F12 C2. Já nos bioensaios com lagartas de primeiro instar as mais eficazes foram: hexano 3; F12C2 e F15C1. A discrepância entre as frações mais ativas nos bioensaios, com primeiro e terceiro instar, podem estar relacionadas a suscetibilidade das lagartas de primeiro instar ao acido carboxílico presente na fração F15C1, já as lagartas de terceiro instar são mais resistentes a estes ácidos. Conforme observado por Hafez et al. (1997), as lagartas de terceiro instar possuem o tegumento com maior quantidade de quitina depositada, este fator faz com que o produto aplicado sobre a praga tenha menor penetração e, assim, menor eficiência em relação à aplicação nas lagartas de primeiro instar.

Conclusão

As substâncias ativas isoladas de *A. mucosa* indicam o potencial desta espécie no desenvolvimento de novos produtos para o manejo de *H. armigera* no Brasil.

Agradecimentos

À Capes pela concessão de apoio financeiro aos estudos; à Associação de Produtores de Soja e milho do estado de Mato Grosso pelo financiamento desta pesquisa e ao Laboratório de Química de Produtos Naturais (LPqPN) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL) pelo isolamento das substâncias.

Referências

AHMAD, S.; ANSARI, M.S.; MORAIET, M.A. Demographic changes in *Helicoverpa armigera* after exposure to neemazal (1% EC azadirachtin). **Crop Protection**, v. 50, n. 1, p. 30 – 36, 2013.

ANSANTE, T.F.; RIBEIRO, L.P.; BICALHO, K.U.; FERNANDES, J.B.; SILVA, M.F.G.F.; VIEIRA, P.C.; VENDRAMIM, J.D.: Secondary metabolites from neotropical Annonaceae: Screening, bioguided, and toxicity to *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Industrial Crops and Products**. v. 1, n. 74, p. 969- 976, 2015.

ÁVILA, C.J.; VIVAN, L.M.; TOMQUELSKI, G.V. Ocorrência, aspectos biológicos, danos e estratégias de manejo de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) nos sistemas de produção agrícolas. **(Circular técnica 23).** p. 1 – 12, 2013.

CAVALCANTE, G.M.; MOREIRA, A.F.C.; VASCONCELOS, S.D. Potencialidade inseticida de extratos aquosos de essências florestais sobre mosca-branca. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.41, n.1, p. 9-14, 2006.

CECHINEL FILHO, V.C.; 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.

COLOM, O. Á.; NESKE, A.; POPICH, S.; BARDÓN, A. Toxic effects of annonaceous acetogenins from *Annona cherimolia* (Magnoliales: Annonaceae) on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Pest Science**, v. 80, n. 1, p. 63-67, 2007.

CONAB: Séries históricas. DISPONÍVEL EM: http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1252&t=2&Pagina_objcmsconteudos=3#A_objcmsconteudos=ACESSADO EM: 14/10/2014, 2015.

- FORBES, V.E.: Is hormesis an evolutionary expectation? **Funct. Ecol.** N.14: v.1, p.12-24, 2000.
- GARCEZ, F.R.; GARCEZ, W.S.; MAHMOUD, T.S.; FIGUEIREDO, P.O.; RESENDE, U.M. Novos constituintes químicos das cascas do caule de Tabebuia heptaphylla. **Quim. Nova**, v. 30, n. 8, p.1887-1891, 2007.
- GREENE, G.L.; LEPPLA, N.C.; DICKERSON, W.A. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. **Journal of Economic Entomology**, v. 69, n.1, p. 487-488, 1976.
- HAFEZ, M.; ZAKI, F.N.; MOURSY, A.; M.; SABBOUR, M. Biological effects of the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* on the potato tuber moth *Phthorimaea operculella* (SeJler). **Anz. Schlidlingskde**. n.70, v.1 p. 158 159, 1997.
- MOGHADAMTOUSI, S.Z.; FADAEINASAB, M.; NIKZAD, S.; 1, MOHAN, G.; ALI, H.M.; KADIR, H.A. *Annona muricata* (Annonaceae): A Review of Its Traditional Uses, Isolated Acetogenins and Biological Activities. **Int. J. Mol. Sci.**, v.1, n.16, p.15625 15658; 2015.
- NEBO, L.; MATOS, A.P.; VIEIRA, P.C.; FERNANDES, J.B; SILVA, M.F.G.F. atividade inseticida dos frutos de *Trichilia claussenii* (MELIACEAE) sobre *Spodoptera frugiperda*. **Quim. Nova**, v. 33, n. 9, p.1849-1852, 2010.
- RIBEIRO, L.P.; AKHTAR, Y.; VENDRAMIM, J.D.; ISMAN, M.B.: Comparative bioactivity of selected seed extracts from Brazilian Annona species and an acetogenin-based commercial bioinsecticide against *Trichoplusia ni* and *Myzus persicae*. Crop Protection. v. 62, n.1, p. 100-106, 2014.
- PITON, L.P.; TURCHEN, L.M.; BUTNARIU, A.R.; PEREIRA, M.J.B. Natural insecticide based-leaves extract of *Piper aduncum* (Piperaceae) in the control of stink bug brown soybean. **Ciência Rural**, v.44, n.11, p.1915-1920, 2014.
- SABLE, J.H.; LANDGE, S.A.; KADU R.V.; BARKADE, D.P. Effect of plant extracts on larval mortality of *Helicoverpa armigera*. **International Journal of Plant Protection,** n. 2, v. 4, p. 248-251, 2011.
- SOUZA, D.K.; LIMA, R.A.; DOMINGUES, C.A.; PEDROSO, L.A.; FACUNDO, V.A.; GAMA, F.C.; SANTOS, M.R.A. Bioatividade do exrato etanólico obtido de sementes de *Pachira aquatica* Aubl. sobre *Hypothenemus hampei* (Ferrari). **Revista Saúde e Pesquisa,** v. 5, n. 2, p. 352-358, 2012.

VILELA, M.; MENDES, S.M.; VALICENTE, F.H.; CARVALHO, S.S.S.; SANTOS, A.E. SANTOS, C.A.; ARAÚJO, O.G.; BARBOSA, T.A.N.; CARVALHO, E.A.R.; COSTA, V.H.D. Metodologia para Criação e Manutenção de *Helicoverpa armigera* em Laboratório. Circular técnica 203, Embrapa Sete Lagoas – MG, 2014.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Mediante os resultados, *H. armigera* apresenta uma grande ameaça à produção de soja no estado de Mato Grosso, visto que os municípios produtores de soja do estado apresentam boas condições para o desenvolvimento da praga principalmente no Bioma amazônia, onde ocorrerá o avanço da nova fronteira agrícola. Com a perspectiva de aumento da população de *H. armigera* e a falta de registro de produtos para o controle desta praga, é crescente a necessidade de busca por novas moléculas para o controle eficiente da mesma, para tanto A. mucosa se mostrou eficiente no controle desta praga.