**EFEITO DE EXTRATOS ORGÂNICOS DE *Trichilia pallida* SWARTZ
(MELIACEAE) NA SOBREVIVÊNCIA E DESENVOLVIMENTO DE *Spodoptera
frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae)**

ANTONIA RAILDA ROEL

Engenheiro Agrônomo

Orientador: PROF. DR. JOSÉ DJAIR VENDRAMIM

Tese apresentada à Escola Superior de
Agricultura “Luiz de Queiroz”,
Universidade de São Paulo, para obtenção
do título de Doutor em Ciências, Área de
Concentração: Entomologia.

PIRACICABA

Estado de São Paulo – Brasil

Julho - 1998

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - Campus "Luiz de Queiroz"/USP

Roel, Antonia Railda

Efeito de extratos orgânicos de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) na sobrevivência e desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith, 1797)(Lepidoptera: Noctuidae) / Antonia Railda Roel. - - Piracicaba, 1998.
115 p. : il.

Tese (doutorado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1998.
Bibliografia.

1. Inseticida vegetal 2. Lagarta-do-cartucho-do-milho 3. Manejo integrado 4. Praga agrícola 5. Resistência a praga I. Título

CDD 632.78

Aos meus pais, Eugênia e Francisco,
e
aos meus filhos, Conrado e Lucas,

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

À Empresa de Pesquisa e Assistência Técnica e Extensão Rural de Mato Grosso do Sul – EMPAER/MS, pela permissão para realizar o Curso de Pós-Graduação.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de estudos.

Ao Departamento de Entomologia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” - ESALQ/USP, pela oportunidade de realização desse Curso.

Ao Prof. Dr. José Djair Vendramim, pela orientação, apoio, amizade e compreensão.

À Dra. Marinéia de Lara Haddad, pela orientação nas análises estatísticas.

À Analista de Sistemas Regina Célia Botequio de Moraes e Ana Gabriela Brancalhão, pela assistência na parte computacional.

Ao Prof. Dr. Celso Omoto, pelas sugestões e fornecimento de insetos utilizados nos ensaios.

Aos demais professores do Departamento de Entomologia da ESALQ/USP, pelos ensinamentos transmitidos.

Aos funcionários do referido Departamento, Neide Graciano Zério, pelo auxílio no preparo de dietas artificiais e pelo fornecimento de insetos utilizados nos ensaios; Heraldo Negri de Oliveira, pelas fotografias tiradas; João Ângelo Cerignoni, pela ajuda na localização e coleta de plantas de *Trichilia* e José Carlos R. Castilho, pelo auxílio nos trabalhos de campo e casa-de-vegetação.

À Dra. Rosa T. S. Frighetto da EMBRAPA/CNPMA e ao Dr. Nelson Frighetto da UNICAMP/CPQBA, pelo auxílio na coleta de plantas de *Trichilia*, fornecimento dos extratos e pela amizade e apoio.

À colega MSc. Conceição Maria Buainain Alves, pelas sugestões e colaboração.

À bibliotecária Vilma Rosa Raitembach, pelo auxílio na organização das referências bibliográficas.

Às colegas Tereza, Teresinha, Ariane, Sônia e Miriam, pelas sugestões, colaboração, apoio, amizade.

À minha irmã Cecilia e família pela colaboração, apoio e amizade.

E a todos que, diretamente ou indiretamente, colaboraram para a realização desse trabalho.

SUMÁRIO

	página
RESUMO -----	ix
SUMMARY -----	xi
1 INTRODUÇÃO -----	1
2 REVISÃO DE LITERATURA-----	4
2.1 Aspectos Biológicos de <i>Spodoptera frugiperda</i> (J. E. Smith, 1797) em folhas de milho-----	4
2.2 Resistência de milho a <i>S. frugiperda</i> -----	5
2.2.1 Considerações Gerais-----	5
2.2.2 Identificação de genótipos resistentes em condições de campo ----	7
2.2.2.1 Trabalhos desenvolvidos no exterior -----	7
2.2.2.2 Trabalhos desenvolvidos no Brasil -----	11
2.2.3 Efeito de genótipos resistentes sobre <i>S. frugiperda</i> -----	13
2.3 Inseticidas Botânicos-----	17
2.3.1 Considerações gerais -----	17
2.3.2 Atividade de espécies de <i>Trichilia</i> sobre insetos-----	19
2.3.3 Atividade de outras espécies de meliáceas sobre <i>S. frugiperda</i> ---	24
2.3.3.1 Atividade de <i>A. indica</i> -----	24
2.3.3.2 Atividade de outras meliáceas -----	28
3 MATERIAL E MÉTODOS-----	31
3.1 Obtenção dos insetos-----	31
3.2 Obtenção do material vegetal -----	32
3.2.1 Genótipos de milho -----	32
3.2.2 Folhas e ramos de <i>T. pallida</i> -----	33
3.2.2.1 Coleta-----	33

3.2.2.2 Obtenção dos extratos-----	33
3.2.2.3 Tratamento das folhas de milho com extratos-----	34
3.3 Bioensaios-----	34
3.3.1 Efeito de extratos orgânicos de ramos e folhas de <i>T. pallida</i> na sobrevivência de <i>S. frugiperda</i> -----	34
3.3.1.1 Efeito de diferentes concentrações dos extratos acetônico e metanólico -----	35
3.3.1.2 Efeito de diferentes concentrações dos extratos acetato de etila e hexânico obtidos da partição do extrato acetônico -----	35
3.3.2 Desenvolvimento e sobrevivência de <i>S. frugiperda</i> alimentada com folhas de milho tratadas com diferentes concentrações do extrato acetato de etila de <i>T. pallida</i> -----	36
3.3.2.1 Lagartas alimentadas com folhas tratadas desde a eclosão -----	36
3.3.2.2 Lagartas alimentadas com folhas tratadas a partir dos 10 dias de idade. -----	37
3.3.3 Desenvolvimento e sobrevivência de <i>S. frugiperda</i> submetida ao tratamento tópico com o extrato acetato de etila de <i>T. pallida</i> -----	37
3.3.4 Efeito do extrato acetato de etila de <i>T. pallida</i> sobre o desenvolvimento e sobrevivência de <i>S. frugiperda</i> alimentada com diferentes genótipos de milho -----	38
3.3.5 Persistência do extrato acetato de etila de <i>T. pallida</i> aplicado sobre plantas de milho -----	38
3.4 Análise Estatística -----	40
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO -----	42
4.1 Efeito de extratos orgânicos de ramos e folhas de <i>Trichilia pallida</i> na sobrevivência de <i>Spodoptera frugiperda</i> (J.E.Smith, 1797) -----	42

4.1.1 Efeito de diferentes concentrações dos extratos acetônico e metanólico -----	42
4.1.2 Efeito de diferentes concentrações dos extratos acetato de etila e hexânico obtidos da partição do extrato acetônico -----	49
4.2 Desenvolvimento e sobrevivência de <i>S. frugiperda</i> alimentada com folhas de milho tratadas com diferentes concentrações do extrato acetato de etila de <i>T. pallida</i> -----	57
4.2.1 Lagartas alimentadas com folhas tratadas desde a eclosão -----	57
4.2.1.1 Fase larval -----	57
4.2.1.2 Fase pupal-----	62
4.2.2 Lagartas alimentadas com folhas tratadas a partir dos 10 dias de idade..-----	63
4.2.2.1 Fase larval -----	64
4.2.2.2 Fase pupal-----	66
4.3 Desenvolvimento e sobrevivência de <i>S. frugiperda</i> submetida ao tratamento tópico com o extrato acetato de etila de <i>T. pallida</i> -----	68
4.3.1 Fase larval -----	68
4.3.2 Fase pupal -----	69
4.4 Efeito do extrato acetato de etila de <i>T. pallida</i> sobre o desenvolvimento e sobrevivência de <i>S. frugiperda</i> alimentada com diferentes genótipos de milho-----	71
4.4.1 Fase larval -----	71
4.4.2 Fase pupal -----	75
4.5 Persistência do extrato acetato de etila de <i>T. pallida</i> aplicado sobre plantas de milho -----	80
4.5.1 Efeito sobre lagartas alimentadas com folhas tratadas desde a eclosão -----	80

4.5.2 Efeito sobre lagartas alimentadas com folhas tratadas a partir dos 10 dias de idade -----	85
4.6 Considerações Finais -----	90
5 CONCLUSÕES -----	96
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS -----	98

**EFEITO DE EXTRATOS ORGÂNICOS DE *Trichilia pallida* SWARTZ
(MELIACEAE) NA SOBREVIVÊNCIA E DESENVOLVIMENTO DE
Spodoptera frugiperda (J. E. SMITH, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae)**

Autora: Antonia Railda Roel

Orientador: José Djair Vendramim

RESUMO

Neste trabalho, foi avaliado, em condições de laboratório, o efeito de diferentes concentrações (peso/volume) de extratos orgânicos (não aquosos) de folhas e ramos de *Trichilia pallida* em relação à lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda*. Inicialmente, foram testados os extratos acetônico e metanólico nas concentrações de 0,008% a 1% impregnados em folhas de milho, constatando-se, com base na mortalidade larval até os 10 dias e no TL_{50} , que os extratos acetônicos de folhas e de ramos e o extrato metanólico de ramos apresentaram maior atividade que o extrato metanólico de folhas. Empregando a mesma metodologia, foram testadas as partições acetato de etila e hexânica obtidas do extrato acetônico, selecionando-se o acetato de etila (folhas mais ramos) como o mais efetivo, para utilização nos demais experimentos. A seguir, foi determinado o efeito de diversas concentrações (0,0001%; 0,0008%; 0,006%; 0,05%; 0,4% e 3%) desse extrato impregnado em folhas de milho utilizadas para alimentar lagartas com 1 e 10 dias de idade e em tratamento tópico (1 μ L por lagarta com 10 dias), avaliando-se a duração e viabilidade das fases larval e pupal e o peso de pupas. Foi também testado o efeito do extrato a 0,001% sobre lagartas alimentadas com folhas dos genótipos Zapalote Chico, CMS 14C e ESALQ-PB-4 (considerados resistentes à referida

praga) e do genótipo suscetível Piranão, avaliando-se os mesmos parâmetros do experimento anterior, além do peso larval. Finalmente, foi avaliada a persistência do extrato a 2%, pulverizado em plantas de milho há 7, 3 e 1 dias, antes do início do fornecimento das folhas a lagartas com 1 e 10 dias de idade, determinando-se a mortalidade, peso e ínstar das lagartas sobreviventes após 10 dias. Com base nos resultados obtidos, verificou-se que o extrato causou mortalidade larval de 100% em concentração igual ou superior a 0,05%; afetou a sobrevivência e desenvolvimento do inseto em concentrações de 0,001% a 0,006% e não provocou qualquer efeito em concentração igual ou inferior a 0,0001%; a aplicação tópica do extrato não provocou qualquer efeito sobre o desenvolvimento larval, mesmo na concentração de 3%; os genótipos considerados resistentes, quando comparados ao suscetível, reduziram o peso pupal, mas não afetaram o peso larval e a duração e viabilidade das fases larval e pupal do inseto; lagartas alimentadas desde a eclosão com folhas tratadas com o extrato foram mais afetadas que aquelas alimentadas a partir dos 10 dias; o extrato pulverizado em plantas de milho há 1, 3 e 7 dias antes do início do fornecimento das folhas às lagartas, provocou efeitos adversos na sobrevivência e desenvolvimento do inseto, sendo a intensidade destes efeitos decrescente com o tempo de aplicação.

**EFFECT OF ORGANIC EXTRACTS OF *Trichilia pallida* SWARTZ
(MELIACEAE) ON SURVIVORSHIP AND DEVELOPMENT OF *Spodoptera
frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae)**

Author: Antonia Railda Roel

Advisor: José Djair Vendramim

SUMMARY

The objective of this research was to evaluate the effect of different concentrations (weight/volume) of organic extracts (non-aqueous) from leaves and twigs of *Trichilia pallida* on *Spodoptera frugiperda* under laboratory conditions. Firstly, corn leaves were impregnated with acetonic and methanolic extracts of *T. pallida* at concentrations ranging from 0.008 to 1%. Acetonic extracts of leaves and twigs and methanolic extracts of twigs showed better activity than methanolic extracts of leaves based on the larval mortality of *S. frugiperda* until 10 days of treatment and the LT₅₀. Ethyl acetate and hexane partitions of acetonic extract of leaves plus twigs were evaluated by using the same methodology described before. Ethyl acetate partition was more effective and it was chosen for use in this research. Then, the activity of this extract was tested by treating corn leaves at concentrations of 0.0001; 0.0008; 0.006; 0.05; 0.4 and 3% and offered to 1 and 10-old day larvae. Topical application (1 µL) of the same extract concentrations was also tested on 10-old larvae. The parameters evaluated were the length and viability of larval and pupal stages, the weight of pupae. The effect of extract at 0.001% was evaluated on larvae

fed on corn leaves from Zapalote Chico, CMS 14C and ESALQ-PB-4 genotypes (considered as resistant to *S. frugiperda*) and the susceptible genotype Piranão. The same parameters described before plus the larval weight were evaluated in this experiment. Finally, the persistence of the extract at 2% sprayed on corn plants were evaluated by offering treated leaves to 1 and 10-old larvae after 1, 3 and 7 days of treatment by determining the mortality, weight and instar of live larvae after 10 days of larval feeding on treated corn leaves. Based on the results, it was concluded that 100% of larval mortality was achieved at concentrations of the extract equal or higher than 0.05%; the survivorship and development of *S. frugiperda* was affected at concentrations ranging from 0.0001 to 0.006% and any effect was observed at concentrations equal or lower than 0.0001%; no effect on larval development was observed when the extract was topically applied, even at the highest concentration of 3%; resistant corn genotypes reduced the pupal weight, but the length and viability of larval and pupal stages were not affected; the extract was more effective when treated leaves were offered to 1-day old larvae than to 10-old larvae; and activity of the extract of 1, 3 and 7-day old residue on corn plants affected the survivorship and development of *S. frugiperda* and the effect was more pronounced on fresher residues.

1 INTRODUÇÃO

A lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) ocorre praticamente o ano todo, principalmente em gramíneas, e se distribui em todo continente americano (Zucchi, 1993). Polífago e de grande capacidade migratória, esse inseto tem assim a sua sobrevivência assegurada em épocas desfavoráveis (Ferraz, 1982).

A lagarta-do-cartucho é considerada uma das mais importantes pragas da cultura de milho, não só pelo prejuízo que acarreta (redução de 20%, em média na produção, segundo Carvalho, 1970) mas pela dificuldade de controle, que normalmente é efetuado com produtos químicos sintéticos em pulverização (Bianco, 1991; Carvalho, 1982; Cruz, 1995; Gallo et al., 1988 e Waquil et al., 1982).

O uso freqüente de produtos químicos, além de nem sempre eficientes, acarretam diversos problemas como resíduos nos alimentos, desequilíbrio biológico devido à eliminação de inimigos naturais, intoxicação de operadores, aparecimento de populações resistentes aos inseticidas, entre outros efeitos diretos e indiretos.

Em função disso, torna-se necessária a busca de métodos alternativos de controle, dentre os quais podem ser citados os que se utilizam da resistência natural das plantas. Esta resistência se deve, em muitos casos, à presença de substâncias químicas secundárias denominadas alomônios que provocam, nos insetos, repelência, inibição de alimentação e ou oviposição, intoxicações crônicas ou agudas, redução dos processos normais de digestão, inibição de crescimento e ou reprodução (Lara, 1991 e Rodríguez, 1995).

Estas substâncias químicas podem estar presentes em plantas cultivadas ou taxonomicamente próximas destas ou então em plantas selvagens ou não cultivadas. No primeiro caso, podem ser desenvolvidos programas de melhoramento com o objetivo de transferir os fatores de resistência para variedades mais produtivas. Já, no segundo caso, quando as plantas que apresentam essas substâncias químicas são selvagens ou não cultivadas, as mesmas podem ser utilizadas como fonte de inseticidas botânicos que são aplicados na cultura a ser protegida contra a praga. Nesse caso, uma das formas mais interessantes é a utilização de extratos que podem ser obtidos com diversos solventes tais como água, metanol, éter, etanol, acetona, clorofórmio, hexano, etc.

No que se refere à lagarta-do-cartucho, têm sido desenvolvidas pesquisas tanto para avaliação de genótipos resistentes de milho, como para avaliação do efeito de plantas inseticidas, o que pode ser observado através de diversas revisões bibliográficas (Carvalho, 1970; Rodríguez, 1995; Silveira, 1994 e Torrecillas, 1997). A associação de plantas inseticidas com variedades resistentes ao inseto pode aumentar a eficiência de controle, através da ação independente e aditiva e/ou da interação destas duas técnicas de controle devido à ação da variedade resistente sobre o inseto, alterando-lhe a suscetibilidade à substância com atividade inseticida (Vendramim, 1990).

Nos últimos anos, inúmeras plantas com atividade inseticida, pertencentes a diversas famílias botânicas, têm sido descobertas, encontrando-se listagens delas na literatura internacional (Grainge & Ahmed, 1988; Jacobson, 1975 e Withehead & Bowers, 1983).

Nesta linha de pesquisa, trabalhos recentes desenvolvidos no Departamento de Entomologia da ESALQ/USP, com o objetivo de avaliar o efeito de extratos aquosos de diversas plantas da família Meliaceae sobre *S. frugiperda*, revelaram a existência de diversas espécies promissoras, destacando-se, dentre estas, *Trichilia pallida* Swartz (Rodríguez & Vendramim, 1996 e Torrecillas, 1997), árvore nativa com ampla distribuição no Brasil (Klein, 1984).

Assim, considerando-se a potencialidade dos extratos aquosos de *T. pallida* em relação a *S. frugiperda*, desenvolveu-se a presente pesquisa com o objetivo de avaliar a bioatividade de alguns extratos orgânicos (não aquosos) dessa meliácea em relação à sobrevivência e desenvolvimento dessa praga, determinando-se os extratos mais eficientes em diferentes concentrações, a persistência do extrato mais efetivo em plantas de milho e o efeito deste quando associado a genótipos resistentes de milho.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos Biológicos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) em folhas de milho

As mariposas de *S. frugiperda* normalmente permanecem, durante o dia, no interior do cartucho do milho ou em outras plantas próximas dessa cultura (Cruz, 1993). Os ovos, em grupos de 50 a 150 (Ávila & Degrande, 1991 e Cruz et al., 1982), são colocados no período noturno, podendo uma fêmea colocar um total de até 1560 ovos (Ávila & Degrande, 1991 e Valicente & Cruz, 1991), que podem ser observados nas duas superfícies das folhas, porém com maior incidência na superior (Costa et al., 1984; Leiderman & Sauer, 1953; Lordello & Lara, 1980 e Velez & Sifuentes, 1967).

Após 3 a 4 dias (a temperaturas entre 25 e 29°C) eclodem as lagartas (Lucchini, 1977 e Patel, 1981) que inicialmente se alimentam do córion dos ovos e posteriormente raspam o limbo foliar das folhas centrais, deixando apenas a epiderme membranosa. À medida que crescem, as lagartas fazem orifícios nas folhas centrais, completando o desenvolvimento no interior do cartucho que pode ficar totalmente destruído. Ao atingirem cerca de 40 mm, completa-se a fase larval, ocorrendo a pupação no solo (Leiderman & Sauer, 1953; Silva & Viana, 1982 e Valicente & Cruz, 1991).

O período de desenvolvimento de *S. frugiperda* depende de diversos fatores, sendo aqueles referentes ao ambiente, especialmente a temperatura,

um dos mais importantes. Assim, em função destes, têm sido observadas variações de 12 a 30 dias para a fase larval (com 5 a 7 ínstaes) e de 7 a 27 dias para a fase pupal, além de grandes variações também na viabilidade das fases de ovo, lagarta e pupa, bem como no peso pupal (Ávila & Degrande, 1991; Bertels & Rocha, 1950; Carvalho, 1987; Crócomo & Parra, 1985; Ferraz, 1982; Hynes, 1942; Kasten Jr. et al., 1990; Leiderman & Sauer, 1953; Silva & Viana, 1982 e Valicente & Cruz, 1991).

Além das condições ambientais, o substrato alimentar também pode afetar o desenvolvimento e sobrevivência larval de *S. frugiperda*, principalmente quando o inseto é criado em genótipos resistentes ao inseto (Cruz & Alvarenga, 1990; Melo & Silva, 1987; Ng et al., 1985; Silva, 1995; Silveira et al., 1997; Torrecillas, 1997; Vendramim & Fancelli, 1988; Vendramim & Scampini, 1997; Viana & Potenza, 1991a; Videla et al., 1992; Wiseman et al., 1981 e Wiseman & Widstrom, 1986).

2.2 Resistência de milho a *S. frugiperda*

2.2.1 Considerações Gerais

Para se constatar a resistência de uma planta ou variedade a um inseto, os testes podem ser conduzidos em campo, casa-de-vegetação ou laboratório, considerando-se tanto o efeito da planta sobre o inseto, como o efeito do inseto sobre a planta. Em relação ao inseto podem ser observados a população das formas jovens e adultas, número de ovos por planta, consumo de alimento, duração das fases larval e pupal ou ninfal, mortalidade das fases imaturas, tamanho e peso das formas jovens e adultas, longevidade e fecundidade dos adultos, enquanto em relação à planta podem ser avaliados o número ou porcentagem de plantas mortas (quando atacadas na fase de plântula), os

danos sofridos pelos diversos órgãos vegetais (folhas, flores, frutos, panículas, vagens, sementes, internódios ou raízes) e a redução na produção e na qualidade do produto (Lara, 1991 e Vendramim et al., 1992). Crócomo & Parra (1985) mencionaram que parâmetros nutricionais também devem ser investigados em estudos que envolvem a relação inseto-planta, já que permitem obter informações sobre os mecanismos de resistência envolvidos.

Visando à identificação de genótipos de milho resistentes à lagarta-do-cartucho, em condições de campo, Brett & Bastida (1963) utilizaram uma escala de notas variando de 1 (pouco dano) a 3 (dano severo). Wiseman et al. (1966) ampliaram essa escala estabelecendo notas de dano variando de 0 (nenhum dano) a 9 (planta totalmente destruída). Diversos autores, entretanto, divergem sobre a melhor maneira de se avaliar a resistência, já que enquanto muitos recomendam a avaliação do dano nas folhas (Fornasieri Filho et al., 1980; Lara et al., 1984 e Windstrom et al., 1972), outros autores (Peairs & Sanders, 1981) consideram a redução de produção como o método mais adequado.

Para viabilizar os testes em condições de campo, é necessário, muitas vezes, infestar as plantas artificialmente, já que a infestação natural pode não ser suficiente para identificar os materiais resistentes. Com o objetivo de facilitar o trabalho de infestação artificial, Mihm et al. (1978) desenvolveram um dispositivo manual de plástico, denominado bazuca, para infestar plantas de milho com lagartas recém-nascidas. Wiseman et al. (1980) modificaram a bazuca original para um modelo mais leve e prático. Com o mesmo objetivo, Summer & Cross (1991) desenvolveram um equipamento distribuidor rotativo que libera uniformemente as lagartas nas plantas de milho.

A idade das plantas é um outro fator a ser considerado nos estudos visando à identificação de resistência varietal com base na determinação do efeito dos genótipos sobre o inseto. Em relação à resistência de milho a *S. frugiperda*, a maioria dos trabalhos têm sido realizados quando as plantas

apresentam entre 7 e 9 folhas com a bainha visível, que representa a fase em que a cultura é mais sujeita ao ataque da praga (Ng et al., 1985; Vendramim & Fancelli, 1988 e Wiseman et al., 1981).

Embora Cruz (1993) considere que, em condições de campo, a lagarta-do-cartucho possa ocorrer durante todos os estágios da cultura, desde a emergência das plantas até a formação das espigas, o estágio mais suscetível, segundo Cruz & Turpin (1980), é aquele em que as plantas apresentam de 8 a 10 folhas, no qual os referidos autores obtiveram redução de 19%.

2.2.2 Identificação de genótipos resistentes em condições de campo

2.2.2.1 Trabalhos desenvolvidos no exterior

Dicke (1955), avaliando a resistência de genótipos de milho a *S. frugiperda*, nos EUA, verificou que as linhagens cultivadas que possuíam parentais da região sul daquele país eram mais atacadas que aquelas que possuíam parentais da região norte.

Avaliando genótipos de milho doce americano em relação à praga em questão, Brett & Bastida (1963) observaram que as cultivares Golden Regent e Golden Tighthusk apresentaram-se resistentes quando comparadas às cultivares Ioana e Spancros. Os autores consideraram ainda a tolerância como o tipo de resistência mais importante para esses materiais.

Wiseman et al. (1966), avaliando 217 linhagens através de uma escala de notas de danos, identificaram os genótipos FAW#1 (originado de 'Antigua 2D') e Texas Exp. Hy. 6717 como os mais resistentes, destacando-se ainda 'Pioneer JG5f x C22' e 'Ark. Leaf Feed. Res. Comp.' como moderadamente resistentes.

Wiseman et al. (1967) avaliaram 81 variedades latino-americanas de milho em relação à resistência à lagarta-do-cartucho e selecionaram as linhagens Cuba Honduras 46-J e Eto Amarillo como as mais resistentes.

Scott et al. (1977) testaram a linhagem resistente Mp496, sob condições de campo, com infestação natural, observando que esta produziu o dobro em relação aos materiais suscetíveis. Essa resistência também foi comprovada, paralelamente, através de uma escala de notas de danos.

Williams et al. (1978), com auxílio de uma escala de notas variável entre 0 (sem dano) a 9 (plantas destruídas), quantificaram o dano da lagarta-do-cartucho em algumas linhagens resistentes do Mississippi (EUA) e algumas linhagens suscetíveis. Nas resistentes ('Mp68:616', 'Mp496', 'Mp71:222' e 'Mp71:247'), as notas de dano foram inferiores a 6, enquanto nas suscetíveis ficaram em torno de 7. Os materiais resistentes cruzados entre si originaram progênie com nota média de 5,48, enquanto os resistentes cruzados com os suscetíveis e os suscetíveis cruzados entre si produziram genótipos cujas notas médias foram 6,16 e 7,22, respectivamente.

Utilizando infestação artificial de lagartas de *S. frugiperda*, o genótipo Antigua 2D foi selecionado (através de notas de dano), como resistente (Wiseman et al., 1980 e Wiseman & Widstrom, 1980).

A adoção de técnicas de infestação artificial permitiram maior ênfase nos estudos de resistência de milho a pragas (Wiseman et al., 1981), o que levou a uma aceleração dos programas de "screening" de genótipos em condições de campo, surgindo, principalmente no Estado do Mississippi (EUA) diversas linhagens resistentes à lagarta-do-cartucho.

Segundo Scott & Davis (1981a), a primeira população lançada através dessa técnica foi MpSWCB-4, resultado de uma seleção recorrente baseada na progênie S₁ de populações de Antigua Grupo 1, Antiga Grupo 2, Guadalupe 1A e República Dominicana Grupo 1, provenientes do CIMMYT (Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo). Essa linhagem que tinha sido

desenvolvida inicialmente para resistência a *Diatraea grandiosella* (Dyar) acabou manifestando resistência também a *S. frugiperda* e à ferrugem do milho. Logo em seguida, foi lançada também por Scott & Davis (1981b), a linhagem Mp496 com resistência à lagarta-do-cartucho e a outras pragas e doenças do milho.

Duas novas linhagens (Mp701 e Mp702) foram registradas por Scott et al. (1982) como resistentes principalmente a *D. grandiosella*, porém também com resistência a *S. frugiperda* e à ferrugem do milho.

Como resultado do cruzamento entre os genótipos República Dominicana e Mp496, surgiu, após 8 gerações, a linhagem Mp704 com resistência *S. frugiperda*, *D. grandiosella* e à ferrugem do milho (Williams & Davis, 1982). Também resistentes às referidas pragas e doença, foram lançadas por Williams & Davis (1984), as linhagens Mp705, Mp706 e Mp707, as quais foram desenvolvidas através de seleção individual de 'MpSWCB-4', durante 8 gerações.

Isenhour et al. (1985) comprovaram a importância da temperatura nos ensaios de resistência quando compararam os genótipos MpSWCB-4 e Antigua 2D-118 com Cacahuacintle e Pioneer-X304C. A 30°C, constataram diferenças entre os materiais resistentes e os suscetíveis enquanto a 25°C, o mesmo não ocorreu.

Mihm et al. (1988) comentaram a criação de um programa de melhoramento iniciado em 1984 pelo CIMMYT, visando à obtenção de populações de milho com resistência múltipla às pragas, principalmente a *S. frugiperda*. Esta população composta principalmente de híbridos não convencionais (mais acessíveis a produtores de países em desenvolvimento) foi melhorada através de seleção recorrente e recombinação nos anos de 1984 a 1986. Neste processo, sementes foram enviadas ao Mississippi e Georgia (EUA) e ao México, onde foram realizados diversos "screenings" dos materiais, originando assim a população MBR ("Multiple Borer Resistant"). Este programa

teve continuidade, produzindo a população MIRT ("Multiple Insect Resistant, Tropical"), destinada a terras baixas tropicais. Esse mesmo autor comentou ainda que as linhagens Mp são as melhores fontes de resistência a esse inseto, apesar de deficiente em algumas características agronômicas.

Williams et al. (1989) realizaram cruzamentos de plantas resistentes 'Mp496', 'Mp704', 'Mp706' e 'Mp78:518' com variedades suscetíveis, verificando ser possível a transferência de genes que conferem resistência à lagarta-do-cartucho, e que estão presentes nas linhagens Mp para variedades mais produtivas sendo que essa resistência podia ser extensiva a *D. grandiosella* e à lagarta-da-espiga *Helicoverpa zea* (Boddie).

Ng et al. (1990) também concluíram que os híbridos Mp496 x Mp701 e Mp704 x Mp706, além de resistentes ao desfolhamento pela lagarta-do-cartucho, são também menos preferidos para oviposição, quando comparados a híbridos suscetíveis, em testes de campo, sob infestação artificial em gaiolas.

York (1991) registrou cinco populações de milho melhoradas para resistência a *D. grandiosella* e *Ostrinia nubilalis* (Hübner), tendo duas delas genes para resistência a *S. frugiperda*: 'Ark. Corn-Borer Comp.#1 (GP-232)' que foi composta por genes das populações MpSWCB-1, MpSWCB-2 e MpSWCB-4 (resistentes a *S. frugiperda*) e 'Ark. Corn-Borer Comp.#3' ('GP-234') que possui, além de genes destas populações Mp, cruzamentos com as linhagens Mp701, Mp702, Mp704, Mp705, Mp706 e Mp707.

Widstrom et al. (1992) estudaram os efeitos de vários ciclos de seleção recorrente para aumentar os níveis de resistência da população FAW-CC a *S. frugiperda*. Dessa população, foram selecionadas 30 progênies, as quais foram recombinadas e avaliadas, formando as populações FAW-CC (C₀) e FAW-CC (C₅), que apresentaram (segundo uma escala de dano de 0 a 9), uma redução média de 0,31 ponto por ciclo de recombinação (de 7,2 em C₀ para 5,6 em C₅), demonstrando boa eficiência para aumentar a resistência a *S. frugiperda*.

Thome et al. (1992) testaram oito linhagens do CIMMYT (obtidas da população MBR), duas linhagens comerciais e 45 cruzamentos simples gerados destes 10 parentais, em relação ao desfolhamento da lagarta-do-cartucho. Os autores concluíram que a população MBR parece ser uma fonte útil de resistência à praga em questão.

2.2.2.2 Trabalhos desenvolvidos no Brasil

Num dos primeiros trabalhos realizados no Brasil com o objetivo de buscar fontes de resistência de milho a *S. frugiperda*, Bertels (1956) concluiu que o caráter “amargo” é a mais importante fonte de resistência à referida praga.

Carvalho (1970), com o objetivo de buscar fontes de resistência a essa espécie, testou 60 genótipos de milho incluindo variedades, híbridos, raças e linhagens. O autor verificou que as raças destacaram-se, de modo geral, como os materiais mais suscetíveis, vindo a seguir as variedades. Os híbridos destacaram-se como os genótipos mais resistentes sobressaindo-se Sementec 8H-75, Sementec 6T-42, Sementec 8H-117, IPA-1, IPA-10, Agr.203, Agr.22, Agr 23, Agr.102, H.D., IAS-2 e Save 190. Foram constatados os tipos de resistência por não preferência para oviposição e alimentação, além de antibiose, não tendo sido estudada a resistência por tolerância.

Testando vários genótipos de milho, através de uma escala crescente de danos de 0 a 5, Fornasier Filho et al. (1980) relacionaram as cultivares IACHmd 7974, Flint Comp., Centralmex, Piranão e IAC O₂ VII como mais “tolerantes” ao ataque que ‘Pioneer 309 B’, ‘Pioneer X-307’, ‘Dentado Composto Br’, ‘Pérola Pira’ e ‘IAC1 XII’.

Lemos et al. (1982), avaliando 13 cultivares de milho em relação ao ataque de *S. frugiperda* e *H. zea* e em relação à produção, selecionaram, com

base no menor dano e maior produção, o genótipo Dentado Composto para prosseguir no programa de melhoramento

Lara et al. (1984) avaliaram 42 cultivares comerciais brasileiras em relação à infestação da lagarta-do-cartucho e da lagarta-da-espiga através de uma escala de nota. Os resultados evidenciaram algumas diferenças entre os materiais porém não foram considerados conclusivos, tendo sido sugerida uma nova avaliação.

Marques et al. (1988), através de uma avaliação fenotípica em cinco populações de milho para danos de *S. frugiperda* e *H. zea*, além de outras características agronômicas, concluíram, através de uma escala de notas de 0 a 5, que a população IAC Hmd 7974 foi a menos danificada por *S. frugiperda*, sendo, no entanto, a mais danificada por *H. zea*, o que levou essa população a apresentar baixa produção.

Viana & Potenza (1991b), através de infestações artificiais em condições de campo, no período de 1986 a 1990, identificaram os genótipos CMS 23, CMS 14C, CMS 24, Zapalote Chico (ZC), WP1, Amarillo Cristalino e Nôdzob Torê como os mais resistentes à lagarta-do-cartucho entre vários outros.

Utilizando uma escala de notas de dano variável de 0 a 5, Boiça Jr. et al. (1993) testaram 24 genótipos de milho e selecionaram 'TL 87-A-1855-7' e 'Zapalote 2508' precoce, como os menos atacados, destacando-se 'AG-302-A' e 'Opaco Alto' como os mais atacados por *S. frugiperda*.

No ano de 1993, foram avaliados 121 materiais do Banco Ativo de Germoplasma da EMBRAPA/CNPMS para resistência ao ataque de *S. frugiperda*, em ensaios no campo, onde quantificou-se o dano com escala de notas (0 a 9). Os genótipos selecionados como resistentes (nota de dano menor ou igual a 5,5) foram PB 11 (menos danificado), seguido por WP 16, República Dominicana 248, ZC, BA22 e PA 008 (Viana, 1994).

Guimarães & Viana (1994) iniciaram a partir de 1988/89, um esquema de melhoramento visando à obtenção de um sintético da população CMS 23

(tolerante a *S. frugiperda*, segundo Viana et al., 1992) o qual foi obtido após combinações de 24 progênies da população S₂ de 'CMS 23', mais cinco linhagens com alto grau de endogamia e um "topcross" para produtividade e características de interesse agrônomo.

Viana & Silva (1994), trabalhando com melhoramento da população CMS 14C, desde 1987, obtiveram em 1990, 36 progênies com dano médio inferior a 2,2%. Em 1990/91, 200 novas progênies foram avaliadas, selecionando-se as 20 mais resistentes, as quais foram mais produtivas que a testemunha 'BR 201'.

Em trabalho de cooperação com o CIMMYT, o CNPMS vêm realizando, desde 1991, o melhoramento da população MIRT para resistência a *S. frugiperda* e adaptação às condições brasileiras. Avaliando conjuntamente a população MIRT e CMS 23, observou-se que a amplitude de notas de dano (0 a 9) foi de 3,65 a 7,07. Deste grupo de progênies, foram selecionadas as 37 melhores (35 MIRT e 2 CMS 23), para as quais a variação de notas diminuiu para 3,65 a 4,64, com a testemunha resistente ('ZC' x CMS 14C) recebendo nota 5,51 (Viana e Guimarães, 1994).

Em avaliações de cultivares comerciais de milho, Waquil (1995) observou que não houve diferença de infestação de *S. frugiperda* aos 21 dias em qualquer tratamento, mas aos 57 dias destacaram-se com menor porcentagem de cartuchos destruídos, as cultivares Cargill 435, Germinal 550, Braskalb 660 e BR 201.

2.2.3 Efeito de genótipos resistentes sobre *S. frugiperda*

McMillian et al. (1967), utilizando pedaços de papel de filtro embebidos com extratos de folhas de milho, concluíram ser o genótipo ZC resistente a *S.*

frugiperda, já que nesse material foi verificado menor consumo foliar, além de pouca movimentação de lagartas.

Visando determinar os mecanismos de resistência presentes em genótipos de milho em relação à lagarta-do-cartucho, Wiseman et al. (1981) determinaram que Antigua 2D-118 (padrão resistente) apresentou resistência do tipo não-preferência e baixo nível de antibiose enquanto o genótipo MpSWCB-4 apresentou os dois tipos de resistência.

Folhas dos híbridos Mp496 x Mp701 e Mp703 x Mp704 incorporados à dieta artificial para *S. frugiperda* provocaram maior mortalidade e menor tamanho de lagartas e pupas, alongamento do período pupal e redução da capacidade reprodutiva dos indivíduos sobreviventes (Ng et al., 1985).

Wiseman & Widstrom (1986) constataram ser o genótipo ZC resistente à lagarta-do-cartucho quando observaram aumento no período larval de 3,9 dias em relação à testemunha, enquanto em testes de preferência 83% das lagartas se dirigiram ao genótipo suscetível.

Melo & Silva (1987), estudando o efeito dos genótipos AG-28, AG-64 e P-6872 sobre alguns parâmetros biológicos de *S. frugiperda* criadas em discos foliares, constataram que na cultivar AG-28 ocorreu aumento no número de ínstar e na duração das fases larval, pré-pupal e pupal e diminuição nos pesos de lagartas e pupas, indicando a presença de algum tipo de resistência.

Vendramim & Fancelli (1988) acompanharam a biologia da lagarta-do-cartucho, em seis genótipos de milho e constataram que enquanto 'IAC Maya XXI' foi o mais favorável, os menos adequados ao desenvolvimento foram 'Cateto Palha Roxa' (CPR) e 'ZC', que provocaram alongamento da fase larval, redução dos pesos larval e pupal e, no caso de 'CPR', redução da viabilidade larval.

Williams et al. (1989) estudaram vários germoplasmas com características de resistência a *S. frugiperda* e *D. grandiosella*, usando, como

critério de avaliação, sobrevivência e peso de lagartas aos 10 dias após a infestação.

Avaliando o efeito de 360 progênies de meio irmãos da população de milho CMS 39 sobre o desenvolvimento de *S. frugiperda*, Rezende et al. (1989) encontraram ampla variabilidade genética entre as mesmas, que foi constatada principalmente através da duração das fases larval (14 a 20 dias) e pupal (7,5 a 10 dias) e peso de pupas (0,14 a 0,25 g).

Hedin et al. (1990) analisaram o efeito de aminoácidos, fibras e proteínas nas linhagens resistentes Mp e demonstraram que o DIMBOA e maisina se encontram em baixas concentrações no cartucho e não conferem resistência às lagartas de 1º ínstar. Dos aminoácidos analisados, o ácido aspártico (não essencial), não estimulou a alimentação, sendo este mais elevado nas linhagens resistentes que nas suscetíveis, indicando ser o fator mais decisivo no mecanismo de resistência. A porcentagem de fibras (hemicelulose e lignina) foi 15% maior nos genótipos resistentes, enquanto o teor de proteínas foi 17% maior nos materiais suscetíveis.

A relação entre a concentração de maisina em milho e o crescimento de *S. frugiperda* foi acompanhado por Wiseman et al. (1992) que observaram uma correlação negativa entre o peso larval e a concentração desse aleloquímico, com redução de 60% no peso, à concentração de 0,2%, sugerindo efeito de antibiose.

Viana & Potenza (1991a), avaliando o efeito dos genótipos CMS 23, CMS 14C, CMS 24 e ZC (previamente identificados como resistentes a *S. frugiperda*, em condições de campo) sobre o desenvolvimento dessa praga, constataram que o genótipo CMS 14C alongou a fase larval e reduziu os pesos larval e pupal. Os autores verificaram ainda que 'ZC' foi o menos preferido para alimentação, enquanto 'CMS 14C' foi o menos preferido para oviposição.

Videla et al. (1992) compararam os híbridos resistentes Mp701 x Mp706, Mp496 x Mp707 e o suscetível Ab24E x Sc229, após infestação por lagartas de

S. frugiperda, em várias fases do desenvolvimento vegetativo (V3, 3 folhas a V14, 14 folhas). Com base na avaliação do peso e viabilidade larval, constataram que, embora no estágio V3 tenham sido observadas diferenças no peso das lagartas, o estágio V6 permitiu maior discriminação dos híbridos. Já no estágio V14, essas diferenças foram menos evidentes, provavelmente porque as lagartas se alimentam também de outros tecidos, que podem não conter o fator de resistência.

Em ensaios em campo e casa-de-vegetação, Silva (1995) avaliou o peso, comprimento, mortalidade e danos das lagartas de *S. frugiperda* em diversos genótipos de milho, concluindo que 'AG-510' e 'CMS-22' possuem resistência do tipo não-preferência e antibiose em relação à referida praga.

Silveira et al. (1997) testaram 11 genótipos de milho de diferentes procedências quanto à resistência a *S. frugiperda* e observaram redução do peso aos 10 dias e prolongamento da fase larval nos genótipos Mp707, ZC, Mp701, Mp706 e Mp705, enquanto as menores viabilidades foram observadas em 'Mp705' e 'Mp706'. O menor peso de pupa foi encontrado em 'IAC 103 BPI', vindo a seguir 'IAC701 BPI', 'IAC7777', 'ZC', 'IAC701 N', 'Mp706' e 'Mp701', que diferiram em relação a este parâmetro biológico do genótipo IAC103 N, considerado um dos mais adequados ao inseto juntamente com os genótipos IAC701 N e Mp496.

Em trabalho visando determinar a interação resistência varietal em milho e fitoinseticida (extratos aquosos de *Melia azedarach*), Vendramim & Scampini (1997) confirmaram a menor adequação do genótipo Mp707 (incluído no experimento como genótipo resistente), verificando que nesse material ocorreu, em relação ao suscetível (IAC 7777), redução no peso das lagartas com idade de 10 dias, redução na viabilidade larval e alongamento dessa fase. Estes efeitos foram mais drásticos nas parcelas tratadas com o fitoinseticida.

Torrecillas (1997), tratando genótipos de milho resistentes (Mp705, Mp707, CMS 23, CMS 14C e ZC) com extratos aquosos de *T. pallida*, constatou

que, os genótipos suscetíveis, 'Mp705' e 'Mp707' reduziram a sobrevivência larval de *S. frugiperda*, enquanto 'CMS 23' e 'ZC' afetaram moderadamente o desenvolvimento e sobrevivência do inseto. Em relação a 'CMS 14C', os resultados não foram conclusivos. Segundo a autora, o emprego de extratos aquosos de folhas e ramos dessa planta associados a genótipos de milho resultou em efeitos interativos variáveis, em função do genótipo, tipo e concentração do extrato utilizado, sendo a fase larval do inseto mais afetada que a pupal pelos genótipos e extratos.

2.3 Inseticidas Botânicos

2.3.1 Considerações gerais

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

Essa prática, entretanto, que era comum antes do emprego de inseticidas inorgânicos, foi praticamente abandonada após o aparecimento do DDT e seus análogos, por serem estes produtos facilmente sintetizados, de ação mais rápida e maior período residual, reduzindo o número de aplicações.

Os estudos visando a busca de técnicas alternativas ao controle químico (dentre elas o uso de inseticidas botânicos) foram incrementados após a

constatação de graves problemas de contaminação ambiental, resíduos em alimentos e resistência de insetos a inseticidas, abordados principalmente no livro 'Primavera Silenciosa' (Carson, 1969).

Algumas plantas têm contribuído para o controle de pragas fornecendo compostos com atividade inseticida ou ainda ingredientes básicos para a síntese de novas moléculas para uso na agricultura, como, por exemplo, *Physostigma venenosum* (Fabaceae), cujos compostos secundários, especialmente a fisostigmina, foram tomados como modelo para a síntese dos carbamatos e *C. cinerariaefolium*, matéria prima da qual se extraem as piretrinas, precursoras dos piretróides (Vendramim, 1997). As estruturas químicas das plantas inseticidas, entretanto, geralmente são complexas e difíceis de serem isoladas e sintetizadas e quando isso é possível, nem sempre apresentam o mesmo efeito (Rodríguez, 1995), o que tem estimulado a busca de derivados botânicos que possam ser utilizados diretamente no controle de pragas na forma de pós secos, óleos vegetais ou extratos aquosos ou orgânicos.

Na década de 50, Maranhão (1954) relacionou cerca de 2.000 plantas inseticidas (distribuídas em 170 famílias) com atividade tóxica para diversos insetos. De acordo com esse autor, os inseticidas comerciais de origem vegetal eram obtidos, naquela época, principalmente de cinco famílias botânicas: Solanaceae, Compositae, Leguminosae, Chenopodiaceae e Liliaceae, das quais se extraíam, respectivamente, a nicotina, piretro, timbó, heléboro e anabasina.

Grainge & Ahmed (1988) catalogaram 2.400 espécies de plantas com propriedades úteis no controle de pragas, mencionando as características gerais da planta, ação sobre insetos, além de uma listagem de 800 pragas controladas por essas plantas e ainda 100 plantas com outras substâncias químicas reportadas no controle de doenças e nematóides parasitas do homem e de animais.

Schumutterer (1992), por outro lado, citou as famílias Meliaceae, Asteraceae, Labiaceae, Aristolochiaceae e Annonaceae como principais fontes de princípios ativos inseticidas, influenciando o desenvolvimento, comportamento e reprodução dos insetos.

Atualmente, Meliaceae vem se destacando dentre as diversas famílias botânicas, como uma das mais importantes, tanto pelo número de espécies vegetais com atividade inseticida como pela eficiência dos seus extratos (Vendramim, 1997). Nessa família, estão incluídas *Azadirachta indica* A. Juss (comumente denominada nim ou nime) e *M. azedarach* (conhecida popularmente por cinamomo, pára-raios ou santa-bárbara). *A. indica* é considerada, dentre as plantas inseticidas atualmente estudadas, a mais importante e promissora (Koul et al. 1990; Mordue (Luntz) & Blackwell, 1993; Rodríguez, 1995 e Schmutterer, 1988), o que pode ser confirmado ao se mencionar que, a respeito dessa planta, já foram realizadas duas Conferências Americanas e quatro Congressos Internacionais, tendo o último ocorrido, em 1996, na Austrália.

Apesar de menos pesquisada que *A. indica*, um outro grupo de meliáceas pertencentes ao gênero *Trichilia* tem se mostrado bastante promissor para uso como inseticidas botânicos (Dominicis et al., 1995; Mikolajczak et al., 1989; Mikolajczak & Reed, 1987; Rodríguez, 1995; Rodríguez & Lagunes, 1990, 1992; Romo & Rodríguez, 1988; Villar et al., 1988 e Xie et al., 1994), destacando-se *Trichilia pallida* Swartz como uma das espécies com maior bioatividade (Rodríguez & Vendramim, 1996 e Torrecillas, 1997).

2.3.2 Atividade de espécies de *Trichilia* sobre insetos

Uma das primeiras citações do efeito de plantas desse gênero sobre insetos foi feita por Jacobson (1975), ao relacionar a madeira de *T. pallida* e de *T. hirta* como resistente ao ataque de insetos.

Como exemplo do emprego de plantas desse grupo no controle de pragas pode ser citado o uso de *T. havanensis*, no México, onde sementes de milho são impregnadas, durante um dia, antes da semeadura, com uma pasta aquosa obtida dos frutos dessa planta, para proteção contra pragas de solo (Hernández et al., 1983).

De acordo com Nakatani et al. (1981), as triquilinas, limonóides extraídos de plantas do gênero *Trichilia*, apresentam ação anti-alimentar contra diversas pragas como *Spodoptera eridania* (Cramer) e *Epilachna varivestis* Mulsant. Estudando a estrutura química dos componentes obtidos de *T. roka* com éter de petróleo, esses autores consideraram a atividade semelhante à da azadiractina, constatando que, a exemplo desta substância, também as triquilinas são muito complexas para serem sintetizadas em larga escala. Em frutos frescos de *T. roka*, também é encontrado, segundo Kubo & Klocke (1982), o limonóide sendanina que, de acordo com os referidos autores, inibiu o crescimento de quatro lepidópteros pragas do algodoeiro.

A toxicidade de extratos aquosos do córtex de *T. havanensis* e de folhas de *T. hirta* para *Periplaneta americana* (L.) foi referida por Jacobson (1975) e Lagunes et al. (1984).

Em testes no campo, extratos aquosos de *T. americana* e de *T. havanensis* protegeram a cultura de feijão do ataque de *E. varivestis* com aumento da produção, em relação à testemunha não tratada (Romo & Rodríguez, 1988).

Segundo Rodríguez & Lagunes (1990), o pó do fruto de *T. havanensis* provocou cerca de 30% de mortalidade em adultos de *Zabrotes subfasciatus* Boh.

Avaliando os extratos aquosos, acetônicos, alcoólicos, etéreos e clorofórmicos de cinco espécies de meliáceas, incluindo *T. hirta*, em relação a larvas de 4º ínstar de *Culex quinquefasciatus* Say, Sánchez & Vazquez (1994)

constataram que o extrato alcoólico das sementes dessa planta apresentou forte efeito inseticida.

Na aplicação de extratos aquosos vegetais a 10%, na cultura de milho, no México, para controle da lagarta-do-cartucho, os melhores resultados foram obtidos nas parcelas tratadas com extratos de *T. havanensis* e *T. americana*, nas quais os valores de produtividade (2.540 e 2.490 kg/ha, respectivamente) foram bastante superiores ao registrado na testemunha (1.320 kg/ha) (Villar et al., 1988).

O efeito de extratos hexânicos e etanólicos de sementes de 22 meliáceas (incluindo quatro espécies de *Trichilia*), incorporados em dieta artificial, na sobrevivência e inibição alimentar de *S. frugiperda* foi avaliado por Mikolajczak & Reed (1987). Na avaliação da toxicidade, os autores constataram que, para três espécies de *Trichilia* (*T. prieureana*, *T. roka* e *T. connaroides*), os extratos etanólicos (a 1%) provocaram mortalidade larval igual ou superior a 80%, enquanto os extratos hexânicos (nessa mesma concentração) não provocaram qualquer efeito. No experimento para determinação da inibição alimentar (em teste de dupla escolha), à concentração de 5%, novamente os extratos etanólicos foram mais efetivos que os hexânicos com exceção apenas de *T. prieureana* que mostrou boa atividade deterrente nos dois tipos de extrato. Em relação a *T. triphyllaria*, não foi constatada bioatividade em nenhum dos experimentos.

Mikolajczak et al. (1989), avaliando a toxicidade das sementes de 10 espécies de meliáceas contra *S. frugiperda*, constataram que os extratos etanólicos e hexânicos de *T. roka*, incorporados em dieta artificial, provocaram 100% de mortalidade larval nas concentrações de 400 e 10.000 ppm. O extrato etanólico dessa planta, na concentração de 80 ppm, afetou a fase larval, provocando, em relação à dieta testemunha, redução de 25% no peso e alongamento de 4,6 dias no período de desenvolvimento. Com a utilização do

extrato hexânico, no entanto, mesmo a uma concentração de 10.000 ppm, não foram constatados efeitos sobre o inseto.

Extratos aquosos de frutos de *T. americana*, a 5%, incorporados em dieta artificial para *S. frugiperda* provocaram, no 7º dia, uma perda de peso de 50% em relação à testemunha e 30% de mortalidade larval (Lagunes et al., 1984 e Rodríguez & Lagunes, 1992).

Avaliando nove espécies de *Trichilia* (oito originárias da Costa Rica e uma da Índia), Xie et al. (1994) testaram extratos etanólicos (suspensos em metanol e incorporados em dieta artificial na concentração de 0,2%) obtidos de diversas estruturas vegetais (totalizando 22 tratamentos) sobre os lepidópteros, *Peridroma saucia* (Huebner) e *Spodoptera litura* F. A maioria das espécies inibiu o crescimento larval de *P. saucia*, sendo o extrato de casca aquele que apresentou a maior atividade quando comparado aos extratos de madeira (caule), semente, exocarpo e folha. Com extrato de casca, os valores de EC₅₀ (concentração efetiva que inibe em 50% o crescimento larval) constatados para *P. saucia* e *S. litura* foram 29,1 e 185,1 ppm, respectivamente. A hirtina, limonóide presente em *T. hirta*, inibiu significativamente o crescimento de *P. saucia*, com EC₅₀ de 13 ppm. A hirtina e vários componentes extraídos de *T. connaroides* reduziram o crescimento larval e as taxas de consumo e utilização da dieta, indicando que estas substâncias provocam efeitos tanto no comportamento alimentar como na fisiologia do inseto.

Dominicis et al. (1995) constataram que *T. hirta* e *T. havanensis* têm marcante efeito anti-alimentar sobre *Sitophilus oryzae* (L.), *Leptinotarsa decemlineata* (Say) e *Mocis latipes* (Guenée), estando essa bioatividade relacionada à presença de diversas substâncias como cumarinas, esteróis, triterpenos, fenóis e taninos.

Rodríguez & Vendramim (1996, 1997), com o objetivo de avaliar a bioatividade de diversas espécies de meliáceas (incluindo cinco espécies de *Trichilia*), em relação a *S. frugiperda*, testaram extratos aquosos a 5% de

diversas estruturas vegetais através da incorporação em dieta artificial (20 ml do extrato/ 100 g de dieta). Foram constatadas grandes variações na bioatividade considerando-se as espécies e os órgãos vegetais utilizados. A maior eficiência foi obtida com os extratos de folhas e caules (ramos) de *T. pallida* e de *M. azedarach* e caules (ramos) de *Cabralea canjerana*, onde foi registrada mortalidade larval de 100%, destacando-se os caules de *T. pallida* e *C. canjerana*, onde essa mortalidade ocorreu já nos dois primeiros ínstares, resultando em bioatividade similar à registrada para o extrato de sementes de *A. indica* (incluída como padrão de atividade inseticida). Menor atividade foi encontrada com as demais espécies de *Trichilia*, observando-se inibição da alimentação (resultando em menor peso pupal) com o uso de extratos de caules (ramos) de *T. catigua* e folhas de *T. casaretti* e inibição do crescimento (caracterizado pelo alongamento da fase larval) nos tratamentos com caules (ramos) de *T. clausenii*. Nenhum efeito apreciável sobre o inseto foi constatado nos demais tratamentos com espécies de *Trichilia* (folhas de *T. catigua*, *T. clausenii* e *T. elegans* e caules (ramos) de *T. elegans* e *T. casaretti*).

Estudando o efeito de diferentes concentrações do extrato aquoso de ramos e folhas de *T. pallida* na sobrevivência e desenvolvimento de *S. frugiperda* criada em folhas de milho, Torrecillas (1997) verificou que o extrato de ramos a 5% provocou 100% de mortalidade larval até o 7º dia após o início do tratamento, com atividade inseticida similar à do extrato de sementes de *A. indica* (utilizado como padrão). A 1%, a mortalidade, nesse extrato, variou de 70% a 100% e a 0,1%, houve redução da sobrevivência e do peso pupal e alongamento da fase larval. O extrato de folhas a 5% provocou mortalidade variável de 17% a 55% (dependendo do genótipo) até o 7º dia e de 100% ao final da fase, enquanto a 0,1%, reduziu o peso pupal. Quando os extratos de folhas e ramos de *T. pallida* foram associados a genótipos resistentes de milho, verificaram-se efeitos interativos variáveis, em função do genótipo e do

tipo e concentração do extrato utilizado. Os dados obtidos permitiram concluir que o extrato de ramos foi mais eficiente que o de folhas.

2.3.3 Atividade de outras espécies de meliáceas sobre *S. frugiperda*

2.3.3.1 Atividade de *A. indica*

Dentre as plantas que apresentam compostos com atividade inseticida, a meliácea *A. indica* (nim ou nime) é considerada atualmente a mais pesquisada no mundo (Rodríguez, 1995).

Os derivados vegetais dessa planta provocam os mais diferentes mecanismos de ação sobre os insetos como inibição alimentar, redução da motilidade intestinal, interferência na síntese do ecdisônio, inibição da biossíntese da quitina, deformações em pupas e adultos, redução na fecundidade e longevidade de adultos, alterações na atratividade dos insetos por feromônios, esterilização e inibição de oviposição e mortalidade de formas imaturas e adultos (Bambarkar, 1990; Koul et al., 1990; Mordue (Luntz) & Backwell, 1993 e Schmutterer, 1988).

Dentre os componentes com atividade inseticida presentes em *A. indica* (75% deles concentrados nas sementes, segundo Balandrin et al., 1988), podem ser citados como mais importantes a azadiractina, meliantról e salanina (Naragán et al., 1980) e a vilasinina (Kraus et al., 1991), destacando-se azadiractina, como o composto com maior atividade tóxica (Soon & Bottrell, 1994), interrompendo o desenvolvimento de insetos em diferentes ordens taxonômicas (Schumutterer, 1988). O tetranortriterpanóide azadiractina, um limonóide altamente oxidável, foi isolado das sementes do nim por Butterworth & Morgan, em 1968, sendo sua estrutura elucidada em 1985 (Schumutterer, 1988). Diversos isômeros da azadiractina (A a I) já foram isolados de *A. indica*, sendo a azadiractina A o isômero que ocorre em maior proporção (83%), vindo

a seguir a azadiractina B, enquanto as demais (C a I) são encontradas em menores concentrações (Isman et al., 1990 e Mordue (Luntz) & Blackwell, 1993). A atividade da azadiractina pode ser demonstrada em concentração de até 0,1 ppm (Jacobson, 1989), verificando-se, em concentrações maiores que 100 ppm, um efeito tóxico acentuado nos insetos (Govindachari, 1992 e Rembold, 1988). A sua ação anti-alimentar e repelente pode ser observada em dosagens tão baixas como 0,0008% (Bambarkar, 1990). Em comparação com outros inseticidas de origem vegetal, a azadiractina foi considerada mais tóxica que a rotenona, rianodina, sabadina e piretro (Yoshida & Toscano, 1994).

A morte do inseto pode se verificar antes ou durante a ecdise, em função da dose de azadiractina e do tempo de exposição (Mordue (Luntz) & Blackwell, 1993). As alterações morfológicas induzidas pela azadiractina nas formas imaturas provêm da redução na concentração ou do atraso da liberação do ecdisônio na hemolinfa, em função do bloqueio dos receptores desse hormônio. A síntese do hormônio juvenil também é afetada pela azadiractina e, desta forma, os insetos afetados morrem na condição farata, incapazes de se mover e/ou se alimentar (Govindachari, 1992; Klocke, 1987 e Redfern et al., 1981).

A inibição da alimentação pela azadiractina varia de acordo com a planta hospedeira utilizada, provavelmente, em consequência, das proporções relativas e interações dos estimulantes e repelentes, ou substâncias estimulantes e inibidoras, presentes em cada hospedeiro. A inibição do crescimento, que se acreditava ser efeito colateral, foi observado como consequência da inibição da alimentação (Raffa, 1987).

Concentrações de azadiractina menores do que aquelas capazes de provocar inibição alimentar são suficientemente capazes de alterar o crescimento e a ocorrência de ecdise (Anwar et al., 1992; Govindachari, 1992 e Rembold, 1988).

Govindachari (1992) mencionou que a azadiractina já foi referida como responsável pela inibição alimentar em aproximadamente 200 espécies de insetos, sendo a maior eficiência observada em lagartas desfolhadoras, dentre as quais *S. frugiperda* (Reed et al., 1982 e Schmutterer, 1990) que mostra-se suscetível a doses inferiores a 50 ppm (Mordue (Luntz) & Blackwell, 1993). Segundo Klocke & Kubo (1982), a concentração de azadiractina necessária para provocar 95% de mortalidade em lagartas de 1º ínstar de *S. frugiperda*, alimentadas por 10 dias em dieta artificial, foi de 1 ppm.

Hellpap (1984), utilizando dieta contendo extrato metanólico de sementes de nim em concentrações variáveis de 0,5 a 100 ppm, em lagartas de *S. frugiperda* com 4 e 10 dias de idade, encontrou 100% de mortalidade a partir da concentração de 5 ppm, verificando que os tempos letais, TL_{50} e TL_{100} , a essa concentração foram, respectivamente, 15 e 33 dias para lagartas menores e 20 e 26 dias para lagartas maiores. Na concentração de 100 ppm, os referidos tempos letais foram 7 e 9 dias para lagartas alimentadas a partir dos 4 dias e 12 e 16 dias para aquelas alimentadas a partir dos 10 dias. A perda de peso das pupas, em relação à testemunha, variou de 76,4% a 88,2% (lagartas com 4 dias) e de 60,9% a 82,3% (lagartas com 10 dias). Essa diferença pode ser explicada pelo menor tempo de alimentação dos compostos inseticidas pelas lagartas mais desenvolvidas. O autor constatou ainda, alongamento da fase larval, verificando que, para lagartas mais novas, a formação de 50% de pupas ocorreu entre 19 e 24 dias (em função da concentração de extrato), em comparação com o tempo médio de 17 dias registrado na testemunha. Para as lagartas com 10 dias, a formação de 50% das pupas ocorreu após um período entre 11 e 15 dias (contra 10 dias na testemunha), concluindo que em lagartas mais jovens o prolongamento da fase foi maior que naquelas mais desenvolvidas.

De acordo com Mikolajczak & Reed (1987), a incorporação de extratos etanólico e hexânico das sementes de *A. indica* a 1% (10.000 ppm) em dieta

artificial usada para alimentar lagartas de *S. frugiperda* com 6 dias de idade, provocou 80% e 100% de mortalidade larval, respectivamente. Posteriormente, avaliando o efeito de menores concentrações destes extratos para lagartas de 1º ínstar dessa praga, Mikolajczak et al. (1989) verificaram que os extratos hexânicos ocasionaram 100%, 80%, 10% e 0% de mortalidade nas concentrações de 10.000, 2.000, 400 e 80 ppm, respectivamente, em contraste com 100% de mortalidade em todas as concentrações testadas (10.000 a 16 ppm) do extrato etanólico, o que evidencia, segundo Rodríguez (1995) que se obtém maior toxicidade com extratos obtidos com solventes de maior polaridade. Em relação ao extrato hexânico, Mikolajczak et al. (1989) constataram que lagartas alimentadas nos primeiros 13 dias com dieta contendo o extrato apresentaram redução do peso, os quais atingiram valores médios de 12, 78, 113 e 108 mg, respectivamente nas concentrações de 2.000, 400, 80 e 16 ppm, em comparação com a testemunha (321 mg). Nas concentrações de 2.000 e 400 ppm, também foi constatado o prolongamento da fase larval (7,1 e 0,4 dias, respectivamente) em relação à testemunha.

Segundo Schmutterer (1990), partes de plantas tratadas com produtos derivados de nim inibem a oviposição de fêmeas de algumas espécies de lepidópteros, dentre as quais *S. frugiperda*.

Maredia et al. (1992), ao alimentarem lagartas de 1º ínstar de *S. frugiperda* com dieta artificial contendo semente moída de nim (10 g/kg), constataram 75% de mortalidade aos 7 dias e 100% aos 14 dias, em comparação com 10% e 30%, respectivamente, na testemunha. Com a adição do óleo extraído das sementes na dieta artificial (1 mL/kg), a mortalidade aos 10 dias foi de 75% comparado a 10% na testemunha. Os autores verificaram ainda que, nos dois casos, o peso larval foi bem menor que o observado na testemunha, indicando a presença de componentes químicos que inibem a alimentação e o crescimento larval.

Rebolledo (1992), alimentando lagartas de *S. frugiperda*, de 2º ínstar, com dieta artificial contendo extrato aquoso de sementes de *A. indica* à 5%, constatou que a duração desse ínstar aumentou mais que o dobro, em relação à testemunha, sendo que, ao final do ínstar, as lagartas apresentaram-se pouco vigorosas e não concluíram a ecdise, possivelmente, por falta de energia suficiente para desprenderem-se da cutícula anterior, culminando com inanição e morte. O autor constatou ainda que as lagartas criadas na dieta com extrato apresentaram redução na taxa de consumo e menor eficiência de conversão do alimento ingerido (ECI) e digerido (ECD) em massa corporal. Segundo Mordue (Luntz) & Blackwell (1993), baixos valores de ECI e ECD podem ser reflexo da lentidão da motilidade intestinal para incrementar a exposição do alimento à ação das enzimas digestivas.

2.3.3.2 Atividade de outras meliáceas

McMillian et al. (1969), observando o desenvolvimento de *S. frugiperda* em dieta contendo diferentes extratos (hexânico, clorofórmico, metil alcóolico e aquoso) de folhas de *M. azedarach*, selecionaram o extrato clorofórmico como o mais eficiente, constatando redução no crescimento das lagartas alimentadas com dieta artificial com extrato em comparação às alimentadas na testemunha.

Mikolajczak & Reed (1987), avaliando a toxicidade de extratos etanólicos e hexânicos (a 0,1%) de sementes de diversas espécies de meliáceas incorporados em dieta artificial em relação a *S. frugiperda*, constataram que *Aglaia cordata*, *Chickrassia tabularis*, *Melia toosendan* e *Sandoricum koetjape* provocaram mortalidade igual ou superior a 60% nos dois tipos de extrato, enquanto quatro espécies de *Dysoxylum* (*D. binectariferum*, *D. malabaricum*, *D. reticulatum* e *D. spectabile*), duas espécies de *Melia* (*M. burmanica* e *M. dubia*) além de *Swietenia mahogani* apresentaram essa atividade apenas como extrato etanólico. Não foi constatada atividade inseticida significativa com os extratos

de *Aglaia odoratissima*, *Carapa procera*, *Lansium domesticum*, *M. azedarach*, *Swietenia macrophylla* e *Toona sinensis*. No que se refere à inibição alimentar sobre a referida praga, destacaram-se *A. cordata*, *C. procera*, *D. malabaricum*, *D. reticulatum*, *L. domesticum*, *M. dubia*, *M. toosendan*, *S. koetjape*, *S. macrophylla* e *S. mahogani* por apresentarem atividade fagodeterrente nos dois tipos de extrato. Por outro lado, *D. spectabile* e *M. burmanica* inibiram a alimentação apenas na forma de extrato etanólico e *C. tabularis* e *D. binectariferum* apresentaram essa atividade apenas na forma de extrato hexânico. Em relação às meliáceas *A. odoratissima* e *M. azedarach*, houve pouca ou nenhuma inibição alimentar para os dois tipos de extrato.

Clocke (1987) e Kubo & Klocke (1982) determinaram que lagartas de 1º ao 4º ínstar de *S. frugiperda* apresentaram inibição do crescimento quando criadas em dieta artificial contendo diversos limonóides presentes em meliáceas como cedrelona e sendanina.

Também trabalhando com extratos de sementes de meliáceas incorporados em dieta artificial, Mikolajczak et al. (1989) observaram que os extratos hexânicos, a 10.000 ppm, de *D. spectabile*, *S. koetjape* e *S. mahogani* prolongaram o desenvolvimento larval de *S. frugiperda* em 7,2 ; 6,2 e 3,6 dias, respectivamente. À concentração de 2.000 ppm, os extratos hexânicos de *C. tabularis*, *Dysoxylum* *S. malabaricum* e *Lansium domesticum* prolongaram a fase larval em 1,0; 1,7 e 4,1 dias, respectivamente. Em relação aos extratos etanólicos, foi constatado ainda alongamento da fase larval, com extratos de *C. tabularis*, *D. malabaricum*, *D. spectabile* e *L. domesticum* (11,3; 2,6 ; 5,7 e 3,0 dias, respectivamente) a 400 ppm; extratos de *M. azedarach* e *S. mahogani* (1,7 e 1,3 dias, respectivamente) a 80 ppm e extratos de *Aglaia cordata* e *S. koetjape* (5 e 4 dias, respectivamente) a 16 ppm.

Com o objetivo de avaliar a bioatividade de 15 espécies de meliáceas sobre *S. frugiperda*, Rodríguez & Vendramim (1996, 1997) testaram extratos aquosos a 5% de diversas estruturas vegetais através da incorporação em

dieta artificial (20 ml do extrato/ 100 g de dieta). Foram constatadas grandes variações na bioatividade considerando-se as espécies e os órgãos vegetais utilizados. Além dos resultados obtidos com as espécies de *Trichilia* (já descritos no item 2.3.2) foi constatado que os caules (ramos) de *C. canjerana*, as sementes de *A. indica*, *Cedrela fissilis*, *Cedrela odorata*, os caules (ramos), folhas e frutos de *M. azedarach* provocaram alta mortalidade larval (superior a 84%); as folhas de *C. canjerana*, *Swietenia macrophylla*, *Toona ciliata* e os frutos de *M. azedarach* inibiram a alimentação (resultando em menor peso pupal); os caules de *C. fissilis* e *C. odorata*, as folhas de *Guarea macrophylla*, *S. macrophylla* e *T. ciliata* e os frutos de *Guarea guidonia* e *M. azedarach* inibiram o crescimento larval (caracterizado pelo alongamento do período de desenvolvimento do inseto). Foi constatado ainda que os caules (ramos) e as folhas de *G. guidonia* e *Guarea khuntiana*, as folhas de *C. fissilis* e *C. odorata*, e os caules (ramos) de *G. macrophylla*, *S. macrophylla* e *T. ciliata* não apresentaram qualquer toxicidade ao inseto. Nenhum dos extratos testados apresentou atividade inseticida superior ao extrato de sementes de *A. indica* (utilizado como padrão de atividade).

Vendramim & Scampini (1997) avaliaram o efeito associado de extratos aquosos de *M. azedarach* e genótipos de milho (um resistente e um suscetível), alimentando lagartas de *S. frugiperda* com folhas de milho tratadas com o extrato a 10%. Os autores constataram que o referido extrato reduziu o peso larval aos 10 dias, alongou a fase larval e reduziu a viabilidade larval, em 65%, 19% e 29%, respectivamente, considerando a média entre os valores obtidos nos dois genótipos. Comparando os genótipos, os autores concluíram que o efeito do extrato foi mais drástico quando as lagartas se alimentaram no genótipo resistente.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram desenvolvidos nos laboratórios de Resistência de Plantas a Insetos do Departamento de Entomologia da ESALQ/USP, em ambiente climatizado (temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, UR de $60\pm 10^{\circ}\text{C}$ e fotofase de 14 h), com o objetivo de avaliar o efeito de extratos orgânicos (não aquosos) de *Trichilia pallida* Swartz na sobrevivência e desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) alimentada com folhas de milho.

3.1 Obtenção dos insetos

As lagartas de *S. frugiperda* utilizadas nos experimentos foram obtidas de criações mantidas em dieta artificial de Burton & Perkins (1972), no Departamento de Entomologia da ESALQ.

Os ovos, coletados diariamente, foram mantidos sobre papel de filtro umedecido, no interior de placas de Petri, até a eclosão das lagartas utilizadas nos diversos experimentos.

Este procedimento foi efetuado por gerações sucessivas, de modo a assegurar a demanda de insetos para os diversos experimentos.

3.2 Obtenção do material vegetal

3.2.1 Genótipos de milho

Os genótipos de milho utilizados nos diversos experimentos foram Piranão, considerado como padrão suscetível e CMS 14C, Zapalote Chico (ZC) e ESALQ-PB-4 incluídos como resistentes a *S. frugiperda* (Nishikawa¹; Silveira et al., 1997; Torrecillas, 1997; Vendramim & Fancelli, 1988; Viana & Potenza, 1991a,b; Viana, 1994).

O genótipo ZC é uma raça centro-americana bastante utilizada no Brasil como padrão de resistência à lagarta-do-cartucho, enquanto os genótipos ESALQ-PB-4 e CMS 14C são materiais cuja resistência à referida praga foi constatada no Departamento de Genética da ESALQ/USP (Nishikawa¹) e no Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo (CNPMS/EMBRAPA) (Viana & Potenza, 1991a,b; Viana, 1994), respectivamente.

Os referidos materiais foram cultivados em parcelas individuais de 20m², na área experimental do Departamento de Entomologia da ESALQ/USP, seguindo-se as recomendações fitotécnicas para a cultura de milho. Foram utilizadas folhas coletadas de plantas com idade entre 25 e 40 dias após o plantio. Após a coleta, as folhas eram transferidas ao laboratório, lavadas com água de torneira e mantidas, por cerca de 15 minutos, com a parte basal imersa em água para evitar que ocorresse ressecamento durante o período de alimentação das lagartas. No experimento visando determinar a persistência do extrato, em que foi utilizado apenas o genótipo Piranão, as plantas foram cultivadas em casa de vegetação em sacos plásticos com capacidade para 10 kg de solo.

¹ NISHIKAWA, M.A.N. (ESALQ. Departamento de Genética. Piracicaba). Comunicação Pessoal, 1995.

3.2.2 Folhas e ramos de *T. pallida*

3.2.2.1 Coleta

O material vegetal, folhas e ramos (galhos sem folhas) de *T. pallida*, foi coletado no Parque Ecológico “Mata de Santa Genebra”, distrito de Barão Geraldo, município de Campinas, SP. A identificação da espécie foi feita pela botânica Patrícia Lobo, do Instituto de Biologia da UNICAMP, sendo uma excicata dessa planta depositada no herbário do referido Instituto.

3.2.2.2 Obtenção dos extratos

Os extratos foram preparados no Centro de Pesquisa de Química Básica (CPQBA/UNICAMP) e no Centro Nacional de Pesquisa e Monitoramento Ambiental (CNPMA/EMBRAPA).

Folhas e ramos de *T. pallida* foram secos separadamente em estufa com circulação de ar, a 45°C, por 48 h, e triturados em moinho de facas até a obtenção de um pó fino. Os pós foram armazenados em frascos hermeticamente fechados até o preparo dos extratos, quando então foram extraídos por maceração com metanol ou acetona. A cada 24 h, o extrato era decantado e filtrado em papel Whatman® e o metanol ou acetona era novamente acrescentado ao material vegetal, até completar a extração. O extrato filtrado foi concentrado em rotaevaporador a 40°C, à pressão reduzida, mediante o uso da trompa de água. Os resíduos concentrados obtidos nas sucessivas extrações foram agrupados resultando nos extratos metanólico e acetônico, respectivamente. Para cada solvente foram obtidos separadamente os extratos de folhas e de ramos. Com esses extratos, foram conduzidos testes de eficiência, selecionando-se o acetônico (folhas e ramos) como o mais eficiente em relação a *S. frugiperda*. Os extratos acetônicos (folhas e ramos) foram submetidos a uma cromatografia de partição com os solventes acetato de

etila e hexano, obtendo-se, conseqüentemente, os extratos acetato de etila e hexânico.

3.2.2.3 Tratamento das folhas de milho com extratos

No momento da utilização, os concentrados obtidos pelo processo anteriormente descrito, foram diluídos em acetona para obtenção das diferentes concentrações do extrato utilizadas em cada experimento. Para tratamento com os extratos, pedaços de folhas de 5 X 3 cm foram mergulhados por um período de 2 segundos, nas respectivas suspensões. Idêntico procedimento foi adotado em relação aos dois tratamentos padrões denominados testemunha água em que as folhas foram tratadas com água destilada e testemunha acetona em que as folhas foram tratadas com acetona. Estas testemunhas foram incluídas isoladamente ou simultaneamente, dependendo do experimento. Após o tratamento, os pedaços de folhas eram distribuídos sobre uma superfície coberta com papel toalha, onde permaneciam ao ar livre até a evaporação do solvente ou do excesso de água. As lagartas eram, então, colocadas em tubos de vidro (8,0 x 2,5 cm) contendo as folhas tratadas e uma tira de papel de filtro (3 x 1 cm) que era mantida úmida. Esse procedimento era repetido diariamente, momentos antes da troca das folhas utilizadas para alimentação das lagartas.

3.3 Bioensaios

3.3.1 Efeito de extratos orgânicos de ramos e folhas de *T. pallida* na sobrevivência de *S. frugiperda*

3.3.1.1 Efeito de diferentes concentrações dos extratos acetônico e metanólico

Lagartas recém-eclodidas foram mantidas em tubos de vidro e alimentadas com folhas de milho (genótipo Piranão) tratadas com os extratos acetônico e metanólico, nas concentrações de 1,0%; 0,2%; 0,04% e 0,008%. Como testemunhas, foram incluídas folhas tratadas com acetona e água (conforme descrito em 3.2.2.3). Foram utilizadas 30 lagartas por tratamento, avaliando-se a mortalidade diariamente até o 10º dia.

Os dados de porcentagem de lagartas mortas foram analisados estatisticamente, no 3º dia após a aplicação do extrato, quando, em pelo menos um dos tratamentos, foi constatada mortalidade larval de, no mínimo, 95%. Com os dados de mortalidade diária até o 10º dia, foi estimado, para cada tratamento, o tempo necessário para matar 50% da população (TL_{50}), através de análise de Probit.

3.3.1.2 Efeito de diferentes concentrações dos extratos acetato de etila e hexânico obtidos da partição do extrato acetônico

As partições acetato de etila e hexânica obtidas a partir do extrato acetônico (selecionado através do experimento descrito no item 3.3.1.1) foram avaliadas quanto à atividade biológica determinando-se a mortalidade diária até o 10º dia, utilizando-se 40 lagartas por tratamento. Foram utilizadas as concentrações 1,0%; 0,2%; 0,04% e 0,008% dos extratos, além das testemunhas acetona e água.

Os dados de porcentagem de lagartas mortas foram analisados estatisticamente, no 5º dia após a aplicação do extrato, quando, em pelo menos um dos tratamentos, foi constatada mortalidade larval de, no mínimo 95%. Com os dados de mortalidade diária até o 10º dia, foi estimado, para cada

tratamento, o tempo necessário para matar 50% da população (TL₅₀), através de análise de Probit.

3.3.2 Desenvolvimento e sobrevivência de *S. frugiperda* alimentada com folhas de milho tratadas com diferentes concentrações do extrato acetato de etila de *T. pallida*

3.3.2.1 Lagartas alimentadas com folhas tratadas desde a eclosão

Para esse teste, lagartas recém-eclodidas foram individualizadas em tubos de vidro, recebendo, como alimento, folhas de milho do genótipo Piranão tratadas com diferentes concentrações do extrato acetato de etila de *T. pallida* (folhas mais ramos), incluindo-se ainda as testemunhas água e acetona.

Foram testadas seis concentrações obtidas através da fórmula:

$$q = {}^{n+1}\sqrt{a_n / a_1}$$

onde,

q = razão da progressão geométrica (p.g.)

n = número de concentrações a extrapolar

a_n = limite superior da p.g. (concentração que provoca mortalidade de cerca de 95%, determinada através de um teste preliminar)

a₁ = limite inferior da p.g. (concentração que provoca mortalidade semelhante à testemunha, determinada através de um teste preliminar)

Assim, as concentrações testadas (a_1 ; $a_1.q$; $a_1.q^2$; $a_1.q^3$; $a_1.q^4$ e $a_1.q^5$) foram: 0,0001%; 0,0008%; 0,006%; 0,05%; 0,4% e 3%.

Os seguintes parâmetros foram avaliados: CL₅₀ (concentração letal 50) oral, duração e viabilidade das fases larval e pupal e peso de pupas (com 24 h).

O valor da CL_{50} oral foi estimado, através de análise de Probit, com base no número de lagartas mortas no 7º dia após o início do experimento.

3.3.2.2 Lagartas alimentadas com folhas tratadas a partir dos 10 dias de idade.

Para esse teste, as lagartas passaram a receber as folhas de milho tratadas com extrato apenas a partir dos 10 dias de idade, tendo sido criadas, até essa fase, em dieta artificial de Burton & Perkins (1972).

Os demais procedimentos foram similares aos descritos no item 3.3.2.1.

3.3.3 Desenvolvimento e sobrevivência de *S. frugiperda* submetida ao tratamento tópico com o extrato acetato de etila de *T. pallida*

Nesse experimento, lagartas com 10 dias, criadas até essa idade em dieta artificial de Burton & Perkins (1972) foram tratadas topicamente com as mesmas concentrações de extrato empregadas nos itens 3.3.2.

O tratamento foi efetuado com um microaplicador automático (modelo Arnold LV 65, Burkark Manufacturing Co. Ltd.), aplicando-se um 1 μ L do extrato no pronoto de cada lagarta. Foram utilizadas 50 lagartas por tratamento (concentração). Após a aplicação tópica, as lagartas foram novamente colocadas nos tubos contendo dieta artificial, onde permaneceram até completar o desenvolvimento.

Além da estimativa da CL_{50} tópica, foram avaliados a duração e viabilidade das fases larval e pupal, e o peso de pupas (com 24 h).

3.3.4 Efeito do extrato acetato de etila de *T. pallida* sobre o desenvolvimento e sobrevivência de *S. frugiperda* alimentada com diferentes genótipos de milho

Lagartas recém-eclodidas foram individualizadas em tubos de vidro e alimentadas diariamente com folhas de quatro genótipos de milho (Piranão, CMS 14C, ZC e ESALQ-PB-4) tratadas com extrato de *T. pallida* (folhas mais ramos). Como testemunhas, foram utilizadas folhas dos respectivos genótipos tratadas com água. Foram utilizadas 60 lagartas por tratamento. A concentração utilizada (0,001%) foi selecionada com base no experimento constante no item 3.3.2.1. O objetivo, nesse experimento, foi utilizar uma concentração que provocasse baixa mortalidade para permitir a observação do efeito associado do extrato e dos genótipos de milho no desenvolvimento do inseto.

Foram avaliados os seguintes parâmetros biológicos: duração e viabilidade das fases larval e pupal, peso de lagartas (com 10 dias de idade) e de pupas (com 24 h).

3.3.5 Persistência do extrato acetato de etila de *T. pallida* aplicado sobre plantas de milho.

Plantas de milho (genótipo Piranão), mantidas em sacos plásticos, em condições de casa de vegetação, com 10 dias de idade, foram pulverizadas com o extrato acetato de etila de *T. pallida* (folhas mais ramos), a 2%, em diferentes épocas de modo a se dispor, no início do experimento, de plantas com a mesma idade e pulverizadas há 7, 3 e 1 dia. Como testemunha, foram utilizadas plantas pulverizadas com acetona. Foram pulverizadas 30 plantas (distribuídas em espaçamento de 0,90 x 0,20 m) de cada tratamento, aplicando-se uma quantidade de suspensão (extrato a 2%) de 200 L/ha.

Lagartas recém-eclodidas e de 10 dias de idade (criadas até então em dieta artificial de Burton & Perkins, 1972) foram mantidas em laboratório e alimentadas com folhas dessas plantas, as quais eram substituídas diariamente, ocasião em que era avaliada a ocorrência de mortalidade. No 10º dia, as lagartas foram pesadas, mortas em álcool 70% e avaliadas em relação à medida de suas cápsulas cefálicas. Essas medidas foram comparadas com os dados de Ferraz (1982) obtidos para cada um dos 6 ínstaras larvais de *S. frugiperda* (Tabela 1), para estabelecer a frequência de lagartas por ínstar em cada tratamento.

Tabela 1- Largura da cápsula cefálica de cada ínstar larval de *Spodoptera frugiperda*, criada em dieta artificial. Temperatura: 25°C; UR: $\pm 10\%$; fotofase: 14 h.

Ínstar	Intervalo de Variação (mm)
1º	0,32 - 0,35
2º	0,50 - 0,53
3º	0,71 - 0,81
4º	1,07 - 1,27
5º	1,57 - 1,94
6º	2,42 - 2,99

Fonte: Ferraz (1982)

3.4 Análise Estatística

Para todos os experimentos, os dados foram analisados pelo pacote computacional SANEST (Versão 3.0). Em todos os ensaios, o delineamento experimental foi inteiramente casualizado. Os dados de peso e duração foram agrupados em médias de 10 repetições, enquanto na análise da mortalidade, os dados foram agrupados em 5 repetições por tratamento e, nesse caso, transformados em porcentagem. Os dados de cápsula cefálica foram transformados em $\sqrt{x+0,5}$. A comparação entre as médias dos tratamentos foi feita pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Os valores de CL_{50} e TL_{50} , foram estimados por análise de Probit de acordo com o pacote MOBAE (Modelos Bioestatísticos Aplicados à Entomologia) (Haddad et al., 1995).

Figura 1. *Trichilia pallida* (Meliaceae): A- Ramos com frutos e B- sementes

4 Resultados e Discussão

4.1 Efeito de extratos orgânicos de ramos e folhas de *Trichilia pallida* na sobrevivência de *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith, 1797)

4.1.1 Efeito de diferentes concentrações dos extratos acetônico e metanólico

Os dados médios de mortalidade larval de *S. frugiperda*, no 3º dia após a aplicação dos extratos acetônico e metanólico de folhas e ramos de *T. pallida*, correspondendo ao período em que foi constatada mortalidade mínima de 95% em pelo menos um dos tratamentos, indicaram um efeito diferenciado dos referidos extratos (Tabela 2).

Assim, verificou-se que, nas quatro concentrações testadas, o extrato metanólico obtido de folhas foi o menos ativo, causando mortalidade de 36,66%; 33,33%; 16,67% e 23,33%, nas concentrações de 1%; 0,2%; 0,04% e 0,008%, respectivamente, diferindo, em todas elas, dos valores observados nos demais tratamentos. Os valores de mortalidade larval obtidos com o uso dos demais extratos (acetônico de folhas, acetônico de ramos e metanólico de ramos) não diferiram entre si e variaram entre 80,00% e 96,67% a 1%; 70,00% e 80,00% a 0,2%; 53,33% e 79,97% a 0,04% e 60,00% a 63,33% a 0,008%

(Tabela 2). As mortalidades, no 3º dia, registradas na testemunha tratada com acetona e na testemunha tratada com água foram, respectivamente, 3,33% e 10,00% (Figuras 2 a 5), indicando que o experimento foi desenvolvido em boas condições e que a acetona, utilizada para diluir os extratos, não afetou a efetividade dos mesmos. A observação dos dados de mortalidade acumulada nos dias subseqüentes até o final da avaliação (10º dia) também revelou menor atividade do extrato metanólico de folhas, no qual a mortalidade de 100% das lagartas só foi registrada na concentração de 1%, no 6º dia. Nos demais tratamentos, a mortalidade total só não foi atingida na menor concentração (0,008%) do extrato acetônico de folhas e, mesmo assim, o valor registrado foi de 93,33% aos 10 dias. Com extratos de ramos, ocorreu 100% de mortalidade em todos os tratamentos, a qual foi retardada, na menor concentração, onde foram necessários 7 dias (extrato metanólico) e 8 dias (extrato acetônico) (Figuras 2 a 5).

A menor atividade do extrato metanólico obtido das folhas de *T. pallida* foi confirmada pela observação dos dados de tempo letal 50 (TL₅₀), cujos valores foram sempre maiores nesse tratamento (3,67; 4,13; 5,21 e 7,33 dias, nas concentrações de 1%; 0,2%; 0,04% e 0,008%, respectivamente) quando comparados aos obtidos nos demais tratamentos (1,47 a 2,24; 2,31 a 2,59; 2,37 a 3,09, e 2,79 a 3,08 dias, respectivamente (Tabela 3).

Com base nos valores de mortalidade aos 3 e 10 dias e nos dados de TL₅₀ obtidos para folhas e ramos, pôde-se concluir que o solvente acetona apresentou maior eficiência que o metanol na extração dos compostos ativos de *T. pallida*. Em função disso e por ser a acetona menos tóxica ao homem que o metanol, durante o manuseio, ela foi selecionada para as extrações posteriores.

Considerando-se apenas o metanol, constatou-se que o extrato de ramos apresentou maior toxicidade que o extrato de folhas. Essa maior atividade dos componentes extraídos dos ramos em relação aos extraídos das folhas também foi encontrada com o emprego de extratos aquosos dessa planta em relação a

S. frugiperda, tanto quando incorporados em dieta artificial (Rodríguez, 1995) como quando utilizados no tratamento de folhas de milho (Torrecillas, 1997).

Tabela 2. Mortalidade (%) de lagartas de *Spodoptera frugiperda*, 3 dias após o início da alimentação, com folhas de milho tratadas com os extratos acetônico e metanólico obtidos de folhas e ramos de *Trichilia pallida*. Temperatura: $25\pm 2^{\circ}\text{C}$; UR de $60\pm 10^{\circ}\text{C}$; fotofase: 14 h

Extrato	Concentração (%)*			
	1	0,2	0,04	0,008
Acetona folhas	96,67 a	80,00 a	80,00 a	60,00 a
Acetona ramos	80,00 a	70,00 a	53,33 a	63,33 a
Metanol folhas	36,67 b	33,33 b	16,67 b	23,33 b
Metanol ramos	83,33 a	76,67 a	63,33 a	60,00 a

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

Tabela 3. Valores de tempo letal 50 (TL_{50}) para lagartas de *Spodoptera frugiperda*, obtidos com os extratos acetônico e metanólico de folhas e ramos de *Trichilia pallida*. Temperatura: $25\pm 2^{\circ}\text{C}$; UR: $60\pm 10^{\circ}\text{C}$; fotofase: 14 h.

Extrato	Concentração (%)			
	1	0,2	0,04	0,008
Acetona folhas	1,47	2,31	2,37	3,08
Acetona ramos	2,24	2,59	3,09	2,79
Metanol folhas	3,67	4,13	5,21	7,33
Metanol ramos	2,08	2,44	2,80	3,08

Figura 2. Mortalidade diária acumulada de lagartas de *Spodoptera frugiperda* criadas em folhas de milho tratadas com o extrato acetônico de folhas de *Trichilia pallida*. Temperatura: $25 \pm 2^\circ\text{C}$; UR: $60 \pm 10^\circ\text{C}$; fotofase: 14 h.

Figura 3. Mortalidade diária acumulada de lagartas de *Spodoptera frugiperda* criadas em folhas de milho tratadas com o extrato metanólico de folhas de *Trichilia pallida*. Temperatura: $25 \pm 2^\circ\text{C}$; UR: $60 \pm 10^\circ\text{C}$; fotofase: 14 h.

Figura 4. Mortalidade diária acumulada de lagartas de *Spodoptera frugiperda* criadas em folhas de milho tratadas com o extrato acetônico de ramos de *Trichilia pallida*. Temperatura: $25 \pm 2^\circ\text{C}$; UR: $60 \pm 10^\circ\text{C}$; fotofase: 14 h.

Figura 5 Mortalidade diária acumulada de lagartas de *Spodoptera frugiperda* criadas em folhas de milho tratadas com o extrato metanólico de ramos de *Trichilia pallida*. Temperatura: $25 \pm 2^\circ\text{C}$; UR: $60 \pm 10^\circ\text{C}$; fotofase: 14 h.

4.1.2 Efeito de diferentes concentrações dos extratos acetato de etila e hexânico obtidos da partição do extrato acetônico

Os extratos acetato de etila e hexânico obtidos a partir de uma cromatografia de partição do extrato acetônico bruto de *T. pallida* apresentaram atividade diferenciada em relação às lagartas de *S. frugiperda*, dependendo da concentração testada. Considerando-se os dados médios de mortalidade larval no 5º dia após a aplicação (período em que ocorreu mortalidade mínima de 95% em pelo menos um dos tratamentos), verificou-se efeito diferenciado dos tratamentos apenas nas duas maiores concentrações (Tabela 4).

A maior discriminação entre os tratamentos ocorreu a 1%, onde a maior atividade foi obtida com o uso do extrato acetato de etila tanto de folhas como de ramos, cujos valores de mortalidade (respectivamente, 87,50% e 95,00%) não diferiram entre si mas foram superiores àqueles registrados com o extrato hexânico de folhas (62,50%) e de ramos (37,50%), os quais diferiram entre si. A 0,2%, os tratamentos formaram dois grupos distintos, sendo novamente mais eficientes aqueles em que foi utilizado o acetato de etila, para os quais os valores (72,50% para folhas e 82,50% para ramos) não diferiram entre si, mas foram estatisticamente superiores aos registrados para o extrato hexânico (30,00% e 15,00%, para folhas e ramos, respectivamente), que também não diferiram entre si. Para as duas concentrações menores, embora os valores de mortalidade tenham variado entre 10,00% e 35,00% (a 0,04%) e entre 10,00% e 25,00% (a 0,008%), não houve diferença significativa entre as médias dentro de cada concentração, embora a 0,04% seja clara a tendência de menor atividade do extrato hexânico de ramos. As mortalidades registradas na testemunha tratada com acetona e na testemunha tratada com água, no 5º dia, foram, respectivamente, 7,50% e 0,00% (Figuras 6 a 9), indicando que também nesse caso, o experimento foi desenvolvido em boas condições.

A observação dos dados de mortalidade acumulada nos dias subseqüentes até o final da avaliação (10º dia) também revelou maior atividade

do extrato acetato de etila em relação ao hexânico. Assim, para os extratos obtidos com esse solvente, ocorreu mortalidade total das lagartas nas duas maiores concentrações (aos 7 dias a 1% e aos 8 dias a 0,2%, para o extrato de ramos e aos 7 dias a 1% e aos 8 dias a 0,2%, para o extrato de folhas). Já com os extratos obtidos com hexano, a mortalidade, aos 10 dias, com extrato de ramos, só atingiu 100% na maior concentração, tendo chegado, com o extrato de folhas, ao máximo de 95% (na maior concentração) (Figuras 6 a 9).

A maior atividade do extrato acetato de etila em relação ao hexânico, nas duas maiores concentrações, pode ser confirmada pela observação dos dados de tempo letal 50 (TL_{50}), cujos valores foram sempre menores nesse extrato (2,87 e 3,07 dias a 1% e 3,89 e 3,81 dias a 0,2%, para folhas e ramos, respectivamente), que no extrato hexânico (4,52 e 5,05 dias a 1% e 10,46 e 7,28 dias a 0,2%, respectivamente) (Tabela 5). No que se refere às duas concentrações menores, em que não houve diferença estatística entre tratamentos dentro de cada concentração, a observação dos dados de TL_{50} revelou, entretanto, maior atividade do extrato acetato de etila, principalmente a 0,04%, onde os tempos letais foram 5,62 dias (folhas) e 6,44 dias (ramos) contra 16,65 dias (folhas) e 17,77 dias (ramos) registrados no extrato hexânico. Ainda que de forma menos acentuada, isso também ocorreu a 0,008%, onde os valores foram, respectivamente, 11,88 e 12,80 dias para o extrato acetato de etila e 19,12 e 29,01 dias para o extrato hexânico (Tabela 5). Essa discrepância, quando são comparados os dois parâmetros para diferenciação da atividade pode ser explicada pelo maior incremento da mortalidade larval, a partir do 5º dia, no extrato acetato de etila que no hexânico, o que pode ser confirmado pelos maiores valores de mortalidade acumulada aos 10 dias tanto a 0,04% (97,50% e 87,50% para acetato de etila e 37,50% e 20,00% para hexano) como a 0,008% (52,50% e 40,00% para acetato de etila e 32,50% e 15,00% para hexano), respectivamente, com folhas e ramos (Figuras 6 a 9).

Os dados de mortalidade larval no 5º dia e os valores estimados de TL_{50} evidenciaram que o extrato acetato de etila apresentou maior atividade que o

hexânico. No extrato acetato de etila, os dados com folhas e ramos foram semelhantes para os dois parâmetros analisados, podendo as duas partes vegetais ser utilizadas indistintamente no preparo de extratos de *T. pallida*.

Embora as atividades dos extratos utilizados no primeiro experimento (acetônico e metanólico) não tenham sido comparadas estatisticamente com as atividades dos extratos testados no segundo experimento (acetato de etila e hexânico), pode-se constatar (considerando-se que, nos dois experimentos, as mortalidades foram baixas nas testemunhas) que os primeiros foram aparentemente mais ativos que os últimos já que apresentaram menores valores de TL_{50} , em todas as concentrações.

Por outro lado, no caso desse segundo experimento, a maior atividade dos componentes extraídos dos ramos em relação aos extraídos das folhas (registrada por Rodríguez, 1995 e Torrecillas, 1997, com extratos aquosos de mesma espécie vegetal) só foi constatada para a maior concentração do extrato hexânico.

Tabela 4. Mortalidade (%) de lagartas de *Spodoptera frugiperda*, 5 dias após o início da alimentação, com folhas de milho tratadas com os extratos acetato de etila e hexânico de folhas e ramos de *Trichilia pallida*. Temperatura: 25±2°C; UR: 60±10°C; fotofase: 14 h.

Extrato	Concentração (%) [*]			
	1	0,2	0,04	0,008
Acet. etila folhas	87,50 a	72,50 a	30,00 a	17,50 a
Acet. etila ramos	95,00 a	82,50 a	35,00 a	25,00 a
Hexano folhas	62,50 b	30,00 b	25,00 a	17,50 a
Hexano ramos	37,50 c	15,00 b	7,50 a	10,00 a

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

Tabela 5. Valores de tempo letal 50 (TL₅₀) para lagartas de *Spodoptera frugiperda*, obtidos com os extratos acetato de etila e hexânico de folhas e ramos de *Trichilia pallida*. Temperatura: 25±2°C; UR: 60±10°C; fotofase: 14 h.

Extrato	Concentração (%)			
	1	0,2	0,04	0,008
Acet. etila folhas	2,87	3,89	5,62	11,88
Acet. etila ramos	3,07	3,81	6,44	12,80
Hexano folhas	4,52	10,46	16,65	19,12
Hexano ramos	5,05	7,28	17,77	29,01

Figura 6. Mortalidade diária acumulada de lagartas de *Spodoptera frugiperda* criadas em folhas de milho tratadas com o extrato hexânico de folhas de *Trichilia pallida*. Temperatura: $25 \pm 2^\circ\text{C}$; UR: $60 \pm 10^\circ\text{C}$; fotofase: 14 h.

Figura 7. Mortalidade diária acumulada de lagartas de *Spodoptera frugiperda* criadas em folhas de milho tratadas com o extrato acetato de etila de folhas de *Trichilia pallida*. Temperatura: $25 \pm 2^\circ\text{C}$; UR: $60 \pm 10^\circ\text{C}$; fotofase: 14 h.

Figura 8. Mortalidade diária acumulada de lagartas de *Spodoptera frugiperda* criadas em folhas de milho tratadas com o extrato hexânico de ramos de *Trichilia pallida*. Temperatura: $25 \pm 2^\circ\text{C}$; UR: $60 \pm 10^\circ\text{C}$; fotofase: 14 h.

Figura 9. Mortalidade diária acumulada de lagartas de *Spodoptera frugiperda* criadas em folhas de milho tratadas com o extrato acetato de etila de ramos de *Trichilia pallida*. Temperatura: $25 \pm 2^\circ\text{C}$; UR: $60 \pm 10^\circ\text{C}$; fotofase: 14 h.

4.2 Desenvolvimento e sobrevivência de *S. frugiperda* alimentada com folhas de milho tratadas com diferentes concentrações do extrato acetato de etila de *T. pallida*

4.2.1 Lagartas alimentadas com folhas tratadas desde a eclosão

Nas três maiores concentrações (0,05%; 0,4% e 3%) do extrato acetato de etila, nenhuma lagarta de *S. frugiperda* completou a fase larval, não tendo sido obtidos, conseqüentemente, os dados de duração das fases larval e pupal, viabilidade pupal e peso de pupas. A concentração letal $_{50}$ oral (CL_{50}), estimada aos 7 dias após o início do experimento (período em que ocorreu mortalidade de 100% das lagartas na maior concentração), foi de 0,048%, com intervalo de confiança de 0,0319 a 0,0732, ao nível de 5% de probabilidade.

4.2.1.1 Fase larval

Considerando-se as concentrações 0,0001%; 0,0008% e 0,006%, nas quais parte das lagartas completou o desenvolvimento, verificou-se que somente a 0,006% ocorreu efeito do extrato na duração da fase larval de *S. frugiperda*. Nessa concentração, o valor registrado para a duração dessa fase (20,55 dias) foi significativamente maior que aqueles obtidos nos demais tratamentos, nos quais os mesmos variaram entre 15,10 e 17,00 dias e não diferiram significativamente entre si. Isso permite estabelecer que, nas menores concentrações (0,0001% e 0,0008%), as lagartas apresentaram a mesma taxa de desenvolvimento verificada na testemunha acetona e na testemunha água, muito embora na concentração de 0,0008% o valor médio tenha sido quase 2 dias maior que nas testemunhas (Tabela 6). Prolongamento da fase larval

dessa praga, em consequência do tratamento com extrato aquoso de *T. pallida*, também foi observado por Rodríguez (1995) e Torrecillas (1997).

No que se refere à viabilidade larval, além dos valores nulos encontrados nas três maiores concentrações, verificou-se redução na sobrevivência larval a 0,006% onde a viabilidade média (27,50%) foi estatisticamente menor que as registradas nos demais tratamentos, para os quais os valores não diferiram entre si embora tenham variado entre 55,00% (a 0,0008%) e 75,00% (testemunha água) (Tabela 6).

Tabela 6. Duração e viabilidade da fase larval de *Spodoptera frugiperda* alimentada, desde a eclosão, com folhas de milho tratadas com diferentes concentrações do extrato acetato de etila de *Trichilia pallida*. Temperatura: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14 h.

Concentração (%)	Duração* (dias)	Viabilidade* (%)
Test. água	15,10 b	75,00 a
Test. acetona	15,50 b	72,00 a
0,0001	16,00 b	70,00 a
0,0008	17,00 b	55,00 a
0,006	20,55 a	27,50 b
0,05	----	0,0 c
0,4	----	0,0 c
3	----	0,0 c
CV(%)	9,87	29,34

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

Apesar da ocorrência de mortalidade de 100% das lagartas ao final da fase larval nas três maiores concentrações, verifica-se que houve variação na mortalidade acumulada ao longo da referida fase. Assim, enquanto a 3%, a mortalidade larval no 10º dia já era de 100%, para as concentrações de 0,4% e 0,05%, os valores de mortalidade atingiram 97,5% e 77,5%, respectivamente. Por outro lado, a mortalidade de 100% (atingida aos 5 dias a 3%) só foi verificada aos 6 dias a 0,4% e aos 10 dias a 0,05% (Figura 10).

Figura 10- Mortalidade larval acumulada de *Spodoptera frugiperda* alimentada, desde a eclosão, com folhas de milho tratadas com diferentes concentrações do extrato acetato de etila de *Trichilia pallida*. Temperatura: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14 h.

Foi observado ainda, principalmente nas maiores concentrações, que muitas lagartas morreram durante a ecdise sem conseguir liberar totalmente a exúvia (que geralmente ficava presa na parte posterior do abdome) (Figura 11), enquanto outros insetos morreram numa fase intermediária entre pré-pupa e pupa. Essas alterações morfológicas provavelmente tenham sido resultantes de efeitos de componentes químicos do extrato no sistema hormonal do inseto. Em relação à não liberação da exúvia, Mordue (Luntz) & Blackwell (1993) observaram sintomas semelhantes em lagartas submetidas a diferentes doses de azadiractina e atribuíram essas alterações à redução na concentração do ecdisônio ou atraso na sua liberação na hemolinfa. A ocorrência de indivíduos mortos numa fase intermediária entre pré-pupa e pupa (também constatada por Rodríguez, 1995, com uso de extratos aquosos de meliáceas e por Govindachari, 1992; Klocke, 1987 e Redfern et al., 1981, com utilização de azadiractina), pode também ser resultante desse tipo de efeito sobre o ecdisônio ou então da alteração do nível ou atividade do hormônio juvenil, que ocorre, segundo Tanzubil & McCaffery (1990), pela ingestão de substâncias tóxicas do extrato pelas lagartas.

Figura 11. Alterações morfológicas em lagartas de *Spodoptera frugiperda* alimentadas com folhas de milho tratadas com extrato acetato de etila de *Trichilia pallida*.

4.2.1.2 Fase pupal

Também em relação à duração e peso da fase pupal, comparando-se as três concentrações do extrato que permitiram o desenvolvimento de parte das lagartas de *S. frugiperda* e os tratamentos testemunha, constatou-se que houve efeito do extrato apenas na maior concentração (0,006%) (Tabela 7).

No caso da duração dessa fase, o valor médio (13,00 dias) registrado nessa concentração foi maior que os encontrados nos demais tratamentos (nos quais a variação foi de 11,10 a 11,40 dias) com exceção apenas daquele obtido na testemunha água (11,69 dias) (Tabela 7). Torrecillas (1997), trabalhando com extratos aquosos de ramos e folhas de *T. pallida*, não encontrou efeito dos mesmos na duração da fase pupal.

Quanto ao peso de pupas, o valor médio (139,22 mg) registrado na concentração de 0,006% diferiu daqueles obtidos em todos os outros tratamentos, cujos valores médios não apresentaram diferença significativa entre si, embora tivesse ocorrido variação entre 209,11 e 233,60 mg (Tabela 7). O efeito do referido extrato no peso de pupas coincide com os dados obtidos por Torrecillas (1997) que, também observou pupas mais leves em tratamentos cujas lagartas receberam folhas tratadas com diversas concentrações de extratos aquosos dessa meliácea.

Em relação à viabilidade pupal, embora tenha sido observada uma tendência de menor valor (80,00%) na maior concentração, este não diferiu daqueles verificados nos demais tratamentos, nos quais os valores médios variaram entre 87,50% e 95,00% (Tabela 7). Nos experimentos desenvolvidos por Torrecillas (1997), o efeito dos extratos aquosos (a 0,1%; 1% e 5%) na viabilidade pupal foi variável, tendo sido observado na maior concentração tanto com extratos de folhas como com o extrato de ramos e, na menor concentração, apenas com extrato de ramos.

Tabela 7. Duração, peso e viabilidade da fase pupal de *Spodoptera frugiperda* proveniente de lagartas alimentadas, desde a eclosão, com folhas de milho tratadas com o extrato acetato de etila de *Trichilia pallida*. Temperatura: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14 h.

Concentração (%)	Duração* (dias)	Peso* (mg)	Viabilidade* (%)
Test. água	11,69 ab	233,60 a	95,00 a
Test. acetona	11,31 b	226,30 a	90,00 a
0,0001	11,10 b	209,11 a	90,50 a
0,0008	11,40 b	213,78 a	87,50 a
0,006	13,00 a	139,22 b	80,00 a
CV(%)	9,46	10,02	17,84

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

4.2.2 Lagartas alimentadas com folhas tratadas a partir dos 10 dias de idade

De forma similar ao que foi observado no experimento em que as lagartas receberam folhas tratadas com extrato desde a eclosão (item 4.2.1), também neste experimento, cujo tratamento se iniciou a partir dos 10 dias de idade das lagartas, nenhuma delas atingiu a fase pupal nas três maiores concentrações (0,05%; 0,4% e 3%) do extrato acetato de etila, impossibilitando, também nesse caso, a obtenção dos dados de duração das fases larval e pupal, viabilidade pupal e peso de pupas.

4.2.2.1 Fase larval

Considerando-se as concentrações 0,0001%; 0,0008% e 0,006%, nas quais parte das lagartas completou o desenvolvimento, verificou-se que não houve efeito do extrato sobre a duração da fase larval, a qual variou entre 18,67 e 19,50 dias (Tabela 8).

A diferença nos valores de duração obtidos nas testemunhas nesse experimento (cerca de 19 dias) em relação aos constatados nas testemunhas do ensaio em que as lagartas foram alimentadas com folhas tratadas desde a eclosão (cerca de 15 dias), possivelmente foi devido ao substrato alimentar (dieta artificial) recebido durante os primeiros dias da fase larval, além do próprio período de adaptação por ocasião da substituição da dieta pelas folhas de milho, já que tem sido constatado um alongamento da fase larval de *S. frugiperda* criada em dieta artificial quando comparada àquela registrada pelo inseto criado, em condições ambientais semelhantes, em dieta natural (folhas de milho) (Kasten Jr. et al., 1978 e Ferraz, 1982). É possível também que oscilações de temperatura no laboratório e diferenças no vigor da população das lagartas utilizadas tenham contribuído para essa discrepância.

Em relação à viabilidade larval, além dos valores nulos encontrados nas três maiores concentrações, verificou-se que o menor valor (40,00%) foi registrado na concentração de 0,006%, diferindo dos obtidos nos demais tratamentos. Os valores registrados nas concentrações de 0,0001% e 0,0008% (77,50% e 70,00%) não diferiram do encontrado na testemunha acetona (72,50%). A maior viabilidade (97,50%) foi constatada na testemunha água, a qual não diferiu apenas da média obtida na concentração de 0,0001% (Tabela 8).

Tabela 8. Duração e viabilidade da fase larval de *Spodoptera frugiperda* alimentada, a partir dos 10 dias de idade, com folhas de milho tratadas com diferentes concentrações do extrato acetato de etila de *Trichilia pallida*. Temperatura: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14 h.

Concentração (%)	Duração* (dias)	Viabilidade* (%)
Test. água	19,08 a	97,50 a
Test. acetona	19,30 a	72,50 b
0,0001	19,50 a	77,50 ab
0,0008	18,67 a	70,00 b
0,006	19,22 a	40,00 c
0,05	----	0,0 d
0,4	----	0,0 d
3	----	0,0 d
CV(%)	13,44	17,66

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

De forma semelhante ao que ocorreu com lagartas recém-eclodidas, também para lagartas alimentadas com folhas tratadas a partir dos 10 dias, houve diferença na mortalidade diária acumulada nas três maiores concentrações do extrato, apesar de em todas elas ter ocorrido mortalidade larval de 100% ao final da fase larval. Assim, verificou-se que no 5º dia após o início do fornecimento de folhas tratadas, a mortalidade que já era de 82,50% na concentração de 3%, havia atingido 52,50% e 25,00%, a 0,4% e 0,05%, respectivamente. Da mesma forma, enquanto a 3%, a mortalidade atingiu

100%, aos 8 dias após o início do tratamento, esse valor de mortalidade só foi atingido aos 10 dias a 0,4% e aos 13 dias a 0,05% (Figura 12).

Figura 12- Mortalidade larval acumulada de *Spodoptera frugiperda* alimentada, a partir dos 10 dias de idade, com folhas de milho tratadas com diferentes concentrações do extrato acetato de etila de *Trichilia pallida*. Temperatura: $25 \pm 2^\circ\text{C}$; UR: $60 \pm 10\%$; fotofase: 14 h.

4.2.2.2 Fase pupal

A exemplo do que foi constatado na duração da fase larval, também a fase pupal não foi afetada pelos tratamentos, com valores médios variando entre 10,59 e 12,44 dias (Tabela 9).

Já no que se refere ao peso das pupas, foi verificado efeito dos tratamentos, sendo o valor obtido na concentração de 0,006% (120,60 mg)

estatisticamente inferior aos observados nos demais tratamentos. Nas demais concentrações, os valores de peso foram intermediários (158,20 e 172,20 mg) diferindo, no entanto, apenas da média registrada na testemunha água (199,00 mg). O valor observado na testemunha acetona (178,46 mg) não diferiu daqueles registrados nas concentrações mais baixas (0,0001% e 0,0008%) e tampouco do valor registrado na testemunha água.

A viabilidade pupal de *S. frugiperda* não foi afetada pelo tratamento das folhas de milho com o extrato acetato de etila, ocorrendo em todos os casos, valores bastante elevados (no mínimo, 97%) (Tabela 9)

Tabela 9. Duração, peso e viabilidade da fase pupal de *Spodoptera frugiperda* proveniente de lagartas alimentadas, a partir dos 10 dias de idade, com folhas de milho tratadas com diferentes concentrações do extrato acetato de etila de *Trichilia pallida*. Temperatura: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14 h.

Concentração (%)	Duração* (dias)	Peso* (mg)	Viabilidade* (%)
Test. água	11,08 a	199,00 a	97,50 a
Test. acetona	11,23 a	178,49 ab	100,00 a
0,0001	10,97 a	158,20 b	100,00 a
0,0008	10,59 a	172,20 b	97,50 a
0,006	12,44 a	120,60 c	97,50 a
CV(%)	18,18	4,52	12,11

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

4.3 Desenvolvimento e sobrevivência de *S. frugiperda* submetida ao tratamento tópico com o extrato acetato de etila de *T. pallida*

Em nenhuma das concentrações testadas (0,0001% a 3%) do extrato acetato de etila, aplicado na região dorsal das lagartas *S. frugiperda*, com 10 dias de idade, ocorreu 100% de mortalidade larval, razão pela qual não foi possível estimar a CL_{50} tópica.

4.3.1 Fase larval

A duração da fase larval de *S. frugiperda* não foi afetada pela aplicação tópica do extrato, apesar de ter sido observada uma variação de 22,36 a 26,10 dias nos valores médios obtidos nos diferentes tratamentos (Tabela 10). A maior duração da fase larval nos tratamentos testemunha nesse experimento, em relação àquele em que se utilizaram folhas de milho continuamente, possivelmente se deveu, conforme discutido no item 4.2.2.1, ao fato das lagartas terem sido alimentadas até os 10 dias em dieta artificial, que normalmente alonga o ciclo (Kasten Jr. et al., 1978 e Ferraz, 1982), além do próprio estresse sofrido pelo inseto quando a referida dieta foi substituída por folhas de milho.

Da mesma maneira, não se observou diferença na viabilidade dessa fase, apesar de ter sido obtida viabilidade variável de 62,50% a 90,00% (Tabela 10).

Tabela 10. Duração e viabilidade da fase larval de *Spodoptera frugiperda* submetida, aos 10 dias de idade, ao tratamento tópico com o extrato acetato de etila de *Trichilia pallida*. Temperatura: $25\pm 2^{\circ}\text{C}$; UR: $60\pm 10\%$; fotofase: 14 h.

Concentração (%)	Duração* (dias)	Viabilidade* (%)
Test. água	23,17 a	90,00 a
Test. acetona	22,36 a	77,50 a
0,0001	22,44 a	62,50 a
0,0008	22,27 a	82,50 a
0,006	22,63 a	80,00 a
0,05	23,08 a	87,50 a
0,4	22,45 a	80,00 a
3	26,10 a	75,00 a
CV(%)	14,16	20,31

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

4.3.2 Fase pupal

Não foram constatadas diferenças entre as durações da fase pupal quando comparados os diferentes tratamentos, cujos valores médios variaram entre 11,78 e 12,45 dias. Tampouco as viabilidades pupais foram afetadas, constatando-se valores superiores a 80% em todos os tratamentos (Tabela 11).

O peso de pupa foi o único parâmetro afetado pela aplicação tópica do

extrato acetato de etila de *T. pallida*. A observação dos dados referentes a esse parâmetro evidencia que as pupas provenientes de lagartas submetidas à aplicação tópica, na concentração de 3%, apresentaram peso menor (182,80 mg) que aquelas submetidas aos demais tratamentos nos quais os valores médios variaram entre 233,33 e 260,11 mg e não diferiram entre si (Tabela 11).

Tabela 11. Duração, peso e viabilidade da fase pupal de *Spodoptera frugiperda* proveniente de lagartas submetidas, aos 10 dias de idade, ao tratamento tópico com o extrato acetato de etila de *Trichilia pallida*. Temperatura: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14 h.

Concentração (%)	Duração* (dias)	Peso* (mg)	Viabilidade* (%)
Test. água	11,91 a	233,33 a	95,00 a
Test. acetona	11,78 a	247,64 a	90,00 a
0,0001	12,00 a	260,11 a	100,00 a
0,0008	12,30 a	240,00 a	92,50 a
0,006	12,40 a	244,00 a	92,50 a
0,05	11,91 a	251,67 a	92,50 a
0,4	12,11 a	253,44 a	82,50 a
3	12,45 a	182,80 b	100,00 a
CV(%)	13,11	11,82	11,25

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

4.4 Efeito do extrato acetato de etila de *T. pallida* sobre o desenvolvimento e sobrevivência de *S. frugiperda* alimentada com diferentes genótipos de milho

4.4.1 Fase larval

A comparação do peso das lagartas de *S. frugiperda*, aos 10 dias de idade, entre as parcelas tratadas e não tratadas com o extrato acetato de etila de *T. pallida*, nos quatro genótipos de milho testados, evidencia que o referido parâmetro foi afetado apenas pelo fator extrato, não sendo significativo o efeito do fator genótipo e tampouco da interação extrato x genótipo.

Assim, considerando-se a média entre os quatro genótipos, verificou-se que os insetos alimentados com folhas tratadas apresentaram peso (134,70 mg) significativamente menor (cerca de 13%), que aqueles alimentados em folhas não tratadas (154,54 mg). Por outro lado, embora o peso larval, aos 10 dias, tenha variado, nos diferentes genótipos, entre 137,58 e 153,67 mg (considerando-se a média entre parcelas tratadas e não tratadas) não houve diferença estatística entre os tratamentos, conforme mencionado anteriormente, evidenciando que os genótipos CMS 14C, Zapalote Chico (ZC) e ESALQ-PB-4, incluídos no presente experimento como materiais resistentes, não apresentaram esse comportamento em relação ao parâmetro biológico em questão (Tabela 12).

De modo análogo ao observado para o peso larval, também a duração dessa fase foi afetada significativamente apenas pelo fator extrato. Levando-se em conta a média entre os quatro genótipos, verificou-se que o uso de extrato nas folhas de milho alongou o período larval (cerca de 9%), tendo sido registradas médias de 17,38 e 18,99 dias nas parcelas não tratadas e tratadas, respectivamente. Em relação aos genótipos, houve bastante semelhança na

duração da fase larval, a qual variou (considerando-se a média entre as folhas tratadas e as não tratadas) de 17,93 a 18,32 dias ratificando o comportamento suscetível dos três materiais incluídos como resistentes (Tabela 13).

A não ocorrência de efeito dos genótipos no peso e duração da fase larval discorda dos resultados encontrados por Viana & Potenza (1991a) em relação aos genótipos CMS 14C e ZC; Silveira et al. (1997) e Vendramim & Fancelli (1988) em relação a 'ZC', bem como dos dados não publicados registrados no Departamento de Genética da ESALQ/USP (Nishikawa¹, op. cit., p.32) em relação ao genótipo ESALQ-PB-4. Já no que se refere aos dois experimentos incluindo 'ZC' e 'CMS 14C' desenvolvidos por Torrecillas (1997), os dados encontrados na presente pesquisa concordam em parte, já que a referida autora observou redução do peso larval apenas em 'ZC' e em um dos experimentos, enquanto que o alongamento da fase foi encontrada para os dois genótipos, porém em apenas um dos experimentos.

Não se constatou efeito significativo dos fatores extrato e genótipo na viabilidade da fase larval, ocorrendo em todos os tratamentos valores médios iguais ou superiores a 80%. Considerando-se a média entre os quatro genótipos, a viabilidade foi de 89,00% nas parcelas não tratadas e de 84,00% nas tratadas. Por outro lado, levando-se em conta a média entre parcelas tratadas e não tratadas, os valores médios registrados nos quatro genótipos variaram entre 84,00% e 90,00% (Tabela 14).

A não ocorrência do efeito dos genótipos CMS 14C e ZC na sobrevivência larval da praga em questão estão de acordo com os resultados obtidos por Torrecillas (1997), Silveira et al. (1997) e Vendramim & Fancelli (1988) que também não encontraram efeito dos referidos materiais sobre esse parâmetro biológico.

Tabela 12. Peso (mg) de lagartas de *Spodoptera frugiperda*, aos 10 dias, alimentadas com genótipos de milho tratados com o extrato acetato de etila, a 0,001%, de *Trichilia pallida*. Temperatura: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14h.

Genótipo	Extrato*		Média
	Sem	Com	
Piranão	154,60	121,75	137,58 a
ESALQ-PB-4	149,92	133,09	141,44 a
CMS 14C	147,25	144,33	145,79 a
Zapalote Chico	167,58	139,75	153,67 a
Média	154,54 A	134,70 B	
CV (%)			15,85

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

Tabela 13. Duração (dias) da fase larval de *Spodoptera frugiperda* alimentada com genótipos de milho tratados com o extrato acetato de etila, a 0,001%, de *Trichilia pallida*. Temperatura: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14h.

Genótipo	Extrato*		Média
	Sem	Com	
Piranão	17,57	19,08	18,32 a
ESALQ-PB-4	17,31	19,16	18,23 a
CMS 14C	17,46	18,37	17,93 a
Zapalote Chico	17,13	19,23	18,19 a
Média	17,38 A	18,99 B	
CV (%)			4,98

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

Tabela 14. Viabilidade (%) da fase larval de *Spodoptera frugiperda* alimentada com genótipos de milho tratados com o extrato acetato de etila, a 0,001%, de *Trichilia pallida*. Temperatura: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14h.

Genótipo	Extrato*		Média
	Sem	Com	
Piranão	88,00	80,00	84,00 a
ESALQ-PB-4	92,00	84,00	88,00 a
CMS 14C	94,00	86,00	90,00 a
Zapalote Chico	82,00	86,00	84,00 a
Média	89,00 A	84,00 A	
CV (%)			11,42

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

4.4.2 Fase pupal

O peso das pupas foi afetado tanto pelo fator genótipo como pelo fator extrato, mas não se observou efeito significativo da interação dos referidos fatores. A alimentação de lagartas com folhas tratadas com extrato provocou diminuição no peso das pupas, registrando-se valores de 204,18 e 187,51 mg nas parcelas não tratadas e tratadas (considerando-se a média entre os quatro genótipos). Em relação ao efeito de genótipos, verificou-se que, nos três materiais selecionados previamente como resistentes a *S. frugiperda*, o peso pupal (variável entre 188,89 e 191,55 mg) (levando-se em conta a média entre

parcelas tratadas e não tratadas) foi significativamente menor que o observado (213,86 mg) no padrão suscetível Piranão (Tabela 15).

O menor peso obtido para as pupas provenientes de lagartas alimentadas em 'ZC' estão de acordo com os dados obtidos na literatura (Silveira et al., 1997; Torrecillas, 1997; Vendramim & Fanceli, 1988; Viana & Potenza, 1991a). No que se refere aos dados obtidos em CMS 14C, os dados de literatura não são concordantes, já que a redução do peso pupal encontrada nessa pesquisa e também nos trabalhos de Viana & Potenza (1991a) não foi confirmada por Torrecillas (1997). O efeito do genótipo ESALQ-PB-4 também foi constatado no experimento realizado no Departamento de Genética da ESALQ/USP (Nishikawa¹, op. cit., p.32).

A duração da fase pupal não foi afetada por nenhum dos fatores testados, registrando-se valores muito próximos (variáveis entre 10,58 e 11,06 dias) quando comparados os oito tratamentos (quatro genótipos de milho, tratados e não tratados) (Tabela 16).

A viabilidade pupal também não foi afetada pelos dois fatores testados. Considerando-se as médias entre os quatro genótipos, os valores registrados nas parcelas não tratadas e tratadas foram, respectivamente, 91,21% e 88,57%. Por outro lado, levando-se em conta a média entre parcelas tratadas e não tratadas, os valores obtidos nos diferentes genótipos variaram entre 84,45% e 95,24% (Tabela 17).

A não observação de efeito dos genótipos na duração e viabilidade da fase pupal estão de acordo com os resultados obtidos por Torrecillas (1997) e Vendramim & Fancelli (1988).

Tabela 15. Peso (mg) de pupas de *Spodoptera frugiperda* provenientes de lagartas alimentadas com genótipos de milho tratados com o extrato acetato de etila, a 0,001%, de *Trichilia pallida*. Temperatura: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14h.

Genótipo	Extrato*		Média
	Sem	Com	
Piranão	220,36	207,36	213,86 a
ESALQ-PB-4	197,67	185,64	191,55 b
CMS 14C	195,42	182,91	189,07 b
Zapalote Chico	204,30	174,67	188,89 b
Média	204,18 A	187,51 B	
CV (%)			7,90

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

Tabela 16. Duração (dias) da fase pupal de *Spodoptera frugiperda* proveniente de lagartas alimentadas com genótipos de milho tratados com o extrato acetato de etila , a 0,001%, de *Trichilia pallida*. Temperatura: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14h.

Genótipo	Extrato*		Média
	Sem	Com	
Piranão	10,58	11,05	10,82 a
ESALQ-PB-4	10,67	10,60	10,64 a
CMS 14C	10,86	10,95	10,91 a
Zapalote Chico	10,75	11,06	10,91 a
Média	10,72 A	10,92 A	
CV (%)			4,18

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

Tabela 17. Viabilidade (%) da fase pupal de *Spodoptera frugiperda* proveniente de lagartas alimentadas com genótipos de milho tratados com o extrato acetato de etila , a 0,001%, de *Trichilia pallida*. Temperatura: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14h.

Genótipo	Extrato*		Média
	Sem	Com	
Piranão	88,89	80,00	84,45 a
ESALQ-PB-4	97,78	92,70	95,24 a
CMS 14C	84,85	86,03	85,44 a
Zapalote Chico	93,33	95,56	94,45 a
Média	91,21 A	88,57 A	
CV (%)			12,29

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

4.5 Persistência do extrato acetato de etila de *T. pallida* aplicado sobre plantas de milho

Na avaliação do desenvolvimento de *S. frugiperda* alimentada na fase larval com folhas de milho pulverizadas com extrato de *T. pallida* (folhas mais ramos) em diferentes períodos (antes de serem oferecidas aos insetos), constatou-se efeito deletério do extrato na sobrevivência e desenvolvimento do inseto, sendo esses efeitos menos acentuados com o tempo de pulverização, tanto para o experimento em que as lagartas receberam as folhas tratadas desde recém-eclodidas como naquele em que as lagartas passaram a receber estas folhas a partir dos 10 dias de idade.

4.5.1 Efeito sobre lagartas alimentadas com folhas tratadas desde a eclosão

Houve diferença na mortalidade larval de *S. frugiperda* em função do tempo (dias) em que as folhas de milho foram tratadas antes de serem oferecidas às lagartas. Assim, considerando-se o número acumulado de lagartas mortas no 10º dia, verifica-se que enquanto no tratamento com folhas pulverizadas há 1 dia, a mortalidade foi de 83,33%, nos tratamentos em que a pulverização tinha ocorrido há 3 e 7 dias o valor foi de 23,33% contra 6,67% de mortalidade na testemunha (pulverizada apenas com acetona) (Figura 13).

O peso das lagartas sobreviventes também foi afetado, tendo sido reduzido em relação à testemunha, em cerca de 80% no tratamento com folhas pulverizadas há 1 dia e aproximadamente 50% nos tratamentos com pulverização há 3 e 7 dias. Apesar de terem sido observadas variações nos pesos em função da época de pulverização (23,67; 25,43 e 11,22 mg para os tratamentos 7, 3 e 1 dia, respectivamente) estes não diferiram estatisticamente

entre si mas apenas em relação ao peso registrado na testemunha (52,84 mg) (Tabela 18).

O atraso no desenvolvimento larval nos tratamentos em que as lagartas receberam folhas tratadas foi confirmado pelas medições de cápsula cefálica no 10º dia. Assim, enquanto 37,84% das lagartas já tinham atingido o 5º ínstar na testemunha, esse índice era de 16,13%, 18,75% e 0% nos tratamentos com pulverizações realizadas há 7, 3 e 1 dia, respectivamente. Em relação à porcentagem de insetos no 3º ínstar, foram constatados resultados contrários com menor valor (2,70%) na testemunha e maior valor (37,50%) no tratamento com pulverização há 1 dia, enquanto nos tratamentos com pulverização há 7 e 3 dias, os valores registrados foram de 19,35% e 28,12%, respectivamente. As demais lagartas vivas aos 10 dias (59,46%; 64,52%; 53,13% e 62,50% do total, nos tratamentos testemunha e com pulverização há 7, 3 e 1 dia, respectivamente) se encontravam no 4º ínstar (Figura 14).

Apesar da não ocorrência de lagartas no 5º ínstar e da maior porcentagem de lagartas menos desenvolvidas (3º ínstar) no tratamento com pulverização há 1 dia em relação àqueles com pulverização há 3 e 7 dias, não houve diferença significativa no valor médio das cápsulas cefálicas entre estes três tratamentos, embora em todos eles o valor tenha sido inferior ao registrado na testemunha (Tabela 18), indicando que mesmo nas folhas tratadas há 7 dias, por ocasião do início da alimentação das lagartas, ainda havia uma quantidade de resíduo do extrato suficiente para provocar atraso no desenvolvimento larval.

FIGURA 13. Mortalidade diária acumulada de lagartas de *Spodoptera frugiperda*, alimentadas desde a eclosão, com folhas de milho pulverizadas com o extrato acetato de etila de *Trichilia pallida*, a 2%, há 7, 3 e 1 dia antes do início da alimentação. Temperatura: $25 \pm 2^\circ\text{C}$; UR: $60 \pm 10\%$; fotofase: 14 h.

Tabela 18. Largura da cápsula cefálica e peso de lagartas de *Spodoptera frugiperda* alimentadas por 10 dias (a contar da eclosão) com folhas de milho pulverizadas com o extrato acetato de etila de *Trichilia pallida*, a 2%, há 7, 3 e 1 dia antes do início da alimentação. Temperatura: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14 h.

Aplicação Prévia (dias)	Peso* (mg)	Cápsula Cefálica* (mm)
Testemunha	52,84 a	1,46 a
7	23,67 b	1,08 b
3	25,43 b	1,14 b
1	11,22 b	1,02 b
CV (%)	1,24	24,51

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

Figura 14. Frequência, por ínstar, de lagartas de *Spodoptera frugiperda*, alimentadas por 10 dias (a contar da eclosão) com folhas de milho pulverizadas com o extrato acetato de etila de *Trichilia pallida*, a 2%, há 7, 3 e 1 dia antes do início da alimentação. Temperatura: $25 \pm 2^\circ\text{C}$; UR: $60 \pm 10\%$; fotofase: 14 h.

4.5.2 Efeito sobre lagartas alimentadas com folhas tratadas a partir dos 10 dias de idade

Verificou-se também nesse experimento em que as lagartas passaram a receber alimento tratado a partir dos 10 dia de idade, que o efeito na sobrevivência larval foi dependente do tempo de pulverização antes do início do fornecimento das folhas tratadas às lagartas. Assim, enquanto no tratamento com folhas tratadas há 1 dia, a mortalidade foi de 60,00%, naqueles com pulverização há 3 e 7 dias, as mortalidades foram de 26,67% e 23,33%, respectivamente e de apenas 6,67% na testemunha (Figura 15).

No que se refere ao peso das lagartas, verifica-se que o efeito do extrato aplicado às folhas só foi verificado com as pulverizações realizadas há 1 e 3 dias. Assim, enquanto na testemunha o peso larval foi de 322,13 mg, nos tratamentos com pulverização há 3 e 1 dia foram registrados pesos de 200,04 e 75,20 mg (reduções de 38% e 77%, respectivamente, em relação à testemunha). O peso obtido no tratamento em que a pulverização tinha sido feita há 7 dias (306,38 mg) não diferiu do encontrado na testemunha (Tabela 19).

O atraso no desenvolvimento larval evidenciado pela diferença no peso larval foi ratificado pelos dados de frequência de lagartas por ínstar, aos 10 dias após o início de fornecimento de folhas tratadas. Assim, enquanto 88,57% das lagartas já haviam atingido o 6° instar na testemunha, nos demais tratamentos esses percentuais eram de 68,75%; 35,29% e 9,09% com pulverização há 7, 3 e 1 dia, respectivamente, ocorrendo tendências opostas em relação ao percentual de lagartas no 5° ínstar nos respectivos tratamentos (11,43%; 31,25%; 64,71% e 86,36%). O único tratamento em que ainda existiam lagartas no 4° ínstar foi aquele com pulverização mais recente (1 dia) (Figura 16). Esses resultados indicam que mesmo nas folhas tratadas há 7 dias, ainda ocorriam resíduos do extrato que provocaram um desenvolvimento larval mais lento.

A diferença na distribuição das lagartas por ínstar nos diversos tratamentos foi ratificado pelas medidas das cápsulas cefálicas das lagartas sobreviventes ao 10º dia de alimentação com folhas tratadas, verificando-se no tratamento testemunha o valor médio de 2,52, o qual diferiu significativamente dos valores (2,06 e 1,79 mm) obtidos, respectivamente, nos tratamentos com pulverização há 3 e 1 dia, os quais também diferiram entre si. O valor obtido no tratamento em que a pulverização tinha sido feita há 7 dias (2,32) não diferiu daqueles registrados na testemunha e no tratamento com pulverização há 3 dias (Tabela 19).

FIGURA 15. Mortalidade diária acumulada de lagartas de *Spodoptera frugiperda*, alimentadas a partir dos 10 dias de idade, com folhas de milho pulverizadas com o extrato acetato de etila de *Trichilia pallida*, a 2%, há 7, 3 e 1 dia antes do início da alimentação. Temperatura: $25 \pm 2^\circ\text{C}$; UR: $60 \pm 10\%$; fotofase: 14 h.

Tabela 19. Largura da cápsula cefálica e peso de lagartas de *Spodoptera frugiperda* alimentadas por 10 dias (a partir dos 10 dias de idade) com folhas de milho pulverizadas com o extrato acetato de etila de *Trichilia pallida*, a 2%, há 7, 3 e 1 dia antes do início da alimentação. Temperatura: 25±2°C; UR: 60±10%; fotofase: 14 h.

Aplicação Prévia (dias)	Peso* (mg)	Cápsula Cefálica* (mm)
Testemunha	322,13 a	2,52 a
7	306,38 a	2,32 ab
3	200,04 b	2,06 b
1	75,20 c	1,79 c
CV (%)	3,58	11,19

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

Figura 16- Frequência, por ínstar, de lagartas de *Spodoptera frugiperda*, alimentadas por 10 dias (a partir dos 10 dias de idade) com folhas de milho pulverizadas com o extrato acetato de etila de *Trichilia pallida*, a 2%, há 7, 3 e 1 dia antes do início da alimentação. Temperatura: $25 \pm 2^\circ\text{C}$; UR: $60 \pm 10\%$; fotofase: 14 h.

4.6 Considerações Finais

Na avaliação da atividade dos diversos extratos orgânicos em relação às lagartas de *S. frugiperda*, constatou-se, no que se refere aos ramos de *T. pallida*, que os extratos metanólico e acetônico foram igualmente ativos, enquanto em relação às folhas, o extrato acetônico apresentou maior atividade que o metanólico. Já na avaliação das partições obtidas do extrato acetônico, o extrato acetato de etila foi mais efetivo que o hexânico em relação às duas estruturas vegetais.

Diversos autores têm constatado uma relação direta entre a polaridade do solvente extrator e a atividade de extratos de meliáceas em relação a *Spodoptera* spp. (Ascher et al., 1984; Mikolajczak & Reed, 1987 e Mikolajczak et al., 1989). Na presente pesquisa, entretanto, isso só foi observado no segundo experimento onde os extratos obtidos com acetato de etila (com maior polaridade) foram mais efetivos que os obtidos com hexano (com menor polaridade). Já no primeiro experimento, o extrato com menor polaridade (acetônico) foi mais ativo que o mais polar (metanólico) quando a matéria prima foi as folhas, não havendo diferença na eficiência quando a extração foi feita a partir dos ramos. McMillian et al. (1969), testando extratos aquoso, hexânico, metil alcoólico e clorofórmico de *M. azedarach* em relação a *S. frugiperda*, encontraram maior atividade com o extrato clorofórmico (menos polar que os extratos aquoso e metil alcoólico). Silva (1995), avaliando plantas de diversas famílias botânicas, cujos extratos foram obtidos com solventes de diferentes polaridades, também não encontrou relação entre polaridade e atividade tóxica sobre *Ceratitis capitata* (Wied.) e *Ascia monuste orseis* (Godart). Assim, os resultados obtidos na presente pesquisa e nesses vários trabalhos citados permitem concluir que a polaridade do solvente extrator é apenas um dos fatores (dentre outros como espécie e estrutura vegetal, organismo alvo, etc.)

que afetam a eficiência de um extrato, não sendo possível estabelecer previamente, apenas com base na polaridade, qual dos extratos obtidos a partir de uma mesma estrutura vegetal de uma planta irá apresentar maior atividade em relação a uma determinada espécie de inseto.

Comparando-se, por outro lado, a eficiência dos extratos em função da estrutura vegetal utilizada como matéria prima, verificou-se que o extrato de ramos foi mais ativo que o de folhas com o uso do extrato metanólico em todas as concentrações testadas e na maior concentração (1%) do extrato hexânico, ocorrendo atividade tóxica semelhante nos demais casos. Estes resultados concordam apenas em parte com aqueles obtidos com extratos aquosos de *T. pallida* em relação a *S. frugiperda* por Rodríguez (1995) e Torrecillas (1997), que encontraram maior atividade tóxica com o extrato de ramos comparado ao de folhas, o que sugere que a maior ou menor eficiência da estrutura vegetal empregada como matéria prima também depende do solvente utilizado para a extração de seus compostos bioativos.

Na avaliação das diferentes concentrações (0,0001% a 3%) do extrato acetato de etila, constatou-se que tanto para lagartas que receberam alimento tratado desde a eclosão como para aquelas em que isso ocorreu a partir dos 10 dias de idade, nenhuma atingiu a fase de pupa em concentrações iguais ou superiores a 0,05%, enquanto que na concentração de 0,006%, entre 28% e 40% (dependendo da idade de início do fornecimento de folhas tratadas) atingiram a referida fase. Nas concentrações em que ocorreu mortalidade larval de 100%, todas as lagartas morreram nos dois primeiros ínstares larvais, o que também foi verificado por Rodríguez (1995) quando testou a atividade inseticida do extrato aquoso a 5% dessa planta em relação a *S. frugiperda*. Foi observado ainda, principalmente nas maiores concentrações, que muitas lagartas morreram durante a ecdise sem conseguir liberar totalmente a exúvia enquanto outros insetos morreram numa fase intermediária entre pré-pupa e pupa, o que pode ser atribuído, conforme discutido anteriormente (item 4.2.1) a alterações

na concentração ou atraso na liberação do ecdisônio e do hormônio juvenil (Govindachari, 1992; Klocke, 1987; Mordue (Luntz) & Blackwell, 1993; Redfern et al., 1981 e Tanzubil & McCaffery, 1990),

O prolongamento do período de desenvolvimento das lagartas sobreviventes em alguns dos tratamentos com extrato acetato de etila, provavelmente tenha sido resultante de uma menor eficiência de conversão do alimento ingerido e digerido causada possivelmente pelo desvio de parte desse alimento para a degradação de substâncias tóxicas presentes no substrato alimentar (Tanzubil & McCaffery, 1990). Entretanto, a ocorrência simultânea de prolongamento da fase larval e redução do peso pupal, constatada em alguns desses tratamentos, sugere que, além de inibir o crescimento, os componentes extraídos de *T. pallida* também provocaram a inibição da alimentação larval (Breuer & Devkota, 1990; Saxena, 1987 e Tanzubil & McCaffery, 1990) o que ocorre, freqüentemente, quando o inseto é submetido a altas dosagens de componentes tóxicos (Tanzubil & McCaffery, 1990).

A ocorrência de inibição alimentar por extratos de meliáceas em *Spodoptera* spp. também foi relatada por Nakatani et al. (1981) e Xie et al. (1994). Rodríguez (1995), analisando os dados obtidos em diversos trabalhos, concluiu que nos casos em que o inseto ingere pouca quantidade do tóxico (em função da baixa dosagem do extrato), ele cresce normalmente, mas é afetado nos estágios posteriores, enquanto que nos casos em que a dosagem utilizada é alta, o inseto é afetado no mesmo estágio biológico em que ingeriu a substância inseticida.

A aplicação tópica do extrato acetato de etila (nas concentrações de 0,0001% a 3%) praticamente não apresentou atividade tóxica sobre o inseto, já que o único efeito observado (menor peso de pupas) ocorreu somente na concentração de 3%, equivalente a 30 µg do concentrado por lagarta, quantidade cerca de 3.000 vezes maior que a de azadiractina que reduziu em cerca de 60% a emergência de adultos provenientes de lagartas de *Spodoptera*

exempta Walker tratadas no 5º instar com a referida substância (Tanzubil & McCaffery, 1990).

Comparando-se o efeito do extrato em função da idade em que as lagartas passaram a receber alimento tratado (recém-eclodidas ou 10 dias), constatou-se que, em relação à fase larval, o referido efeito foi mais drástico nas lagartas mais jovens, o que pode ser melhor caracterizado, observando-se os dados obtidos na concentração de 0,006%. Nessa concentração, o extrato alongou a fase larval e provocou 75% de mortalidade nessa fase no experimento com lagartas recém-eclodidas enquanto que naquelas alimentadas a partir dos 10 dias, não houve alteração na duração da fase, além de ter sido constatada uma mortalidade um pouco menor (60%). Em relação ao peso pupal, entretanto, ocorreu o contrário já que enquanto no tratamento com lagartas recém-eclodidas, a redução do peso só ocorreu a 0,006%, com lagartas alimentadas com extrato a partir dos 10 dias, essa redução foi registrada até mesmo na menor concentração (0,0001%).

O maior efeito do extrato sobre lagartas mais novas também foi verificado no experimento em que se avaliou a persistência do extrato acetato de etila e, em ambos os casos, isto provavelmente se deveu ao fato das lagartas alimentadas com folhas tratadas a partir dos 10 dias terem sido expostas aos compostos tóxicos por um período menor (em relação às recém-eclodidas) e numa idade em que possivelmente elas sejam menos sensíveis a esses compostos. No experimento para avaliação da persistência, a maior atividade do extrato sobre lagartas mais novas só foi observada no tratamento com plantas pulverizadas 1 dia antes do início do experimento, situação em que a mortalidade larval (avaliada após 10 dias) foi de 83% nas lagartas alimentadas desde a eclosão e de 60% naquelas alimentadas a partir dos 10 dias de idade. No que se refere aos dados de peso larval (também avaliado após 10 dias), verificou-se, em todos os tratamentos com extrato, uma maior redução (em

relação às respectivas testemunhas) quando as lagartas foram alimentadas com folhas tratadas desde a eclosão.

Esta maior atividade do extrato em função da idade das lagartas está de acordo com os dados obtidos por Hellpap (1984) que, comparando o efeito de extratos etanólicos e hexânicos de sementes de nim sobre lagartas de *S. frugiperda* com 4 e 10 dias, encontrou maior atividade nas lagartas mais novas.

No experimento cujo objetivo foi avaliar a interação do extrato acetato etila com genótipos resistentes de milho, o efeito do extrato foi pouco acentuado, ocorrendo (em relação às parcelas não tratadas) redução nos pesos larval e pupal e alongamento da fase larval de apenas 13%, 8% e 9%, respectivamente (considerando-se a média entre os 4 genótipos incluídos no experimento). A utilização de uma baixa concentração (0,001%) do extrato (selecionada com base nos resultados obtidos no item 4.2) tinha o objetivo de permitir a verificação simultânea do efeito do extrato e dos genótipos, o que acabou não ocorrendo, já que nem chegou a afetar a sobrevivência do inseto, podendo por isso ser considerada inadequada para ser empregada em experimentos desse tipo.

Nesse mesmo experimento, os genótipos Zapalote Chico, CMS 14C e ESALQ-PB-4 afetaram apenas o peso pupal do inseto, discordando de diversos trabalhos (Nishikawa¹, op. cit., p.32; Silveira et al., 1997; Torrecillas, 1997; Vendramim & Fancelli, 1988; Viana & Potenza, 1991a,b; Viana, 1994) em que os mesmos foram referidos como resistentes a *S. frugiperda*.

Assim, possivelmente em função da baixa concentração do extrato e do reduzido efeito dos genótipos incluídos como resistentes, não foi constatada a interação dos fatores extrato e genótipo, discordando dos resultados obtidos em trabalhos semelhantes com meliáceas e *S. frugiperda* (Torrecillas, 1997 e Vendramim & Scampini, 1997), nos quais a referida interação foi encontrada.

Finalmente no experimento em que se avaliou a persistência do extrato acetato de etila, constatou-se como era esperado, uma variação no efeito do

extrato em função do tempo em que o mesmo tinha sido previamente pulverizado, obtendo-se efeitos mais acentuados sobre o inseto quanto mais recentes tinham sido as aplicações nas plantas de milho. Verificou-se que, apesar da redução da atividade tóxica com o tempo de pulverização, mesmo no tratamento em que esta tinha sido feita 7 dias antes de se iniciar o fornecimento de folhas tratadas às lagartas, ainda havia uma quantidade de resíduos do extrato suficiente para provocar atraso no desenvolvimento da praga em questão.

Apesar da baixa persistência dos produtos inseticidas de origem vegetal em condições de campo ser vantajosa ao ambiente (Koul et al., 1990 e Schmutterer, 1988), ela também pode ser considerada uma desvantagem já que pode não assegurar um período apropriado de controle da praga (Schmutterer, 1990), fazendo com que novas aplicações do extrato se tornem necessárias.

Seria interessante que os resultados dessa pesquisa fossem complementados com a realização de experimentos em condições de campo utilizando diferentes concentrações do extrato para que a sua atividade tóxica à referida praga, bem como a persistência de seus resíduos e sua toxicidade ao homem, animais superiores e organismos benéficos pudesse ser determinada com maior precisão.

5 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos no estudo do efeito de extratos orgânicos (não aquosos) de folhas e ramos de *Trichilia pallida* na sobrevivência e desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797), pode-se concluir:

- Os extratos acetônicos de folhas e de ramos e o extrato metanólico de ramos apresentam maior atividade que o extrato metanólico em relação a lagartas de *S. frugiperda* alimentadas em folhas de milho tratadas.
- Em relação às partições obtidas do extrato acetônico, o extrato acetato de etila apresenta maior atividade que o hexânico.
- O extrato acetato de etila, impregnado em folhas de milho, causa mortalidade larval de 100% em concentração igual ou superior a 0,05%; afeta a sobrevivência e o desenvolvimento do inseto em concentrações de 0,001% a 0,006% e não provoca qualquer efeito em concentração igual ou inferior a 0,0001%.
- A aplicação tópica do extrato acetato de etila, à base de 1 μ L por lagarta com idade de 10 dias, não provoca qualquer efeito sobre o desenvolvimento larval de *S. frugiperda*, mesmo na concentração de 3%.
- Os genótipos Zapalote Chico, CMS 14C e ESALQ-PB-4, quando comparados ao suscetível Piranão, reduzem o peso das pupas de *S. frugiperda*, mas não afetam o peso larval e a duração e viabilidade das fases larval e pupal do inseto.

- Lagartas alimentadas com folhas de milho tratadas com o extrato acetato de etila desde a eclosão são mais afetadas que aquelas alimentadas a partir dos 10 dias de idade.
- O extrato acetato de etila pulverizado em plantas de milho, na concentração de 2%, aos 1, 3 e 7 dias antes do início do fornecimento das folhas às lagartas, provoca efeitos adversos na sobrevivência e desenvolvimento do inseto, sendo a intensidade destes efeitos decrescente com o tempo de aplicação .

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANWAR, T. JABBAR, A.; KHALIQUE, F. THAIR, S.; SHAKEEL, M.A. Plants with insecticidal activities against four major insect pests in Pakistan. **Tropical Pest Management**, v. 38, n.4, p.431-437, 1992.

ASCHER, K.R.S.; ELIYAHU, M.; NEMNY, N.E.; MEISNER, J. Neem seed kernel extract as inhibitor of growth and fecundity in *Spodoptera littoralis*. In: INTERNATIONAL NEEM CONFERENCE, 2. Rauischholzhausen, 1983. **Natural pesticides from the neem tree (*Azadirachta indica* A. Juss) and other tropical plants**. Eschborn, GTZ Press, 1984. P.331-344.

AVILA, C.J.; DEGRANDE, P.E. Pragas e seu controle. In: EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Unidade de Execução de Pesquisa de Âmbito Estadual de Dourados. **Milho**: informações técnicas. Dourados, 1991. p.146-167. (EMBRAPA. UEPAE Dourados. Circular Técnica, 20).

BAMBARKAR, S. A vast potential for agrochemicals. **Pesticides**, p. 36-40, jan. 1990

BERTELS, M.A. Pragas do milho, métodos de defesa. **Boletim Técnico do Instituto Agrônomo do Sul**, n.16: 1-18, 1956.

- BERTELS, A.; ROCHA, M.A.B. Observações preliminares sobre pragas do milho. **Agrosistema**, v.3, n. 3, p.160-183, 1950.
- BOIÇA Jr., A.L.; GALLI, J.C.; BORTOLI, S.A. de; RODRIGUES Jr., C.; LARA, F.M. Comparação de vinte e quatro genótipos de milho infestados por *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Anais da Sociedade Entomologica do Brasil**, v.22, n.1, p.131-144, 1993.
- BRETT, C.H.; BASTIDA, R. Resistance of sweet corn varieties to FAW, *Laphygma frugiperda*. **Journal of Economic Entomology**, v.56, p.162-167, 1963.
- BREUER, M.; DEVKOTA, B. Control of *Thaumetopea pityocampa* (Den. ; Schiff.) by extracts of *Melia azedarach* L. (Meliaceae). **Journal of Economic Entomology**, v.65, n.2, p.385-386, 1990.
- BURTON, R.L.; PERKINS, W.D. WSB, A new laboratory diet for the corn earworm and the fall armyworm. **Journal of Economic Entomology**, v.65, n.2, p.385-386, 1972.
- CARSON, R. **Primavera Silenciosa**. 2 ed. São Paulo: Edições Melhoramentos, 1969. 305p.
- CARVALHO, R.P.L. Danos, flutuação populacional, controle e comportamento de *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith, 1797) e susceptibilidade de diferentes genótipos de milho em condições de campo. Piracicaba, 1970, 170p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.

- CARVALHO, R.P.L. Pragas do milho. In: PATERNIANI, E.; VIEGAS, G.P. **Melhoramento e produção do milho no Brasil**. 2 ed. Piracicaba: ESALQ, 1987. p.637-712.
- COSTA, J.M. da; SANTOS, Z.F.A.F.; CORREIA, J.S. **Pragas da cultura do milho e meios de controle**. Salvador: EPABA, 1984. 19p. (EPABA. Circular Técnica, 8).
- CRÓCOMO, W.B.; PARRA, J.R.P. Desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera : Noctuidae) sobre milho, trigo e sorgo. **Revista Brasileira de Entomologia**, v.29, n.2, p.363-368, 1985.
- CRUZ, I. Controle econômico da lagarta-do-cartucho. **Correio Agrícola**, v.1, p. 8-11, 1993.
- CRUZ, I. A lagarta-do-cartucho na cultura do milho. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 1995. (EMBRAPA-CNPMS, Circular Técnica, 21)
- CRUZ, I., TURPIN, F.T. Efeito da infestação de milho pela lagarta do cartucho, *Spodoptera frugiperda*, em diferentes estágios da cultura. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE MILHO E SORGO, 13., Londrina, 1980. **Coletânea de resumos**. Londrina: IAPAR, 1980. p.141.
- CRUZ, I.; SANTOS, J.P.; WAQUIL, J.M.; BAHIA, F.G.F.T.C. Controle da lagarta-do-cartucho com inseticidas granulados aplicados mecanicamente nas culturas de milho e sorgo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.17, n.3, p.355-359, 1982.

CRUZ, I.; SANTOS, J.P.; WAQUIL, J.M. **Principais pragas da cultura do milho**. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 1987. (EMBRAPA-CNPMS, Circular Técnica, 4).

DICKE, F.F. The most important corn insects. In: SPRAGUE, C.F. **Corn and corn improvement**, New York: Academic Press, 1955. p.537-612.

DOMINICIS, M.E.; PAYO A.; SALAS M.; PÉREZ, M.F. Evaluación preliminar del efecto antiapetitivo de diferentes extractos vegetales. Plaguicidas Biológicos de Origen Botánico, Habana, 1995. Bioplag' 95. **resúmenes**. Havana, Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical "Alejandro de Humboldt", 1995. p.83.

FERRAZ, M.C.V.D. **Determinação das exigências térmicas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera, Noctuidae) em cultura de milho**. Piracicaba, 1982. 81p. Tese (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz.", Universidade de São Paulo.

FORNASIERI FILHO, D.; CASAGRANDE, A.A.; LARA, F.M. Resistência de cultivares de milho a *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera:Noctuidae). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 6., Campinas, 1980. **Resumos**. Campinas: CATI; CECOR, 1980. p.142.

GALLO, G.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BATISTA, G.C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIM, J.D. **Manual de entomologia agrícola**. 2.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1988. 649p.

- GOVINDACHARI, T.R. Chemical and biological investigations on *Azadirachta indica* (the neem tree). **Current Science**, v.63, n.3, p.117-122, 1992.
- GRAINGE, M.; AHMED, S. **Handbook of plants with pest-control properties**. New York: John Wiley, 1988. 470p.
- GUIMARÃES, P.E.O.; VIANA, P.A. Sintético CMS 23 para resistência à lagarta-do- cartucho, *Spodoptera frugiperda*. In: EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Milho e Sorgo. **Relatório técnico e Anual- 1992**. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 1994. v.6, p.136.
- HADDAD, M.L.; MORAES, R.C.B.; PARRA, J.R.P. Sistema computadorizado para modelos bioestatísticos aplicados a entomologia. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 15., Caxambu, 1995. **Resumos**. Lavras: Sociedade Entomológica do Brasil, 1995. p.244.
- HEDIN, P.A.; WILLIAMS, W.P.; DAVIS, F.M.; BUCKLEY, P.M. Roles of amino-acids, protein, and fiber in leaf-feeding resistance of corn to the fall armyworm. **Journal of Chemical Ecology**, v. 16, n. 6: 1977-1995, 1990.
- HELLPAP, C. Effects of neem kernel extracts on the fall armyworm *Spodoptera frugiperda*. In: INTERNATIONAL NEEM CONFERENCE, 2., Rauischholzhausen, 1983. **Natural pesticides from the neem tree (*Azadirachta indica* A. Juss) and other tropical plants**. Eschborn: GTZ Press, 1984. p.353-363.
- HERNANDEZ, X.E.; INZUNZA, M.F.; SOLANO, S.C.B. Intentos de control de plagas y enfermedades identificadas en la agricultura tradicional en México. **Revista Chapingo**, v.40, n.55-56, 1983.

- ISENHOUR, D.J.; WISEMAN, B.R. WIDSTROM, N.W. Fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) feeding responses on corn and foliage/artificial medium mixtures at different temperatures. **Journal of Economic Entomology**, v. 78: 328-332, 1985.
- JACOBSON, M. Meliaceae. In: Department of Agriculture. **Insecticides from plants: a review of the literature, 1954-1971**. Washington,DC: USDA / Agricultural Research Service, 1975. p 57-60. (USDA. Agriculture Handbook, 461).
- JACOBSON, M. Botanical Pesticides; Past, present and future. In: ARNASAN, J.T.; PHILOGENE, B.J.R.; MORAND, P. (Ed.) **Insecticides of plant origin**. Washington: American Chemical Society, 1989. p.1-10 . (ACS Symposium Series, 387).
- JACOBSON, M.; REED, D.K.; CRYSTAL, M.M.; MORENO, D.S.; SODERSTROM, E.L. Chemistry and biological activity of insect feeding deterrents from certain weed and crop plants. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.24, n.3, p.448-457, 1978.
- KASTEN Jr, P.; PRECETTI, A.A.C.M.; PARRA, J. P. R. Dados biológicos comparativos de *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith,1797) em duas dietas artificiais e substrato natural. **Revista de Agricultura**, v.53, n.1/2, p.68-78, 1978.
- KLOCKE, J.A.; KUBO, I. Citrus limonoid by-products as insect control agents. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.32, n.3, p.299-301, 1982.
- KOUL, O.; ISMAN, M.B.; KETKAR, C.M. Properties and uses of neem, *Azadirachta indica*. **Canadian Journal of Botany**, v.68, n.1, p.1-11, 1990.

- KRAUS, W.; BOKEL, M.; CRAMER, R.; GUTZEIT, H.; HERR, B.; KAUFMANN, I. POHNL, H. Natural products as pesticides. In: INTERNATIONAL PLANT PROTECTION CONGRESS, 12., Rio de Janeiro, 1991. **Resumos**. Brasilia: MARA, 1991. n.p.
- KUBO, I.; KLOCKE, J.A. An insect growth inhibitor from *Trichilia roka* (Meliaceae). **Experientia**, v.38, n.6, p.639-640, 1982.
- LAGUNES, T.A.; RODRÍGUEZ, H.C. **Los extractos acuosos vegetales con actividad insecticida**: el combate de la conchuela del frijol. Texcoco: USAID-CONACYT-SME-CP, 1992. 57p. (Temas Selectos de Manejo de Insecticidas Agrícolas, 3).
- LAGUNES T., A.; ARENAS, L.C; RODRÍGUEZ, H.C. **Extractos acuosos y polvos vegetales con propiedades insecticidas**. Chapingo: Colegio de Postgraduados , Centro de Entomologia y Acarologia, 1984. 203p.
- LARA, F.M. **Princípios de resistência de plantas a insetos**. 2.ed. São Paulo: Icone, 1991. 336p.
- LARA, F.M.; AYALA OSUÑA, J.; ABDELNUR JÚNIOR, O. Comportamento de genótipos de milho em relação ao ataque de *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith, 1797) e *Heliothis zea* (Bod., 1850). **Científica**, v.12, n.1/2. p.77-83, 1984.
- LEIDERMAN, L. ; SAUER, H.F.G. A lagarta dos milharais, *Laphygma frugiperda* (Abbot ; Smith, 1797). **Biológico**, v.19, n.6, p.105-113, 1953.
- MARANHÃO, Z.C. Plantas Inseticidas. **Revista da Agricultura**, v.29, n.3/4: p.113-121, 1954.

MAREDIA, K.M.; SEGURA, O.L.; MIHM, J.A. Effects of neem, *Azadirachta indica*, on six species of maize insect pests. **Tropical Pest Management**, v.38, n.2, p.190-195, 1992.

MARQUES, C.A.S.; CAMARGO, O.B. de A.; OSUÑA, J.A. Avaliação fenotípica de populações de milho, sob condições de seca para os danos de *Heliothis zea* e *Spodoptera frugiperda*, e outras características agronômicas. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 16., Belo Horizonte, 1988. **Anais**. Belo Horizonte: EMBRAPA, CNPMS, 1988. p.327-336.

McMILLIAN, W.W.; BOWMAN, M.C.; BURTON, R.L.; STARKS, K.J.; WISEMAN, B.R. Extract of chinaberry leaf as a feeding deterrent and growth retardant for larvae of the corn earworm and fall armyworm. **Journal of Economic Entomology**, v.62, n.3, p.708-710, 1969.

McMILLIAN, W.W.; STARKS, K.J.; BOWMAN, M.C. Resistance in corn to the corn earworm, *Heliothis zea*, and the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera : Noctuidae). Part I. Larval feeding responses to corn plant extracts. **Annals of the Entomological Society of America**, v.60, n.5, p. 871-873, 1967.

MELO, M.; SILVA, R.F.P. da. Influência de três cultivares de milho no desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.16, n.1, p. 37-49, 1987.

MIHM, J.A.; PEAIRS, F.B.; ORTEGA, A. **New procedures for efficient mass production and artificial infestation with lepidopterous pests of maize; CIMMYT review**. México: CIMMYT, 1978. 138p.

- MHIM, J.A.; SMITH, M.E.; DEUTSCH, J.A. Development of open-pollinated varieties, non-conventional hybrids and inbreed lines of tropical maize with resistance to fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), CIMMYT. **Florida Entomologist**, v. 71, n.3, p.262-268, 1988.
- MIKOLAJCZAK, K.L.; REED, D.K. Extractives of seeds of the Meliaceae: Effects on *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith), *Acalymma vittatum* (F.), and *Artemia salina* Leach. **Journal of Chemical Ecology**, v. 13, n. 1, p. 99-111, 1987.
- MIKOLAJCZAK, K.L.; ZILKOWSKI, B.W.; BARTELT, R.J. Effect of meliaceous seed extracts on growth and survival of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). **Journal of Chemical Ecology**, v.15, n.1, p.121-128, 1989.
- MORDUE (LUNTZ), A.J.; BLACKWELL, A. Azadirachtin: an update. **Journal of Insect Physiology**, Oxford, v.39, n 11, p.903-924, 1993.
- NARAGNAN, C.R.; SING, R.P.; SAWAINAP, D.D. Phagodeterreny of various fractions of neem oil against *Schistocerca gregaria* Forsk. **Indian Journal of Entomology**, v.42, n.3: 469-472, 1980. Apud **Entomology Abstracts**, Bethesda, v.13, n.10: 27-28, 1982. (Resumo)
- NG, S.S.; DAVIS, F.M.; WILLIAMS, W.P. Survival, growth, and reproduction of the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) as affected by resistant corn genotypes. **Journal of Economic Entomology**, v.78, n.4, p. 967-971, 1985.
- PATEL, P.N. Estudos de fatores bióticos de controle natural de população de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera:Noctuidae). Campinas, 1981. 98p. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Zoologia, Universidade Estadual de Campinas.

- PEAIRS, F.B.; SAUNDERS, J.L. Plant damage and yield to *Diatraea saccharalis* and *Spodoptera frugiperda* in selection cycles of two tropical maize populations in Mexico. **Turrialba**, v. 31, n.1, p 55-62, 1981.
- RAFFA, K.F. Effect of host plant on cannibalism rates by fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. **Environmental Entomology**, v.16, n.3, p.672-675, 1987.
- REBOLLEDO, I., A.J. Evaluación de la acción de extractos acuosos vegetales a través de índices nutricionales en larvas de segundo ínstar de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Chapingo, 1992. 45p. Trabalho (Graduação) - Universidad Autonoma Chapingo.
- REED, D. K.; WARTEN, J. D. Jr.; UEBEL, E.C.; REED, G. L.. Effects of two triterpenoids from neem on feeding by cucumber beetles (Coleoptera; Chrysomelida). **Journal of Economic Entomology**, v.75, n.6, p.1109-1113, 1982.
- REMBOLD, H. Isomeric azadirachtins and their mode of action. In: JACOBSON, M. (Ed.). **Focus on phytochemical pesticides**. Boca Raton: CRC Press, 1988. p.47-67. v.1: The neem tree.
- RODRÍGUEZ, H. C. Efeito de extratos aquosos de Meliaceae no desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). Piracicaba, 1995. 100p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.

- RODRÍGUEZ H., C. ; LAGUNES T., A. Polvos vegetales y minerales; una opción de combate de insectos plaga en el almacenamiento rústico. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE ENTOMOLOGIA DE PRODUCTOS ALMACENADOS, 2., Oaxaca. 1990. **Perspectivas de la Investigación en México**. Oaxaca: Sociedad Mexicana de Entomología, 1990. p.13-28.
- RODRÍGUEZ H., C. ; LAGUNES T., A. Plantas con propiedades insecticidas: resultados de pruebas experimentales en laboratorio, campo Y granos almacenados. **Agroproductividad**, Montecillo, v.1, p.17-25. 1992.
- ROMO O.,J.M.; RODRÍGUEZ H., C. Combate de la conchuela del frijol *Epilachna varivestis* Muls. (Coccinellidae: Coleoptera) com extractos acuosos vegetales en Chapingo, Edo. de México. In: CONGRESO NACIONAL DE ENTOMOLOGIA, 23.; Morelia, 1988, **Resúmenes**. México: Sociedad Mexicana de Entomología, 1988. p.282
- SÁNCHEZ G., M.F; VASQUEZ G., M. Actividad insecticida de cinco especies de meliáceas sobre larvas de *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). In: CONGRESO NACIONAL DE ENTOMOLOGIA, 29.,1994 Monterrey. **Resúmenes**. México: Sociedad Mexicana de Entomología, 1994. p.178-179.
- SCHMUTTERER, H. Potential of azadirachtin-containing pesticides for integrated pest control in developing and industrialized countries. **Journal of Insect Physiology**, v. 34, n.7, p. 713-719, 1988.
- SCHMUTTERER, H. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. **Annual Review of Entomology**, v.35, p.217-297, 1990.

- SCHUMUTTERER, H. Higher plants as sources of novel pesticides. In: **Insecticides: mechanism of action and resistance**. Andover: Intercept, 1992. p.3-15.
- SCOTT, G.E.; DAVIS, F.M. Registration of MpSWCB-4 Population of Maize (reg. n° GP 87). **Crop. Science**, v.21, p.148, Jan./Feb. 1981 a.
- SCOTT, G.E.; DAVIS, F.M.; BELAND, G.L.; WILLIAMS, W.P.; KING, S.B. Host plant resistance is necessary for late planted corn. **Mississippi Agricultural, Forest Experiment Station, Research Report**, v.3, n.13, 4p. 1977 b
- SCOTT, G.E.; DAVIS, F.M.; WILLIAMS, W.P. Registration of Mp701 and Mp702 germplasm lines of maize.(reg. n° GP119 and GP120). **Crop Science**, v.22, p.1270, Jan.,Feb.1982.
- SILVA A.F. DA ; VIANA, A.C. A semeadura do milho. In: EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo. **Recomendações técnicas para o cultivo do milho**. 2.ed. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 1982, p.5-6. (EMBRAPA-CNPMS. Circular Técnica, 4).
- SILVA, D.M.P. da. Identificação de fontes de resistência de milho a *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em condições de casa de vegetação e campo. 1995. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco).
- SILVEIRA, L.C.P. Resistência de genótipos de milho a *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). Piracicaba, 1994. 90p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.

- SILVEIRA, L.C.; VENDRAMIM, J.D.; ROSSETO, J.R. Efeito de genótipos de milho no desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.26, n.2, p.291-298, ago. 1997.
- SOON, L.G. ; BOTTRELL, D.G. **Neem pesticides in rice: potential and limitations**. Manila: IRRI, 1994. 64p.
- SUMNER, H.R.; GROSS, H.R. Tractor-mounted rotary dispenser for artificially infesting whorl-stage corn with larvae of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal Economic Entomology**, v. 84, n.3, p.1010-1014, 1991.
- TANZUBIL, P.B.; McCAFFERY, A.R. Effects of azadirachtin and aqueous neem seed extracts on survival, growth and development of the African armyworm, *Spodoptera exempta*. **Crop Protection**, v.9, p.318-386, 1990.
- THOME, C.R.; SMITH, M.E.; MIHM, J.A. Leaf-feeding resistance to multiple insect species in a maize diallel. **Crop Science**, v.32: 1460-1463, 1992.
- TORRECILLAS, S. Efeito de extratos aquosos de *Trichilia pallida*, SWARTZ (Meliaceae) no desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) criada em diferentes genótipos de milho. Piracicaba, 1997. 141p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.
- VELEZ, C.M.; SIFUENTES, A.J.A. El gusano cogollero del maiz: su combate con insecticidas granulados en el valle de Apatzingan, Mich. **Agricultura Técnica en México**, v.2, n.7, p. 315-317, 1967.

- VENDRAMIM, J.D. A resistência de plantas e o manejo de pragas. In: CRÓCOMO, W.B. (Ed.). **Manejo integrado de pragas**. São Paulo: UNESP, 1990. p.177-197.
- VENDRAMIM, J.D. Uso de plantas inseticidas no controle de pragas. In: CICLO DE PALESTRAS SOBRE AGRICULTURA ORGÂNICA, 2., Campinas: 1997. Campinas: Fundação Cargill, 1997. p.64-69.
- VENDRAMIM, J.D.; FANCELLI, M. Efeitos de genótipos de milho na biologia de *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.17, p.141-150, 1988.
- VENDRAMIM, J.D.; SCAMPINI, P.J. Efeito do extrato aquoso de *Melia azedarach* sobre o desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) em dois genótipos de milho. **Revista de Agricultura**, v.72, n.2, p.159-170, 1997.
- VENDRAMIM, J.D; ZUCCHI, R.A.; SILVEIRA NETO, S. Controle por resistência de plantas. In: **Curso de Entomologia Aplicada à Agricultura**. Piracicaba: FEALQ, 1992. p.135-147.
- VIANA, P.A. Avaliação de genótipos de milho para resistência à lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda*. In: **Relatório Técnico Anual do Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo, 1992/93**. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPNS, v.6, p.136, 1994.
- VIANA, R. A.; GUIMARÃES, P.E.O. Melhoramento da população MIRT de milho para a resistência à lagarta- do- cartucho *Spodoptera frugiperda* In: **Relatório Técnico Anual do Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo, 1992/1993**. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, v.6, p.138, 1994.

VIANA, P.A.; POTENZA, M.R. Estudo dos mecanismos de resistência em populações de milho selecionadas como fontes de resistência a *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 13.; SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE "BICUDO" DO ALGODOEIRO, 1.; ENCONTRO SOBRE "COCHONILHA" DA PALMA FORRAGEIRA, 2.; ENCONTRO SOBRE "MOSCAS-DAS-FRUTAS", 3.; Recife. **Resumos**. Recife: SEB, 1991 a. p.530. v.2.

VIANA, P.A.; POTENZA, M.R. Identificação de fontes de resistência de milho a *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 13.; SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE "BICUDO" DO ALGODOEIRO, 1.; ENCONTRO SOBRE "COCHONILHA" DA PALMA FORRAGEIRA, 2.; ENCONTRO SOBRE "MOSCAS-DAS-FRUTAS", 3.; Recife. **Resumos**. Recife: SEB, 1991 b. p.531. v.2.

VIANA, P.A.; SILVA, A.E. Melhoramento da população de milho CMS 14 C para resistência à lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda*. In: **Relatório Técnico Anual do Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo, 1992/93**. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, v.6, p.138, 1994.

VIDELA, G.W.; DAVIS, F.M.; WILLIAMS, W.P.; NG, S.S. Fall armyworm (Lepidoptera:Noctuidae) larval growth and survivorship on susceptible and resistant corn at different vegetative growth stages. **Journal of Economic Entomology**, v.85, n.6, p.2486-2491, 1992.

- VILLAR, M., C.; LAGUNES, T., A.; RODRÍGUEZ, H., C. Evaluación de soluciones vegetales contra el gusano cogollero del maíz *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera: Noctuidae) en condiciones de campo en San Luis Potosí. In: CONGRESO NACIONAL DE ENTOMOLOGIA, 32., 1998, Morelia. **Resúmenes**. MÉXICO: Sociedad Mexicana de Entomologia, 1988. p.225.
- WAQUIL, J.M. CORREA, L.A.; SANTOS J.P. Avaliação da infestação de insetos pragas em cultivares comerciais de milho conduzidos em "safrinha". In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 15., 1995, Caxambu. **Resumos**. Lavras: Sociedade Entomológica do Brasil, 1995. p.326.
- WAQUIL, J. E.; VIANA, P.A.; LORDELLO, A.I. Controle da lagarta-do-cartucho em milho com inseticidas químicos e biológicos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.17, n.2, p.163-166, 1982.
- WIDSTROM, N.W.; WISEMAN, B.R.; McMILLIAN, W.W. Resistance among some maize hybrids and single crosses to fall armyworm injury. **Crop Science**, v.12, p.290-292, 1972.
- WIDSTROM, N.W.; WILLIAMS, W.P.; WISEMAN, B.R.; DAVIS, F.M. Recurrent selection for resistance to leaf feeding by fall armyworm on maize. **Crop Science**, v.32: 1171-1174, 1992
- WILLIAMS, W.P; DAVIS, F.M. Registration of Mp705, Mp706 and Mp707 germoplasm lines of maize. **Crop Science**, v.24, p.1217, 1984.
- WILLIAMS, W.P.; BUCKLEY, P.M.; DAVIS, F.M. Combining ability for resistance in corn to fall armyworm and southeastern corn borer. **Crop Science**, v.29, p.913-915, Jul./Aug 1989.

- WILLIAMS, W.P.; DAVIS, F.M.; SCOTT, G.E. Resistance of corn to leaf feeding damage by the fall armyworm. **Crop Science**, v.18, p.861-863, 1978
- WISEMAN, B.R.; WIDSTROM, N.W. Comparisons of methods of infesting whorl-stage corn with fall armyworm larvae. **Journal of Economic Entomology**, v. 73, n. 3: 440-442, 1980.
- WISEMAN, B.R.; WIDSTROM, N.W. Mechanisms of resistance in "Zapalote Chico" corn silks to fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. **Journal of Economic Entomology**, v.79, p.1390-1393, 1986.
- WISEMAN, B.R.; DAVIS, F.M.; CAMPBELL, J.E. Mechanical infestation device used fall armyworm plant resistance programs. **Florida Entomologist**, v.63, n.4, p.425-432, 1980.
- WISEMAN, B.R.; PAINTER, R.H.; WASSON, C.E. Detecting corn seedling differences in the greenhouse by visual classification of damage by the fall armyworm. **Journal of Economic Entomology**, v.59, n.5, p.1211-1214, 1966.
- WISEMAN, B.R.; PAINTER, R.H.; WASSON, C.E. Preference of first instar of fall armyworm larvae for corn compared with *Tripsacum dactyloides*. **Journal of Economic Entomology**, v.60, p.1731-1742, 1967.
- WISEMAN, B.R.; SNOOK, M.E.; ISENHOUR, D.J.; MIHM, J.A.; WIDSTROM, N.W. Relationship between growth of corn earworm and fall armyworm larvae (Lepidoptera: Noctuidae) and maysin concentration in corn silks. **Journal of Economic Entomology**, v.85, n.6, p.2474-2476, 1992.

WISEMAN, B.R.; WILLIAMS, W.P.; DAVIS, F.M. Fall armyworm: resistance mechanisms in selected corns. **Journal of Economic Entomology**, v.74, p.622-624, 1981.

WITHEHEAD, D.; BOWERS, W.S. **Natural Products for Innovative Pest Management**. Pergamon Press. 586 p.1983

XIE, Y.S.; ISMAN, M.B.; GUNNING, P. MACKINNON,S; ARNASON, J.T.; TAYLOR, D.R.; SANCHEZ, P.; HASBUNC.; TOWERS, G.H.N. Biological Activity of Extracts of *Trichilia* Species and the Limonoid Hirtin Against Lepidopteran Larvae. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.22, n.2, p.129-136, 1994.

ZUCCHI, R.A.; SILVEIRA NETO, S.; NAKANO, O. **Guia de Identificação de Pragas Agrícolas**, Piracicaba: FEALQ, 1993. 139 p.