

LAURA ARAUJO SANCHES

**EXTRATOS DE ESPÉCIES FLORESTAIS
NATIVAS DA AMAZÔNIA MERIDIONAL NO
CONTROLE DE *Atta sexdens* Linnaeus
(HYMENOPTERA: FORMICIDAE) E *Aphis
craccivora* Koch (HEMIPTERA: APHIDIDAE).**

Dissertação de Mestrado

ALTA FLORESTA-MT

2019

	LAURA ARAUJO SANCHES	Diss. MESTRADO	PPG BioAgroANO



UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO
FACULDADE DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E
AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
BIODIVERSIDADE E AGROECOSSISTEMAS
AMAZÔNICOS



LAURA ARAUJO SANCHES

**EXTRATOS DE ESPÉCIES FLORESTAIS
NATIVAS DA AMAZÔNIA MERIDIONAL NO
CONTROLE DE *Atta sexdens* Linnaeus
(HYMENOPTERA: FORMICIDAE) E *Aphis
craccivora* Koch (HEMIPTERA: APHIDIDAE).**

Dissertação apresentada à Universidade do Estado de Mato Grosso, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos, para a obtenção do título de Mestre em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Juliana Garlet

ALTA FLORESTA-MT

2019

AUTORIZO A DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO, CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Catologação na publicação

Faculdade de Ciências Biológicas e Agrárias

Walter Clayton de Oliveira CRB 1/2049

SANCHES, Laura Araujo.
S211e Extratos de Espécies Florestais Nativas da Amazônia Meridional no Controle de *Atta Sexdens* Linnaeus (Hymenoptera: Formicidae) e *Aphis Craccivora* Koch (Hemiptera: Aphididae). / Laura Araujo Sanches – Alta Floresta, 2019.
115 f.; 30 cm.(ilustrações) Il. color. (sim)

Trabalho de Conclusão de Curso (Dissertação/Mestrado) – Curso de Pós-graduação Stricto Sensu (Mestrado Acadêmico) Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos, Faculdade de Ciências Biológicas e Agrárias, Câmpus de Alta Floresta, Universidade do Estado de Mato Grosso, 2019.
Orientadora: Dr^a. Juliana Garlet

1. Insetos-Praga. 2. Inseticidas Botânicos. 3. *Cheiloclinium Cognatum*. 4. Metabólitos Secundários. I. Laura Araujo Sanches. II. Extratos de Espécies Florestais Nativas da Amazônia Meridional no Controle de *Atta Sexdens* Linnaeus (Hymenoptera: Formicidae) e *Aphis Craccivora* Koch (Hemiptera: Aphididae).:

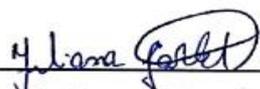
CDU 595.7

**EXTRATOS DE ESPÉCIES FLORESTAIS
NATIVAS DA AMAZÔNIA MERIDIONAL NO
CONTROLE DE *Atta sexdens* Linnaeus
(HYMENOPTERA: FORMICIDAE) E *Aphis
craccivora* Koch (HEMIPTERA: APHIDIDAE).**

Laura Araujo Sanches

Dissertação apresentada à Universidade do Estado de Mato Grosso, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos, para a obtenção do título de Mestre em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos.

Aprovada em: 25/03/2019



Prof. Dra. Juliana Garlet

Orientadora – UNEMAT/ PPGBioAgro



Prof. Dra. Ivone Vieira da Silva

UNEMAT/ PPGBioAgro



Prof. Dr. Jardel Boscardin

UFU/ ICIAG

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por me manter sempre firme para seguir sempre em frente.

A minha família, por sempre me apoiar, incentivar o estudo e tornar possível à conquista desse título, em especial para minha irmã Raiane Araújo e mãe Rosinalva Araújo que me ajudaram a conquistar mais este objetivo.

Ao meu namorado Victor Fonseca por todo apoio, paciência e incentivo em todos os momentos.

A todos os professores do Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos (PPGBioAgro), que contribuíram para o meu crescimento, compartilhando o conhecimento. Aos professores Oscar Yamashita, Marco Antonio Camillo e Isane Vera Karsburg que disponibilizaram o laboratório auxiliando a realização desta pesquisa. A Juliana Garlet por toda orientação, paciência e ensinamentos.

A Mayara Peron Pereira professora adjunta da Universidade Federal de Mato Grosso que nos ajudou na confecção dos extratos e também pela paciência e apoio sempre que precisei. A professora Adriana Costa Sorato (UNEMAT), pelo apoio e ensinamento.

Aos amigos Mariane Kaori, Jullyanna Mendes, Roseline, Jean Correia, Jesulino Alves, Fabiana Cabral, pela grande ajuda na realização deste trabalho. E a todos os meus amigos da turma de 2017 que me ajudaram compartilhando seus conhecimentos e momentos agradáveis, em especial as amigas Aline Ramalho e Bruna Martins.

A Universidade do Estado de Mato Grosso com o fornecimento do Programa de Pós-Graduação Stricto sensu em Biodiversidades e Agroecossistemas Amazônicos.

A Coordenação de aperfeiçoamento de pessoal de nível superior (CAPES) e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Mato Grosso (FAPEMAT) pela bolsa concedida.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para realização desta pesquisa.

“Faça o seu melhor, na condição que você tem, enquanto
você não tem condições melhores para fazer melhor ainda”

Mário Sérgio Cortella

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	vi
LISTA DE FIGURAS.....	vii
RESUMO.....	ix
ABSTRACT	xi
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	5
3. CAPÍTULO 1	7
3.1 IDENTIFICAÇÃO DAS CLASSES DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS EM FOLHAS DE TRÊS ESPÉCIES FLORESTAIS NATIVAS DA AMAZÔNIA MERIDIONAL.....	7
Resumo	8
Abstract.....	8
Introdução	10
Material e Métodos.....	13
Resultados	15
Discussão.....	16
Conclusões.....	20
Referências Bibliográficas.....	21
4. CAPÍTULO 2	26
4.1 EXTRATOS DE ESPÉCIES FLORESTAIS NATIVAS DA AMAZÔNIA MERIDIONAL NO CONTROLE DE <i>Atta sexdens</i> Linnaeus (HYMENOPTERA: FORMICIDAE)	26
Resumo –	27
Abstract.....	27
Introdução	29
Materiais e Métodos	31
Resultados	34
Discussão.....	42
Conclusões.....	46
Referências Bibliográficas.....	47

5. CAPÍTULO 3	51
5.1 POTENCIAL INSETICIDA DE EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE ESPÉCIES ARBÓREAS DA AMAZÔNIA MERIDIONAL NO CONTROLE DE <i>Atta sexdens</i> LINNAEUS (HYMENOPTERA: FORMICIDAE)	51
Resumo	52
Abstract	52
Introdução	54
Materiais e Método	56
Resultados	59
Discussão	65
Conclusões	68
Referências Bibliográficas	69
6. CAPÍTULO 4	71
6.1 EXTRATOS DE ESPÉCIES FLORESTAIS NATIVAS DA AMAZÔNIA MERIDIONAL NO CONTROLE DE <i>Aphis craccivora</i> KOCH (HEMIPTERA: APHIDIDAE)	71
Resumo	72
Abstract	72
Introdução	74
Materiais e Método	77
Resultados	80
Discussão	90
Conclusões	95
Referências Bibliográficas	96
7. CONCLUSÕES GERAIS	101

LISTA DE TABELAS

TABELAS

Página

CAPÍTULO 1

1. Metabólitos secundários presentes em folhas de espécies florestais de Alta Floresta, MT. 15

CAPÍTULO 2

1. Mortalidade média acumulada (%) de extratos aquoso, alcoólico e de infusão de folhas de *Cheiloclinium cognatum*, *Metrodorea flavida* e *Tetragastris altissima* em diferentes concentrações com aplicação tópica após 72 horas sobre operárias de *Atta sexdens*. 34
2. Mortalidade média acumulada (%) de operárias de *Atta sexdens* alimentadas com dieta artificial incorporada a diferentes concentrações de extratos aquoso e infusão de folhas de *Cheiloclinium cognatum*, *Metrodorea flavida* e *Tetragastris altissima* avaliada após 72 horas. 39

CAPÍTULO 4

1. Mortalidade média acumulada (%) de *Aphis craccivora* após 24, 48 e 72 horas da aplicação de extratos aquoso, alcoólico e infusão de folhas de *Cheiloclinium cognatum* em diferentes concentrações. 80
2. Mortalidade média acumulada (%) de *Aphis craccivora* após 24, 48 e 72 horas da aplicação de extratos aquoso, alcoólico e infusão de folhas de *Metrodorea flavida* em diferentes concentrações. 82
3. Mortalidade média acumulada (%) de *Aphis craccivora* após 24, 48 e 72 horas da aplicação de extratos aquoso, alcoólico e infusão de folhas de *Tetragastris altissima* em diferentes concentrações. 85
4. Concentração Letal de extrato alcoólico de folhas de *Cheiloclinium cognatum*, *Metrodorea flavida*, *Tetragastris altissima* em *Aphis craccivora*, no período de 72 horas. 87

LISTA DE FIGURAS

FIGURAS	Página
CAPÍTULO 2	26
1. Mortalidade média acumulada de operárias de <i>Atta sexdens</i> nos extratos aquoso, alcoólico e de infusão de <i>Cheiloclinium cognatum</i> em cada concentração após 72 horas em bioensaio com aplicação tópica.....	36
2. Mortalidade média acumulada de operárias de <i>Atta sexdens</i> nos extratos aquoso, alcoólico e de infusão de <i>Metrodorea flavida</i> em cada concentração após 72 horas em bioensaio com aplicação tópica.	37
3. Mortalidade média acumulada de operárias de <i>Atta sexdens</i> nos extratos aquoso, alcoólico e de infusão de <i>Tetragastris altissima</i> em cada concentração após 72 horas em bioensaio com aplicação tópica.	38
4. Mortalidade média acumulada de operárias de <i>Atta sexdens</i> nos extratos aquoso e de infusão de <i>Cheiloclinium cognatum</i> em cada concentração após 72 horas em bioensaio de ingestão.....	40
5. Mortalidade média acumulada de operárias de <i>Atta sexdens</i> nos extratos aquoso e de infusão de <i>Metrodorea flavida</i> em cada concentração após 72 horas em bioensaio de ingestão.....	41
6. Mortalidade média acumulada de operárias de <i>Atta sexdens</i> nos extratos aquoso e de infusão de <i>Tetragastris altissima</i> em cada concentração após 72 horas em bioensaio de ingestão.....	41
CAPÍTULO 3	51
1. Mortalidade média acumulada (%) de <i>Atta sexdens</i> ocasionada por extrato hidroalcoólico de <i>Cheiloclinium cognatum</i> com aplicação por contato em períodos de 24 horas (1A), 48 horas (1B) e 72 horas (1C), e por ingestão nos períodos de 24 horas (1D), 48 horas (1E) e 72 horas (1F).....	59
2. Mortalidade média acumulada (%) de <i>Atta sexdens</i> ocasionada por extrato hidroalcoólico de <i>Metrodorea flavida</i> com aplicação por contato em períodos de 24 horas (2A), 48 horas (2B) e 72 horas (2C), e por ingestão nos períodos de 24 horas (2D), 48 horas (2E) e 72 horas (2F).	61
3. Mortalidade média acumulada (%) de <i>Atta sexdens</i> ocasionada por extrato hidroalcoólico de <i>Tetragastris altissima</i> com aplicação por contato em períodos de 24 horas (3A), 48 horas (3B) e 72 horas (3C), e por ingestão nos períodos de 24 horas (3D), 48 horas (3E) e 72 horas (3F).	63
CAPÍTULO 4	71

1. Concentração Letal (CL ₅₀ e CL ₉₀) do extrato alcoólico de folhas de <i>Cheiloclinium cognatum</i> , após correção da mortalidade pela formula de Abbott. As concentrações foram transformadas por $\log_{10} x$	82
2. Concentração Letal (CL ₅₀ e CL ₉₀) do extrato alcoólico de folhas de <i>Metrodorea flavida</i> , após correção da mortalidade pela formula de Abbott. As concentrações foram transformadas por $\log_{10} x$	84
3. Concentração Letal (CL ₅₀ e CL ₉₀) do extrato alcoólico de folhas de <i>Tetragastris altissima</i> , após correção da mortalidade pela formula de Abbott. As concentrações foram transformadas por $\log_{10} x$	87
4. Comparação das concentrações letais (CL ₅₀ e CL ₉₀) do extrato alcoólico de <i>Cheiloclinium cognatum</i> (Cc), <i>Metreodora flavida</i> (Mf), <i>Tetragastris altissima</i> (Ta). Média [IC95 inferior e IC95 superior] acompanhadas de mesma letra não diferem entre si com base na sobreposição dos intervalos de confiança.....	88
5. Curvas de concentração-mortalidade do extrato alcoólico de folhas de <i>Cheiloclinium cognatum</i> (Cc), <i>Metreodora flavida</i> (Mf), <i>Tetragastris altissima</i> (Ta) em <i>Aphis craccivora</i> , após correção da mortalidade pela fórmula de Abbott.....	89

RESUMO

SANCHES, Laura Araujo. M.Sc. Universidade do Estado de Mato Grosso, Fevereiro de 2019 **Extratos de espécies florestais nativas da Amazônia Meridional no controle de *Atta sexdens* Linnaeus (Hymenoptera: Formicidae) e *Aphis craccivora* Koch (Hemiptera: Aphididae)**. Orientadora: Dr^a Juliana Garlet.

Este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial inseticida de extratos de folhas de *Cheilochlinium cognatum* (Miers) A. C. Sm (Celastraceae), *Metrodorea flavida* K.Krause (Rutaceae) e *Tetragastris altissima* (Aubl.) Swart (Burseraceae), no controle de *Atta sexdens* Linnaeus (Hymenoptera: Formicidae) e *Aphis craccivora* Koch (Hemiptera: Aphididae). Para tal, realizou-se primeiramente a análise de quatro classes de metabólitos secundários que são descritas na literatura com efeito inseticida: alcaloides, flavonoides, saponinas e taninos. Foram realizados testes fitoquímicos conforme protocolo pré-estabelecido, e posteriormente, foram realizados três experimentos, o primeiro utilizando extratos aquoso, alcoólico e de infusão e o segundo extrato hidroalcoólico no controle de *Atta sexdens* e o terceiro com extratos aquoso, alcoólico e de infusão no controle de *Aphis craccivora*, em condições de laboratório. O experimento com *Atta sexdens* constou da análise de dois modos de ação, por aplicação tópica e ingestão dos extratos. Operárias coletadas a campo foram acondicionadas em frascos de vidro, em condições de laboratório, onde houve fornecimento de dieta artificial. Em bioensaio com aplicação tópica, os extratos foram pulverizados no momento da instalação do experimento e a dieta livre de extratos foi fornecida a cada 24 horas. Em bioensaio por ingestão os extratos foram incorporados na dieta artificial e também foram fornecidos a cada 24 horas. Para o experimento com *Aphis craccivora*, os afídeos foram colocados em placas de petri e expostos a aplicação tópica dos extratos que foi realizada somente no momento da instalação do experimento. Os três experimentos foram avaliados por um período de 72 horas a partir da aplicação dos extratos aquoso, alcoólico e de infusão ou hidroalcoólico, e a mortalidade acumulada foi realizada através da contagem de insetos mortos. Os experimentos foram organizados em

delineamento inteiramente casualizado, sendo semelhante o primeiro experimento com *Atta sexdens* e o experimento com *Aphis craccivora*, composto por três extratos para cada espécie (aquoso, alcoólico e de infusão), cinco concentrações (3, 6, 9, 12 e 15% + dimetilsulfoxido (DMSO) 1%), cinco repetições, e cada unidade experimental foi constituída por dez insetos, totalizando 50 indivíduos por tratamento, além de uma testemunha (água destilada + DMSO 1% ou dieta pura (apenas no experimento de ingestão com *Atta sexdens*) e um controle (inseticida químico, Fipronil). Já para o segundo experimento com *Atta sexdens* utilizou-se esquema fatorial 3x6 (três espécies florestais e seis concentrações) com cinco repetições, e cada unidade experimental foi constituída por dez formigas. Em cada tratamento utilizou-se 50 indivíduos, totalizando 800 formigas. As concentrações avaliadas foram: 0,5; 0,8; 1,2; 1,9 e 3% acrescido de DMSO 0,5%, e como testemunha utilizou-se água destilada + DMSO 0,5% ou dieta pura + DMSO 0,5%). *Cheiloclinium cognatum* apresentou alcaloides, flavonoides, saponinas e taninos, enquanto que, as espécies *Metrodorea flavida* e *Tetragastris altissima* apresentaram resultados positivos para saponinas e taninos. Os extratos aquoso, alcoólico e de infusão das espécies *Cheiloclinium cognatum*, *Metrodorea flavida* e *Tetragastris altissima* apresentam atividade inseticida tanto em *Atta sexdens* como para *Aphis craccivora*. Entretanto, os efeitos nas mortalidades causadas pelos três tipos de extrato e espécies, apresentaram desempenhos diferentes quando submetidos à espécie de inseto diferente. Os extratos alcoólico e de infusão na concentração de 15% da espécie *Cheiloclinium cognatum* causam maior mortalidade em *Atta sexdens* em bioensaio por contato. Para o controle de *Aphis craccivora* indica-se o uso do extrato alcoólico da espécie *Metrodorea flavida* na concentração de 9%. *Cheiloclinium cognatum* também é a espécie mais promissora em bioensaio por contato na concentração de 1,9% do extrato hidroalcoólico.

Palavras-chave: Insetos-praga, inseticidas botânicos, *Cheiloclinium cognatum*, metabólitos secundários.

ABSTRACT

SANCHES, Laura Araujo. M.Sc. Universidade do Estado de Mato Grosso, Fevereiro de 2019 **Extracts of native forest species from Southern Amazonia in the control of *Atta sexdens* Linnaeus (Hymenoptera: Formicidae) and *Aphis craccivora* Koch (Hemiptera: Aphididae)**. Orientadora: Dr^a Juliana Garlet.

The objective of this work was to evaluate the insecticidal potential of leaf extracts of *Cheilochlinium cognatum* (Miers) ACSm (Celastraceae), *Metrodorea flavida* K. Krause (Rutaceae) and *Tetragastris altissima* (Aubl.) Swart (Burseraceae) in the control of *Atta sexdens* Linnaeus (Hymenoptera: Formicidae) and *Aphis craccivora* Koch (Hemiptera: Aphididae). For this purpose, four classes of secondary metabolites were described, which are described in the literature with insecticidal effect: alkaloids, flavonoids, saponins and tannins. Phytochemical tests were performed according to the pre-established protocol, and three experiments were carried out, the first using aqueous, alcoholic and infusion extracts and the second hydroalcoholic extract in the control of *Atta sexdens* and the third with aqueous, alcoholic and infusion extracts in the control of *Aphis craccivora* under laboratory conditions. The experiment with *Atta sexdens* consisted of the analysis of two modes of action, by topical application and ingestion of the extracts. Workers collected in the field were conditioned in glass bottles, under laboratory conditions, where artificial diet was provided. In bioassays with topical application, the extracts were sprayed at the time of the experiment setup and the extract-free diet was given every 24 hours. In bioassay by ingestion extracts were incorporated into the artificial diet and were also provided every 24 hours. For the experiment with *Aphis craccivora*, the aphids were placed in petri dishes and exposed to the topical application of the extracts that was performed only at the time of installation of the experiment. The three experiments were evaluated for a period of 72 hours from the application of aqueous, alcoholic and infusion or hydroalcoholic extracts, and the accumulated mortality was performed through the count of dead insects. The experiments were organized in a completely randomized design, similar to the first experiment with *Atta sexdens* and the

experiment with *Aphis craccivora*, composed of three extracts for each species (aqueous, alcoholic and infusion), five concentrations (3, 6, 9, 12 and 15% + dimethylsulfoxide (DMSO) 1%), five replicates, and each experimental unit consisted of ten insects, totaling 50 individuals per treatment, plus one control (distilled water + 1% DMSO or pure diet (ingestion experiment with *Atta sexdens* only) and one control (chemical insecticide, Fipronil). Already for the second experiment with *Atta sexdens*, a 3x6 factorial scheme (three forest species and six concentrations) was used with five replicates, and each experimental unit consisted of ten ants. In each treatment 50 individuals were used, totalizing 800 ants. The concentrations evaluated were: 0.5, 0.8, 1.2, 1.9 and 3%, plus 0.5% DMSO, and as test animals. distilled water + 0.5% DMSO or pure diet + 0.5% DMSO) was used. *Cheiloclinium cognatum* showed alkaloids, flavonoids, saponins and tannins, whereas the species *Metrodorea flavida* and *Tetragastris altissima* showed positive results for saponins and tannins. The aqueous, alcoholic and infusion extracts of the species *Cheiloclinium cognatum*, *Metrodorea flavida* and *Tetragastris altissima* show insecticidal activity in both *Atta sexdens* and *Aphis craccivora*. However, the effects on the mortalities caused by the three types of extract and species, presented different performances when submitted to the different insect species. The alcohol and infusion extracts at the concentration of 15% of *Cheiloclinium cognatum* cause higher mortality in *Atta sexdens* in contact bioassay. For the control of *Aphis craccivora* the use of the alcoholic extract of the species *Metrodorea flavida* in the concentration of 9% is indicated. *Cheiloclinium cognatum* is also the most promising species in contact bioassay at the concentration of 1.9% of the hydroalcoholic extract.

Key-words: Insect-pest, botanical insecticides, *Cheiloclinium cognatum*, secondary metabolites.

1. INTRODUÇÃO GERAL

Entre os inúmeros insetos-praga de culturas agrícolas e florestais destacam-se as formigas cortadeiras e os pulgões, que causam significativos prejuízos devido a grande capacidade, no caso da formiga de desfolhamento das plantas e dos pulgões a intensa sucção da seiva. As formigas são consideradas pragas severas podendo provocar perdas de até 100% em cultivos comerciais (ZANETTI et al., 2003). As formigas cortadeiras podem causar a morte de mudas, redução do crescimento de árvores e também provocar a diminuição da resistência da planta a outros insetos e agentes patogênicos. Já os pulgões, durante sua alimentação podem injetar toxinas, sendo considerados potenciais transmissores de viroses e também causam danos em diferentes espécies de plantas.

O controle de insetos-praga, em geral, tem sido realizado com o uso de inseticidas sintéticos, e é crescente a preocupação do uso intenso e inadequado desses inseticidas e sobre os efeitos causados tanto em humanos como no meio ambiente. Além disso, a busca pela certificação florestal tem evidenciado a necessidade de novas alternativas de controle, principalmente de formigas, devido à restrição e escassez de inseticidas registrados para o setor florestal.

Neste sentido, o setor agrícola e os órgãos de legislação e proteção ambiental estão em processo constante de estímulo a substituição dos produtos sintéticos em favor de outros métodos de controle (VIEGAS Jr., 2003). É crescente assim, o interesse em métodos alternativos para controle de pragas, tornando imprescindível o desenvolvimento e registro de novos produtos através do uso de substâncias provenientes de plantas.

A utilização de extratos e substâncias obtidas de plantas está demonstrando uma eficiência satisfatória no controle de pragas, e em geral, têm aumentado em todo mundo. Merecem destaque algumas substâncias já conhecidas e com efeito inseticida como: a piretrina, extraída das flores de *Chrysanthemum* (Família Compositae), a nicotina de *Nicotiana tabacum* L. (Família Solenaceae), a rotenona encontrada em plantas da Família Leguminosae e a azadiractina composto encontrado na *Azadirachta indica* A.

Juss (Família Meliaceae) (ADDOR, 1994; GODFREY, 1994; MORDUE; BLACKELL, 1993).

Os inseticidas botânicos são considerados uma alternativa ecológica, pois são facilmente biodegradáveis (TUREK; STINTZING, 2013; FERNANDEZ-PEREZ et al., 2014) e em alguns casos possuem baixa a moderada toxicidade a mamíferos (ISMAN, 2006; ISMAN; MIRESMALLI; MACHIAL, 2011). Além disso, extratos brutos de plantas podem ser mais acessíveis para os agricultores familiares e promissores em sistemas de produção orgânica (MUGISHA-KAMATENESI et al., 2008; KARERU et al., 2013). O processo mais utilizado para a extração de metabólitos secundários é a extração por solvente, e existem diferentes métodos que podem ser utilizados. No presente estudo buscou-se o método de preparo que fosse mais simples e reprodutível, comparando três extratos de folhas aquoso, alcoólico, de infusão, e verificar também a eficiência de extrato hidroalcoólico, bem como a verificação de classes de metabólitos com potencial inseticida.

Estudos examinando a atividade dos extratos são importantes, pois sugerem quais espécies são potenciais fontes de substâncias com atividades inseticidas e apontam os organismos-alvo, além de fornecerem informações sobre o modo de ação dessas substâncias. No geral, pode-se distinguir três tipos que descrevem o modo de ação de uma substância de origem botânica sobre os insetos, sendo eles: a ação tóxica, repelente e/ou antialimentar; a ação sobre órgãos ou moléculas-alvo; e ação por contato ou ingestão (KATHRINA; ANTONIO, 2004). Nesta pesquisa buscou-se avaliar a eficiência dos extratos em *Atta sexdens* nos dois modos de ação, por contato e ingestão e em *Aphis craccivora* por contato.

Substâncias antialimentares atuam somente por ingestão, um exemplo, é a salanina, presente nos extratos de *Azadirachta indica* A. Juss, que provoca uma redução dos movimentos das paredes do intestino e, por consequência, causa uma pronunciada perda de apetite, o que pode finalmente resultar na morte do inseto por inanição (AGUIAR-MENEZES, 2005). Essas substâncias estão atraindo a atenção dos pesquisadores, pois sua forma de

ação é específica e restrita à espécies de insetos herbívoros e, portanto, não apresenta toxicidade aos seres humanos ou esta é mínima.

Existem inúmeras espécies florestais da região amazônica que apresentam potencial inseticida e que podem ser utilizadas no controle de insetos. As plantas escolhidas para serem avaliadas foram às espécies nativas da Amazônia Meridional: *Cheiloclinium cognatum* (Miers) A.C.Sm (Celastraceae), *Metrodorea flavida* K.Krause (Rutaceae), *Tetragastris altissima* (Aubl.) Swart (Burseraceae). A escolha das espécies vegetais se deu a partir de testes preliminares que demonstraram a presença de metabólitos secundários com possível ação inseticida, além disso, são espécies que ocorrem em abundância na região.

A espécie *Cheiloclinium cognatum* pertence à família Celastraceae, no Brasil esta família é representada por 141 espécies, das quais, 57 são endêmicas divididas em 19 gêneros, sendo que 26 espécies ocorrem no estado de Mato Grosso (LOMBARDI; GROppo; BIRAL, 2015). *Cheiloclinium cognatum* é conhecida como bacupari e pitombinha, espécie terrícola, podendo ser encontrada como: arbusto, árvore, liana, volúvel e trepadeira. É nativa, mas não é endêmica do Brasil, apresentando uma distribuição geográfica com ocorrências confirmadas no Norte (Acre, Amazonas, Amapá, Pará, Rondônia, Roraima, Tocantins) Nordeste (Alagoas, Bahia, Maranhão, Pernambuco, Piauí) Centro-Oeste (Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso) Sudeste (Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo) e possíveis ocorrências no Sul (Paraná). Domínios Fitogeográficos Amazônia, Cerrado, Mata Atlântica, Pantanal (FLORA DO BRASIL 2020 EM CONSTRUÇÃO).

Metrodorea flavida pertence à família Rutaceae, que no Brasil possui 194 espécies, sendo que 106 são endêmicas, distribuídas em 32 gêneros, com 33 espécies de plantas dessa família ocorrendo no estado de Mato Grosso (PIRANI; GROppo, 2015). *Metrodorea flavida* é conhecida popularmente como: três folhas ou carrapateira (Mato Grosso); café-bravo (Maranhão); casca grossa, pau d' arquinho, pirarara e pirarara branca (Acre). É uma espécie arbórea terrícola, nativa, mas não é endêmica do Brasil, e apresenta uma distribuição geográfica com ocorrências confirmadas em Norte (Acre,

Amazonas, Amapá, Pará, Rondônia) Nordeste (Maranhão) e Centro-Oeste (Mato Grosso) (FLORA DO BRASIL 2020 EM CONSTRUÇÃO).

A espécie *Tetragastris altissima* pertence à família Burseraceae, que no Brasil é representada por 104 espécies, sendo 21 endêmicas, divididas em sete gêneros, e 39 espécies ocorrem no estado de Mato Grosso (DALY, 2015). É conhecida como: amescla aroeira (Mato Grosso); breu, breu maxixi, breu vermelho e mata fome (Acre). É uma espécie arbórea terrícola, nativa, mas não é endêmica do Brasil, tendo distribuição geográfica com ocorrências confirmadas no Norte (Acre, Amazonas, Amapá, Pará, Rondônia) Nordeste (Maranhão) Centro-Oeste (Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso). Apresenta domínios fitogeográficos da Amazônia, Cerrado (FLORA DO BRASIL 2020 EM CONSTRUÇÃO).

Sabendo da existência da atividade inseticida de plantas, e que o Brasil apresenta uma diversidade de espécies, o objetivo desta pesquisa é avaliar o potencial inseticida de extratos de folhas de *Cheiloclinium cognatum* (Miers) A.C.Sm (Celastraceae), *Metrodorea flavida* K.Krause (Rutaceae) e *Tetragastris altissima* (Aubl.) Swart (Burseraceae), no controle de *Atta sexdens* Linnaeus (Hymenoptera: Formicidae) e *Aphis craccivora* Koch (Hemiptera: Aphididae).

2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADDOR, R. W. Inseticidas. In: C.R.A. GODFREY (Ed.). **Agrochemicals from natural products**, New York: Marcle Dekker, p.1-62, 1994.

AGUIAR-MENEZES, E. L. **Inseticidas botânicos**: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2005. 58 p. (Documento, 205).

DALY, D. C. **Burseraceae**. In: Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB68>>. Acesso em: 15 Fev. 2019.

FERNANDEZ-PEREZ, M.; FLORES-CESPEDES, F.; DAZA-FERNANDEZ, I, VIDALPENA, F.; VILLAFRANCA-SANCHEZ, M. Lignin and lignosulfonate-based formulations to protect pyrethrins against photodegradation and volatilization. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 53, n. 35, p. 13557 - 13564, 2014.

FLORA DO BRASIL 2020 EM CONSTRUÇÃO. Burseraceae. In: Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB68>>. Acesso em: 15 Fev. 2019.

FLORA DO BRASIL 2020 EM CONSTRUÇÃO. Celastraceae. In: Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB82>>. Acesso em: 15 Fev. 2019.

FLORA DO BRASIL 2020 EM CONSTRUÇÃO. Rutaceae. In: Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB212>>. Acesso em: 15 Fev. 2019.

GODFREY, C. R. A. Fungicides and bactericides. In: GODFREY, C. R. A. (ed.). **Agrochemicals from natural products**, New York: Marcle Dekker, p. 311 - 339, 1994.

ISMAN, M. B. Botanical insecticides, deterrents and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology**, v. 51, p. 46 - 66, 2006.

ISMAN, M. B.; MIRESMALLI, S.; MACHIAL, C. Commercial opportunities for products pesticides based on plant essential oils in agriculture: industry and consumer. **Phytochemistry Reviews**, v. 10, p. 197 - 204, 2011.

KARERU, P.; ROTICH, Z. K.; MAINA, E. W. Use of botanicals and safer insecticides designed in controlling insects: the African case. **Intech**, p. 298 - 309, 2013.

KATHRINA, G. A.; ANTONIO, L. O. J. Controle biológico de insectos mediante extractos botánicos. In: CARBALL, M.; GUAHARAY, F. (Ed.). **Control biológico de plagas agrícolas**. Managua: CATIE, 2004. p. 137 - 160. (Serie Técnica. Manual Técnico/CATIE, 53).

LOMBARDI, J. A.; GROPPPO, M.; BIRAL, L. Celastraceae. In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB82>>. Acesso em: 15 Abr. 2017.

MORDUE, A. J.; BLACKWELL, A. Azadirachtin: an update. **Journal of insect physiology**, v. 39, n. 11, p. 903-924, 1993.

MUGISHA-KAMATENESI, M; DENG, A. L.; OGENDO J. O; OMOLO E. O; MIHALE M. J.; OTIM, M; BUYUNGO, J. P.; BETT, P. K. Indigenous knowledge of field insect pests and their management around Lake Victoria basin in Uganda. **African Journal of Environmental Science and Technology**, v. 2, n. 10, p. 342 - 348, 2008.

PIRANI, J.R.; GROPPPO, M. Rutaceae. In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB212>>. Acesso em: 15 Abr. 2017.

TUREK, C.; STINTZING, F.C. Stability of essential oils: a review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 12, n. 1, p. 40 - 53, 2013.

VIEGAS Jr., C. V. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, v. 26, n. 3, p. 390 - 400, 2003.

ZANETTI, R.; ZANUNCIO, J. C.; VILELA, E. F.; LEITE, H. G.; JAFFÉ, K.; OLIVEIRA, A. C. Level of economic damage for leaf-cutting ants (Hymenoptera: Formicidae) in Eucalyptus plantations in Brazil. **Sociobiology**, v. 42, n. 2, p. 442 - 443, 2003.

3. CAPÍTULO 1

3.1 IDENTIFICAÇÃO DAS CLASSES DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS EM FOLHAS DE TRÊS ESPÉCIES FLORESTAIS NATIVAS DA AMAZÔNIA MERIDIONAL

Resumo – (Identificação das classes de metabólitos secundários em folhas de três espécies florestais nativas da Amazônia Meridional). As plantas são fontes naturais de substâncias conhecidas como metabólitos secundários, que podem exercer função de proteção contra a herbivoria de insetos. Essas substâncias podem ser utilizadas como inseticidas vegetais, devendo ser estudadas para a determinação das espécies de plantas com tais propriedades. Sendo assim, este trabalho teve como objetivo realizar um estudo fitoquímico das classes de metabólitos secundários presentes em folhas de espécies florestais nativas da Amazônia Meridional. Foram realizados testes para as seguintes classes de metabólitos secundários: alcaloides, flavonoides, saponinas e taninos, conforme protocolo pré-estabelecido. Para isso, folhas de *Cheiloclinium cognatum* (Miers) A.C.Sm., *Metrodorea flavida* (K.Krause) e *Tetragastris altissima* (Aubl.) Swart foram levadas a estufa de circulação forçada de ar a 65°C por 72 horas. Posteriormente, 20g do material seco e triturado foi diluído em 100 mL de álcool (92,8%), sendo esta solução mantida em banho-maria por 15 minutos sob agitação. Em seguida, foi realizada a filtração e o extrato armazenado em local fresco, seco e protegido da luz. O material foi submetido a teste fitoquímico que consistiu na identificação de metabólitos secundários de acordo com a precipitação e coloração dos extratos diluídos em solução e reagentes específicos para cada indicação. As análises realizadas no extrato alcoólico das folhas de *Cheiloclinium cognatum* foram positivas para a presença de alcaloides, flavonoides, saponinas e taninos, já para as espécies *Metrodorea flavida* e *Tetragastris altissima* os resultados foram positivos para saponinas e taninos. As espécies estudadas apresentam metabólitos que são citados com atividade frente a diferentes insetos demonstrando serem promissoras para estudos com a utilização de extratos, proporcionando embasamento para futuros estudos experimentais em insetos.

Palavras-chave: Fitoquímica, inseticidas botânicos, plantas inseticidas.

Abstract - (Identification of secondary metabolite classes in leaves of three native forest species of southern Amazonia). Plants are natural sources of substances known as secondary metabolites, which may exert a protective function against the herbivory of insects. These substances may be used as plant insecticides and should be studied for the determination of plant species with such properties. Therefore, this work aimed to perform a phytochemical study of the classes of secondary metabolites present in leaves of native forest species of Southern Amazonia. Tests were performed for the following classes of secondary metabolites: alkaloids, flavonoids, saponins and tannins, according to the pre-established protocol. For this, leaves of *Cheiloclinium cognatum* (Miers) A.C.Sm., *Metrodorea flavida* (K. Krause) and *Tetragastris altissima* (Aubl.) Swart were taken to a forced circulation oven at 65 °C for 72 hours. Subsequently, 20 g of the dried and crushed material was diluted in 100 mL of alcohol (92.8%), this solution being kept in a water bath for 15 minutes under stirring. Then, filtration was performed and the extract stored in a cool,

dry place protected from light. The material was submitted to a phytochemical test, which consisted of the identification of secondary metabolites according to the precipitation and staining of the diluted extracts in solution and specific reagents for each indication. The analysis of the alcoholic extract of *Cheiloclinium cognatum* leaves was positive for alkaloids, flavonoids, saponins and tannins, whereas for the species *Metrodorea flavida* and *Tetragastris altissima* the results were positive for saponins and tannins. The studied species present metabolites that are cited with activity against different insects, proving to be promising for studies with the use of extracts, providing a basis for future experimental studies on insects.

Key-words: Phytochemistry, botanical insecticides, insecticidal plants.

Introdução

Estudos que visam identificar quais são as espécies de plantas que apresentam efeitos inseticidas podem ser de grande importância, pois possibilitam a determinação das espécies de plantas com tais propriedades e a identificação das classes de compostos químicos (RABAIOLI; SILVA, 2016). A abordagem fitoquímica tem contribuído para esses estudos, que visam fontes potenciais de recursos para a produção de novos inseticidas mais específicos e menos prejudiciais ao ambiente quando comparados àqueles em uso atualmente.

O Brasil apresenta uma flora com significativa biodiversidade, e a Amazônia tem sido objeto de vários estudos, principalmente se tratando de pesquisas voltadas para o conhecimento de componentes químicos das plantas com potencial inseticida. Esses componentes químicos são conhecidos como metabólitos secundários e tem função protetora e de defesa. São restritos a determinadas espécies ou grupos de plantas relacionadas, e classificados distintamente de acordo com sua estrutura química, composição, solubilidade em diferentes solventes ou com base em sua via de síntese (CHOWANSKI et al., 2016), sendo produzidos e armazenados em órgãos ou tecidos específicos.

Atualmente, muitas pesquisas estão focadas no desenvolvimento de novas ferramentas para controlar populações de insetos e, o uso de metabólitos de plantas estão incluídos. Lorenzi (2008) cita que por meio das plantas é possível obter extratos vegetais e seus constituintes tem se mostrado potencialmente ativos como inseticidas botânicos. Almeida et al. (2017) demonstraram que extrato etanólico de folhas de *Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch afetou a mortalidade de larvas, aumentando o período da fase de larva e reduzindo o peso de larvas de pupas e viabilidade dos ovos das lagartas de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith), sendo considerado eficaz em reduzir a população de *Spodoptera frugiperda*. Os autores descrevem que apesar do fato de que as larvas se alimentaram normalmente, o alimento foi mantido por mais tempo no intestino para degradação de metabólitos

secundários presentes nos extratos, demonstrando que os extratos de plantas podem afetar a digestibilidade dos alimentos.

As espécies escolhidas para este estudo foram: *Cheiloclinium cognatum* (Miers) A. C. Sm., *Metrodorea flavida* (K. Krause) e *Tetragastris altissima* (Aubl.) Swart., além de pertencerem a famílias de plantas que já são conhecidas na literatura com potencial devido à presença de seus metabólitos, também são espécies que ocorrem com frequência na região.

A espécie *Cheiloclinium cognatum* pertence a família Celastraceae é conhecida na medicina popular por suas propriedades farmacológicas, por isso, muita atenção têm sido dada às espécies desta família, devido ao seu amplo leque de atividades biológicas descritos na literatura (RODRIGUES et al., 2006). *Cheiloclinium* compreende espécies que foram examinadas na busca de compostos bioativos, e tem sido foco de vários estudos químicos, um exemplo disso é que triterpenóides foram isolados de *Cheiloclinium cognatum* (JELLER et al., 2004; COSTA et al., 2007).

Um grande número de metabólitos secundários é reportado para a família Rutaceae, a qual pertence a espécie *Metrodorea flavida*, tais como: cumarina (SILVA et al., 2014), fenóis, taninos, flavonoides, triterpenos/esteróis, antraquinonas e antocianinas, amido, saponinas (MATOS et al., 2014), alcaloides e limonoides (TEREZAN et al., 2010), evidenciando a importância de estudos de metabólitos secundários de espécies pertencentes a essa família. Na literatura autores citam que folhas de *Metrodorea flavida* apresentam cumarina (BAETAS et al., 1996) e as hastes apresentam alcaloides (BAETAS et al., 1999).

A *Tetragastris altissima* pertence à família Burseraceae. Espécies dessa família destacam-se pelos seus óleos essenciais (MARQUES et al., 2010), presença de gomas e resinas, essas espécies pertencentes a esta família são muito utilizadas para perfumaria e na medicina (STEFANO et al., 2013). Alguns estudos demonstram que espécies desta família apresentam terpenos, flavonoides, taninos, saponinas (HASSAN et al., 2018) terpenóides e cumarina (COSTA et al. 2012).

As classes de metabólitos escolhidos para serem avaliadas neste estudo foram: alcaloides, flavonoides, taninos e saponinas, sendo que a escolha se deu devido essas classes normalmente apresentarem atividade inseticida. Sendo assim, este trabalho teve como objetivo realizar estudo fitoquímico das classes de metabólitos secundários presentes em folhas de *Cheiloclinium cognatum*, *Metrodorea flavida* e *Tetragastris altissima*.

Material e Métodos

Foi realizada análise qualitativa, a qual indica a presença ou ausência de metabólitos secundários com base em testes fitoquímicos qualitativos de precipitação e coloração específicos para cada classe de metabólitos secundários avaliados conforme protocolo pré-estabelecido descrito por Matos (2009).

As espécies florestais estudadas foram: *Cheiloclinium cognatum* (Miers) A.C.Sm. (Celastraceae) conhecida como bacupari e pitombinha; *Metrodorea flavida* (K. Krause) (Rutaceae) conhecida como três folhas ou carrapateira (Mato Grosso); café-bravo (Maranhão); casca grossa, pau d' arquinho, pirarara e pirarara branca (Acre) e a espécie *Tetragastris altissima* (Aubl.) Swart (Burseraceae) conhecida como amescla aroeira (Mato Grosso); breu, breu maxixi, breu vermelho e mata fome (Acre) (FLORA DO BRASIL, 2020 EM CONSTRUÇÃO).

Foram preparados extratos obtidos de folhas coletadas no mês de maio de 2017 no período da tarde no Município de Alta Floresta-MT (56°3'43,972"W, 9°57'1,312"S) e preparados no Laboratório na Universidade do Estado de Mato Grosso, Campus Universitário de Alta Floresta, MT. Após a coleta das folhas, o material vegetal foi seco em estufa com circulação forçada de ar a 65° C por 72h, e posteriormente triturado em moinho de facas tipo Willey.

A avaliação da presença de metabólitos secundários foi realizada com o preparo de extrato alcoólico conforme descrito por Matos (2009), em que 20g do material seco e triturado foi diluído em 100 mL de álcool (92,8%). Esta solução foi mantida em banho-maria por 15 minutos e sob agitação, para facilitar a extração das substâncias presentes no material. Posteriormente, a solução foi filtrada e acondicionada em frasco limpo, armazenada em local fresco, seco e protegida da luz.

Após a obtenção do extrato, foram realizados os testes fitoquímicos. Os metabólitos secundários avaliados foram: alcaloides, flavonoides, saponinas e taninos, conforme protocolo pré-estabelecido descrito por Matos e apresentado a seguir (2009).

Para determinação de alcaloides foram realizados dois testes de mesma procedência, porém com reagentes diferentes, sendo Dragendorff e Mayer (Cloreto de mercúrio 1,35 g; iodeto de potássio 5,0 g e água deionizada 100 ml), em um tubo de ensaio adicionou-se 2 ml do extrato, sendo alcalinizado com a adição de 15 gotas de hidróxido de sódio a 1% e acrescentado 2 ml de água destilada e adicionou-se 2 ml de clorofórmio. Posteriormente, foi desprezada a fase aquosa, e adicionado à fase clorofórmica 15 gotas de ácido clorídrico a 1%, 2 ml de água e desprezando a fase clorofórmica, então adicionou-se 3 gotas do reagente de Dragendorff ou Mayer para a verificação da presença de alcaloides. A formação de precipitado insolúvel e floculoso confirmam a presença de alcaloides.

Foram separados dois tubos de ensaio para o teste de flavonoides. Em um adicionou-se 2 ml do extrato preparado anteriormente e no outro adicionou-se 2 ml de água destilada. Aos tubos foram acrescentados cerca de 0,5 cm de fita de magnésio e 2 ml de ácido clorídrico concentrado. Resultado: a coloração que variam de parda a vermelha indica a presença de flavonoides no extrato.

Para a classe de taninos foram realizados dois testes. No primeiro, utilizou-se dois tubos de ensaio, em um dos tubos colocou-se 2 ml do extrato e no outro 2 ml de água destilada. Foram adicionados aos tubos três gotas da solução alcoólica de FeCl_3 2%. O aparecimento de precipitado indica a presença de taninos. No segundo teste, 1 ml do extrato foi colocado em um tubo de ensaio e adicionado 3 gotas de gelatina a 1%. Na presença de taninos a gelatina precipita, tornando a solução turva.

No teste de saponinas também foram necessários dois tubos de ensaio. Em um adicionou-se 2 ml do extrato e no outro 2 ml de água destilada. Aos tubos adicionou-se 2 ml de clorofórmio e 5 ml de água, e em seguida foram agitados por 5 minutos. A formação de espuma persistente por mais de 1 minuto indica a presença de saponina.

Resultados

Os resultados dos testes fitoquímicos realizados em extrato alcoólico de folhas de *Cheiloclinium cognatum*, *Metrodorea flavida* e *Tetragastris altissima* para detectar a presença de alcaloides, flavonoides, saponinas e taninos estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Metabólitos secundários presentes em folhas de espécies florestais de Alta Floresta, MT.

Metabólitos secundários		<i>Cheiloclinium cognatum</i>	<i>Metrodorea flavida</i>	<i>Tetragastris altissima</i>
Alcaloides	Mayer	-	-	-
	Dragendorf	+	-	-
Flavonoides		+	-	-
Saponinas		+	+	+
Taninos		+	+	+

(+) Presente; (-) Ausente.

Cheiloclinium cognatum apresentou todos os metabólitos avaliados. As espécies *Metrodorea flavida* e *Tetragastris altissima* apresentaram resultados positivos para saponinas e taninos.

Discussão

A espécie *Cheilochlinium cognatum* apresentou todas as classes de metabólitos avaliadas, diferente das demais espécies que apresentaram somente taninos e saponias. Sabe-se que os taninos são caracterizados pela adstringência ao serem consumidos (diminuição da palatabilidade) e são boas ferramentas de defesa, pois se ligam a proteínas digestivas dos insetos alterando o funcionamento do seu sistema metabólico, reduzindo a taxa de crescimento, ocasionando redução na taxa de sobrevivência de insetos e inativam enzimas digestivas, comprometendo a digestão (CAVALCANTE; MOREIRA; VASCONCELOS, 2006; GLINWOOD et al., 2011; FURSTENBERG-HAGG et al., 2013; MITCHELL et al., 2016).

Cavalcante, Moreira e Vasconcelos (2006) constataram que os maiores índices de mortalidade nas formas jovens da mosca-branca (*Bemisia tabaci* Gennadius) foram ocasionados por espécies com maior concentração de tanino. Tirelli et al. (2010) observaram que extratos de cascas do caule de *Ochroma pyramidalis* Cav. ex Lam Urb., *Schinus terebinthifolius* Raddi, *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong. e *Peltophorum dubium* (Spreng.)Taub., apresentaram diferentes efeitos sobre parâmetros biológicos e nutricionais de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith), sendo eles, a redução no peso das lagartas e pupas, diminuição na sobrevivência durante as fases larval e pupal, menor consumo alimentar, prolongamento da duração das fases imaturas, menor taxa de crescimento relativo, menor eficiência de conversão do alimento digerido, maior custo metabólico e maior digestibilidade. Esses efeitos ocasionados não foram iguais para as espécies avaliadas, mas os autores atribuem a eficiência desses extratos a presença de taninos.

Atualmente é crescente a busca por moléculas químicas que atuem de maneira mais específica, por exemplo, os fagoinibidores. Um fagoinibidor é definido como uma substância capaz de inibir o apetite dos insetos, fazendo com que eles quando colocados em contato alimentar com essas substâncias prefiram morrer por inanição a se alimentar delas (VIEIRA; MAFEZOLI; BIAVATTI, 2007). Souza e Fávero (2015) verificaram ação fagoinibidora em sementes tratadas com óleo essencial de *Eucalyptus urograndis*, as quais

provocaram uma redução nos pontos de alimentação, mostrando-se promissor para o controle de *Euschistus heros* (Fabricius).

Outra classe de metabolito que também apresentou resultados positivos para todas as espécies avaliadas foi a saponina, que são glicosídeos do metabolismo secundário vegetal, caracterizados pela formação de espuma, tendo propriedades de detergentes e surfactantes, compostos formados por uma parte hidrofílica e uma parte lipofílica (WINA; MUETZEL; BECKER, 2005). O comportamento anfílico das saponinas e a capacidade de formar complexo com esteroides, proteínas e fosfolipídeos de membranas permite as diferentes propriedades biológicas, destacando-se a ação sobre membranas celulares, alterando a sua permeabilidade, ou causando sua destruição (SIMÕES et al., 2010).

As saponinas podem agir principalmente de três formas: interferência no comportamento alimentar, regulamento de crescimento e entomotoxicidade (CHAIEB, 2010). As saponinas triterpenoides das folhas de *Barbarea vulgaris* L. atuam como anti-alimentares em larvas de *Plutella xylostella* L. (SHINODA et al., 2002). As saponinas são capazes de agir como reguladoras do crescimento de insetos, o efeito das saponinas é geralmente caracterizado por distúrbios de duração do estágio de desenvolvimento e falha na muda (CHAIEB, 2010). O extrato de *Cestrum parqui* Herit apresenta efeito em *Spodoptera littoralis* (Boisduval), causando impossibilidade de se livrar da cutícula antiga durante o processo de muda (HAIEB; HALIMA-KAMEL; BEN HAMOUDA, 2004). Como exemplo de entomotoxicidade, as saponinas extraídas das folhas e das raízes da alfafa (*Medicago sativa* L.) são tóxicas para as larvas de *Leptinotarsa decemlineata* Say quando alimentadas com folhas tratadas (SZCZEPANIK et al., 2001). Santiago et al. (2005) isolaram saponinas do extrato etanólico das sementes, da casca, dos galhos e do lenho de *Pentaclethra macroloba* (Willd.) Kuntze e verificaram atividade sobre *Aedes aegypti* L. Evidenciando que espécies com a presença de saponinas são potenciais para o controle de insetos.

Somente a espécie *Cheiloclinium cognatum* apresentou alcaloides e flavonoides, essas classes de metabólitos também são consideradas como

potenciais inseticidas. Os alcaloides são chamados de substâncias nitrogenadas, considerados tóxicos para insetos e, frequentemente, causam sua morte (MELLO; SILVA - FILHO, 2002). Um exemplo de alcaloide conhecido é a nicotina, que geralmente é extraída de folhas de *Nicotiana tabacum* L. e *Nicotiana rustica* L. (Solanaceae), age como um agonista (análogo) da acetilcolina (molécula neurotransmissora que atua na passagem do impulso nervoso dos neurônios para as células musculares), imitando a sua ação, competindo com a acetilcolina pelos seus receptores presentes na membrana pós-sináptica. A ligação dos receptores com a nicotina é persistente, e é insensível a ação da enzima acetilcolinesterase (enzima responsável pela degradação da acetilcolina). A ativação dos receptores da acetilcolina pela nicotina é prolongada de modo anormal, causando hiperexcitabilidade do sistema nervoso central devido à transmissão contínua e descontrolada de impulsos nervosos, causando tremores e paralisia (MATSUMURA, 1976; KATHRINA; ANTONIO, 2004).

A piperina é um alcaloide extraído das pimentas da família Piperaceae. Tavares et al. (2011) constataram que a piperina extraída das sementes de *Piper nigrum* L. causa uma redução na eclosão de ovos recém-depositados de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). Guimarães et al. (2014) verificaram a atividade inseticida do extrato aquoso de *Capsicum baccatum* (Willd.) Eshb. sobre insetos adultos de *Sitophilus zeamais* Mots. e associaram tal efeito a presença de alcaloides.

Os flavonoides também apresentam atividade inseticida, pois diversos estudos têm demonstrado que compostos pertencentes a essa classe de metabolito já foram descritos controlando diferentes insetos. Por exemplo, o flavonoide astilbina, isolado da *Dimorphandra mollis* Benth. apresenta redução na sobrevivência média de formiga *Atta sexdens rubropilosa* Forel (CINTRA et al., 2005), e atividade inseticida e inibidora do crescimento (redução de peso da fase larval e o prolongamento das fases larval e pupal) das lagartas *Anticarsia gemmatalis* Hubner e *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (PETACCI et al., 2002). Os flavonoides são considerados um dos maiores grupos de metabólitos secundários das plantas. Compõem uma ampla classe de compostos

polifenólicos de origem vegetal (LOPES et al., 2000), e são amplamente distribuídos no reino vegetal (SIMÕES et al., 2007). As pesquisas com flavonoides são motivadas por duas questões principais, que são a diversidade estrutural muito ampla e o grande espectro de atividades biológicas atribuídas a substâncias pertencentes a este grupo (SILVA et al., 2015).

Visto que, as plantas apresentam metabólitos secundários que podem atuar de várias maneiras nos insetos, e que a ação inseticida pode ser uma complexa mistura de substâncias, fica evidenciada a importância do conhecimento dos metabólitos secundários de plantas com potencial inseticida. As espécies estudadas apresentam metabólitos que são citados com atividade frente a diferentes insetos demonstrando serem promissoras para estudos com a utilização de extratos para verificação de atividade inseticida.

Conclusões

A análise fitoquímica qualitativa do extrato alcoólico obtido a partir de folhas das espécies *Cheiloclinium cognatum*, *Metrodorea flavida* e *Tetragastris altissima* apresentou resultados positivos para a presença de taninos e saponinas, além desses a espécie *Cheiloclinium cognatum* também, apresentou alcaloides e flavonoides, sendo compostos descritos na literatura com ação inseticida. As espécies estudadas mostraram-se promissoras proporcionando embasamento para futuros estudos experimentais em insetos.

Referências Bibliográficas

- ALMEIDA, V. T.; RAMOS, V. M.; SAQUETI, M. B.; GORNI, P. H.; PACHECO, A. C.; LEÃO, R. M. Bioactivity of ethanolic extracts of *Euphorbia pulcherrima* on *Spodoptera frugiperda* (J.E. mith) (Lepidoptera: Noctuidae). **African Journal of Biotechnology**, v. 16, n. 13, p. 615 - 622, 2017.
- BAETAS, A. C. S.; ARRUDA, M. S.; MULLER, A. H.; ARRUDA, A. C. Coumarins from *Metrodorea flavida*. **Phytochemistry**, v. 43, n. 2, p. 491 - 493, 1996.
- BAETAS, A. C. S.; ARRUDA, M. S.; MULLER, A. H.; ARRUDA, A. C. Coumarins and Alkaloids from the Stems of *Metrodorea flavida*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 10, n. 3, p. 181 - 183, 1999.
- CAVALCANTE, G. M.; MOREIRA, A. F. C.; VASCONCELOS, S. D. Potencialidade inseticida de extratos aquosos de essências florestais sobre mosca-branca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 1, p. 09 - 14, 2006.
- CHAIEB, I. Saponins as insecticides: a review. **Tunisian Journal of Plant Protection**, v. 5, n. 1, p. 39 - 50, 2010.
- CHOWANSKI, S.; ADAMSKI, Z.; MARCINIAK, P.; ROSINSKI, G.; BUYUKGUZEL, E.; BUYUKGUZEL, K.; BUFO, S. A. A review of bioinsecticidal activity of Solanaceae alkaloids. **Toxins**, v. 8, n. 3, p. 60, 2016.
- CINTRA, P.; PETACCI, F.; FERNANDES, J. B.; MALASPINA, O.; BUENO, O. C.; BUENO, F. C. Astilbin toxicity to leaf-cutting ants *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). **Sociobiology**, v. 45, n. 2, p. 1 - 7, 2005.
- COSTA, E. A.; SANTOS, L. R.; PONTES, I. S.; MATOS, L. G.; SILVA, G. A.; LIÃO, L. M. Analgesic and anti-inflammatory effects of *Cheiloclinium cognatum* root barks. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 4, p. 508 - 513, 2007.
- COSTA, T. O.; ALMEIDA, R. A.; KOOLEN, H. H. F.; SILVA, F. M. A.; PINTO, A. C. Constituintes químicos do caule de *Protium hebetatum* (burseraceae). **Acta Amazônica**, v. 42, n. 4, p. 557 - 560, 2012.
- FLORA DO BRASIL 2020 EM CONSTRUÇÃO**. *Burseraceae*. In: Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB68>>. Acesso em: 15 Fev. 2019.
- FLORA DO BRASIL 2020 EM CONSTRUÇÃO**. *Celastraceae*. In: Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB82>>. Acesso em: 15 Fev. 2019.

FLORA DO BRASIL 2020 EM CONSTRUÇÃO. *Rutaceae*. In: Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB212>>. Acesso em: 15 Fev. 2019.

FURSTENBERG-HAGG, J.; ZAGROBELNY, M.; BAK, S. Plant defense against insect herbivores. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 5, p. 10242 - 10297, 2013.

GLINWOOD, R.; NINKOVIC, V.; PETTERSSON, J. Chemical interaction between undamaged plants-effects on herbivores and natural enemies. **Phytochemistry**, v. 72, n. 13, p. 1683 - 1689, 2011.

GUIMARÃES, S. S.; POTRICH, M.; SILVA, E. D.; WOLF, J.; PEGORINI, C. S.; OLIVEIRA, T. D. Ação repelente, inseticida e fagoínibidora de extratos de pimenta dedo-de-moça sobre o gorgulho do milho. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 81, n. 4, p. 322 - 328, 2014.

HAIEB, I.; BEN HALIMA-KAMEL, M.; BEN HAMOUDA M. H. Modifications cuticulaire et protéinique de *Spodoptera littoralis* Boisduval (Lepidoptera) sous l'action d'une alimentation additionnée d'extrait sec de *Cestrum parquii* l'Hérit (Solanaceae). **Ann. INRAT**, v. 77: p. 119 - 135, 2004.

HASSAN, H. S.; YAU, J.; ABUBAKAR, J.; AHMADU, A. Phytochemical, Analgesic and Anti-Inflammatory Studies of the Methanol Leaf Extract of *Commiphora Mollis* (Oliv.) Engl. (Burseraceae). **Nigerian Journal of Pharmaceutical Research**, v. 13, n. 2, p. 137 - 146, 2018.

JELLER, A. H.; SILVA, D. H.; LIÃO, L. M.; BOLZANI, V. S.; FURLAN, M. Antioxidant phenolic and quinonemethide triterpenes from *Cheiloclinium cognatum*. **Phytochemistry**, v. 65, n. 13, p. 1977 - 1982, 2004.

KATHRINA, G. A.; ANTONIO, L. O. J. Controle biológico de insectos mediante extractos botánicos. In: CARBALL, M.; GUAHARAY, F. (Ed.). **Control biológico de plagas agrícolas**. Managua: CATIE, 2004. p. 137 - 160. (Serie Técnica. Manual Técnico/CATIE, 53).

LOPES, R. M.; OLIVEIRA, T. D.; NAGEM, T. J.; PINTO, A. D. S.; Flavonóides. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 3, n. 14, p. 18 - 22, 2000.

LORENZI, H. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008.

MARQUES, D. D.; SARTORI, R. A.; LEMOS, T. L. G.; MACHADO, L. L.; SOUZA, J. S. N.; MONTE, F. J. Q. Composição química do óleo essencial de duas subespécies do *Protium heptaphyllum*. **Acta Amazonica**, v. 40, n. 1, p. 227 - 230, 2010.

MATOS, F. J. A. **Introdução à fitoquímica experimental**. 3. ed. Fortaleza: Edições UFC, 2009. 150p.

MATOS, L. G.; FIUZA, T. S.; TRESVENZOL, L. M. F.; REZENDE, M. H.; BARA, M. T. F.; SILVEIRA, E. N.; COSTA, E. A.; PAULA, J. R. Estudo farmacognóstico de folhas e raízes da *Spiranthera odoratissima* A. St.-Hil. (Rutaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 3, p. 574 - 584, 2014.

MATSUMURA, F. Naturally occurring botanical insecticides. In: MATSUMURA, F. **Toxicology of insecticides**. London: Plenum, 1976. p. 134 - 139.

MELLO, M. O.; SILVA-FILHO, M. C. Plant-insect interactions: an evolutionary arms race between two distinct defense mechanisms. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 14, n. 2, p. 71 - 81, 2002.

MITCHELL, C.; BRENNAN, R. M.; GRAHAM, J.; KARLEY, A. J. Plant defense against herbivorous pests: exploiting resistance and tolerance traits for sustainable crop protection. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 1132, 2016.

PETACCI, F.; FERNANDES, J. B.; VIEIRA, P. C.; SILVA, M. F. G. F.; MALASPINA, O.; CORREA, A. G. Biological activity of astilbin from *Dimorphandra mollis* Benth. against *Anticarsia gemmatalis* Hübner and *Spodoptera frugiperda* Smith. **Pest Management Science**, v. 58, n. 5, p. 503 - 507, 2002.

RABAIOLI, V.; SILVA, C. P. Prospecção de diferentes espécies de plantas com ação de bioinseticidas na agricultura de Mato Grosso do Sul. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 20, n. 3, p. 188 - 195, 2016.

RODRIGUES, S. B. V.; MIRANDA, R. R. S.; DUARTE, L. P.; SILVA, G. D. F.; OLIVEIRA, D. M.; LULA, I. S. Triterpenos pentacíclicos isolados de *Salacia elliptica* (Mart.) Peyr. **29º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química (SBQ)**. Belo Horizonte, Minas Gerais, 2006.

SANTIAGO, G. M. P.; VIANA, F. A.; PESSOA, O. D. L.; SANTOS, R. P.; POULIQUEN, Y. B. M.; ARRIAGA, A. M. C.; ANDRADE-NETO, M.; BRAZ-FILHO, R. Avaliação da atividade larvicida de saponinas triterpênicas isoladas de *Pentaclethra macroloba* (Willd.) Kuntze (Fabaceae) e *Cordia piauhiensis* Fresen (Boraginaceae) sobre *Aedes aegypti*. **Revista Brasileira Farmacognosia**, v. 15, n. 3, p. 187 - 190, 2005.

SHINODA, T.; NAGAO, T.; NAKAYAMA, M.; SERIZAWA, H.; KOSHIOKA, M.; OKABE, H.; KAWAI, A. Identification of a triterpenoid saponin from a crucifer, *Barbarea vulgaris*, as a feeding deterrent to the diamondback moth, *Plutella xylostella*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 28, n. 3, p. 587 - 599, 2002.

SILVA, C. V.; BOMFIM, F. C. C.; DOS SANTOS, M. A. V.; VELOZO, E. S. Estudo fitoquímico e avaliação in vitro da atividade anti-Trypanosoma cruzi cepa Y de *Pilocarpus spicatus* St. Hil. (Rutaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 4, p. 812 - 818, 2014.

SILVA, L. R.; MARTINS, L. V.; CALOU, I. B. F.; DEUS, M. S. M.; FERREIRA, P. M. P.; PERON, A. P. Flavonóides: constituição química, ações medicinais e potencial tóxico. **Acta toxicológica argentina**, v. 23, n. 1, p. 36 - 43, 2015.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5 ed. Florianópolis: UFSC, 2010. 1104 p.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6 ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFSC/ Editora da UFRGS. 2007, 1002 p.

SOUZA, T. F.; FÁVERO, S. Avaliação de óleo essencial de *Eucalyptus urograndis* (Myrtaceae) no controle de Pentatomidae: **Revista Ciência Agronômica**, v. 46, n.1, p. 216 - 222, 2015.

STEFANO, M. V.; SAKURAGU, C. M.; VALENTE, A. S. M.; MAURENZA, D.; KUTSCHENKO, D. C.; BARROS, F. S. M. Burseraceae. In: MARTINELLI, G.; MORAES, M. A. (Orgs.). **Livro vermelho da flora do Brasil**. Rio de Janeiro, 1. ed. Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, p. 398 - 401, 2013.

SZCZEPANIK, M.; KRYSKOWIAK, K.; JURZYSTA, M.; BIALY, Z. Biological activity of saponins from alfalfa tops and roots against Colorado potato beetle larvae. **Acta Agrobotanica**, v. 54, p. 235 - 245, 2001.

TAVARES, W. S.; CRUZ, I.; PETACCI, F.; FREITAS, S. S.; SERRÃO, J. E.; ZANUNCIO, J. C. Insecticide activity of piperine: Toxicity to eggs of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae) and phytotoxicity on several vegetables. **Journal of Medicinal Plants Research**, [S.l.], v. 5, n. 21, p. 5301 - 5306, 2011.

TEREZAN, A. P.; ROSSI, R. A.; ALMEIDA, R. N.; FREITAS, T. G.; FERNANDES, J. B.; SILVA, M. F. G. F.; VIEIRA, P. C.; BUENO, O. C.; PAGNOCCA, F. C.; PIRANI, J. R. Activities of Extracts and Compounds from *Spiranthera odoratissima* St. Hil. (Rutaceae) in Leaf-cutting Ants and their Symbiotic Fungus. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 5, 2010.

TIRELLI, A. A.; ALVES, D. S.; CARVALHO, G. A.; SÂMIA, R. R.; BRUM, S. S.; GUERREIRO, M. C. Efeito de frações tânicas sobre parâmetros biológicos e nutricionais de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, n. 6, p. 1417 - 1424, 2010.

VIEIRA, P. C.; MAFEZOLI, J.; BIAVATTI, M. W. Inseticidas de origem vegetal. In: CORRÊA, A. G.; VIEIRA, P. C. **Produtos naturais no controle de insetos**. UDUSCAR, São Carlos, p. 69 - 104, 2007.

WINA, E.; MUETZEL, S.; BECKER, K. The Impact of Saponins or Saponin Containing Plant Materials on Ruminant Production - A Review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 21, p. 8093 - 8105, 2005.

4. CAPÍTULO 2

4.1 EXTRATOS DE ESPÉCIES FLORESTAIS NATIVAS DA AMAZÔNIA MERIDIONAL NO CONTROLE DE *Atta sexdens* Linnaeus (HYMENOPTERA: FORMICIDAE)

Resumo – (Extratos de espécies florestais nativas da Amazônia Meridional no controle de *Atta sexdens* Linnaeus (Hymenoptera: Formicidae). O presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial de extratos aquoso, alcoólico e de infusão de folhas de *Cheilochlinium cognatum* (Miers) A.C.Sm (Celastraceae), *Metrodorea flavida* K.Krause (Rutaceae) e *Tetragastris altissima* (Aubl.) Swart (Burseraceae) sob dois modos de ação (contato e ingestão) no controle de *Atta sexdens* L., em condições de laboratório. Os extratos foram obtidos a partir de folhas secas, utilizando como solvente para o extrato aquoso (água), alcoólico (álcool 98,2°) e infusão (água 90°C). Os bioensaios foram divididos em dois modos de ação: contato quando a aplicação dos extratos sobre as formigas (com auxílio de borrifador), e ingestão quando os extratos foram incorporados em dieta artificial, nos dois modos de ação utilizaram-se as concentrações de 3%, 6%, 9%, 12% e 15% acrescidas de 1% de dimetilsulfoxo (DMSO), também foi utilizado uma testemunha (água destilada+DMSO 1% ou dieta pura+DMSO 1%) e um controle (fipronil). Operárias de *Atta sexdens*, foram coletadas forrageando em trilhas de um saubeiro adulto e separadas em grupos de dez indivíduos, colocados em frascos de vidro (13,5 cm de altura por 8 cm de diâmetro) e expostas a aplicação tópica ou ingestão dos extratos. A avaliação foi realizada após 72 horas da aplicação dos extratos, através da contagem de insetos mortos. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco repetições, três tipos de extratos, cinco concentrações e um tratamento testemunha e um controle. Em bioensaio por contato a mortalidade ocasionada pelos extratos aquoso, alcoólico e de infusão de *Cheilochlinium cognatum* chegou a 44, 88 e 74%, respectivamente. No bioensaio por ingestão a mortalidade do extrato aquoso foi de 94% e de infusão 98%. No bioensaio por contato a mortalidade obtida nos extratos aquoso, alcoólico e de infusão de *Metrodorea flavida* foi de 40, 84 e 54%, respectivamente. Já no bioensaio por ingestão a mortalidade do extrato aquoso foi de 54% e de infusão 74%. A espécie *Tetragastris altissima* no bioensaio por contato apresentou mortalidade nos extratos aquoso, alcoólico e de infusão de 74, 80 e 82%, respectivamente. No bioensaio por ingestão a mortalidade do extrato aquoso foi de 98% e de infusão 90%. Os extratos aquoso, alcoólico e de infusão de folhas de *Cheilochlinium cognatum*, *Metrodorea flavida* e *Tetragastris altissima* apresentam atividade inseticida em *Atta sexdens* nos dois modos de ação com aplicação tópica e por ingestão. Os extratos alcoólico e de infusão na concentração de 15% da espécie *Cheilochlinium cognatum* causam maior mortalidade em *Atta sexdens* em bioensaio por contato.

Palavras chave: Atividade inseticida, aplicação tópica, formigas cortadeiras.

Abstract - (Extracts of forest species native to Southern Amazonia in the control of *Atta sexdens* Linnaeus (Hymenoptera: Formicidae). The objective of this study was to evaluate the potential of aqueous, alcoholic and leaf infusion extracts of *Cheilochlinium cognatum* (Miers) ACSm (Celastraceae), *Metrodorea flavida* K.Krause (Rutaceae) and *Tetragastris altissima* (Aubl.) Swart (Burseraceae) under two modes of action (contact and ingestion) in the control of *Atta sexdens* L. under laboratory conditions. The extracts were obtained from

dried leaves, using as solvent for the aqueous extract (water), alcoholic (alcohol 98.2°) and infusion (water 90 °C). The bioassays were divided in two modes of action: contact when the extracts were applied to the ants (with the aid of a spray bottle), and ingestion when the extracts were incorporated into an artificial diet, in the two modes of action, the concentrations of 3% , 6%, 9%, 12% and 15% plus 1% dimethylsulfoxide (DMSO), a control (distilled water + 1% DMSO or pure diet + 1% DMSO) and a control (fipronil) were also used. *Atta sexdens* workers were collected by foraging on trails of an adult *sauveiro* and separated into groups of ten individuals, placed in glass jars (13.5 cm high by 8 cm in diameter) and exposed to topical application or ingestion of the extracts. The evaluation was performed after 72 hours of the application of the extracts, through the count of dead insects. The experimental design was completely randomized, with five replicates, three types of extracts, five concentrations and a control and control treatment. In contact bioassay the mortality caused by the aqueous, alcoholic and infusion extracts of *Cheilochlinium cognatum* reached 44, 88 and 74%, respectively. In the bioassay by ingestion the mortality of the aqueous extract was 94% and of infusion 98%. In the contact bioassay the mortality obtained in the aqueous, alcoholic and infusion extracts of *Metrodorea flavida* was 40, 84 and 54%, respectively. In the bioassay by ingestion the mortality of the aqueous extract was 54% and of infusion 74%. The *Tetragastris altissima* species in the contact bioassay showed mortality in the aqueous, alcoholic and infusion extracts of 74, 80 and 82%, respectively. In the bioassay by ingestion the mortality of the aqueous extract was of 98% and of infusion 90%. The aqueous, alcoholic and leaf infusion extracts of *Cheilochlinium cognatum*, *Metrodorea flavida* and *Tetragastris altissima* show insecticidal activity in *Atta sexdens* in the two modes of action with topical application and by ingestion. The alcohol and infusion extracts at the concentration of 15% of *Cheilochlinium cognatum* cause higher mortality in *Atta sexdens* in contact bioassay.

Key-words: Insecticidal activity, topical application, cutting ants.

Introdução

As formigas cortadeiras conhecidas como saúvas e quenquéns pertencem respectivamente aos gêneros *Atta* e *Acromyrmex* (Hymenoptera: Formicidae: Myrmicinae: Attini). São assim conhecidas por possuírem o hábito de cortar diversas espécies vegetais, utilizadas como substrato para o cultivo do fungo simbiote, considerado principal fonte alimentar (BUENO et al., 2008). Estão presentes em todo o território nacional e são encontradas desde o sul dos Estados Unidos até o centro da Argentina, com ampla distribuição em todos os países do Continente Americano, exceto no Chile (COSTA et al., 2011).

As espécies de *Atta* são as mais estudadas da tribo Attini, pois além de apresentarem as maiores colônias também causam grandes danos aos plantios agrícolas e florestais (NICKELE et al., 2013). As desfolhas causadas frequentemente em plantas acarretam redução da produtividade, podendo ainda levar a morte das plantas (ZANETTI et al., 2000).

Para minimizar os efeitos negativos causados por estes insetos, tem-se utilizado métodos de controle químico, porém sabendo da existência da toxicidade dos produtos sintéticos a mamíferos, ao homem, e a capacidade dos insetos em desenvolverem resistência, o setor agrícola e os órgãos de legislação e proteção ambiental, estão em processo constante de estímulo a substituição dos produtos sintéticos utilizados atualmente em favor de métodos de controle com menor toxicidade e mais seletivos (VIEGAS Jr., 2003).

As estratégias promissoras para o controle de formigas cortadeiras podem ser: o controle biológico, o uso de plantas resistentes, de extratos vegetais e de feromônios (NICKELE et al., 2013). O uso de inseticidas vegetais tem se tornado uma alternativa potencial, pois são obtidos a partir de extrativos, que são compostos orgânicos resultantes do metabolismo secundário das plantas (VIGLIANCO et al., 2008). Os metabólitos secundários específicos são restritos a uma espécie vegetal ou a um grupo de espécies relacionadas e apresentam funções ecológicas importantes tais como a defesa contra vários herbívoros e microrganismos patogênicos (TAIZ; ZEIGER, 2004).

Diversos estudos têm sido realizados com extratos de plantas visando à utilização de produtos naturais com efeito inseticida, tais como: a *Bauhinia rufa* (Bong.) Steud. (Fabaceae) (SANTOS et al., 2016), *Andira paniculata* (Mart.) Benth. (Fabaceae) (SANTOS et al., 2015), *Manihot esculenta* Crantz (Euphorbiaceae) (SANTOS et al., 2013) e *Banara guianensis* Aubl. (Salicaceae), *Clavija weberbaueri* Mez (Primulaceae), *Mayna parvifolia* (J.F. Macbr.) Sleumer (Achariaceae), *Ryania speciosa* Vahl. (Salicaceae), *Spilanthes oleracea* L. (Asteraceae) e *Siparuna amazonica* (Mart.) A.DC. (Siparunaceae) (GOUVÊA et al., 2010). Portanto, estudos visando avaliar a bioatividade dos extratos são importantes, pois sugerem quais espécies são potenciais fontes de substâncias com atividades inseticidas, apontam os organismos-alvo, além disso, fornecem sugestões sobre o modo de ação dessas substâncias.

Na tentativa de controlar insetos, as pesquisas estão sendo desenvolvidas em busca da síntese de princípios ativos que além de serem seletivos também apresentem baixo custo e fácil obtenção, como é o caso de extratos aquosos e alcoólicos oriundos de diferentes partes das plantas, sendo um método rápido, simples e reprodutível. A diversidade da flora na região Amazônica apresenta um imenso potencial para estudo com plantas com atividade inseticida, possibilitando assim a descoberta de novos compostos e substâncias.

As espécies de plantas avaliadas neste estudo são nativas da Amazônia Meridional e foram escolhidas com base em testes preliminares, as quais apresentaram metabólitos de interesse inseticida. Sendo assim, este estudo teve por objetivo avaliar o potencial de extratos aquoso, alcoólico e de infusão de folhas de *Cheiloclinium cognatum* (Miers) A. C. Sm (Celastraceae), *Metrodorea flavida* K. Krause (Rutaceae) e *Tetragastris altissima* (Aubl.) Swart (Burseraceae) sob dois modos de ação (contato e ingestão) no controle de *Atta sexdens* Linnaeus.

Materiais e Métodos

Foram avaliadas três espécies de plantas: *Cheiloclinium cognatum* (Miers) A. C. Sm, *Metrodorea flavida* K. Krause e *Tetragastris altissima* (Aubl.) Swart, coletadas em maio de 2017 no Município de Alta Floresta-MT (56°3'43,972"W, 9°57'1,312"S) e os testes realizados nos Laboratórios do CETAM, na Universidade do Estado de Mato Grosso, Campus Universitário de Alta Floresta, MT.

Os extratos foram obtidos de folhas das espécies citadas. Após a coleta, o material foi seco em estufa com circulação forçada de ar a 65° C por 72h, e posteriormente triturado em moinho de facas tipo Willey. Para o preparo dos extratos foram utilizadas 100g de folhas moídas, e adicionado 500 mL de água destilada fria (extrato aquoso), álcool 92,8 (extrato alcoólico) e água destilada a 90°C (extrato por infusão), obtendo-se concentração de 20% (p/v).

As soluções foram armazenadas em vidros envoltos com papel alumínio para proteção da luz, permanecendo em repouso em temperatura ambiente por um período de 72 horas. Posteriormente, foram filtradas e novamente armazenadas em recipientes fechados, mantidos sob refrigeração e ao abrigo da luz, até serem utilizadas. A partir dessa solução foram preparadas as demais concentrações dos extratos.

Visando a manutenção das formigas isoladas do formigueiro, utilizou-se o fornecimento de uma dieta artificial sólida. Para o preparo da dieta foram utilizados: dextrose (1,5 g), ágar alimentício (0,5 g) e água destilada (100 ml), de acordo com a dieta proposta por Jung et al. (2013). Estes componentes foram misturados e levados ao micro-ondas por três minutos, acondicionadas em placas de petri e após a solidificação da dieta, as placas foram embrulhadas com plástico filme de PVC e armazenadas em refrigerador até o momento da implantação do bioensaio.

Para os ensaios de bioatividade dos extratos foram coletadas operárias de *Atta sexdens*, de tamanho médio (aproximadamente 10 mm), forrageando em trilhas de um saubeiro adulto, localizado no município de Carlinda-MT. As formigas foram colocadas em frascos grandes e levadas ao laboratório. Foram agrupados 10 indivíduos por frasco de vidro, com

aproximadamente 13,5 cm de altura por 8 cm de diâmetro. Nos bioensaios tanto por ingestão como por contato foram utilizadas as seguintes concentrações: 3%, 6%, 9%, 12% e 15% acrescidas de 1% de DMSO (Dimetilsulfóxido).

No bioensaio por contato foi realizada a aplicação tópica de 0,2 mililitros de extrato aquoso, alcoólico e de infusão sobre as formigas (contato), com o auxílio de borrifador manual, nas concentrações citadas. Utilizou-se uma testemunha (água destilada+DMSO 1%) e controle (fipronil, i.a.: 2,5% p/v). Cada frasco recebeu a dieta solidificada, cortada em cubos (1cm³) acomodada sobre papel alumínio (2x2cm) e um chumaço de algodão hidrófilo umedecido com água destilada, fechados com tecido tipo voil. As dietas foram repostas a cada 24 horas e o algodão umedecido quando necessário.

No bioensaio por ingestão os extratos aquoso e de infusão foram incorporados à dieta nas mesmas concentrações, utilizando como testemunha (dieta livre de extrato+DMSO 1%) e controle (fipronil). A dieta cortada em cubos (1cm³) foi oferecida para as formigas acomodada sobre papel alumínio (2x2cm) e adicionado algodão hidrófilo umedecido com água destilada, fechados com tecido tipo voil. As dietas foram repostas a cada 24 horas e o algodão umedecido quando necessário.

Os frascos contendo as formigas foram mantidos em câmara climatizada do tipo B.O.D. a 26 ± 2 °C, U.R. de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. As avaliações ocorreram após 72 horas, quantificando-se o número de formigas mortas. A testemunha foi utilizada para avaliar a sobrevivência das formigas com referência à temperatura, à umidade e ao manuseio.

O experimento foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado, com cinco repetições, e cada unidade experimental foi constituída por dez formigas, totalizando 50 formigas por tratamento. No bioensaio por contato foram utilizados 17 tratamentos (três extratos com cinco concentrações mais uma testemunha (água destilada + DMSO 1%) e um controle (fipronil)). Já para o bioensaio por ingestão foram utilizados 12 tratamentos (dois extratos com cinco concentrações mais uma testemunha (dieta livre de extratos + DMSO 1%) e um controle (fipronil)).

Para verificação da normalidade utilizou-se o teste de Shapiro-Wilk, e a não normalidade dos dados de mortalidade levou à realização de testes não paramétricos. Assim, a análise dos dados foi realizada pelo teste de Kruskal-Wallis, seguido de Dunn para comparações binárias, a 0,05 de significância. A análise dos dados foi realizada com o pacote `dun.test` no software R versão 3.4 (R DEVELOPMENT CORE EQUIPE, 2017).

Resultados

A mortalidade acumulada de operárias de *Atta sexdens* submetidas ao bioensaio com aplicação tópica de extratos aquoso, alcoólico e de infusão de *Cheilochlinium cognatum*, *Metrodorea flavida* e *Tetragastris altissima*, nas concentrações de 3, 6, 9, 12, e 15% após 72 horas da aplicação pode ser observada na Tabela 1.

Tabela 1. Mortalidade média acumulada (%) de extratos aquoso, alcoólico e de infusão de folhas de *Cheilochlinium cognatum*, *Metrodorea flavida* e *Tetragastris altissima* em diferentes concentrações com aplicação tópica após 72 horas sobre operárias de *Atta sexdens*.

Concentração (%)	Aquoso	Alcoólico	Infusão
<i>Cheilochlinium cognatum</i>			
Testemunha	12B	12C	12B
3	44A	28BC	36AB
6	42AB	52AB	46A
9	42AB	56AB	50A
12	34AB	56AB	66A
15	18AB	88A	74A
Controle	100	100	100
<i>Metrodorea flavida</i>			
Testemunha	8C	8D	8B
3	30ABC	40BC	30AB
6	38AB	24CD	34A
9	40A	34BC	40A
12	12BC	66AB	50A
15	30ABC	84A	54A
Controle	100	100	100
<i>Tetragastris altissima</i>			
Testemunha	46B	46B	46B
3	74A	72A	74A
6	62AB	68A	82A
9	60AB	74A	74A
12	72A	80A	80A
15	74A	76A	66AB
Controle	100	100	100

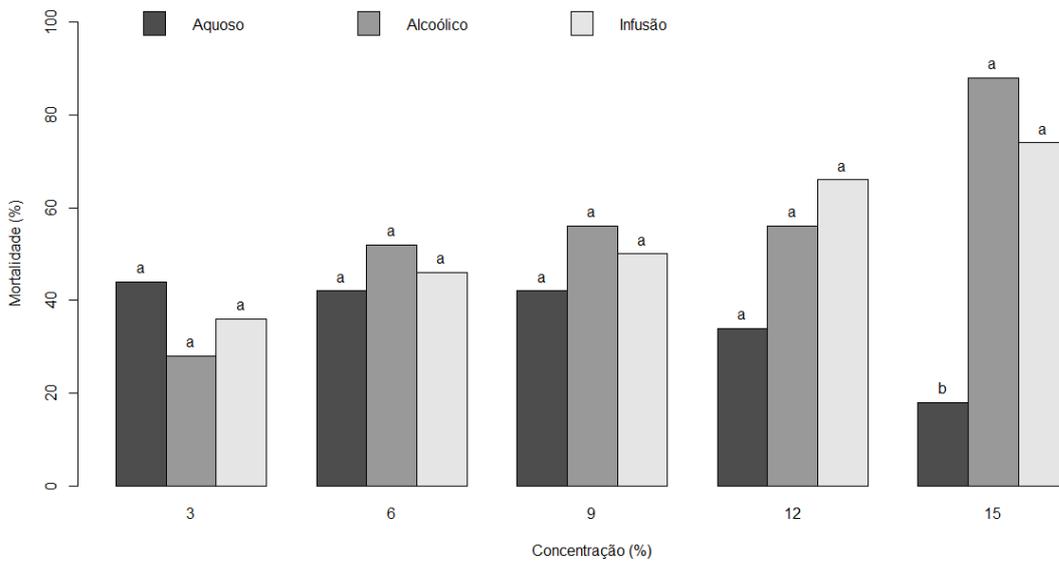
Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na coluna, para cada espécie avaliada em cada extrato, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Dunn em 0,05 de probabilidade.

Na Tabela 1, avaliando a espécie *Cheiloclinium cognatum* verifica-se que para o extrato aquoso não houve diferença da mortalidade média acumulada nas concentrações avaliadas, com mortalidade chegando a 44%. As mortalidades nos extratos alcoólico e de infusão foram crescentes com o aumento da concentração e quando comparadas com a testemunha foram significativas a partir da concentração de 6%, no extrato alcoólico a maior mortalidade foi de 88% (concentração de 15%), já para o extrato de infusão não houve diferença entre as concentrações avaliadas com mortalidade variando de 36 a 74%.

Ainda na Tabela 1, avaliando os extratos obtidos de folhas de *Metrodorea flavida*, observa-se que no extrato aquoso nas concentrações de 6 e 9% diferiram da testemunha com mortalidades de 38 e 40%. Para o extrato alcoólico de folhas de *Metrodorea flavida* a mortalidade na concentração de 6% não apresentou diferença em relação à testemunha, a maior mortalidade foi de 84% (concentração 15%). No extrato por infusão houve diferença em relação à testemunha a partir de 6%, não apresentando diferença significativa entre as concentrações avaliadas com mortalidade crescente de 30 a 54%.

Quanto à mortalidade causada por extratos de folhas da espécie *Tetragastris altissima* (TABELA 1), nota-se que, para os extratos aquoso, alcoólico e de infusão independentemente da concentração não ocorreu diferença na mortalidade. O extrato aquoso nas concentrações de 6 e 9% (mortalidade de 62 e 60%) e no extrato de infusão na concentração de 15% (mortalidade de 66%) não diferiram da testemunha. A maior mortalidade obtida no extrato aquoso, alcoólico e de infusão foi de 74, 80 e 82%, respectivamente.

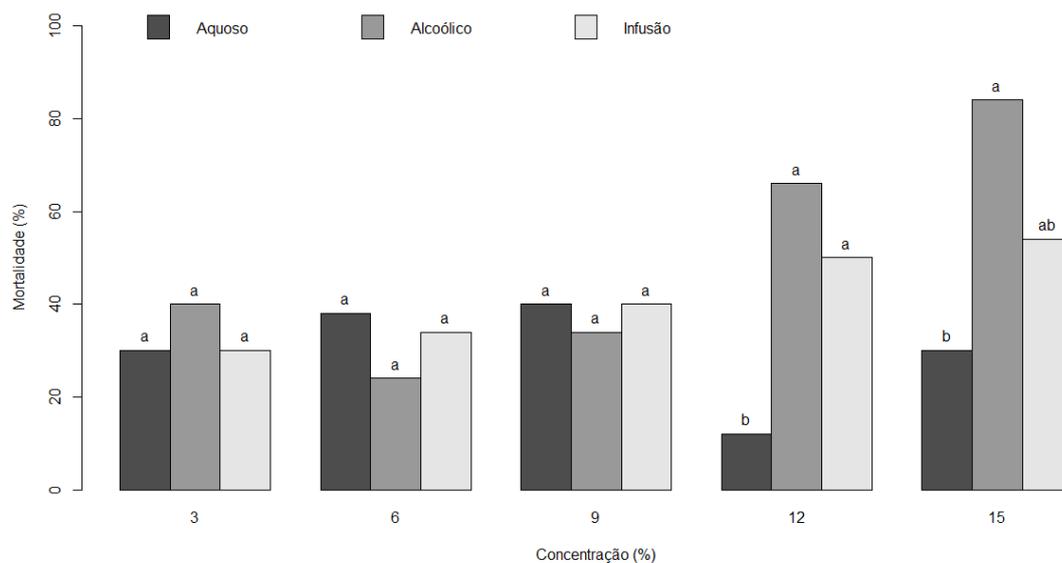
Quando se compara as mortalidades entre os extratos aquoso, alcoólico e de infusão de folhas de *Cheiloclinium cognatum* dentro de cada concentração (FIGURA 1), nota-se que somente houve diferença na mortalidade acumulada na concentração de 15%, em que, a mortalidade dos extratos alcoólico e de infusão foram maiores que do extrato aquoso em bioensaio com aplicação tópica após 72 horas.



Médias seguidas da mesma letra, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Dunn em 0,05 de probabilidade.

Figura 1. Mortalidade média acumulada de operárias de *Atta sexdens* nos extratos aquoso, alcoólico e de infusão de *Cheiloclinium cognatum* em cada concentração após 72 horas em bioensaio com aplicação tópica.

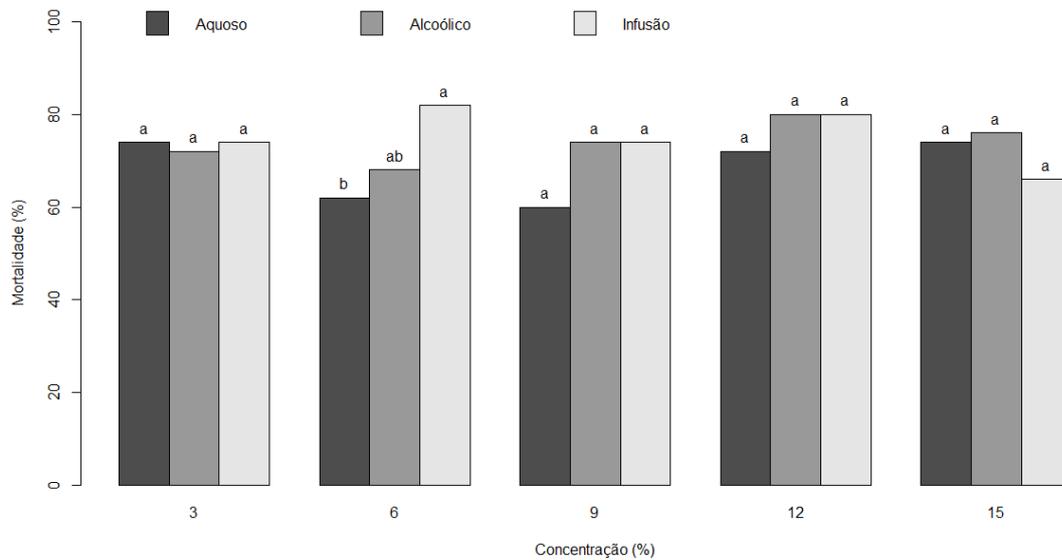
Para a espécie *Metrodorea flavida*, nota-se que ocorreram diferenças nas mortalidades entre os extratos aquoso, alcoólico e de infusão nas concentrações de 12 e 15% (FIGURA 2). O extrato aquoso apresentou menor mortalidade do que os extratos alcoólico e de infusão em ambas as concentrações, no entanto, na concentração de 15% o extrato alcoólico apresentou maior mortalidade em bioensaio com aplicação tópica após 72 horas.



Médias seguidas da mesma letra, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Dunn em 0,05 de probabilidade.

Figura 2. Mortalidade média acumulada de operárias de *Atta sexdens* nos extratos aquoso, alcoólico e de infusão de *Metrodorea flavida* em cada concentração após 72 horas em bioensaio com aplicação tópica.

Comparando-se a mortalidade média entre os extratos aquoso, alcoólico e de infusão da espécie *Tetragastris altissima* observa-se que apenas na concentração de 6% o extrato aquoso apresentou menor mortalidade sendo a maior mortalidade causada pelo extrato de infusão em bioensaio com aplicação tópica após 72 horas (FIGURA 3).



Médias seguidas da mesma letra, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Dunn em 0,05 de probabilidade.

Figura 3. Mortalidade média acumulada de operárias de *Atta sexdens* nos extratos aquoso, alcoólico e de infusão de *Tetragastris altissima* em cada concentração após 72 horas em bioensaio com aplicação tópica.

A mortalidade acumulada de operárias de *Atta sexdens* submetidas ao bioensaio de ingestão com incorporação de extratos aquoso e de infusão de folhas de *Cheiloclinium cognatum*, *Metrodorea flavida* e *Tetragastris altissima* em dieta artificial nas concentrações de 3, 6, 9, 12, e 15% no período de 72 horas, pode ser observada na Tabela 2.

Tabela 2. Mortalidade média acumulada (%) de operárias de *Atta sexdens* alimentadas com dieta artificial incorporada a diferentes concentrações de extratos aquoso e infusão de folhas de *Cheilochinium cognatum*, *Metrodorea flavida* e *Tetragastris altissima* avaliada após 72 horas.

Concentração (%)	Aquoso	Infusão
	<i>Cheilochinium cognatum</i>	
Testemunha	50B	50B
3	80A	84A
6	78AB	90A
9	84A	92A
12	94A	98A
15	78AB	94A
Controle	100	100
	<i>Metrodorea flavida</i>	
Testemunha	20B	20B
3	32AB	24B
6	38AB	48A
9	36AB	58A
12	40AB	74A
15	54A	74A
Controle	100	100
	<i>Tetragastris altissima</i>	
Testemunha	56C	56C
3	84BC	90AB
6	84AB	80BC
9	96AB	86BC
12	94AB	94AB
15	98A	90AB
Controle	100	100

Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na coluna, para cada espécie avaliada em cada extrato, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Dunn em 0,05 de probabilidade.

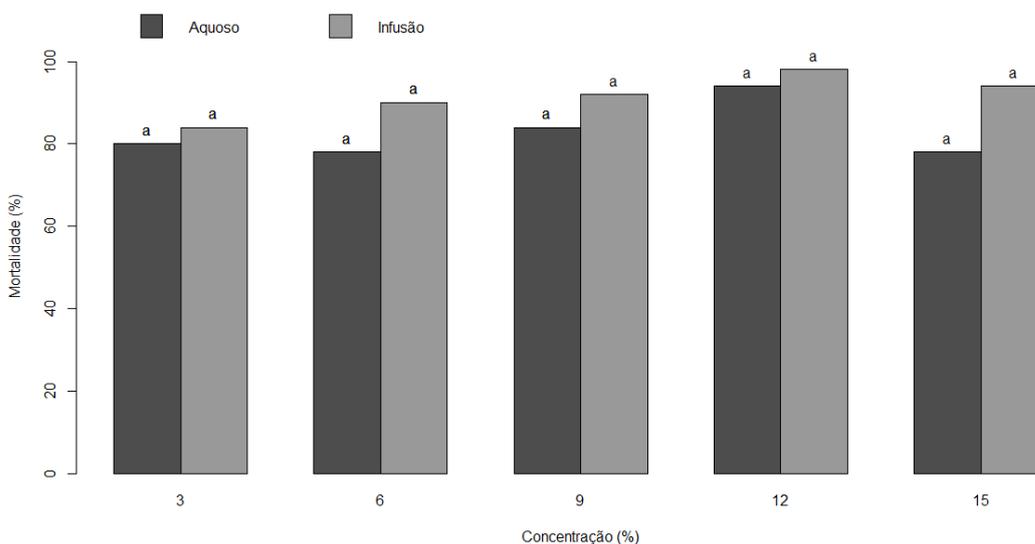
Comparando-se a mortalidade nas diferentes concentrações para a espécie *Cheilochinium cognatum* em bioensaio por ingestão (TABELA 2), verifica-se que tanto o extrato aquoso como de infusão não apresentaram diferença na mortalidade entre as concentrações avaliadas. No extrato aquoso a mortalidade nas concentrações de 6 e 15% (ambas com 78%) não diferiram da testemunha, nas demais concentrações causaram mortalidade de 80 a 94%.

No extrato de infusão todas as concentrações apresentaram diferença significativa da testemunha proporcionando mortalidades de 84 a 98%.

Somente a partir de 15% o extrato aquoso da espécie *Metrodorea flavida* apresentou mortalidade significativamente diferente da testemunha com 54%, enquanto que, para o extrato de infusão a mortalidade foi crescente, diferindo-se da testemunha a partir de 6% (48 a 74% de mortalidade) (TABELA 2).

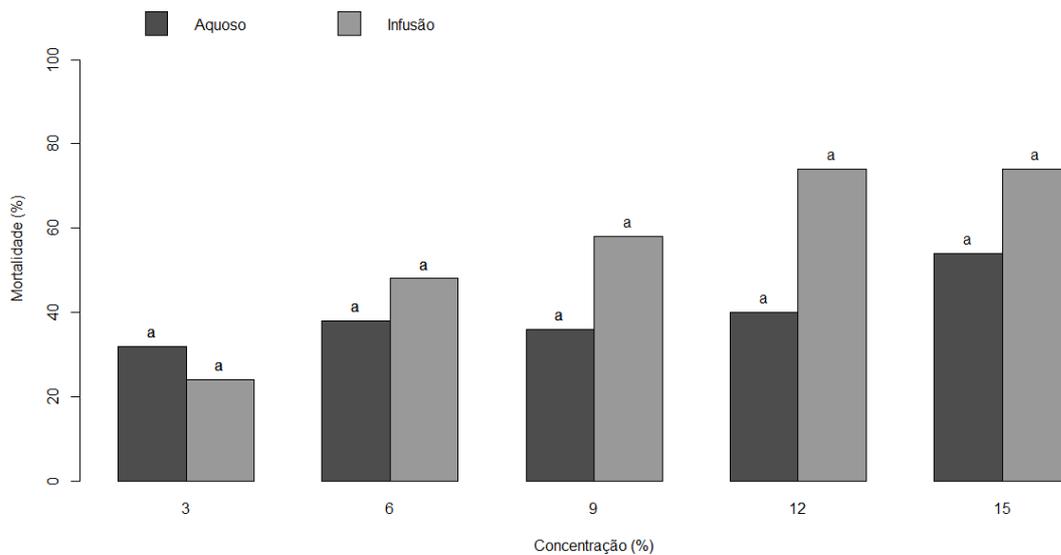
O extrato aquoso da espécie *Tetragastris altissima* também diferiu da testemunha a partir da concentração de 6% com maior mortalidade de 98% (concentração de 15%). No extrato por infusão não houve diferença em relação à testemunha nas concentrações de 6 e 9%, também não ocorreu diferença entre as concentrações avaliadas com mortalidade atingindo 94% (TABELA 2).

Comparando-se a mortalidade acumulada entre os extratos aquoso e de infusão das espécies *Cheiloclinium cognatum*, *Metrodorea flavida* e *Tetragastris altissima* dentro de cada concentração, verifica-se que não ocorreu diferença significativa na mortalidade em todas as concentrações avaliadas em bioensaio por ingestão após 72 horas, conforme as Figuras 4, 5 e 6.



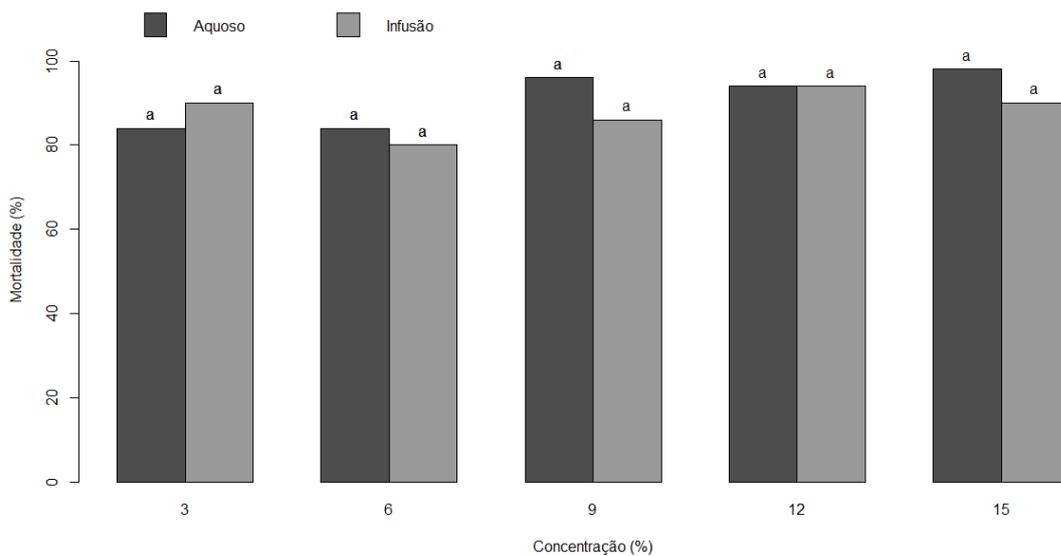
Médias seguidas da mesma letra, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Dunn em 0,05 de probabilidade.

Figura 4. Mortalidade média acumulada de operárias de *Atta sexdens* nos extratos aquoso e de infusão de *Cheiloclinium cognatum* em cada concentração após 72 horas em bioensaio de ingestão.



Médias seguidas da mesma letra, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Dunn em 0,05 de probabilidade.

Figura 5. Mortalidade média acumulada de operárias de *Atta sexdens* nos extratos aquoso e de infusão de *Metrodorea flavida* em cada concentração após 72 horas em bioensaio de ingestão.



Médias seguidas da mesma letra, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Dunn em 0,05 de probabilidade.

Figura 6. Mortalidade média acumulada de operárias de *Atta sexdens* nos extratos aquoso e de infusão de *Tetragastris altissima* em cada concentração após 72 horas em bioensaio de ingestão.

Discussão

A análise das concentrações permitiu verificar que em bioensaio com aplicação tópica os extratos aquoso de *Cheiloclinium cognatum* e *Metrodorea flavida* proporcionaram menores taxas de mortalidade (44% e 40%, respectivamente). E em bioensaio por ingestão a espécie *Metrodorea flavida* também apresentou menores taxas de mortalidade (até 54%) no extrato aquoso.

Quando avaliada a mortalidade comparando-se os extratos dentro de cada concentração, nota-se que houve diferença, na aplicação tópica. As espécies *Cheiloclinium cognatum* e *Metrodorea flavida* apresentaram diferenças significativas entre os extratos aquoso, alcoólico e de infusão na concentração de 15%, em que os extratos alcoólico e de infusão da espécie *Cheiloclinium cognatum* causaram maior mortalidade, enquanto que, para a espécie *Metrodorea flavida* a mortalidade foi maior somente no extrato alcoólico. Jung et al. (2013) também constataram resultados semelhantes quando compararam diferentes métodos de confecção de extratos de folhas de *Eugenia uniflora* L. e *Melia azedarach* L. com aplicação por pulverização em concentrações de 1,25; 2,5; 5 e 10%. Constataram que para a espécie *Eugenia uniflora* comparando os extratos alcoólico e de infusão não houve diferença de mortalidade em todas as concentrações testadas. Já para a espécie *Melia azedarach* o extrato alcoólico somente apresentou diferença na maior concentração (10%) quando comparado com o extrato de infusão. Nota-se que dependendo da espécie utilizada e do método de confecção do extrato, a eficiência pode ser diferente em concentrações mais elevadas. Isso pode ser atribuído à própria composição do extrato e/ou a quantidade de substâncias presente em cada espécie.

O tipo de solvente utilizado para a extração dos compostos químicos existentes nas plantas pode afetar a atividade dos extratos, uma vez que existem trabalhos que demonstram diferenças no efeito sobre os insetos, quando se utiliza diferentes solventes para uma mesma espécie vegetal. Por exemplo, Bigi et al. (2004) demonstraram diferenças no efeito de extratos de folhas de *Ricinus communis* L., utilizando diferentes solventes (hexano,

diclorometano, acetato de etila e metanol) em diferentes concentrações, tanto em bioensaios com aplicação tópica quanto por ingestão de dieta contaminada.

Os extratos aquoso e de infusão não apresentaram diferença na mortalidade quando incorporados em dieta artificial. Isso pode ser atribuído ao fato de que os dois métodos de confecção dos extratos utilizam a água como solvente. As saponinas e taninos são metabólitos facilmente extraídos em água e todas as espécies apresentaram esses metabólitos (conforme descrito no capítulo 1) e a presença desses metabólitos podem ser responsáveis pelo efeito da mortalidade. A espécie *Cheiloclinium cognatum* também apresentou além desses metabólitos, alcaloides e flavonoides. Extrato aquoso de *Gleichenella pectinata* (Willd.) Ching apresenta atividade inseticida contra *Atta laevigata* Smith, os autores descrevem que as saponinas podem ser responsáveis pela atividade inseticida apresentada (MOLITERNO; ABREU, 2016). Quintana, Lerma e Echeverri (2013) verificaram que a espécie *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray contendo a presença de metabólitos secundários como triterpenos, taninos, flavonoides, esteroides, nafto e antoquinonas também apresenta atividade inseticida em formigas cortadeiras (*Atta cephalotes* L.).

Outro fator importante é o modo de ação, as espécies estudadas apresentaram potencial sobre *Atta sexdens* nos dois modos de ação, mas estudos apontam que algumas espécies podem apresentar diferentes resultados. Gomes et al. (2016) avaliando extratos de folhas *Esenbeckia grandiflora* Mart. verificaram que essa espécie apresenta efeitos na mortalidade de *Atta sexdens sexdens* L. quando incorporados em dieta artificial ($0.2\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$) não apresentando resultados satisfatórios em aplicação tópica ($1\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$) já a espécie *Zanthoxylum rhoifolium* Lam. apresentou mortalidade significativa nos dois modos de ação. Em pesquisa com óleo de sementes *Ricinus communis* L. e *Jatropha curcas* L. em diferentes concentrações foram tóxicas, tanto por ingestão como por aplicação tópica para *Atta sexdens* (ALONSO; SANTOS, 2013).

As três espécies analisadas neste estudo apresentaram potencial inseticida sobre *Atta sexdens* nos dois modos de ação com aplicação tópica e

por ingestão. A espécie *Metrodorea flavida* pertence à família Rutaceae e diversos são os estudos que demonstram que espécies dessa família apresentam efeitos na mortalidade de formigas cortadeiras. Almeida et al. (2007) em bioensaios por ingestão de extratos brutos (hexano, diclorometano e metano) de folhas, hastes e ramos ($2\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) da espécie *Helietta puberula* R.E.Fr. verificaram mortalidades significativas para formigas cortadeiras com o isolamento de três substâncias com efeitos concomitantemente tóxicas para *Atta sexdens* L. e também para o seu fungo. Torres et al. (2013), estudando extratos incorporados em dieta artificial (6mg em 20 ml) verificaram que a espécie *Zanthoxylum pohlianum* Engl. causou efeitos na mortalidade de *Atta sexdens rubropilosa* Forel. Extratos de folhas *Ruta graveolens* L. causaram mortalidade de operárias de *Atta laevigata* (Fr. Smith) por via tópica na concentração de $1\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ (ARAÚJO et al., 2008). Gomes et al. (2016) avaliando extratos de folhas de *Zanthoxylum rhoifolium* Lam. e *Esenbeckia grandiflora* Mart. obtiveram resultados satisfatórios na mortalidade de *Atta sexdens sexdens* L.

As espécies *Cheiloclinium cognatum* e *Tetragastris altissima* pertencentes à família Celastraceae e Burseraceae apesar de não serem tão estudadas para verificação de efeito na mortalidade de formigas como espécies da família Rutaceae, também são espécies potenciais. Na literatura já foram descritos estudos da composição química de diferentes partes de espécies da família Burseraceae, tais como folhas, frutos e madeira, demonstrando composição química principalmente terpênica, com grandes quantidades de monoterpenos, sesquiterpenos e triterpenos. Além disso, foram identificados outros metabólitos secundários, como, cumarinas, flavonoides e lignoides (RUDIGER et al., 2007; GADIR; AHMED, 2014). Sabe-se que a cumarina também é um importante metabólito com efeito inseticida, Araújo et al. (2008) verificaram toxicidade da cumarina isolada do extrato de *Ageratum conyzoides* L. tanto para *Atta laevigata* (Fr. Smith) como para *Atta subterraneus subterraneus* Forel. Os autores propõem que a cumarina isolada apresentou efeito inseticida retardado, sendo responsável pela mortalidade em formigas cortadeiras.

As espécies pertencentes a família Celastraceae são fontes de importantes metabólitos secundários, tais como: sesquiterpenos, alcaloides, flavonoides (SILVA; DUARTE; VIEIRA FILHO, 2014). Além disso, Pina et al. (2017) relataram que *Cheiloclinium cognatum* é fonte importante de triterpenos. Os triterpenos quinona-metídicos (QMTs) são metabólitos secundários que ocorrem apenas em plantas da família Celastraceae (PAZ et al., 2013) e já foram descritos com atividade antiinflamatória (KIM, et al., 2009), antioxidante (SANTOS et al., 2010; JELLER et al., 2004), antifúngico (GULLO et al., 2012). Espécies dessa família são muito estudadas com fins farmacológicos, mas também se apresentam como uma importante fonte de substâncias que podem ser avaliadas visando a atividade inseticida. A presença dos metabólitos secundários e outros compostos químicos podem agir de forma independente ou em sinergia, promovendo a atividade inseticida.

Conclusões

Os extratos aquoso, alcoólico e de infusão de folhas de *Cheiloclinium cognatum*, *Metrodorea flavida* e *Tetragastris altissima* apresentam atividade inseticida em *Atta sexdens* nos dois modos de ação com aplicação tópica e por ingestão.

Os extratos alcoólico e de infusão na concentração de 15% da espécie *Cheiloclinium cognatum* causaram maior mortalidade em *Atta sexdens* em bioensaio por contato.

Referências Bibliográficas

ALMEIDA, R. N. A.; PEÑAFLORES, M. F. G. V.; SIMOTE, S. Y.; BUENO, O. C.; HEBLING, M. J. A.; PAGNOCCA, F. C.; FERNANDES, J. B.; VIEIRA, P. C.; SILVA, M. F. G. F. Toxicity of substances isolated from *Helietta puberula* R.E.Fr. (Rutaceae) to the leaf-cutting ant *Atta sexdens* L. (Hymenoptera: Formicidae) and the symbiotic fungus *Leucoagaricus gongylophorus* (Singer) Moller. **BioAssay**, v. 2, n. 2, p. 1 - 8, 2007.

ALONSO, E. C.; SANTOS, D. Y. A. C. Ricinus communis and Jatropha curcas (Euphorbiaceae) seed oil toxicity against *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). **Journal of economic entomology**, v. 106, n. 2, p. 742 - 746, 2013.

ARAÚJO, M. S.; DELLA-LUCIA, T. M. C.; MOREIRA, M. D.; PIKANÇO, M. C. Toxicidade de extratos hexânicos de plantas às operárias de *Atta laevigata* e *Acromyrmex subterraneus subterraneus* (Formicidae: Attini). **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 14, n. 3, p. 106 - 114, 2008.

BIGI, M. F. M.; TORKOMIAN, V. L.; GROOTE, S. T.; HEBLING, M. J. A.; BUENO, O. C.; PAGNOCCA, F. C.; FERNANDES, J.B.; VIEIRA, P.C.; SILVA, M. F. G. Activity of *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) and ricinine against the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) and the symbiotic fungus *Leucoagaricus gongylophorus*. **Pest management science**, v. 60, n. 9, p. 933 - 938, 2004.

BUENO, O. C.; BUENO, F. C.; DINIZ, E. A.; SCHNEIDER, M. O. Utilização de alimento pelas formigas cortadeiras. In: VILELA, E. F. et al. **Insetos sociais: da biologia à aplicação**. Viçosa, MG: Ed. UFV, p. 96 - 114, 2008.

COSTA, E. E. A.; D'AVILA, M.; CANTARELLI, E. B.; MURARI, A. B. **Entomologia florestal**. Santa Maria: UFSM, 2. ed., 2011. 244 p.

GADIR, A.; AHMED, I. M. Commiphora myrrha and commiphora Africana essential oils. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 6, n. 7, p. 151 - 156, 2014.

GOMES, M. D. C. A. R.; DE PAULA, V. F.; MOREIRA, A. A.; CASTELLANI, M. A.; DE MACEDO, G. E. L. Toxicity of plant extracts from Bahia, Brazil, to *Atta sexdens sexdens* Workers (Hymenoptera: Formicidae). **Sociobiology**, v. 63, n. 2, p. 770 - 776, 2016.

GOUVÊA, S. M.; CARVALHO, G. A.; PIKANÇO, M. C.; MORAIS, E. G. F.; BENEVENUTE, J. S.; MOREIRA, M. D. Effects of plant extracts on leaf-cutting ants. **Sociobiology**, v. 56, n. 3, 2010.

GULLO, F. P.; SARDI, J. C. O.; SANTOS, V. A. F. F. M.; SANGALLI-LEITE, F.; PITANGUI, N. S.; ROSSI, S. A.; SILVA, A. C. A. P.; SOARES, L. A.; SILVA, J. F.; OLIVEIRA, H. C.; FURLAN, M.; SILVA, D. H. S.; BOLZANI, V. S.; MENDES-

GIANNINI, M. J. S.; FUSCO-ALMEIDA, A. M. Antifungal activity of maytenin and pristimerin. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2012, p. 1 - 6, 2012.

JELLER, A. H.; SILVA, D. H. S.; LIAO, L. M.; BOLZANI, V. S.; FURLAN, M. Antioxidant phenolic and quinonemethide triterpenes from *Cheiloclinium cognatum*. **Phytochemistry**, v. 65, n. 13, p. 1977 - 1982, 2004.

JUNG, P. H.; SILVEIRA, A. C. D.; NIERI, E. M.; POTRICH, M.; SILVA, E. R. L. D.; REFATTI, M. Atividade Inseticida de *Eugenia uniflora* L. e *Melia azedarach* L. sobre *Atta laevigata* Smith. **Revista Floresta e Ambiente**, v. 20, n. 2, p.191 - 196, 2013.

KIM, D. H.; SHIN, E. K.; KIM, Y. H.; LEE, B. W.; JUN, J. G.; PARK, J. H. Y.; KIM, J. K. Suppression of inflammatory responses by celastrol, a quinone methide triterpenoid isolated from *Celastrus regelii*. **European Journal of Clinical Investigation**, v. 39, n. 9, p. 819 - 827, 2009.

MOLITERNO, A. A. C.; ABREU, P. F. Atividade inseticida do extratos aquosos de *Gleichenella pectinata* (Willd.) Ching (Gleicheniaceae) contra *Atta laevigata* (F. Smith, 1858) (Hymenoptera: Formicidae). **CES Revista**, v. 30, n. 1, p. 56 - 68, 2016.

NICKELE, M. A.; PIE, M. R.; REIS FILHO, W.; PENTEADO, S. D. R. C. Formigas cultivadoras de fungos: estado da arte e direcionamento para pesquisas futuras. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 33, n. 73, p. 53 - 72, 2013.

PAZ, T. A.; DOS SANTOS, V. A.; INÁCIO, M. C.; PINA, E. S.; PEREIRA, A. M. S.; FURLAN, M. Production of the quinone-methide triterpene maytenin by in vitro adventitious roots of *Peritassa campestris* (Cambess.) AC Sm. (Celastraceae) and rapid detection and identification by APCI-IT-MS/MS. **BioMed Research International**, p. 1 - 7, 2013.

PINA, E. S.; COPPEDE, J. S.; CONTINI, S. H. T.; CREVELIN, E. J.; LIÃO, L. M.; BERTONI, B. W.;FRANÇA, S.C.; PEREIRA, A. M. S. Improved production of quinone-methide triterpenoids by *Cheiloclinium cognatum* root cultures: possibilities for a non-destructive biotechnological process. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 128, n. 3, p. 705 - 714, 2017.

QUINTANA, K. C.; LERMA, J. M.; ECHEVERRI, C. G. Toxicity of foliage extracts of *Tithonia diversifolia* (Asteraceae) on *Atta cephalotes* (Hymenoptera: Myrmicinae) workers. **Industrial Crops and Products**, v. 44, p. 391 - 395, 2013.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R**: A languageandenvironment for statisticalcomputing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2017. Disponível em: <<http://www.Rproject.org>>.

RUDIGER, A. L.; SIANI, A. C.; VEIGA Jr, V. F. The Chemistry and Pharmacology of the South America genus *Protium* Burm. f. (Burseraceae). **Pharmacognosy Review**, v. 1, n. 1, p. 93 - 104, 2007.

SANTOS, A. C. M. S. R.; NAVES, P. L. F.; SILVA, D. S.; DE JESUS, F. G.; ARAÚJO, M. S.; BUENO, O. C.; MENEZES, A. C. S. Atividade inseticida de plantas do Cerrado: toxicidade dos extratos de *Andira paniculata* Benth (Fabacea) frente a formigas cortadeiras (*Atta sexdens rubropilosa*). In: **Anais do Congresso de Ensino, Pesquisa e Extensão da UEG (CEPE)**, v. 2, 2015.

SANTOS, D. F., SANTOS, R. G.; SILVA, D. S.; SILVA JR, W. M.; BUENO, O. C.; MENEZES, A. C. S. Avaliação do potencial inseticida de extratos das folhas de *Bauhinia rufa* (Fabaceae) contra *Atta sexdens rubropilosa*. In: **Anais do Congresso de Ensino, Pesquisa e Extensão da UEG (CEPE)**, v. 3, 2016.

SANTOS, M. A. I.; CORRÊA, A. D.; ALVES, A. P. C.; SIMÃO, A. A.; ALVES, D.; OLIVEIRA, R. L.; SACZK A. A.; CARVALHO, G. A. Extrato metanólico de folhas de mandioca como alternativa ao controle da lagarta-do-cartucho e de formigas cortadeiras. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 6, suplemento 1, p. 3501-3512, 2013.

SANTOS, V. A. F. F. M.; SANTOS, D. P.; CASTRO-GAMBOA, I.; ZANONI, M. V. B.; FURLAN, M. Evaluation of antioxidant capacity and synergistic associations of quinonemethide triterpenes and phenolic substances from *Maytenus ilicifolia* (Celastraceae). **Molecules**, v. 15, n. 10, p. 6956 - 6973, 2010.

SILVA, F. C.; DUARTE, L. P.; VIEIRA FILHO, S. A. Celastráceas: Fontes de Triterpenos Pentacíclicos com Potencial Atividade Biológica. **Revista Virtual de Química**, v. 6, n. 5, p. 1205 - 1220, 2014.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719p.

TORRES, A. D. F.; LASMAR, O.; CARVALHO, G. A.; SANTA-CECÍLIA, L. V. C.; ZANETTI, R.; OLIVEIRA, D. D. Atividade inseticida de extratos de plantas no controle de formiga cortadeira, em cafeeiro. **Coffee Science**, v. 8, n. 3, p. 371 - 378, 2013.

VIEGAS Jr., C. V. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, v. 26, n. 3, p. 390 - 400, 2003.

VIGLIANCO, A.; NOVO, R.; CRAGNOLINI, C.; NASSETTA, M.; CAVALLO, A. Antifeedant and repellent effects of extracts of three plants from Córdoba (Argentina) against *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). **BioAssay**, v. 3, n. 4, p. 1 - 6, 2008.

ZANETTI, R.; JAFFÉ, K.; VILELA, E. F.; ZANUNCIO, J. C.; LEITE, H. G. Efeito da densidade e do tamanho de saueiros sobre a produção de madeira em

eucaliptais. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 29, n. 1, p. 105 - 112, 2000.

5. CAPÍTULO 3

5.1 POTENCIAL INSETICIDA DE EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE ESPÉCIES ARBÓREAS DA AMAZÔNIA MERIDIONAL NO CONTROLE DE *Atta sexdens* LINNAEUS (HYMENOPTERA: FORMICIDAE)

Resumo – (Potencial inseticida de extrato hidroalcoólico de espécies arbóreas da Amazônia Meridional no controle de *Atta sexdens* Linnaeus (Hymenoptera: Formicidae). O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do extrato foliar de *Cheiloclinium cognatum* (Miers) A.C.Sm (Celastraceae), *Metrodorea flavida* K.Krause (Rutaceae) *Tetragastris altissima* (Aubl.) Swart (Burseraceae) na mortalidade de *Atta sexdens* Linnaeus (Hymenoptera: Formicidae) sob duas formas de aplicação, contato e ingestão, em condições de laboratório. Folhas das espécies foram secas a 65°C por 72h, e posteriormente trituradas. Para a obtenção do extrato bruto hidroalcoólico, 100 g do material vegetal seco e moído foi dissolvido em 1 L de álcool 70%, (1/10 m/v), permanecendo em repouso por um período de sete dias, posteriormente filtrado. O extrato líquido foi concentrado a 40 °C, sob pressão reduzida, em rotaevaporador. O experimento foi dividido em dois bioensaios: contato e ingestão. O bioensaio de contato consiste na aplicação dos extratos sobre as formigas (borrifando aproximadamente 0,2 mililitros), e ingestão quando os extratos foram incorporados em dieta artificial. Nos dois bioensaios utilizaram-se as concentrações 0,5; 0,8; 1,2; 1,9 e 3% acrescidas de 0,5% de dimetilsulfoxo (DMSO), o tratamento testemunha consistiu na aplicação de água destilada mais 0,5% de DMSO (contato) ou o fornecimento de dieta pura com 0,5% de DMSO (ingestão). Operárias de *Atta sexdens* foram coletadas forrageando em trilhas de um saubeiro adulto, sendo separadas em grupos de dez indivíduos, colocados em frascos de vidro e expostas a aplicação tópica ou de ingestão dos extratos. A avaliação foi realizada após 24, 48 e 72 horas da aplicação dos extratos, através da contagem de insetos mortos. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com esquema fatorial 3x6 (três espécies florestais e 6 concentrações) com cinco repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância, sendo os dados das diferentes concentrações submetidos à regressão. No experimento por contato, a espécie *Cheiloclinium cognatum* apresentou mortalidade média de 100% após 48 horas. Já para as espécies *Metrodorea flavida* e *Tetragastris altissima*, a mortalidade foi de 84 e 90%, respectivamente, após 72 horas. No experimento por ingestão as espécies *Cheiloclinium cognatum*, *Metrodorea flavida* e *Tetragastris altissima* apresentaram mortalidade de 96, 84 e 86% após 72 horas, *Tetragastris altissima* apresentou maior mortalidade em concentrações a partir de 0,8% já na primeira avaliação (24 horas). A mortalidade de *Atta sexdens* é crescente com o aumento do período de exposição aos extratos hidroalcoólicos das espécies avaliadas. *Cheiloclinium cognatum* é a espécie mais promissora em bioensaio por contato na concentração de 1,9%.

Palavras chave: bioinseticidas, espécies florestais nativas, formigas cortadeiras.

Abstract - (Insecticide potential of a hydroalcoholic extract of arboreal species of Southern Amazonia in the control of *Atta sexdens* Linnaeus (Hymenoptera: Formicidae). The objective of this work was to evaluate the effect of the leaf extract of *Cheiloclinium cognatum* (Miers) ACSm (Celastraceae), *Metrodorea*

flavida K. Krause (Rutaceae) *Tetragastris altissima* (Aubl.) Swart (Burseraceae) on *Atta sexdens* Linnaeus mortality (Hymenoptera: Formicidae) under two forms of application, contact and ingestion under laboratory conditions. Leaves of the species were dried at 65 °C for 72h, and then crushed. To obtain the crude hydroalcoholic extract, 100 g of the dried and ground vegetable material was dissolved in 1 L of 70% alcohol, (1/10 m / v), remaining at rest for a period of seven days, then filtered. The liquid extract was concentrated at 40 °C under reduced pressure in a rotary evaporator. The experiment was divided into two bioassays: contact and ingestion. The contact bioassay consists of the application of the extracts on the ants (spraying approximately 0,2 milliliters), and ingestion when the extracts were incorporated into an artificial diet. In both bioassays the concentrations 0.5; 0.8; 1,2; 1.9 and 3% plus 0.5% dimethylsulfoxo (DMSO), the control treatment consisted of the application of distilled water plus 0.5% DMSO (contact) or the provision of pure diet with 0.5% DMSO (ingestion). Workers of *Atta sexdens* were collected foraging on trails of an adult sauveiro, being separated into groups of ten individuals, placed in glass jars and exposed to topical or ingestion of the extracts. The evaluation was performed after 24, 48 and 72 hours of the application of the extracts, through the count of dead insects. The experimental design was completely randomized, with a factorial scheme 3x6 (three forest species and 6 concentrations) with five replications. The data were submitted to analysis of variance, and the data of the different concentrations were submitted to regression. In the contact experiment, the *Cheilochlinium cognatum* species had an average mortality of 100% after 48 hours. As for the species of *Metrodorea flavida* and *Tetragastris altissima*, mortality was 84 and 90%, respectively, after 72 hours. In the experiment by ingestion the species *Cheilochlinium cognatum*, *Metrodorea flavida* and *Tetragastris altissima* presented mortality of 96, 84 and 86% after 72 hours, *Tetragastris altissima* presented higher mortality in concentrations from 0.8% already in the first evaluation (24 hours). The mortality of *Atta sexdens* is increasing with the increase of the period of exposure to hydroalcoholic extracts of the evaluated species. *Cheilochlinium cognatum* is the most promising species in contact bioassay at the concentration of 1,9%.

Key words: bioinsecticides, native forest species, leaf-cutting ants.

Introdução

As formigas cortadeiras (Hymenoptera: Formicidae) são pragas que causam dano econômico tanto em culturas agrícolas como florestais, além disso, estão presentes em todo o território Brasileiro. O controle desses insetos é realizado principalmente com inseticidas químicos e a principal preocupação refere-se aos efeitos maléficos ocasionados ao meio ambiente. Além disso, o Forest Stewardship Council (FSC) em sua política de gestão e certificação de plantações florestais tem estabelecido padrões para implementar o manejo integrado de pragas e o seu monitoramento, de forma que cause menos impactos ambientais, restringindo o uso de inseticidas sintéticos (incluindo sulfluramida, fipronil, fenitrotiona e os piretróides α -cipermetrina e deltametrina) no controle de formigas cortadeiras em suas empresas certificadas (ISENRING; NEUMEISTER, 2010). O FSC ainda permite o uso de inseticidas organossintéticos em controle de pragas em florestas plantadas mediante cumprimento de condicionantes, tornando necessário novos métodos de controle eficiente e que causem menos danos ao ambiente para o manejo de formigas cortadeiras.

A utilização de compostos provenientes de plantas é uma estratégia promissora para o controle de formigas cortadeiras, uma vez que, degradam mais rapidamente e, podem ser mais seletivos no controle, com a descoberta de novas moléculas, podendo causar assim, menores danos ao ambiente. Estudos tem demonstrado que diversas plantas possuem metabólitos secundários que causam a mortalidade de diferentes espécies de formigas cortadeiras. Como em um estudo realizado por Acácio-Bigi et al. (1998) onde, os autores avaliaram a toxicidade de extratos foliares de *Ricinus communis*, verificando seu efeito letal em operarias de *Atta sexdens rubropilosa* Forel. Outras espécies tais como: *Eugenia florida* e *Eugenia handroana* (Myrtaceae), *Trichilia pallida* (Meliaceae) e *Zanthoxylum pohlianum* (Rutaceae) reduziram a sobrevivência de *Atta sexdens rubropilosa* (TORRES et al., 2013).

Os metabólitos secundários presentes nos extratos de plantas que apresentam efeito inseticida podem agir como inibidores da alimentação de

insetos ou de quitina ou perturbadores do crescimento, desenvolvimento, reprodução, diapausa e comportamento (AGUIAR-MENEZES, 2005). Amaral et al. (2018) verificaram que a azadiractina, composto químico pertencente ao grupo limonóide, causa efeitos negativos na reprodução de formigas cortadeiras, isso porque a azadiractina, afeta a oviposição em rainhas de *Atta sexdens* L., prejudicando o desenvolvimento dos ovos, diminuindo as reservas de proteína, demonstrando que as plantas apresentam um potencial de uso para controle de formigas cortadeiras. É crescente o interesse pelo desenvolvimento de alternativas de controle de pragas através do uso de inseticidas de origem botânica (CARVALHO et al., 2008), uma vez que, são inúmeras as espécies existentes que ainda podem ser estudadas, principalmente espécies nativas da Amazônia, que conta com uma rica flora e pode ser fonte de inúmeras substâncias com potencial inseticida.

A escolha das espécies utilizadas neste estudo foi com base em testes preliminares que demonstraram que *Cheiloclinium cognatum* (Miers) A. C. Sm (Celastraceae), *Metrodorea flavida* K. Krause (Rutaceae) e *Tetragastris altissima* (Aubl.) Swart (Burseraceae) apresentavam classes de metabólitos secundários que poderiam ser promissoras no controle de insetos. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do extrato foliar hidroalcoólico de *Cheiloclinium cognatum*, *Metrodorea flavida* e *Tetragastris altissima* na mortalidade de *Atta sexdens* sob duas formas de aplicação, contato e ingestão, em condições de laboratório.

Materiais e Método

Os extratos foram obtidos de folhas de três espécies de plantas: *Cheiloclinium cognatum* (Miers) A. C. Sm, *Metrodorea flavida* K. Krause e *Tetragastris altissima* (Aubl.) Swart, coletadas em maio de 2017 no Município de Alta Floresta-MT (56°3'43,972"W, 9°57'1,312"S) e os testes foram realizados nos Laboratórios do CETAM, na Universidade do Estado de Mato Grosso, Campus Universitário de Alta Floresta, MT.

Após a coleta, o material vegetal foi seco em estufa com circulação forçada de ar a 65° C por 72h, e posteriormente triturado em moinho de facas tipo Willey. Para obtenção do extrato bruto hidroalcoólico, 100 g do material vegetal seco e moído foi dissolvido em 1 L de álcool 70%, (1/10 m/v), e armazenado em vidro envolto com papel alumínio para proteger a solução da luz e permanecendo em repouso em temperatura ambiente por um período de sete dias, sendo agitado periodicamente. Ao final deste período, foi realizada a filtração em voil e o extrato líquido foi concentrado a 40 °C, sob pressão reduzida, em rotaevaporador para efetuar a eliminação do solvente do extrato vegetal. Em seguida, o extrato obtido foi colocado em estufa com circulação forçada de ar a 40 °C para evaporação residual do solvente ainda presente.

A análise do potencial inseticida foi dividida em dois bioensaios: um de contato e um de ingestão com incorporação dos extratos. Para isso, foram coletadas operárias de *Atta sexdens* L., de tamanho médio (aproximadamente 10 mm), forrageando em trilhas de um saubeiro adulto, localizado no município de Alta Floresta, Mato Grosso. As formigas foram colocadas em frascos grandes e levadas ao laboratório.

Visando a manutenção das formigas isoladas do formigueiro, utilizou-se o fornecimento de uma dieta artificial sólida. Para o preparo da dieta foram utilizados: dextrose (1,5 g), ágar alimentício (0,5 g) e água destilada (100 ml), de acordo com a dieta proposta por Jung et al. (2013). Estes componentes foram misturados e levados ao micro-ondas por três minutos, acondicionados em placas de petri e após a solidificação da dieta, as placas foram

embrulhadas com plástico filme de PVC e armazenadas em refrigerador até o momento da implantação do bioensaio.

Tanto para o bioensaio por contato como por ingestão os procedimentos foram semelhantes: foram agrupados dez indivíduos por frasco de vidro, com aproximadamente 13,5 cm de altura por 8 cm de diâmetro, posteriormente foi realizada a aplicação tópica do extrato (borrifado aproximadamente 0,2 mililitros) nas seguintes concentrações: 0,5; 0,8; 1,2; 1,9 e 3%, definidas em testes preliminares e equidistantes em escala logarítmica. Cada frasco recebeu a dieta solidificada livre de extrato, cortada em cubos (1cm³) acomodada sobre papel alumínio (2x2cm) e um chumaço de algodão hidrófilo umedecido com água destilada, e fechados com tecido tipo voil. As dietas foram repostas a cada 24 horas e o algodão umedecido quando necessário.

Já para o bioensaio por ingestão os extratos foram incorporados à dieta nas concentrações 0,5; 0,8; 1,2; 1,9 e 3%, sendo a dieta cortada em cubos (1 cm³) e fornecida às formigas acomodadas sobre papel alumínio (2x2cm) e também adicionado algodão hidrófilo umedecido com água destilada, e os vidros fechados com tecido tipo voil. Como solvente foi utilizado Dimetilsulfóxido (DMSO) a 0,5% e água destilada. O tratamento testemunha para bioensaio de contato foi água destilada e DMSO 0,5%, para o bioensaio de ingestão utilizou-se a dieta livre de extratos com DMSO 0,5%. A testemunha foi utilizada para avaliar a sobrevivência das formigas com referência à temperatura, à umidade, manuseio e efeito do solvente. Os frascos contendo as formigas foram mantidos em câmara climatizada do tipo B. O. D. a $26 \pm 2^\circ\text{C}$, U.R. de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. As avaliações ocorreram por um período de 72 horas, quantificando-se o número de formigas mortas, nos períodos de 24, 48 e 72 horas.

O experimento foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado, com esquema fatorial 3x6 (três espécies florestais e 6 concentrações) com cinco repetições, e cada unidade experimental foi constituída por dez formigas, em cada tratamento utilizou-se 50 indivíduos, totalizando 800 formigas. Os dados foram submetidos à análise de variância, sendo os dados das diferentes concentrações submetidos à regressão. A

análise dos dados foi realizada como software R versão 3.4 (R DEVELOPMENT CORE EQUIPE, 2017).

Resultados

Não houve interação entre os fatores espécie e concentração, em virtude disso os dados foram analisados e discutidos separadamente. A mortalidade de *Atta sexdens* ocasionada pelo extrato hidroalcoólico de *Cheilocladium cognatum* nos três períodos de avaliação (24, 48 e 72 horas) através de contato e ingestão se ajustou ao modelo de regressão (FIGURA 1).

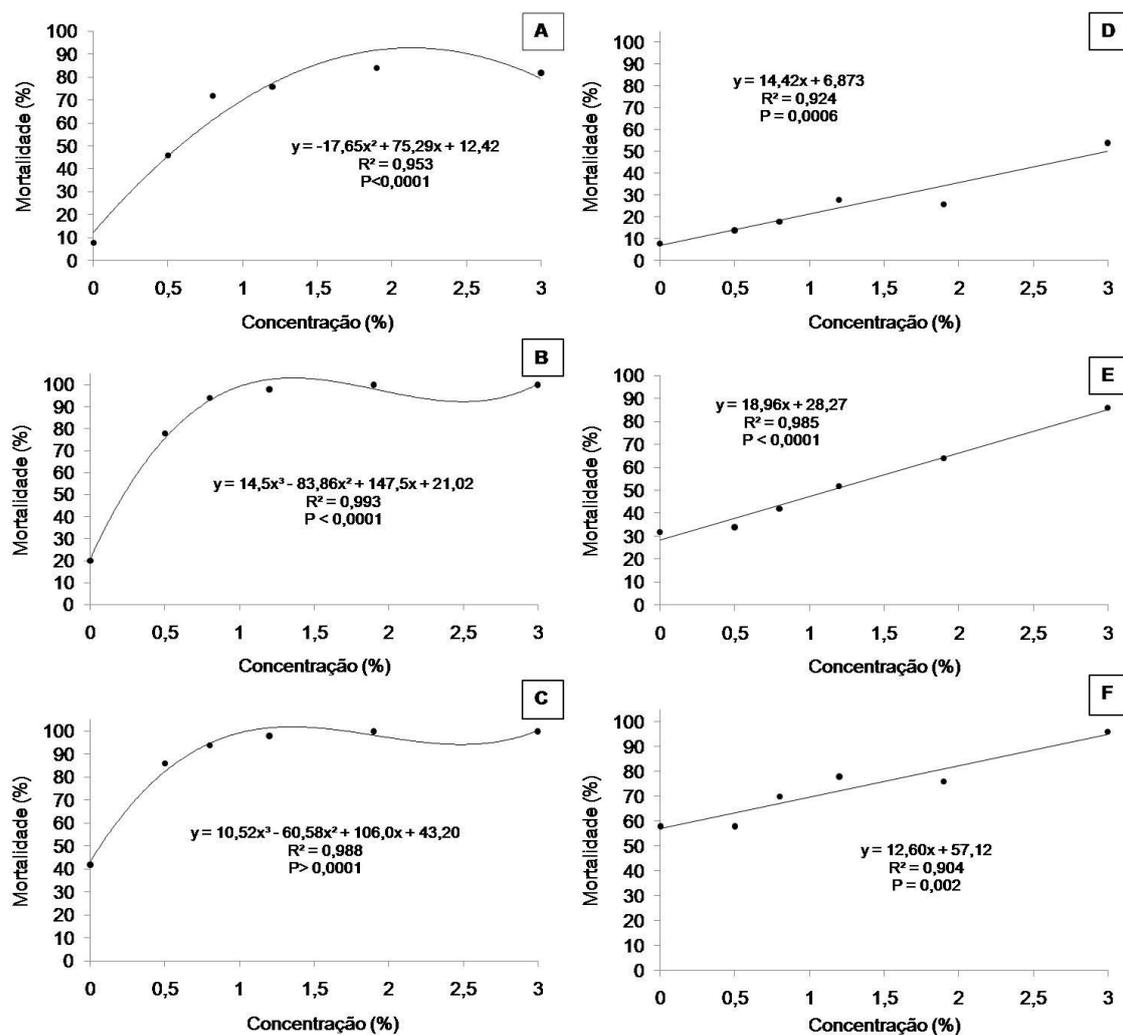


FIGURA 1. Mortalidade média acumulada (%) de *Atta sexdens* ocasionada por extrato hidroalcoólico de *Cheilocladium cognatum* com aplicação por contato em períodos de 24 horas (1A), 48 horas (1B) e 72 horas (1C), e por ingestão nos períodos de 24 horas (1D), 48 horas (1E) e 72 horas (1F).

No bioensaio por contato após 24h da aplicação do extrato foi observada mortalidade de 46% na concentração de 0,5%. A máxima mortalidade foi constatada aplicando-se a concentração de 1,9% (84%). Nas

concentrações 0,8, 1,2 e 3,0% verificou-se mortalidade de 72, 76 e 82% respectivamente (FIGURA 1A). No período de 48h a mortalidade foi de 78% na concentração de 0,5%, nas concentrações 0,8 e 1,2% foram obtidas mortalidade de 94 e 98%, respectivamente. A partir da concentração de 1,9%, a mortalidade foi de 100% (FIGURA 1B). No período de 72h foi observada mortalidade de 86% na concentração de 0,5%, e nas concentrações de 0,8 e 1,2% alcançou 94%, para ambas. A partir da concentração de 1,9%, a mortalidade foi de 100% (FIGURA 1C).

No bioensaio por ingestão os dados se ajustaram ao modelo de regressão linear em que a mortalidade aumentou em função da concentração do extrato. No período de 24h foi observada mortalidade de 14% na concentração de 0,5%, e nas concentrações 0,8, 1,2 e 1,9% mortalidade de 18, 28 e 26%, respectivamente. A máxima mortalidade foi verificada aplicando-se a concentração de 3,0% (54%) (FIGURA 1D). No período de 48h observou-se mortalidade de 34% na concentração de 0,5%, e nas concentrações 0,8; 1,2 e 1,9% mortalidade de 42, 52 e 64%, respectivamente. A maior mortalidade ocorreu na concentração de 3% com mortalidade de 86% (FIGURA 1E). Após 72 horas foi observada mortalidade de 58% na concentração de 0,5%, e nas concentrações 0,8; 1,2 e 1,9% 70, 78, 76% com mortalidade chegando a 96% na concentração de 3% (FIGURA 1F).

A mortalidade de *Atta sexdens* ocasionada pelo extrato hidroalcoólico de *Metrodorea flavida* nos três períodos de avaliação (24, 48 e 72 horas) em bioensaio por contato e ingestão se ajustou ao modelo de regressão, com exceção para o período de 72 horas no bioensaio por ingestão em que o modelo de regressão não foi significativo (FIGURA 2).

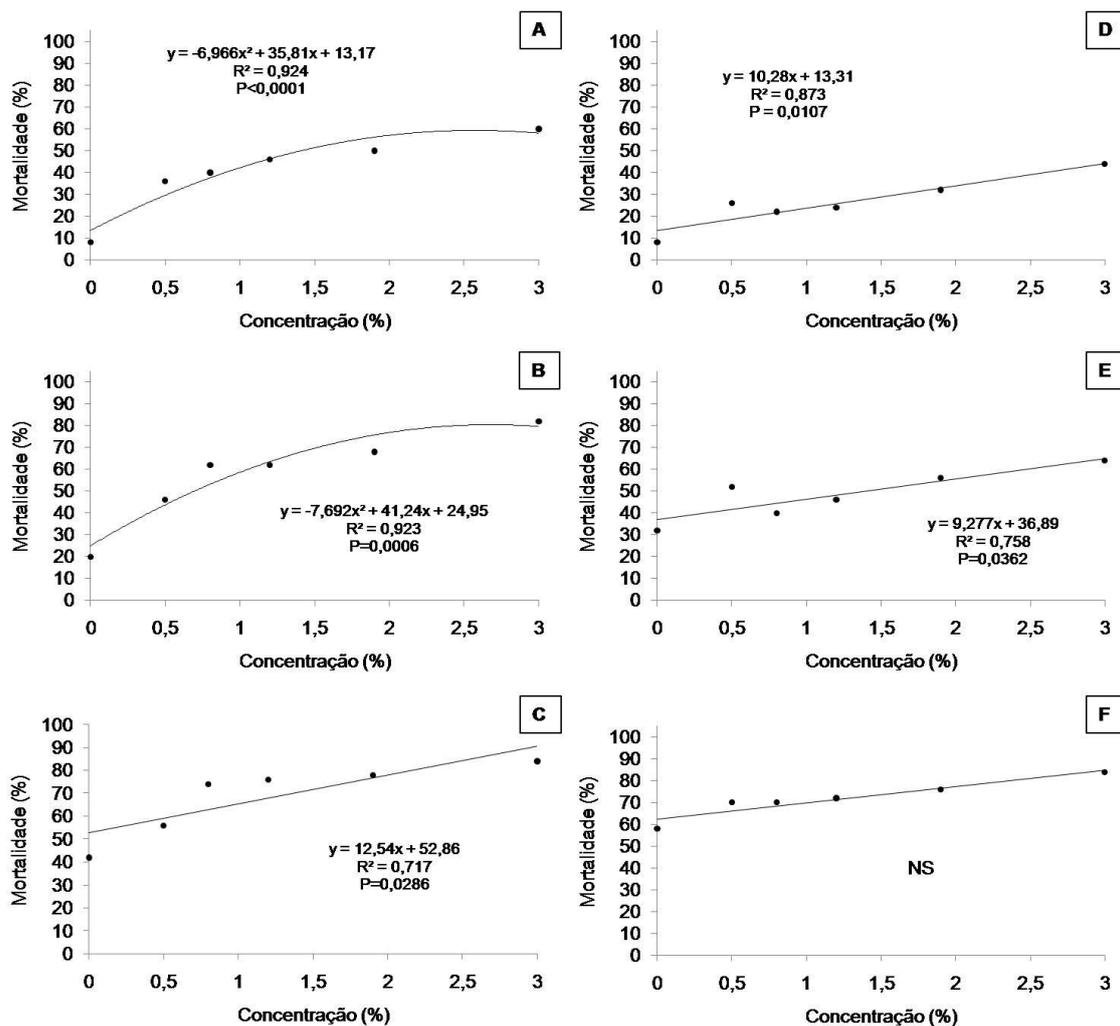


FIGURA 2. Mortalidade média acumulada (%) de *Atta sexdens* ocasionada por extrato hidroalcoólico de *Metrodorea flavida* com aplicação por contato em períodos de 24 horas (2A), 48 horas (2B) e 72 horas (2C), e por ingestão nos períodos de 24 horas (2D), 48 horas (2E) e 72 horas (2F).

No bioensaio por contato a mortalidade foi crescente, no período de 24h, e a mortalidade obtida foi de 36% na concentração de 0,5% com máxima mortalidade na concentração de 3,0% (60%) (FIGURA 2A). Já para o período de 48h foi observada mortalidade de 46% na concentração de 0,5% chegando a 82% na concentração de 3% (Figura 2B). No período de 72 horas verificou-se mortalidade de 56% na concentração de 0,5%, e nas concentrações 0,8, 1,2 e 1,9%, obteve-se mortalidade de 74, 76 e 78%, respectivamente e a máxima mortalidade foi constatada aplicando-se a concentração de 3,0% (84%) (FIGURA 2C).

No bioensaio por ingestão no período de 24h a mortalidade foi novamente crescente, com 26% na concentração de 0,5% com maior mortalidade observada na concentração de 3,0% (44%) (FIGURA 2D). Após 48 horas foi constatada mortalidade de 52% na concentração de 0,5%, e nas concentrações 0,8, 1,2 e 1,9% a mortalidade foi de 40, 46 e 56% respectivamente, com 64% na concentração de 3,0% (FIGURA 2E). No período de 72 horas foi verificada mortalidade de 70 a 84% nas concentrações avaliadas (FIGURA 2F).

A mortalidade de *Atta sexdens* ocasionada pelo extrato hidroalcoólico de *Tetragastris altissima* nos três períodos de avaliação (24, 48 e 72 horas) através de contato e ingestão se ajustou ao modelo de regressão, contudo para o período de 24 horas no bioensaio por ingestão foi baixa a correlação com o coeficiente de determinação ($R^2=0,39$) (FIGURA 3).

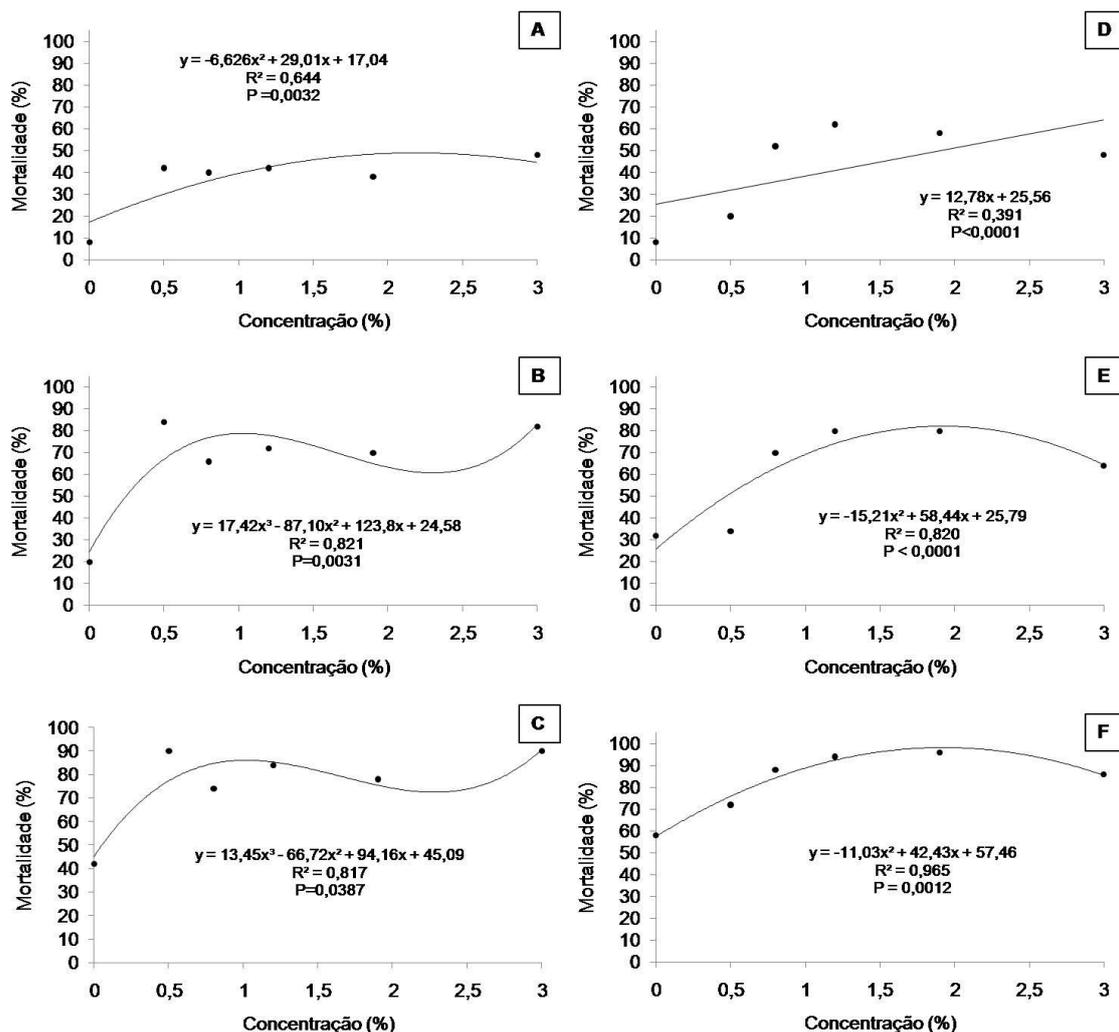


FIGURA 3. Mortalidade média acumulada (%) de *Atta sexdens* ocasionada por extrato hidroalcoólico de *Tetragastris altissima* com aplicação por contato em períodos de 24 horas (3A), 48 horas (3B) e 72 horas (3C), e por ingestão nos períodos de 24 horas (3D), 48 horas (3E) e 72 horas (3F).

No bioensaio por contato no período de 24h foi observada mortalidade de 42% na concentração de 0,5%, e nas concentrações 0,8, 1,2 e 1,9% a mortalidade foi de 40, 42 e 38% respectivamente. A máxima mortalidade foi verificada aplicando-se a concentração de 3,0% (48%) (FIGURA 3A). Após 48 horas já constatou-se mortalidade de 84% na concentração de 0,5%, e nas concentrações de 0,8, 1,2 e 1,9% a mortalidade obteve valores de 66, 72 e 70%, respectivamente, com mortalidade na concentração de 3,0% de 82% (FIGURA 3B). No período de 72h a máxima

mortalidade foi constatada aplicando-se a concentração de 0,5 e 3,0% (ambas 90%). Nas concentrações 0,8, 1,2 e 1,9% as mortalidades foram de 74, 84 e 78%, respectivamente (FIGURA 3C).

No bioensaio por ingestão no período de 24h obteve-se mortalidade de 20% na concentração de 0,5%. Nas concentrações 0,8, 1,9 e 3,0% a mortalidade alcançou valores de 52, 58 e 48%, respectivamente. A máxima mortalidade foi verificada aplicando-se a concentração de 1,2% (62%) (FIGURA 3D). No período de 48h constatou-se mortalidade de 34% na concentração de 0,5%. E nas concentrações 0,8 e 3,0% observou-se valores de 70 e 64% respectivamente, com a maior mortalidade aplicando-se as concentrações de 1,2 e 1,9% (ambas 80%) (FIGURA 3E). Após 72 horas foi observada mortalidade de 72% na concentração de 0,5%. Nas concentrações 0,8, 1,2 e 3,0% verificou-se mortalidade de 88, 94 e 86% respectivamente. A maior mortalidade foi obtida aplicando-se a concentração de 1,9% (96%) (FIGURA 3F).

Discussão

Todas as espécies avaliadas apresentaram mortalidade crescente em *Atta sexdens* conforme o aumento do período de avaliação. Nota-se que todas as espécies apresentam efeito na mortalidade média acumulada de *Atta sexdens*, porém, observa-se um comportamento diferente para a espécie *Cheiloclinium cognatum*, a qual demonstrou uma resposta mais rápida na mortalidade, no bioensaio por contato. Após 24 horas apresentou mortalidade chegando a 84% com a mortalidade de todos os indivíduos após 48 horas nas concentrações de 1,9 e 3%.

No bioensaio por ingestão a espécie *Tetragastris altissima* apresentou maior mortalidade em concentrações a partir de 0,8% já na primeira avaliação (24 horas), nos demais períodos de avaliação apresentou menor variação da mortalidade entre as concentrações avaliadas. As espécies *Cheiloclinium cognatum* e *Metrodorea flavida* apresentaram maiores mortalidades a partir de 48 horas.

Comparando-se os modos de ação, nota-se que a mortalidade no bioensaio de contato para todas as espécies avaliadas foi maior já na primeira avaliação (24 horas), com aumento gradativo na avaliação de 48 a 72 horas. No bioensaio de ingestão a mortalidade inicial foi menor com um aumento de mortalidade após 48 e 72 horas. Aguiar-Menezes (2005) destaca que a ação por contato é mais rápida do que por ingestão, isso porque, as substâncias que atuam por contato são absorvidas pelo tegumento do inseto podendo afetar o sistema nervoso central, que é acessível para essas substâncias em toda a superfície do corpo do inseto ou pelas vias respiratórias, causando rapidamente a morte do inseto. Já as substâncias que atuam por ingestão, agem e penetram no organismo por via oral e podem afetar o sistema digestivo, o sistema de biosíntese dos hormônios da ecdise ou a formação da camada de quitina da cutícula do inseto.

O efeito mais rápido ocasionado por extratos de *Cheiloclinium cognatum* pode ser atribuído a própria composição do extrato como já foi mencionado no capítulo 1. Essa espécie apresentou resultado positivo em

análise qualitativa confirmando que o extrato de folhas continha as classes de metabólitos secundários: alcaloides, flavonoides, taninos e saponinas. Somente essa espécie apresentou resultados positivos para alcaloides e flavonoides.

Peñaflor et al. (2009) verificaram que a mortalidade de *Atta sexdens* L. foi ocasionada pelo alcaloide 5-metóxicantin-6-ona isolado a partir de frações diclorometânicas dos extratos metanólicos de *Simarouba versicolor* St. Hil. A astilbina, flavonoide isolado de *Dimorphandra mollis* Benth. também reduziu a sobrevivência mediana de *Atta sexdens rubropilosa* Forel. alimentadas diariamente com essa substância (CINTRA et al., 2005). Pina et al. (2017) relataram que *Cheiloclinium cognatum* é fonte importante de triterpenos. Os terpenos sinergizam os efeitos de outras toxinas atuando como solventes para facilitar sua passagem através de membranas (RATTAN, 2010). Além disso, estudos com terpenóides tem mostrado efeitos em formigas cortadeiras, provocando alteração comportamental como o β -eudesmol extraído de espécies de *Eucalyptus* (Myrtaceae). Os autores descreveram que o β -eudesmol interfere no reconhecimento das formigas modificando o comportamento nas colônias, levando à mutilação e morte das formigas (MARINHO et al., 2005).

As espécies *Metrodorea flavida* e *Tetragastris altissima* também apresentaram taninos e saponinas. Quintana, Lerma e Echeverri (2013) descrevem que extrato bruto de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray contendo a presença de taninos e flavonoides apresentam efeito na mortalidade de *Atta cephalotes* L. e também que a aplicação do extrato por contato apresentou maior mortalidade do que por ingestão na dieta incorporada com extrato. Franco et al. (2013) atribuem o efeito inibitório no desenvolvimento do fungo *Leucoagaricus gongylophorus* de *Atta laevigatta* Smith, a presença de saponina no extrato aquoso de folhas de Juazeiro (*Zizyphus joazeiro* Mart.).

Mais pesquisas devem ser realizadas com foco no fracionamento, isolamento e identificação de compostos para verificação de efeito dessas espécies, que se mostraram promissoras no controle de *Atta sexdens* com o uso de extrato bruto. Além disso, são necessários estudos a campo para

verificar se os efeitos encontrados em laboratório são também constatados em condições naturais em que se encontram os formigueiros.

Conclusões

Os extratos hidroalcoólico de folhas de *Cheiloclinium cognatum*, *Metrodorea flavida* e *Tetragastris altissima* apresentam atividade inseticida em *Atta sexdens* nos dois modos de ação com aplicação tópica e por ingestão.

A mortalidade de *Atta sexdens* é crescente com o aumento do período de exposição aos extratos hidroalcoólicos das espécies avaliadas. *Cheiloclinium cognatum* é a espécie mais promissora em bioensaio por contato na concentração de 1,9%.

Referências Bibliográficas

ACÁCIO-BIGI, M. F.; HEBLING, M. J.; BUENO, O. C.; PAGNOCCA, F. C.; FERNANDES, J. B.; SILVA, O. A.; VIERA, P. C. Toxicidade de extratos foliares de *Ricinus communis* L. para operárias de *Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908. (Hymenoptera, Formicidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 41, n. 1 - 2, p. 239 - 243, 1998.

AGUIAR-MENEZES, E. L. **Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2005. 58 p. (Documento, 205).

AMARAL, K. D.; MARTÍNEZ, L. C.; LIMA, M. A. P.; SERRÃO, J. E.; DELLA LUCIA, T. M. C. Azadirachtin impairs egg production in *Atta sexdens* leaf-cutting ant queens. **Environmental Pollution**, v. 243, Part B, p. 809 - 814, 2018.

CARVALHO, G. A.; SANTOS, N. M.; PEDROSO, E. C.; TORRES A. F. Eficiência do óleo de nim (*Azadirachta indica* A. Juss) no controle de *Brevicoryne brassicae* (Linnaeus, 1758) e *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) (Hemiptera: Aphididae) em couve-manteiga *Brassica oleracea* Linnaeus var. *Acephala*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 75, n. 2, p. 181 - 186, 2008.

CINTRA, P.; BUENO, F. C.; BUENO, O. C.; MALASPINA, O.; PETACCI, F.; FERNANDES, J. B. Astilbin toxicity to leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae). **Sociobiology**, v. 45, n. 2, p. 347 - 353, 2005.

FRANCO, A. P.; PERES, A. R.; SOUZA, M. F. P.; QUEIROZ, ASSIS, M. S.; J. M. F. Ação de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fungos simbiotes das formigas cortadeiras. **Engenharia Ambiental**, v. 10, n. 1, p. 103 - 113, 2013.

ISENRING, R.; NEUMEISTER, L. **Recommendations regarding derogations to use alpha-Cypermethrin, Deltamethrin, Fenitrothion, Fipronil and Sulfluramid in FSC Certified Forests in Brazil**, 2010, 99 p.

JUNG, P. H.; SILVEIRA, A. C.; NIERI, E. M.; POTRICH, M.; SILVA, E. R. L.; REFATTI, M. Atividade Inseticida de *Eugenia uniflora* L. e *Melia azedarach* L. sobre *Atta laevigata* Smith. **Revista Floresta e Ambiente**, v. 20, n. 2, p. 191 - 196, 2013.

MARINHO, C. G. S., DELLA LUCIA, T. M. C.; GUEDES, R. N. C.; RIBEIRO, M. M. R.; LIMA, E. R. β -eudesmolinduced aggression in the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 117, n. 1, p. 89 - 93, 2005.

PEÑAFLORES, M. F. G. V.; ALMEIDA, R. N.; SIMOTE, S. Y.; YAMANE, E. R. I. C. A.; BUENO, O. C.; HEBLING, M. J.; FERNANDES, J. B.; VIEIRA, P. C.; SILVA, M. F. G. F.; PAGNOCCA, F. C. Toxicity of substances isolated from *Simarouba*

versicolor St. Hil. (Simaroubaceae) to the leaf-cutting ant *Atta sexdens* L. (Hymenoptera: Formicidae) and the symbiotic fungus *Leucoagaricus gongylophorus* (Singer) Moller. **Bioassay**, v. 4, n. 1, p. 1 - 7, 2009.

PINA, E. S.; COPPEDE, J. S.; CONTINI, S. H. T.; CREVELIN, E. J.; LIÃO, L. M.; BERTONI, B. W.; FRANÇA, S.C.; PEREIRA, A. M. S. Improved production of quinone-methide triterpenoids by *Cheiloclinium cognatum* root cultures: possibilities for a non-destructive biotechnological process. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 128, n. 3, p. 705 - 714, 2017.

QUINTANA, K. C.; LERMA, J. M.; ECHEVERRI, C. G. Toxicity of foliage extracts of *Tithonia diversifolia* (Asteraceae) on *Atta cephalotes* (Hymenoptera: Myrmicinae) workers. **Industrial crops and products**, n. 44, p. 391 - 395, 2013.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R**: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2017. Disponível em: <<http://www.Rproject.org>>.

RATTAN, R. S. Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. **Crop protection**, v. 29, n. 9, p. 913 - 920, 2010.

TORRES, A. D. F.; LASMAR, O.; CARVALHO, G. A.; SANTA-CECÍLIA, L. V. C.; ZANETTI, R.; OLIVEIRA, D. D. Extratos de plantas no controle de formiga cortadeira, em cafeeiro. **Coffee Science**, v. 8, n. 3, p. 371 - 378, 2013.

6. CAPÍTULO 4

6.1 EXTRATOS DE ESPÉCIES FLORESTAIS NATIVAS DA AMAZÔNIA MERIDIONAL NO CONTROLE DE *Aphis craccivora* KOCH (HEMIPTERA: APHIDIDAE)

Resumo – (Extratos de espécies florestais nativas da Amazônia Meridional no controle de *Aphis craccivora* Koch (Hemiptera: Aphididae). O presente trabalho teve como objetivo avaliar a mortalidade de *Aphis craccivora* Koch (Hemiptera: Aphididae) submetidos a três extratos com diferentes concentrações de folhas das espécies florestais nativas *Tetragastris altissima* (Aubl.) Swart (Burseraceae), *Metrodorea flavida* K. Krause (Rutaceae) e *Cheilochlinium cognatum* (Miers) A. C. Sm (Celastraceae) em condições de laboratório. Adultos de *Aphis craccivora* foram coletados em *Gliricidia sepium* (Jacq.) Kunthe Walp. (Fabaceae), separados em grupos de dez indivíduos, transferidos para placas de petri e expostos a aplicação tópica de extratos aquoso, alcoólico e de infusão de folhas de *Cheilochlinium cognatum*, *Metrodorea flavida* e *Tetragastris altissima*. Os extratos foram aplicados nas concentrações 3, 6, 9, 12 e 15% adicionado 1% de dimetilsulfóxido (DMSO), um tratamento testemunha (água desilada+DMSO1%) e o tratamento controle (fipronil). As avaliações foram realizadas em 24, 48 e 72 horas após a aplicação dos extratos, através da contagem de insetos mortos. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com cinco repetições, com três tipos de extratos e cinco concentrações com mais um tratamento testemunha e um controle. Em todas as espécies estudadas os extratos aquoso e de infusão apresentaram menor mortalidade (inferior a 52%) enquanto que, o extrato alcoólico em maiores concentrações das espécies *Cheilochlinium cognatum*, *Metrodorea flavida* apresentaram mortalidade de até 100%. A espécie *Tetragastris altissima* chegou mortalidade média de 92%. A concentração letal para extrato alcoólico da espécie *Cheilochlinium cognatum* é de CL₅₀ 6,43% e CL₉₀ 12,22%, *Metrodorea flavida* CL₅₀ de 3,08% e CL₉₀ de 7,05% e *Tetragastris altissima* CL₅₀ de 5,58% e CL₉₀ de 17,47%, após 72 horas. Indica-se o uso do extrato alcoólico da espécie *Metrodorea flavida* na concentração de 9% no controle de *Aphis craccivora*.

Palavras chave: Pulgão, inseticida botânicos, extratos vegetais.

Abstract - (Extracts of forest species native to southern Amazonia in the control of *Aphis craccivora* Koch (Hemiptera: Aphididae). The objective of this study was to evaluate the mortality of *Aphis craccivora* Koch (Hemiptera: Aphididae) submitted to three extracts with different concentrations of leaves of the native forest species *Tetragastris altissima* (Aubl.) Swart (Burseraceae), *Metrodorea flavida* K. Krause (Rutaceae) and *Cheilochlinium cognatum* (Miers) AC Sm (Celastraceae) under laboratory conditions. Adults of *Aphis craccivora* were collected in *Gliricidia sepium* (Jacq.) Kunthe Walp. (Fabaceae), separated into groups of ten individuals, transferred to petri dishes and exposed to topical application of aqueous, alcoholic and leaf infusion extracts of *Cheilochlinium cognatum*, *Metrodorea flavida* and *Tetragastris altissima*. The extracts were applied at concentrations 3, 6, 9, 12 and 15% added 1% dimethylsulfoxide (DMSO), a control treatment (desilated water + DMSO1%) and control treatment (fipronil). The evaluations were performed at 24, 48 and 72 hours after the application of the extracts, through the count of dead insects. The experimental design was completely randomized, with five replicates, with three types of extracts and five concentrations with one control and one control treatment. In all the studied species, the aqueous and infusion extracts

presented lower mortality (less than 52%), whereas the alcoholic extract in higher concentrations of *Cheilochinium cognatum*, *Metrodorea flavida* showed mortality up to 100%. The *Tetragastris altissima* species reached an average mortality of 92%. The lethal concentration for the alcoholic extract of *Cheilochinium cognatum* is LC₅₀ 6.43% and CL₉₀ 12.22%, *Metrodorea flavida* LC₅₀ of 3.08% and CL₉₀ of 7.05% and *Tetragastris altissima* LC₅₀ of 5.58% and LC₉₀ of 17.47%, after 72 hours. The use of the alcoholic extract of the species *Metrodorea flavida* in the concentration of 9% in the control of *Aphis craccivora* is indicated.

Key words: Aphid, insecticide botanic, plant extracts.

Introdução

Aphis craccivora Koch (Hemiptera: Aphididae) conhecido popularmente como pulgão preto ou pulgão-do-feijoeiro, se destaca por causar danos a diferentes espécies de plantas, sendo considerada uma importante praga, principalmente porque durante a alimentação injeta toxinas e pode ser transmissora de viroses.

Os pulgões vivem em colônias, sob as folhas, brotos novos e flores (FAZOLIN et al., 2016), e podem causar o encarquilhamento das folhas e a deformação dos brotos devido à sua alta capacidade de sugar seiva (GALLO et al., 2002). Essa alta capacidade de alimentação se dá devido a apresentarem um arranjo diferenciado na região do tubo digestivo, conhecida como câmara-filtro permitindo a sucção contínua de seiva, sendo eliminado o excesso de líquido sugado, uma substância açucarada denominada *honeydew* (CAMARGO et al., 2011). Essa substância possibilita o estabelecimento de um fungo denominado, vulgarmente, como fumagina, caracterizada pelo escurecimento dos tecidos atacados (LAAMARI et al., 2008) prejudicando os mecanismos de fotossíntese e respiração, devido à cobertura de parte ou toda a superfície foliar.

Aphis craccivora é uma das mais comuns espécies de afídeos e considerada importante praga nos trópicos (LATINOVIC; KARAMAOUNA; KAVALLIERATOS, 2017). Alimenta-se de várias famílias de plantas, tendo preferência por espécies da família Fabaceae, sendo considerado um dos mais importantes causadoras de danos no feijão-de-corda (*Vigna unguiculata* (L.) Walp), uma das principais culturas cultivadas especialmente na agricultura familiar (BANDEIRA et al., 2015; MELVILLE et al., 2016; RODRIGUES et al., 2012). Essa espécie já foi registrada em ervas daninhas (*Solanum americanum* Mill. e *Amaranthus hybridus* L.) (STURZA et al., 2011), em orquídeas (*Catasetum* sp.) (LEITE; GARLET; KARSBURG, 2017) e em alfafa (*Medicago sativa* L.) (CUNHA et al., 2016).

O pulgão-preto é normalmente controlado com inseticidas químicos comercialmente disponíveis com amplo espectro de ação como piretróides e neonicotinóides (AGROFIT, 2018). Porém, o uso inadequado pode ocasionar

efeitos negativos ao ambiente, como, por exemplo, a mortalidade dos organismos benéficos, além do que o uso frequente de inseticidas com o mesmo mecanismo de ação aumenta a pressão de seleção na população, selecionando indivíduos resistentes ao inseticida utilizado ou a outros com o mesmo princípio ativo. Apresenta também alta toxicidade ao homem, animais domésticos e à fauna. Há, portanto, a necessidade de desenvolvimento de métodos alternativos de controle.

Desta forma, é crescente o interesse pelo desenvolvimento de alternativas de controle de pragas, seja através do uso de inimigos naturais ou de inseticidas de origem botânica (CARVALHO et al., 2008), pois os produtos à base de plantas apresentam uma diversidade de compostos ativos (NAVARRO-SILVA; MARQUES; DUQUE, 2009). Os extratos de plantas podem ter diferentes potenciais de atividade contra diferentes pragas (RIZVI et al., 2012), podendo interferir no desenvolvimento afetando negativamente a postura das fêmeas, bem como a taxa de crescimento populacional (CARVALHO et al., 2014), ações de repelência, deterrência à oviposição (SILVA et al., 2012) e deterrência alimentar (FONSECA et al., 2018), o que causa diversos efeitos sobre os insetos, ou até mesmo a mortalidade. As anonáceas, por exemplo, possuem acetogeninas, substâncias que atuam nas mitocôndrias, inibindo a NADH - ubiquinona oxidoreductase, causando a morte dos insetos (KRINSKI et al., 2014).

A Amazônia por conta de sua rica e diversa flora apresenta muitas espécies que são consideradas potenciais fontes de substâncias que podem ser utilizadas como extratos vegetais. Seus constituintes têm se mostrado potencialmente ativos como inseticidas botânicos, despertando o interesse de estudos com espécies nativas da Amazônia Meridional. Portanto, nesta pesquisa a escolha das espécies se deu a partir de testes preliminares que demonstraram a presença de metabólitos secundários com possível ação inseticida, além disso, são espécies que ocorrem com frequência na região.

O objetivo deste estudo foi avaliar a mortalidade de *Aphis craccivora* submetidos a três tipos de extratos com diferentes concentrações, obtidos de folhas das espécies florestais nativas: *Tetragastris altissima* (Aubl.) Swart (Burseraceae), *Metrodorea flavida* K. Krause (Rutaceae) e *Cheiloclinium*

cognatum (Miers) A.C.Sm (Celastraceae) em diferentes períodos de exposição, em condições de laboratório.

Materiais e Método

O experimento foi realizado nos laboratórios da Universidade do estado de Mato Grosso, Campus de Alta Floresta-MT. Foram avaliadas três espécies de plantas: *Cheilochlinium cognatum*, *Metrodorea flavida* e *Tetragastris altissima*, coletadas no mês de maio de 2017 no Município de Alta Floresta-MT (56°3'43,972"W, 9°57'1,312"S).

O preparo dos extratos vegetais foi realizado com a secagem do material em estufa de circulação forçada de ar a 65° C por 72h, posteriormente triturado em moinho de facas tipo Willey. Foram adicionadas 100g de folhas moídas em 500 mL de água destilada fria (extrato aquoso), álcool 92,8 (extrato alcoólico) e água destilada a 90°C (extrato por infusão), correspondendo à concentração de 20% (p/v). A partir dessa concentração foram realizadas as demais concentrações com diluição em água destilada. As soluções foram armazenadas em vidros embalados com papel alumínio para proteção da luz, permanecendo em repouso em temperatura ambiente por um período de 72 horas, posteriormente, filtradas e novamente armazenadas em recipientes fechados, mantidos sob refrigeração e ao abrigo da luz, até serem utilizadas.

O bioensaio foi realizado com pulgões adultos coletados de infestação natural na espécie florestal *Gliricidia sepium* (Jacq.) Kunthe x Walp. (Fabaceae), cujo ataque se dava principalmente nos brotos novos e flores dessa espécie. Foi realizada a coleta de folhas e flores infestadas e em seguida separados os indivíduos com tamanho de aproximadamente dois milímetros, correspondendo à fase adulta. Estes foram transferidos em grupos de 10, para cada placa de Petri, constituindo-se uma repetição. As placas foram forradas com papel filtro umedecido para preservar a turgidez do alimento. Como alimento utilizou-se folhas provenientes da espécie *Gliricidia sepium* a qual foi realizada a coleta dos pulgões, em seu pecíolo foi adicionado um chumaço de algodão embebido em água destilada para evitar o ressecamento da folha durante o período de avaliação do experimento, e umedecido novamente quando necessário.

Com a utilização de um pincel de ponta fina foram colocados os pulgões adultos na placa de Petri sobre a folha e, em seguida, a aplicação

tópica foi realizada com o auxílio de um borrifador manual, sendo aplicado 0,2 mililitros de extrato sobre os pulgões nas concentrações de 3%, 6%, 9%, 12% e 15%, sendo em cada concentração adicionado dimetilsulfóxido (DMSO) na concentração de 1% para a solubilização dos extratos. Foram utilizados ainda, o tratamento testemunha (água destilada+DMSO a 1%) e o controle (inseticida químico (fipronil, i.a.: 2,5% p/v). Em seguida, as placas de Petri contendo os pulgões foram vedadas com plástico filme de PVC e acondicionadas em câmara Biochemical Oxygen Demand (B. O. D), com temperatura de 25 °C e fotoperíodo de 12 horas.

O experimento foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado, com cinco repetições, e cada unidade experimental foi constituída por dez pulgões, totalizando 50 pulgões por tratamento. Cada tratamento constituía-se de uma concentração, totalizando 17 tratamentos e 850 pulgões. As avaliações foram realizadas diariamente até o 3º dia (24, 48 e 72 horas) após a aplicação dos extratos.

Os dados de mortalidade foram transformados e ajustados por meio da fórmula $\sqrt{x+1}$ para atender ao parâmetro da normalidade, submetidos à análise de variância (ANOVA) em fatorial 3x7 (três formas de obtenção e cinco concentrações com mais um tratamento testemunha (água destilada+DMSO) e um controle (inseticida químico), e as médias comparadas pelo teste de Scott Knott ($p < 0,05$), utilizando o pacote ExpDes.pt (FERREIRA; CAVALCANTI; NOGUEIRA, 2013) do software R versão 3.4 (R DEVELOPMENT CORE EQUIPE, 2017).

As concentrações letais (CLs) foram obtidas pela análise de Probit utilizando o pacote Ecotoxicology (GAMA, 2015) do software R, com correção de mortalidade realizada pela fórmula de Abbott (1925) (EQUAÇÃO 1) e comparadas com base nos respectivos intervalos de confiança ao nível de 95% de probabilidade (FINNEY, 1971; CARVALHO et al., 2017). A CL₅₀ e CL₉₀ foram calculadas somente para extratos que obtiveram mortalidade igual ou superior a 90% e variação de mortalidade entre as concentrações testadas. Foram calculadas as concentrações letais somente para o período em que

todos os extratos das espécies florestais avaliadas apresentassem taxas de mortalidade de 90%, a fim de realizar a comparação das espécies.

$$M_{\text{Corr}} = \frac{MT - MC}{100 - MC} * 100$$

Eq. 1

Onde: M_{Corr}=mortalidade corrigida(%); MT=mortalidade do tratamento(%) e MC=mortalidade do controle(%).

Resultados

Houve interação entre as formas de obtenção dos extratos (aquoso, alcoólico e infusão) das espécies *Cheilochlinium cognatum*, *Metrodorea flavida* e *Tetragastris altissima* e suas concentrações, sobre a mortalidade de *Aphis craccivora*.

A mortalidade média acumulada de *Aphis craccivora* após 24, 48 e 72 horas de exposição aos extratos aquoso, alcoólico e infusão de folhas de *Cheilochlinium cognatum* é apresentada na Tabela 1.

Tabela 1. Mortalidade média acumulada (%) de *Aphis craccivora* após 24, 48 e 72 horas da aplicação de extratos aquoso, alcoólico e infusão de folhas de *Cheilochlinium cognatum* em diferentes concentrações.

Conc ¹ (%)	24 Horas*			48 Horas*			72 Horas*		
	Aqu ¹	Alc ¹	Inf ¹	Aqu ¹	Alc ¹	Inf ¹	Aqu ¹	Alc ¹	Inf ¹
Test ¹	0B	0C	0C	0C	0D	0C	4C	4D	4D
3	10Ba	2Cb	0Cb	16Ba	12Ca	8Ba	26Ba	20Ca	14Ca
6	6Ba	6Ca	8Ba	12Ba	10Ca	14Ba	18Ba	28Ca	16Ca
9	4Bb	24Ba	10Bb	6Cb	30Ba	18Ba	20Bb	64Ba	30Bb
12	4Bb	96Aa	2Cb	12Bb	100Aa	18Bb	24Bb	100Aa	28Bb
15	8Bb	100Aa	4Cb	10Bb	100Aa	10Bb	24Bb	100Aa	18Bb
Controle	100A								
CV (%)	30,72			29,43			24,45		

¹Concentração (Conc), Testemunha (Test.), Extrato Aquoso (Aqu), Alcoólico (Alc) e Infusão (Inf).

*Para as análises estatísticas os dados foram transformados em $\sqrt{x+1}$, Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha para cada período de avaliação, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott Knott ($p < 0.05$).

Comparando-se as concentrações dentro de cada período de exposição aos extratos de *Cheilochlinium cognatum* (Tabela 1), verifica-se que no período de 24 horas o extrato aquoso não apresentou diferença em relação a testemunha causando mortalidade média de até 10%. Após 48 e 72 horas verifica-se diferença em relação à testemunha em todas as concentrações avaliadas exceto na concentração de 9%. No período de 48 horas obteve-se mortalidades de até 16%, e após 72 horas, mortalidade atingindo 24%. Em todos os períodos avaliados a mortalidade média do extrato aquoso foi diferente do controle.

Para o extrato alcoólico ocorreu diferença em relação à testemunha em todos os períodos avaliados, sendo que, no período de 24 horas a mortalidade foi maior nas concentrações a partir de 9%, variando de 24 a 100%. Já no período de 48 e 72 horas não houve diferença de mortalidade entre as concentrações, com mortalidade média variando de 10 a 100% após 48 horas e de 20 a 100% após 72 horas. Em todos os períodos avaliados a mortalidade média acumulada nas concentrações de 12 e 15% do extrato alcoólico foi semelhante ao controle (TABELA 1).

No extrato de infusão ocorreu diferença em relação à testemunha em todos os períodos avaliados, após 24 horas nas concentrações de 6 e 9% (8 e 10% de mortalidade) e nos demais períodos em todas as concentrações. Nota-se que no período de 48 horas, não houve diferença significativa entre as concentrações, com mortalidade média de até 18%, mas, após 72 horas causaram maiores mortalidades de 18 a 30% nas concentrações a partir de 9%. Em todos os períodos avaliados a mortalidade média do extrato de infusão foi diferente do controle (TABELA 1).

Quanto a forma de obtenção dos extratos de *Cheiloclinium cognatum*, as concentrações de 3 e 6% não apresentaram diferença de mortalidade nos períodos avaliados, exceto na concentração de 3% no período de 24 horas que o extrato aquoso apresentou maior mortalidade. Em todos os períodos avaliados nas concentrações de 9, 12 e 15% o extrato alcoólico apresentou maior mortalidade média, apenas não diferiu do extrato de infusão na concentração de 9% após 48 horas. Já os extratos aquoso e de infusão não apresentaram diferença entre si (TABELA 1).

A concentração letal mediana (CL_{50}), calculada a partir das médias de mortalidade corrigida dos pulgões do extrato alcoólico de folhas de *Cheiloclinium cognatum* após 72 horas da aplicação, foi 6,43% e CL_{90} de 12,22% com intervalo de confiança de 95% (FIGURA 1).

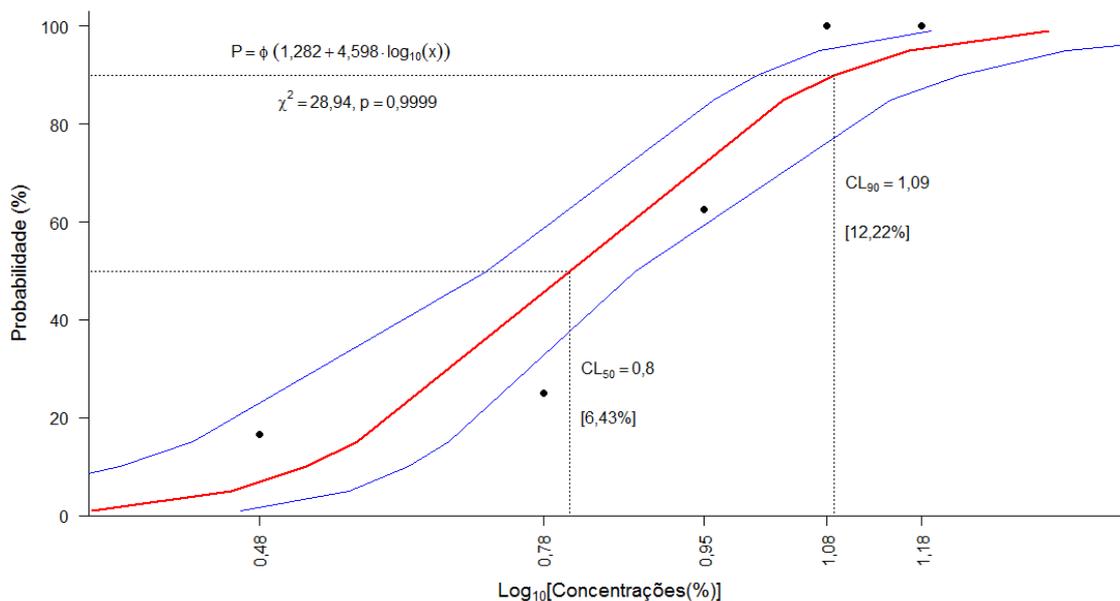


Figura 1. Concentração Letal (CL₅₀ e CL₉₀) do extrato alcoólico de folhas de *Cheilochlinium cognatum*, após correção da mortalidade pela fórmula de Abbott. As concentrações foram transformadas por $\log_{10} x$.

A mortalidade média acumulada das concentrações 3, 6, 9, 12 e 15% após 24, 48 e 72 horas de exposição aos extratos de *Metrodorea flavida* sobre *Aphis craccivora* é apresentada na Tabela 2.

Tabela 2. Mortalidade média acumulada (%) de *Aphis craccivora* após 24, 48 e 72 horas da aplicação de extratos aquoso, alcoólico e infusão de folhas de *Metrodorea flavida* em diferentes concentrações.

Conc ¹ (%)	24 Horas*			48 Horas*			72 Horas		
	Aqu ¹	Alc ¹	Inf ¹	Aqu ¹	Alc ¹	Inf ¹	Aqu ¹	Alc ¹	Inf ¹
Test. ¹	2B	2C	2C	6B	6B	6B	14C	14C	14B
3	2Ba	4Ca	2Ca	12Ba	10Ba	8Ba	52Ba	58Ba	32Bb
6	4Bb	62Ba	2Cb	12Bb	64Aa	6Bb	38Bb	82Aa	28Bb
9	2Bb	94Aa	2Cb	12Bb	96Aa	10Bb	44Bb	98Aa	26Bb
12	0Bb	90Aa	4Cb	6Bb	90Aa	12Bb	26Cb	98Aa	26Bb
15	4Bc	100Aa	12Bb	10Bb	100Aa	18Bb	52Bb	100Aa	42Bb
Controle	78A	78B	78A	100A	100A	100A	100A	100A	100A
CV (%)	25,35			26,94			26,9		

¹Concentração (Conc), Testemunha (Test.), Extrato Aquoso (Aqu), Alcoólico (Alc), Infusão (Inf).

*Para as análises estatísticas os dados foram transformados em $\sqrt{x+1}$. Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha para cada período de avaliação, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott Knott ($p < 0.05$).

Analisando os extratos de *Metrodorea flavida* (Tabela 2), no período de 24 e 48 horas o extrato aquoso não apresentou diferença em relação à testemunha nem entre as concentrações, com mortalidade de até 4% após 24 horas e até 12% após 48 horas. No período de 72 horas as concentrações testadas atingiram 52% de mortalidade apresentando diferença em relação à testemunha, exceto na concentração de 12%.

Para o extrato alcoólico em todos os períodos avaliados as concentrações apresentaram diferença com a testemunha, exceto na concentração de 3% após 24 e 48 horas. No período de 24 horas as mortalidades diferiram-se entre as concentrações testadas, com 62% na concentração de 6%, semelhante ao controle que obteve 78%. Ainda no período de 24 horas, a partir da concentração de 9% as mortalidades variaram de 94% a 100% e foram superiores ao controle. Após 48 horas as concentrações a partir de 6% obtiveram mortalidades acima de 64% e foram semelhantes ao controle (100% de mortalidade). Já no período de 72 horas a mortalidade variou de 58 a 100%, sendo que, as concentrações a partir 6% (acima de 80% de mortalidade) não foram significativamente diferentes do controle (TABELA 2).

Nos períodos avaliados, o extrato de infusão não apresentou diferença entre as concentrações e nem em relação à testemunha, exceto na concentração de 15% no período de 24 horas em que obteve mortalidade de 12%. Após 48 horas, a mortalidade variou de 6 a 18%, atingindo mortalidades de 32% após 72 horas. Além disso, em todos os períodos avaliados nas diferentes concentrações testadas não houve semelhança ao controle.

Nas formas de obtenção dos extratos de *Metrodorea flavida* não houve diferença de mortalidade média na concentração de 3%, exceto após 72 horas em que os extratos aquoso e alcoólico apresentam maior mortalidade. O extrato alcoólico apresentou maior mortalidade média a partir da concentração de 6% em todos os períodos avaliados. Enquanto que, os extratos aquoso e de infusão apresentaram resultados semelhantes, diferindo-se apenas na concentração de 15% após 24 horas onde o extrato de infusão obteve maior mortalidade quando comparado com o extrato aquoso (TABELA 2).

A concentração letal mediana (CL₅₀), calculada a partir das médias de mortalidade corrigida dos pulgões do extrato alcoólico de folhas de *Metrodorea flavida* após 72 horas da aplicação, foi de 3,08% e CL₉₀ de 7,05% com intervalo de confiança de 95% (FIGURA 2).

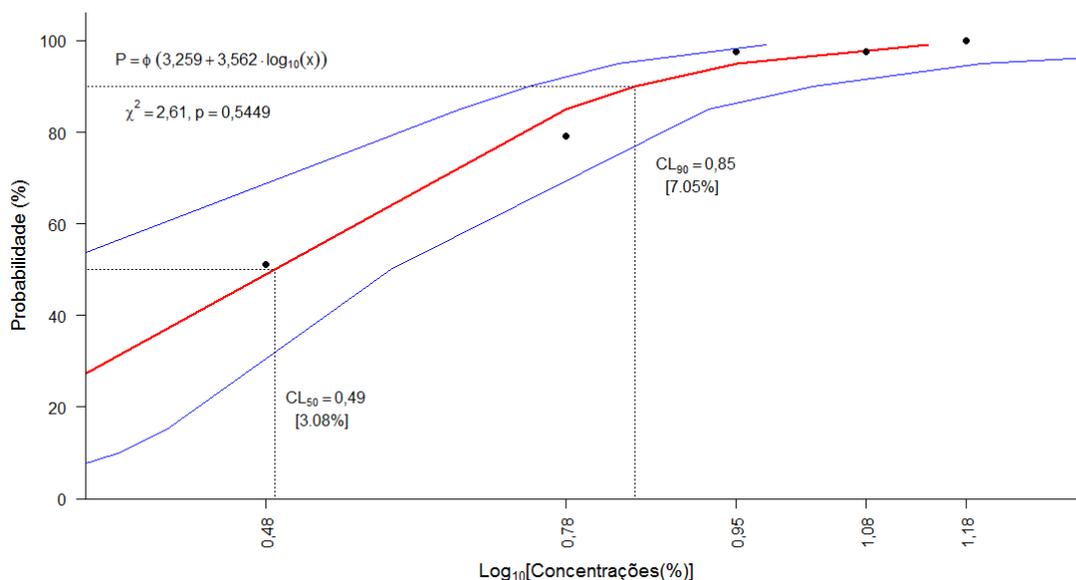


Figura 2. Concentração Letal (CL₅₀ e CL₉₀) do extrato alcoólico de folhas de *Metrodorea flavida*, após correção da mortalidade pela fórmula de Abbott. As concentrações foram transformadas por $\log_{10} x$.

Na Tabela 3 é apresentada a mortalidade média acumulada de *Aphis craccivora* após 24, 48 e 72 horas da aplicação de extratos aquoso, alcoólico e infusão de folhas de *Tetragastris altissima* nas diferentes concentrações.

Tabela 3. Mortalidade média acumulada (%) de *Aphis craccivora* após 24, 48 e 72 horas da aplicação de extratos aquoso, alcoólico e infusão de folhas de *Tetragastris altissima* em diferentes concentrações.

Conc ¹ (%)	24 Horas*			48 Horas*			72 Horas		
	Aqu ¹	Alc ¹	Inf ¹	Aqu ¹	Alc ¹	Inf ¹	Aqu ¹	Alc ¹	Inf ¹
Test. ¹	2B	2D	2B	4B	4D	4B	10C	10C	10C
3	4Ba	4Da	6Ba	18Ba	12Ca	24Ba	40Ba	42Ba	38Ba
6	10Ba	0Db	2Bb	18Ba	6Da	14Ba	38Ba	44Ba	34Ba
9	6Ba	12Ca	0Bb	12Ba	20Ca	10Ba	38Bb	82Aa	32Bb
12	8Bb	36Ba	4Bb	18Bb	44Ba	6Bb	48Bb	92Aa	28Bc
15	2Bb	38Ba	2Bb	10Bb	40Ba	12Bb	32Bb	84Aa	44Bb
Controle	74A	74A	74A	100A	100A	100A	100A	100A	100A
CV (%)	39,6			35,75			27,25		

¹Concentração (Conc), Testemunha (Test.), Extrato Aquoso(Aqu), Alcoólico (Alc), Infusão (Inf).

*Para as análises estatísticas os dados foram transformados em $\sqrt{x+1}$; Médias seguidas da mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha para cada período de avaliação, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Scott Knott (p<0.05).

Na análise dos extratos de *Tetragastris altissima* (Tabela 3), no período de 24 horas o extrato aquoso apresentou mortalidade de até 10% e no período de 48 horas até 18%, nos dois períodos avaliados não ocorreram diferenças entre as concentrações. Nota-se que somente a partir de 72 horas o extrato aquoso apresentou diferença significativa de mortalidade em relação à testemunha variando de 32 a 48%. A mortalidade média do extrato aquoso não foi semelhante ao controle em nenhum dos períodos avaliados.

O extrato alcoólico em todos os períodos apresentou diferença em relação à testemunha, sendo no período de 24 horas a partir das concentrações de 9% com mortalidades acima de 12% e após 48 horas nas concentrações de 3, 9, 12 e 15% com mortalidades de 12 a 44%. Em ambos os períodos não ocorreu semelhança ao controle. Houve um aumento significativo da mortalidade na avaliação de 72 horas, proporcionando mortalidade de 42% a 92%, sendo que, nas concentrações a partir de 9% a mortalidade média foi semelhante ao controle (TABELA 3).

No extrato de infusão na avaliação de 24 e 48 horas não ocorreu diferença em relação à testemunha e nem entre as concentrações, com mortalidade de até 6% no primeiro período e até 24% no segundo período de avaliação. Porém, após 72 horas a mortalidade média nas diferentes concentrações se diferenciou da testemunha variando de 28 a 44%, não

havendo diferença entre as concentrações. Em todos os períodos a mortalidade média do extrato de infusão não foi semelhante ao controle (TABELA 3).

Quanto às formas de obtenção dos extratos, não ocorreu diferença de mortalidade média na concentração de 3% em todos os períodos avaliados. Também não houve diferença de mortalidade na concentração de 6% exceto no período de 24 horas em que o extrato aquoso apresentou maior mortalidade. Para a concentração de 9% no período de 24 horas o extrato alcoólico obteve maior mortalidade não diferindo do extrato aquoso, assim como no período de 72 horas em que o extrato alcoólico obteve maior mortalidade. Verificou-se ainda que, nas concentrações de 12 e 15% o extrato alcoólico também causou maior mortalidade em todos os períodos avaliados, e os extratos aquoso e de infusão não apresentaram diferença entre si com exceção da concentração de 12% no período de 72 horas em que o extrato aquoso apresentou maior mortalidade (TABELA 3).

A concentração letal mediana (CL_{50}), calculada a partir das médias de mortalidade corrigida dos pulgões do extrato alcoólico de folhas de *Tetragastris altissima* após 72 horas, foi 5,58% e CL_{90} de 17,47% com intervalo de confiança de 95% (FIGURA 3).

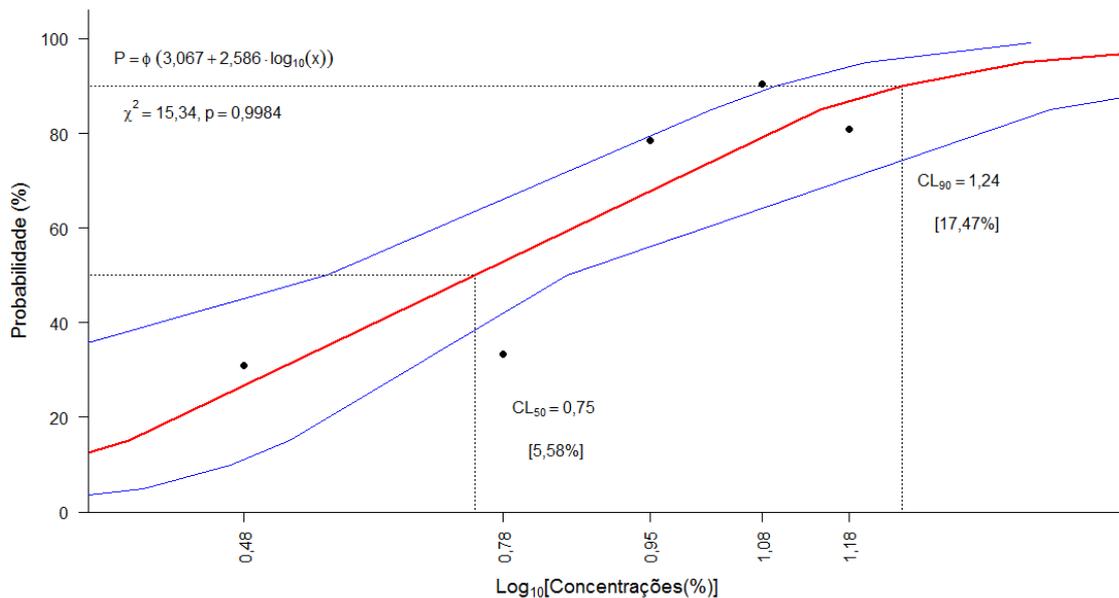


Figura 3. Concentração Letal (CL₅₀ e CL₉₀) do extrato alcoólico de folhas de *Tetragastris altissima*, após correção da mortalidade pela fórmula de Abbott. As concentrações foram transformadas por $\log_{10} x$.

Verifica-se na Tabela 4 os resultados da concentração-resposta do extrato alcoólico para *Cheiloclinium cognatum*, *Metrodorea flavida* e *Tetragastris altissima* sobre *Aphis craccivora*.

Tabela 4. Concentração Letal de extrato alcoólico de folhas de *Cheiloclinium cognatum*, *Metreodora flavida*, *Tetragastris altissima* em *Aphis craccivora*, no período de 72 horas.

Esp. ¹	N	Inclinação (±EP)	CL ₅₀ (IC ₉₅) % (*)	CL ₉₀ (IC ₉₅) % (*)	X ²	GL	p-valor
Cc	250	4,598±1,511	6,43 (5,25; 7,54) b	12,22 (10,14; 16,61) ab	28,947	3	0,9999
Mf	250	3,562 ±0,476	3,08 (1,80; 4,02) a	7,05 (5,53; 10,64) a	2,614	3	0,5449
Ta	250	2.586±0,824	5,58 (3,77; 7,15) ab	17,47 (12,45; 37,65) b	15,341	3	0,9984

¹Espécie (Esp.); *Cheiloclinium cognatum* (Cc), *Metreodora flavida* (Mf), *Tetragastris altissima* (Ta); N: Número de insetos utilizados; IC: Intervalo de confiança; X²: Chi-quadrado; (*): Diferença significativa com base nos intervalos de confiança a 95% de probabilidade.

A concentração letal mediana (CL₅₀) do extrato alcoólico de *Cheilochlinium cognatum* foi de 6,43%, da *Metreodora flavida* foi de 3,08%, e *Tetragastris altissima* de 5,58% (TABELA 4).

Os coeficientes angulares foram diferentes, sendo o coeficiente da espécie *Cheilochlinium cognatum* (4,598) maior do que as demais espécies, seguida da *Metreodora flavida* (3,562) e *Tetragastris altissima* (2,586) (TABELA 4), demonstrando que pequenas alterações nas concentrações para *Cheilochlinium cognatum* resultam em uma resposta mais rápida da mortalidade dos pulgões. Porém, a espécie *Metreodora flavida* apresentou valores de CL₅₀ e CL₉₀ menores, o que implica que esta espécie apresenta maior mortalidade de *Aphis craccivora* com menor concentração do que as demais espécies estudadas. A CL₅₀ da espécie *Tetragastris altissima* foi semelhante às demais com base no intervalo de confiança ao nível de 95% de probabilidade. Para a CL₉₀ observou-se uma inversão, em que, a espécie *Cheilochlinium cognatum* passa a apresentar resultados semelhantes às demais espécies. Esses resultados podem ser observados na Figura 4.

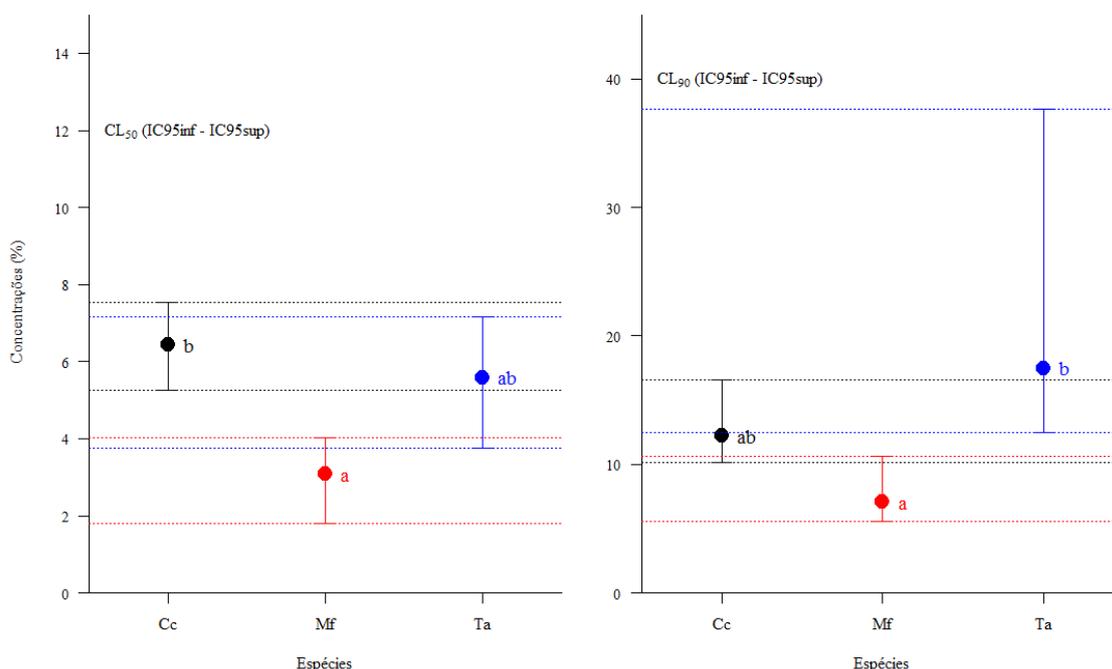


Figura 4. Comparação das concentrações letais (CL₅₀ e CL₉₀) do extrato alcoólico de *Cheilochlinium cognatum* (Cc), *Metreodora flavida* (Mf), *Tetragastris altissima* (Ta). Média [IC₉₅ inferior e IC₉₅ superior] acompanhadas de mesma

letra não diferem entre si com base na sobreposição dos intervalos de confiança.

Na Figura 5 é possível verificar que a inclinação da curva de *Cheilocladium cognatum* é maior do que a da *Metreodora flavida*, além disso, também demonstra quando ocorre a sobreposição das curvas das espécies *Cheilocladium cognatum* e *Tetragastris altissima* e a inversão da CL₉₀.

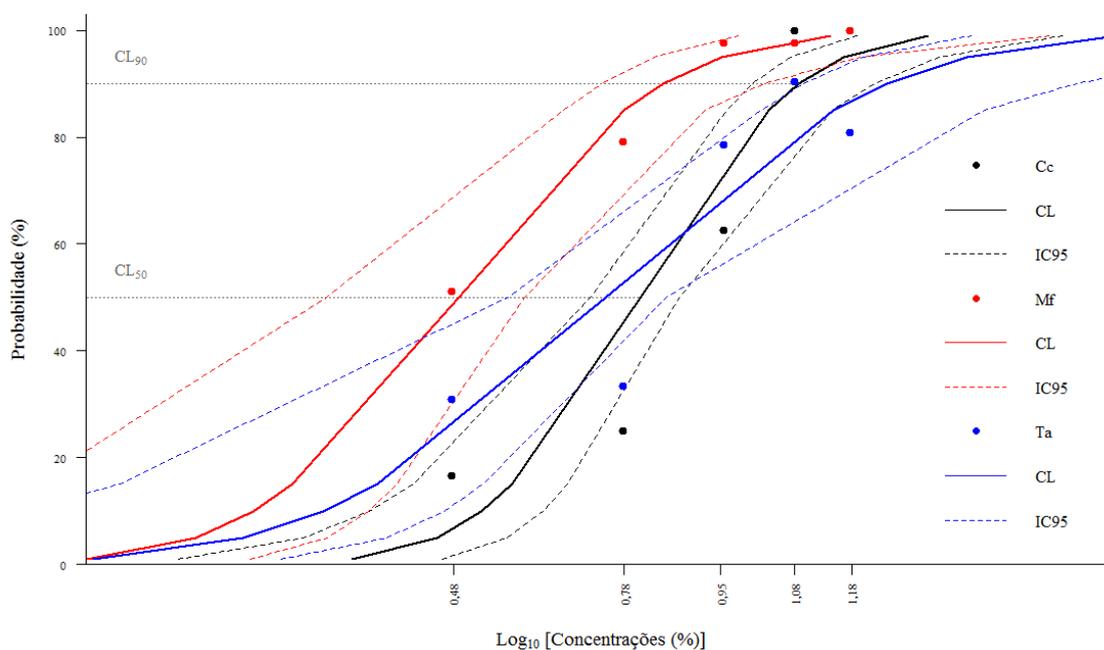


Figura 5. Curvas de concentração-mortalidade do extrato alcoólico de folhas de *Cheilocladium cognatum* (Cc), *Metreodora flavida* (Mf), *Tetragastris altissima* (Ta) em *Aphis craccivora*, após correção da mortalidade pela fórmula de Abbott.

Discussão

De modo geral, a mortalidade de *Aphis craccivora* após a aplicação tópica de extratos aquoso, alcoólico e de infusão das espécies *Cheilochinium cognatum*, *Metrodorea flavida* e *Tetragastris altissima* foi crescente com o aumento do período de avaliação. Sendo que, em todas as espécies estudadas os extratos aquoso e de infusão apresentaram menor mortalidade (inferior a 52%) enquanto que, os extratos alcoólicos em maiores concentrações das espécies *Cheilochinium cognatum* e *Metrodorea flavida* apresentaram mortalidade de até 100% e para a espécie *Tetragastris altissima* chegou a mortalidade média de 92%.

Essa maior mortalidade observada no extrato alcoólico em todas as espécies avaliadas pode ser atribuída devido esta forma de obtenção utilizar solvente diferente dos demais. O álcool pode ter contribuído com a extração de metabólitos que não são obtidos com o solvente água ou são extraídos em maiores quantidades. A natureza química desses compostos varia do simples ao altamente polarizado, havendo grande variedade de compostos bioativos nos vegetais e diferentes quantidades presentes, além da possibilidade de interação dos compostos com carboidratos, proteínas e outros componentes. Alguns desses complexos, assim como alguns fenólicos com alto peso molecular, são altamente insolúveis em água (ANDREO; JORGE, 2006).

O tipo de solvente e a concentração são fatores relevantes que podem influenciar na extração dos metabólitos, (ANDREO; JORGE, 2006). Silva et al. (2017a) realizaram testes fitoquímicos para verificar a presença de metabólitos em extratos aquoso (solvente: água destilada), alcoólico (solvente: etanol absoluto) e hidroalcoólico (solvente: água e etanol absoluto (1:1)) e verificaram que houve diferença. No extrato aquoso houve a presença de saponina e nos extratos alcoólico e hidroalcoólico foi ausente. Também verificaram que para taninos hidrossolúveis o resultado foi positivo no extrato aquoso e alcoólico, já para o extrato hidroalcoólico o resultado foi negativo, e que ocorreu a presença de alcaloides e flavonoides em todos os extratos.

A explicação para as propriedades inseticidas de cada espécie pode estar relacionada à própria composição dos extratos. Como visto no capítulo 1,

Cheilocladium cognatum possui a presença de alcaloides, flavonoides, saponinas e taninos. As espécies *Metrodorea flavida* e *Tetragastris altissima* apresentaram resultados positivos para saponinas e taninos. Esses metabólitos já foram mencionados em pesquisas com pulgão causando mortalidade significativa. Como por exemplo, no estudo realizado por Rocha et al. (2017) em que verificaram a presença de flavonoides e taninos no extrato alcoólico de própolis causando mortalidade sobre *Myzus persicae* (Sulzer) de 92,2% em concentração de 40% após 24 horas. Além disso, em outros estudos com extratos de sementes de *Annona muricata* L. (graviola) e *Annona squamosa* L. (pinha) apresentam efeito em *Aphis gossypii* Glover (SANTOS et al., 2018). Essas espécies pertencem à família Anonaceae, que é muito conhecida pelo seu potencial inseticida apresentando uma variedade de metabólitos secundários, dentre eles os alcaloides e flavonoides (SILVA et al., 2009).

Neste estudo, para o extrato aquoso e de infusão as espécies avaliadas apresentaram mortalidade de até 52% em concentrações de até 15%. Ghanim e Ghani (2014), estudando extrato aquoso de plantas sobre *Aphis gossypii* Glover em laboratório, verificaram que na concentração de 6% após 72 horas da aplicação o extrato aquoso de folhas *Pelargonium zonale* causou mortalidade de 96% e da *Melia azedarach* mortalidade de 88,1 o extrato de frutos da *Melia azedarach* obteve 91,8%. As espécies avaliadas pelos autores obtiveram maior mortalidade, demonstrando que nas condições avaliadas deste estudo os extratos aquoso e de infusão não foram eficientes para ninfas de pulgão.

Diferente das demais formas de obtenção, o extrato alcoólico apresentou mortalidade de 100% dos pulgões após 24 horas para as espécies *Cheilocladium cognatum* e *Metrodorea flavida*, já para *Tetragastris altissima* mortalidade de até 92% após 72 horas. Rabelo e Bleicher (2014) em experimento realizado em casa de vegetação também estudaram extratos alcoólicos, só que de sementes de atemoia (*Annona cherimolamill x Annona squamosa* L.) e ata (*Annona squamosa*) (Anonaceae) a 0,5% e verificaram eficiência de 98,18 e 99,27%, respectivamente, após 48 horas da aplicação, atribuindo tal efeito por possuírem substância ativa que controla o pulgão-preto. Assim como para Rabelo e Bleicher (2014), o extrato alcoólico de folhas das

espécies estudadas também apresentam maior mortalidade, porém em concentrações superiores e parte vegetal diferente.

As concentrações letais calculadas para as espécies estudadas foram: $CL_{50}=6,43\%$ (*Cheilochlinium cognatum*), $CL_{50}=3,08\%$ (*Metrodorea flavida*), $CL_{50}=5,58\%$ (*Tetragastris altissima*). Estes resultados reforçam as evidências de que para a espécie *Metrodorea flavida* a menor concentração testada foi capaz de controlar pelo menos 50% da população de *Aphis craccivora*, enquanto que, as espécies *Cheilochlinium cognatum* e *Tetragastris altissima* necessitam de concentrações maiores no período de 72 horas. Estudo realizado por Bandeira et al. (2017), obtiveram CL_{50} de 7,69% após 48 horas da aplicação de extrato hidroetanólico de *Annona montana*, sobre *Aphis craccivora* em casa de vegetação. Verifica-se que as concentrações letais calculadas para extrato alcoólico das espécies estudadas após 72 horas em condições de laboratório foram menores quando comparada com estudo realizado por Bandeira et al. (2017).

As concentrações letais de *Cheilochlinium cognatum* foram de $CL_{50}=6,43\%$ (64,3 mg.ml), *Metrodorea flavida* $CL_{50}=3,08\%$ (30,8 mg.ml) e *Tetragastris altissima* $CL_{50}=5,58\%$ (55,8 mg.ml). Gonzaga et al. (2008) obtiveram concentração letal mediana (CL_{50}) do extrato aquoso de manipueira com 12,25 mg.ml e CL_{50} de extrato da erva-de-rato de 10,61 mg.ml sobre *Toxoptera citricida* Kirkaldy após 120 horas em casa de vegetação. Se compararmos com as espécies estudadas necessitam de maior concentração para causar mortalidade de 50% de *Aphis craccivora* em condições de laboratório quando calculada em período menor de avaliação (72 horas após aplicação). Talvez em período maior de avaliação, correspondente a 120 horas como realizado por Gonzaga et al. (2008) essa concentração poderia ser menor.

O potencial inseticida de *Metrodorea flavida* pode ser atribuído devido pertencer à família Rutaceae, comumente conhecida como a família dos citros. Plantas com flores altamente perfumadas, algumas são constituintes de óleos essenciais, como citronela e bergamota. Rutaceae é uma das famílias que são as principais fontes de terpenos com atividade inseticida, por exemplo, os limonóides (VIEGAS Jr, 2003), fenóis, flavonoides, taninos (LOIZZO et al.,

2018). Essa família apresenta espécies com propriedades inseticidas, por exemplo, o óleo essencial de folhas de *Murraya exotica* L. que é uma fonte promissora contra *Aedes aegypti* L., *Anopheles stephensi* Liston e *Culex quinquefasciatus* Say (KRISHNAMOORTHY et al., 2015), macerados de folhas de *Ruta graveolens* L. que apresentam efeitos sobre larvas de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (TAGLIARI; KNAAK; FIUZA et al., 2010), o óleo essencial de *Citrus aurantium* L. que apresenta toxicidade por fumigação, contra as larvas de *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (LAARIF et al., 2013) e entre outros trabalhos que descrevem a atividade anti-alimentar ou inseticida de extratos ou frações vegetais de plantas dessa família (TAGLIARI; KNAAK; FIUZA, 2010; BARAKAT 2011, BASKAR et al.2012, KRISHNAPPA; ELUMALAI 2012).

A espécie *Cheiloclinium cognatum* como já mencionado demonstrou que pequenas alterações nas concentrações resultam em uma resposta mais rápida da mortalidade dos pulgões. Essa espécie foi relatada com potencial, pois, quando é cultivada *in vitro*, são fontes importantes de matéria prima para obtenção de triterpenos pentacíclicos e quinonametídeos (PINA et al., 2017). Infere-se aqui que a presença dessas substâncias pode ter causado maior mortalidade quando houve o aumento da concentração do extrato. Numerosas espécies da família Celastraceae são conhecidas especialmente na China e América Latina por seu uso como inseticida na agricultura tradicional (SPIVEY; WESTON; WOODHEAD, 2002). Diversas espécies dessa família têm sido estudadas para fins farmacológicos, pois apresentam sesquiterpenos, alcaloides, flavonoides, e outros metabólitos secundários de importância (SILVA; DUARTE; VIEIRA FILHO, 2014), sendo considerada uma fonte de importantes metabólitos secundários bioativos.

A espécie *Tetragastris altissima* levou mais tempo para apresentar maior mortalidade comparada com as demais espécies, ou seja, apresentou baixa mortalidade no período inicial (24 horas). Estudo realizado com extrato de resina de *Protium* sp. (breu-branco), espécie pertencente à mesma família (Burseraceae), em concentrações de 10% sobre ninfas de *Brevicoryne brassicae* (L.), também proporcionou menor mortalidade de 15,9% em período de 24 horas (SILVA et al., 2017b). O que demonstra que essa espécie apresenta um efeito mais lento em pulgões. Porém, é uma espécie potencial,

pois estudos com resinas obtidas a partir de diferentes partes de espécies Burseraceae, como folhas, frutos e madeira, demonstram uma composição química principalmente terpênica, com grandes quantidades de monoterpenos, sesquiterpenos e triterpenos. Além disso, foram identificados outros metabólitos secundários, como, cumarinas, flavonoides e lignoides (RUDIGER et al., 2007; GADIR; AHMED, 2014).

Todas as formas de obtenção dos extratos apresentaram efeito sobre a mortalidade de adultos de *Aphis craccivora*. Porém, o extrato alcoólico apresentou maior mortalidade e considerando que os pulgões se reproduzem rapidamente busca-se o controle em menor período de tempo. Além disso, a ação imediata do produto também é um aspecto importante, diminuindo o risco de perda do produto pela ação da chuva. Sendo assim, o extrato alcoólico na concentração de 12% para a espécie *Cheiloclinium cognatum* causou mortalidade acima de 90%. A espécie *Metrodorea flavida* também apresentou mortalidade acima de 90% no período de 24 horas a partir da concentração de 9%. Já a espécie *Tetragastris altissima* levou mais tempo para apresentar mortalidades semelhantes ao controle, acima de 80% de mortalidade na concentração de 9% com resultados após 72 horas.

As espécies avaliadas neste trabalho são promissoras, podendo ser estudadas à nível de identificação das classes e de substâncias presentes, além de ser indicado estudos de outras partes das plantas com o objetivo de identificar, onde tais espécies apresentam maiores quantidades dos metabólitos e ainda o isolamento para identificar qual substância é responsável pelo efeito sobre os pulgões.

Conclusões

A mortalidade de *Aphis craccivora* é crescente com o aumento do período de exposição aos extratos de folhas das espécies *Cheilochlinium cognatum*, *Metrodorea flavida* e *Tetragastris altissima*.

A concentração letal para extrato alcoólico da espécie *Cheilochlinium cognatum* é de CL₅₀ 6,43% e CL₉₀ 12,22%, *Metrodorea flavida* CL₅₀ de 3,08% e CL₉₀ de 7,05% e *Tetragastris altissima* CL₅₀ de 5,58% e CL₉₀ de 17,47%, após 72 horas.

Indica-se o uso do extrato alcoólico da espécie *Metrodorea flavida* na concentração de 9% no controle de *Aphis craccivora*.

Referências Bibliográficas

ABBOTT, W. S. A method for computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 18, p. 265 - 267, 1925.

AGROFIT - Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. **Inseticidas registrados para controle de *Aphis craccivora***. Disponível em: < http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 28 de novembro 2018.

ANDREO, D.; JORGE, N. Antioxidantes naturais: técnicas de extração. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 24, n. 2, p. 319 - 336, 2006.

BANDEIRA, H. F. S.; LIMA, A. C. S.; STRUCKER, A.; TRASSATO, L. B.; DIONISIO, L. F. S. Preferência do pulgão-preto e da cigarrinha-verde em diferentes genótipos de feijão caupi em Roraima. **Revista Agro@ambiente**, v. 9, n. 1, p. 79 - 85, 2015.

BANDEIRA, H. F.; LIMA, A. C. S.; TRASSATO, L. B.; STRUCKER, A.; VIEIRA, A, J. Bioactivity of *Annona Montana* Macfad extracts on the black cowpea aphid (*Aphis craccivora* Koch). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 12, n. 1, p. 41 - 46, 2017.

BARAKAT, D. A. Insecticidal and antifeed ant activities and chemical composition of *Casimiroa edulis* La Llave & Lex (Rutaceae) leaf extract and its fractions against *Spodoptera littoralis* larvae. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 5, n. 9, p. 693 - 703, 2011.

BASKAR, K.; MUTHU, C.; RAJ, G. A.; KINGSLEY, S.; IGNACIMUTHU, S. Ovicidal activity of *Atalantia monophylla* (L) Correa against *Spodoptera litura* Fab. (Lepidoptera: Noctuidae). **Asian Pacific journal of tropical biomedicine**, v. 2, n. 12, p. 987 - 991, 2012.

CAMARGO, R. S.; FUJIHARA, R. T.; FORTI, L. C.; ALMEIDA, M. C. Morfologia interna. In: FUJIHARA, R. T.; FORTI, L. C.; ALMEIDA, M. D.; BALDIN, E. L. L. (Ed.). **Insetos de importância econômica: guia ilustrado para identificação de famílias**. Botucatu: Fepaf. p. 43 - 61, 2011.

CARVALHO, G. A.; SANTOS, N. M.; PEDROSO, E. C.; TORRES A. F. Eficiência do óleo de nim (*Azadirachta indica* A. Juss) no controle de *Brevicoryne brassicae* (Linnaeus, 1758) e *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) (Hemiptera: Aphididae) em couve-manteiga *Brassica oleracea* Linnaeus var. *Acephala*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 75, n. 2, p. 181 - 186, 2008.

CARVALHO, G. S.; SILVA, L. S.; SILVA, L. B.; ALMEIDA, M. L. S.; PAVAM, B. E.; PERES, M. T. L. P. Mortalidade e comprometimento do desenvolvimento de *Zabrotes subfasciatus* Boh. (Coleoptera: Chrysomelidae), induzido pelo extrato de sangra d'água *Croton urucurana* Baill (Euphorbiaceae). **Comunicata Scientiae**, v. 5, n. 3, p. 331 - 338, 2014.

CARVALHO, J. R.; PRATISSOLI, D.; VIANNA, U. R.; HOLTZ, A. M. **Análise de probit aplicada a bioensaios com insetos**. Colatina: IFES, 2017. 102 p.

CUNHA, S. B. Z.; SILVA, C. R. S.; DINIZ, F. H. G.; BERTI-FILHO, E. Predators of the Alfalfa *Aphis Acyrthosiphon pisum* (Harris), *Aphis craccivora* Koch, and *Therioaphis trifolii* (Monell) (Hemiptera: Aphidoidea) as determined by the Serological Technique. **Entomologists from Brazil**, v. 9, n. 2, p. 120 - 123, 2016.

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J. L. V. E.; ALÉCIO, M. R.; ALVES, S. B. Feijão. In: SILVA, N. M.; ADAIME, R.; ZUCCHI, R. A. (Ed.). **Pragas Agrícolas e Florestais na Amazônia**. Brasília, DF: Embrapa, p. 323 - 343, 2016.

FERREIRA, E. B.; CAVALCANTI, P. P.; NOGUEIRA, D. A. **ExpDes.pt: Experimental Designs package** (Portuguese). R package version 1.1.2, 2013.

FINNEY, D. J. **Probit Analysis**, 3. ed., London: Cambridge University Press, 1971. 333 p.

FONSECA, J., COUTO, I. F. S., DA SILVA, R. M., FIORATTI, C. A. G., PEREIRA, F. F., MAUAD, M.; SCALON, S. P. Q.; MUSSURY, R. M. Efeito de extratos metanólicos de *Stryphnodendron adstringens* (Mart) coville na alimentação e reprodução de *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae). **Interciencia**, v. 43, n. 3, p. 182 - 187, 2018.

GADIR, A.; AHMED, I. M. *Commiphora myrrha* and *Commiphora africana* essential oils. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 6, n. 7, p. 151 - 156, 2014.

GALLO, D.; NAKANO, O.; NETO, S. S.; CARVALHO, R.; PEREIRA, L.; BAPTISTA, G. C.; FILHO, E. B.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, C.. **Entomologia Agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002.

GAMA, J. **Ecotoxicology: methods for ecotoxicology**. R package version 1.0.1, 2015.

GHANIM, N. M.; GHANI, S. B. A. Controlling *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) and *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae) by aqueous plant extracts. **Life Science Journal**, v. 11, n. 3, p. 299 - 307, 2014.

GONZAGA, A. D.; GARCIA, M. V. B.; SOUSA, S. G. A. D.; PY-DANIEL, V.; CORREA, R. D. S.; RIBEIRO, J. Toxicity of cassava manípueira (*Manihot esculenta* Crantz) and erva-de-rato (*Palicourea marcgravii* St. Hill) to adults of *Toxoptera citricida* Kirkaldy (Homoptera: Aphididae). **Acta Amazônica**, v. 38, n. 1, p. 101 - 106, 2008.

KRINSKI, D.; MASSAROLI, A.; MACHADO, M. Potencial inseticida de plantas da família Annonaceae. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. 1, p. 225 - 242, 2014.

KRISHNAMOORTHY, S.; CHANDRASEKARAN, M.; RAJ, G. A.; JAYARAMAN, M.; VENKATESALU, V. Identification of chemical constituents and larvicidal activity of essential oil from *Murraya exotica* L. (Rutaceae) against *Aedes aegypti*, *Anopheles stephensi* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). **Parasitology Research**, v. 114, n. 5, p. 1839 - 1845, 2015.

KRISHNAPPA, K.; ELUMALAI, K. Larvicidal and ovicidal activities of *Chloroxylons wietenia* (Rutaceae) essential oils against *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) and their chemical compositions. **International Journal of Current Research in Life Sciences**, v. 1, n. 1, p. 3 - 7, 2012.

LAAMARI, M.; KHELFA, L.; D'ACIER, A. C. Resistance source to cowpea aphid (*Aphis craccivora* Koch) in broad bean (*Vicia faba* L.) Algerian landrace collection. **African Journal of Biotechnology**, v. 7, n. 14, p. 2486 - 2490, 2008.

LAARIF, A.; ZARRAD, K.; TAYEB, W.; AYED, A.; SOUGUIR, S.; CHAIEB, I. Chemical composition and insecticidal activity of essential oil from *Citrus aurantium* (Rutaceae) fruit peels against two green house insects; *Spodoptera littoralis* (Noctuidae) and *Tuta absoluta* (Gelechiidae). **Advances in Agriculture, Sciences and Engineering Research**, v. 3, n. 5, p. 825 - 830, 2013.

LATINOVIC, N.; KARAMAOUNA, F.; KAVALLIERATOS, N. G. First record of *Aphis craccivora* Koch (Hemiptera: Aphididae) on aronia crop in Montenegro. **Hellenic Plant Protection Journal**, v. 10, n. 2, p. 67 - 69, 2017.

LEITE, D. M.; GARLET, J.; KARSBURG, I. V. First report of the *Aphis craccivora* Koch on *Catsetum* sp. in Brazil. **EntomoBrasilis**, v. 10, n. 3, p. 251 - 253, 2017.

LOIZZO, M. R.; FALCO, T.; BONESI, M.; SICARI, V.; TUNDIS, R.; BRUNO, M. *Ruta chalepensis* L. (Rutaceae) leaf extract: chemical composition, antioxidant and hypoglycaemic activities. **Natural product research**, v. 32, n. 5, p. 521 - 528, 2018.

MELVILLE, C. C.; LIMA, A. C. S.; MORAIS, E. G. F.; OLIVEIRA, N. T. Preferência do pulgão-preto, *Aphis craccivora* Koch (Hemiptera: Aphididae), a genótipos de feijão-caupi. **Revista Agroambiente**, v. 10, n. 2, p. 153 - 160, 2016.

NAVARRO-SILVA, M. A.; MARQUES, F. A.; DUQUE, J. E. L. Review of semiochemicals that mediate the oviposition of mosquitoes: a possible sustainable tool for the control and monitoring of Culicidae. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 53, n. 1, p. 1 - 6, 2009.

PINA, E. S.; COPPEDE, J. S.; CONTINI, S. H. T.; CREVELIN, E. J.; LIÃO, L. M.; BERTONI, B. W.; FRANÇA, S. C.; PEREIRA, A. M. S. Improved production of quinone-methide triterpenoids by *Cheiloclinium cognatum* root cultures: possibilities for a non-destructive biotechnological process. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, v. 128, n. 3, p. 705 - 714, 2017.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R**: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2017. Disponível em: <<http://www.Rproject.org>>.

RABELO, J. S.; BLEICHER, E. Controle de pulgão-preto em feijão-caupi com o uso de sementes de Annonaceae e a bioatividade das sementes em diferentes épocas de armazenamento. **Agropecuária científica no Semi-Árido**, v. 10, n. 4, p. 05 - 08, 2014.

RIZVI, R.; MAHMOOD, I.; TIYAGI, S. I.; KHAN, Z. Effect of some botanicals for the management of plant-parasitic nematodes and soil-inhabiting fungi infesting chickpea. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, v. 36, n. 6, p. 710 - 719, 2012.

ROCHA, A. M. S.; SANTOS, A. J. S.; GONÇALVES-GERVÁSIO, R. C. R. Bioatividade de extratos de própolis sobre o pulgão *Myzus persicae* Sulzer (Hemiptera: Aphididae) em couve manteiga. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 16, n. 3, p. 332 - 337, 2017.

RODRIGUES, S. R.; CECCON, G.; OLIVEIRA JUNIOR, O.; ABOT, A. R.; NOGUEIRA, G. A. L.; CORREA, A. M. Preferência do pulgão preto *Aphis craccivora* Koch, 1854 (Hemiptera: Aphididae) por Genótipos de Feijão-Caupi *Vigna unguiculata* (L.) Walp. (Fabaceae). **Bioscience Journal**, v. 28, n. 5, p. 30 - 32, 2012.

RUDIGER, A. L.; SIANI, A. C.; VEIGA Jr., V. F. The Chemistry and Pharmacology of the South America genus *Protium* Burm. f. (Burseraceae). **Pharmacognosy Review**, v. 1, n. 1, p. 93 - 104, 2007.

SANTOS, L. D.; TRINDADE, R. C. P.; SANTOS, D. S. D.; DIAS, M. D. S.; BROGLIO, S. M. F.; LEMOS, E. E. P. D. Effect of anonaceous extracts on *Aphis gossypii* (Glover, 1887) (Hemiptera: Aphididae) and selectivity to *Eriopsis connexa* (Germar, 1824) (Coleoptera: Coccinellidae). **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 40, 2018.

SILVA, F. C.; DUARTE, L. P.; VIEIRA FILHO, S. A. Celastráceas: fontes de triterpenos pentacíclicos com potencial atividade biológica. **Revista Virtual de Química**, v. 6, n. 5, p. 1205 - 1220, 2014.

SILVA, J. P. G. F.; ZACHÉ, R. R. C.; BALDIN, E. L. L.; OLIVEIRA, F. B.; VALTAPÉLI, E. R. Repelência e deterrência na oviposição de *Bemisia tabaci* biótipo B pelo uso de extratos vegetais em *Cucurbita pepo* L. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 14, n. 1, p. 76 - 83, 2012.

SILVA, M. S., TAVARES, J. F., QUEIROGA, K. F., AGRA, M. F., BARBOSA FILHO, J. M., ALMEIDA, J. R. G. S.; SILVA, S. A. S. Alkaloids and other constituents from *Xylopija langsdorffiana* (Annonaceae). **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1566 - 1570, 2009.

SILVA, S. C. S.; ALVES, M. A.; SOUSA, S. A.; NOGUEIRA, J. R. S.; MARTINS, D. H. N.; FONSECA-BAZZO, Y. M.; GALDOS-RIVEROS, A. C. Perfil

fitoquímico, susceptibilidade antibacteriana e capacidade antioxidante das folhas de *Croton urucurana* Baillon (Euphorbiaceae). **Infarma-Ciências Farmacêuticas**, v. 29, n. 3, p. 264 - 270, 2017a.

SILVA, T. S. A., NASCIMENTO, J. E. C., PORSANI, M. V., GIACOMIN, L. L., POLTRONIERI, A. S., ZAWADNEAK, M. A. C., PIMENTEL, I. C.; BARATTO, L. C. Potencial inseticida de plantas medicinais encontradas na Amazônia Central contra o pulgão-da-couve *Brevicoryne brassicae* (L.) (Hemiptera: Aphididae). **EntomoBrasilis**, v. 10, n. 2, p. 106 - 111, 2017b.

SPIVEY A. C.; WESTON, M.; WOODHEAD, S. Celastraceae sesquiterpenoids: biological activity and synthesis. **Chemical Society Reviews**, v. 31, n. 1, p. 43 - 59, 2002.

STURZA, S. V. S.; DEQUECH, S. T. B.; MACHADO, S. L. O.; PONCIO, S.; BOLZAN, A.; GUTHS, C. Primeiro registro de *Aphis craccivora* Koch 1854 (Hemiptera: Aphididae) sobre plantas daninhas em Santa Maria, RS. **Ciência Rural**, v. 41, n. 11, p. 1863 - 1866, 2011.

TAGLIARI, M. S.; KNAAK, N.; FIUZA, L. M. Efeito de extratos de plantas na mortalidade de lagartas de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, n. 2, p. 259 - 264, 2010.

VIEGAS Jr, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, v. 26, n. 3, p. 390 - 400, 2003.

7. CONCLUSÕES GERAIS

Cheiloclinium cognatum apresentou alcaloides, flavonoides, saponinas e taninos, enquanto que, as espécies *Metrodorea flavida* e *Tetragastris altissima* apresentaram resultados positivos somente para saponinas e taninos.

Cheiloclinium cognatum é a espécie mais promissora em bioensaio por contato na concentração de 1,9% do extrato hidroalcoólico. Os extratos alcoólico e de infusão na concentração de 15% da espécie *Cheiloclinium cognatum* também causaram maior mortalidade em *Atta sexdens* em bioensaio por contato. Para o controle de *Aphis craccivora* indica-se o uso do extrato alcoólico da espécie *Metrodorea flavida* na concentração de 9%.

Os extratos aquoso, alcoólico e de infusão das espécies *Cheiloclinium cognatum*, *Metrodorea flavida* e *Tetragastris altissima* apresentam atividade inseticida tanto em *Atta sexdens* como para *Aphis craccivora*. Os efeitos na mortalidade causada pelos três tipos de extratos e espécies apresentam desempenhos diferentes quando aplicados em espécies distinta de inseto.

Os pulgões se mostraram mais sensíveis quando comparados às formigas. Demonstrando que pulgões podem ser mais suscetíveis aos metabólitos secundários presentes nas espécies avaliadas ou que menores concentrações dessas substâncias causam maiores efeitos do que em formigas.

A atividade inseticida das espécies avaliadas pressupõe que os metabólitos presentes nessas plantas sejam tóxicos para *Aphis craccivora* e *Atta sexdens*, podendo ser um ponto de partida para novos estudos que identifiquem os compostos presentes.