



Dissertação de Mestrado
Em
Química e Processamento de Recursos Locais

Tema: Avaliação da Actividade Insecticida dos Extratos de *Trichilia emetica*, *Trichilia capitata* e *Azadirachta indica*, sobre a Lagarta do funil de milho (*S. frugiperda*) na cultura de milho (*Zea mays*)

Autor: Tomás Rogério Tambo

Maputo, Junho de 2021



Dissertação de Mestrado
Em
Química e Processamento de Recursos Locais

Tema: Avaliação da Actividade Insecticida dos Extratos de *Trichilia emetica*, *Trichilia capitata* e *Azadirachta indica*, sobre a lagarta do funil de milho (*S. frugiperda*) na cultura de milho (*Zea mays*)

Autor: Tomás Rogério Tambo

Supervisor: Prof. Doutor Julião Monjane

Maputo, Junho de 2021



Faculdade de Ciências
Departamento de Química

ACTA DE AVALIAÇÃO FINAL DO TRABALHO DE DISSERTAÇÃO DO MESTRADO

Nome do estudante: **Tomás Rogério Tambo**

Curso: Mestrado em Química e Processamento de Recursos Locais por
Investigação

Título do (a): Avaliação da Actividade Insecticida dos Extractos de *Trichilia Emetica* e *Azadirachta Indica*, Sobre o Lagarto do Funil do Milho (*S. Frugiperda*) na Cultura do Milho (*Zea mays*)

Avaliação do (b): Defesa da Dissertação do Mestrado

Data: 05/07/2021

Avaliação de apresentação oral e defesa: Bom

Avaliação final: Bom

Observações: Tem correcções a fazer

O Jûri:

Presidente: (Prof. Doutor Arão João Manhique UEM), AM

Supervisor: (Prof. Doutor Julião Monjane), Julião Monjane

Arguente: (Prof. Doutor François Munyemana UEM), François

(a) Trabalho de Licenciatura, Exame de Estado, Projecto Científico

(b) Monografia do trabalho de Licenciatura, Relatório de Estágio, Exame de Estado, Relatório do Projecto Científico

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Doutor Julião Monjane pela excelente orientação, amizade e equilíbrio, características que me trouxeram força para seguir em frente.

À minha esposa Merina Ambone e meus filhos Alen Tomás Tambo e Irina Tomás Tambo, pelo sofrimento causado pela minha ausência durante o tempo que permaneci em Maputo para frequentar o curso.

Ao Ministério de Ciência, Tecnologia e Ensino Superior (MCTES), pela bolsa de estudo concedida que custeou parte das despesas referentes à inscrição, propinas e pesquisa.

Ao Prof. Doutor François Munyemana, pelas excelentes sugestões dadas a quando da escolha do tema.

Ao Prof. Doutor Domingos Cugala, pela ajuda prestada durante a realização dos testes biológicos com os insectos.

À Mestre Amélia, pela ajuda na alocação e manuseamento de produtos químicos no Laboratório de Produtos Naturais.

À senhora Adélia pela ajuda prestada durante a criação e manuseamento dos insectos no Laboratório de Entomologia, na Faculdade de Agronomia e Engenharia Florestal da UEM.

Aos colegas Pedro, Bitness, pela amizade e boa convivência nos Laboratórios de Produtos Naturais e de Entomologia, respectivamente.

Declaração de Originalidade do Projecto

Declaro que esta dissertação nunca foi apresentada para a obtenção de qualquer grau ou num outro âmbito e que ele constitui o resultado do meu labor individual. Esta dissertação é apresentada em cumprimento parcial dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Química e Processamento de Recursos Locais, da Universidade Eduardo Mondlane.

Sumário Páginas

SIGNIFICADOS DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABELAS	x
RESUMO	xi
SUMMARY	xii
1. INTRODUÇÃO.....	11
1.2. Objectivos	13
1.2.1. Objectivo geral	13
1.2.2. Objectivos específicos	13
2. REVISÃO DA LITERATURA	14
2.1. Características gerais de <i>S. frugiperda</i>	14
2.2. Impacto económico causado por <i>S. frugiperda</i> na cultura de milho	17
2.3. Insecticidas botânicos	19
2.4. Técnicas usadas na busca de substâncias de plantas com actividade insecticida.....	21
2.5. Classes de metabolitos Secundários de plantas com actividade insecticida	23
2.5.1. Compostos fenólicos	23
2.5.2. Esteróides e terpenos.....	28
2.5.3. Saponinas.....	31
2.5.4. Glicosídeos	32
2.5.5. Alcalóides	33
2.6. Mecanismo de actuação dos fitoquímicos com actividade insecticida.....	34
2.7. Extratos e substâncias de meliaceas com actividades insecticida	36
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	41

3.1. Obtenção e criação dos insectos.....	41
3.2. Colecta de amostras vegetais.....	43
3.3. Preparação dos extratos vegetais.....	43
3.4. Análises fitoquímicas.....	45
3.5. Testes biológicos.....	45
4. RESULTADOS.....	48
4.1. Análises fitoquímicas.....	48
4.2. Rendimento dos extratos.....	48
4.3. Actividade insecticida.....	49
5. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS.....	56
5.1. Analises fitoquímicas.....	56
5.2. Actividade insecticida.....	59
5.3. Relação entre composição fitoquímica de extrato de plantas e sua actividade insecticida.....	63
5.4. Considerações gerais.....	65
6. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES.....	67
6.1. Conclusões.....	67
6.2. Recomendações.....	67
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	68

SIGNIFICADOS DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

LFM- Lagarta doFunil de Milho

MADR- Ministério da Agricultura e Desenvolvimento Rural

MCTESTP- Ministério de Ciência,Tecnologia e Ensino Superior

TLC- *Thin Layer Chromatography*

UV-Vis- Espectroscopia no Ultravioleta Visível

HPLC- *High Performance Liquid Chromatography*

PSK- Paulo Samuel Kankhomba

FAEF- Faculdade de Agronomia e Engenharia Florestal

NPK- Nitrogénio Fósforo e Potássio

UEM- Universidade Eduardo Mondlane

FC- Faculdade de Ciências

DL₅₀- Dose letal para 50% de indivíduos tratados

EC₅₀- Concentração capaz de reduzir o crescimento dos indivíduos tratados em 50%

ppm- Parte por milhão

% (p/v)- Percentagem peso do soluto por volume da solução

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Massa de ovos (A) e larvas recém-eclodidas de <i>S. frugiperda</i> (B).....	15
Figura 2. Larva do 6º instar (A) e Pupas (B) de <i>S. frugiperda</i>	16
Figura 3. Macho adulto de <i>S. frugiperda</i>	17
Figura 4. Estrutura química dos flavonoides	24
Figura 5. Estrutura química de taninos condensados.....	25
Figura 6. Estrutura química de taninos hidrolisáveis.....	26
Figura 7. Exemplo de ligação depsídica formada entre o grupo fenólico superior e o grupo inferior de uma unidade de ácido gálico	27
Figura 9. Exemplos de monoterpenos e sesquiterpenos acíclicos, monocíclicos e bicíclicos ..	29
Figura 10. Esquema simplificado de formação de triterpenoides por etapas de condensação de unidades de isopreno C ₅ (IPP e DMAPP) via C ₁₀ , GPP e C ₁₅ , FPP para formar C ₃₀ esqualeno (SQ).....	30
Figura 11. Ácido glicirricínico, uma saponina triterpénica.....	31
Figura 12. Benzopirona (cumarina) e Apterina, um glicosídeo cumarinico	33
Figura 13. Estrutura química de nicotina como exemplo de estrutura dos alcalóides	34
Figura 14. Terpenoides extraídos a partir de extrato acetónico de raíz de <i>T. pallida</i>	39
Figura 15. Plantas de milho usadas no bioensaio	41
Figura 16. Massas de ovos prestes a eclodir (A) e larvas recém-eclodidas de <i>S. frugiperda</i> (B)	42
Figura 17. Folhas (A) e casca de caule (B) de <i>Trichilia capitata</i> , após a secagem na estufa	43
Figura 18. Extração de substâncias activas de folhas de <i>T. capitata</i> com etanol (A) e secagem de extrato aquoso de casca de caule de <i>T. capitata</i> (B)	44
Figura 19. Folhas de milho imersas em extrato aquoso de folhas de <i>T. capitata</i> (A) e Frascos plásticos contendo larvas de <i>S. frugiperda</i> sendo alimentadas com folhas de milho previamente tratadas com os extratos.	45
Figura 20. Mortalidade de larvas de terceiro instar de <i>S. frugiperda</i> em função do log de concentração de extrato aquoso de folhas de <i>T. emetica</i> aplicadas em folhas de milho em laboratório	53

Figura 21. Mortalidade de larvas de terceiro instar de <i>S. frugiperda</i> em função de log da concentração de extrato aquoso de casca de <i>T. emetica</i> aplicada em folhas de milho em laboratório	54
Figura 22. Mortalidade de larvas de terceiro instar de <i>S. frugiperda</i> em função do log da concentração de extrato aquoso de folhas de <i>T. capitata</i> aplicados em folhas de milho em laboratório	54
Figura 23. Mortalidade de larvas de terceiro instar de <i>S. frugiperda</i> em função do log da concentração de extrato aquoso de casca de <i>T. capitata</i> aplicadas em folhas de milho em laboratório	55
Figura 24. Mortalidade de larvas de <i>S. frugiperda</i> em função do log da concentração de extrato aquoso de folhas de <i>A. indica</i> aplicadas em folhas de milho em laboratório	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Tratamentos feitos com os extratos aquosos e etanólicos das três plantas em estudo	46
Tabela 2. Resultado das análises fito-químicas de extratos etanólico e aquoso de folhas e cascas de <i>T. emetica</i> e <i>T. capitata</i> e folhas de <i>A. indica</i>	488
Tabela 3. Rendimento em percentagem da extração por sohxlet de folhas e cascas de <i>T. emetica</i> e <i>T. capitata</i> e folhas de <i>A. indica</i> com etanol e água.....	499
Tabela 4. Médias \pm Desvio padrão das mortalidades (%) larval de lagartas de 3º instar de <i>S. frugiperda</i> alimentadas com folhas de milho tratadas com diferentes concentrações de extrato aquoso de folhas de <i>T. emetica</i>	50
Tabela 5. Media \pm desvio padrão das mortalidades (%) larvais de lagartas do 3º instar de <i>S. frugiperda</i> alimentadas com folhas de milho tratadas com diferentes concentrações de extrato aquoso de casca de <i>T. emetica</i>	51
Tabela 6. Medias \pm desvio padrão de mortalidades (%) larval de lagartas de 3º instar de <i>S. frugiperda</i> alimentadas com folhas de milho tratadas com diferentes concentrações de extrato aquoso de folhas de <i>T. capitata</i>	511
Tabela 7. Media \pm desvio padrão de mortalidades (%), larval de lagartas de terceiro instar de <i>S. frugiperda</i> alimentadas com folhas de milho tratadas com diferentes concentrações de extrato aquoso de casca de <i>T. capitata</i>	522
Tabela 8. Medias \pm desvio padrão de mortalidades (%), larval de lagartas de terceiro instar de <i>S. frugiperda</i> alimentadas com folhas de milho tratadas com diferentes concentrações de extrato aquoso de folhas de <i>A. indica</i>	522
Tabela 9. Estimativa de LD ₅₀ (%) de extrato aquoso de folhas e casca de <i>T. emetica</i> e <i>T. capitata</i> e folhas de <i>A. indica</i> para larvas de terceiro instar de <i>S. frugiperda</i>	533

RESUMO

Spodoptera frugiperda, vulgarmente conhecida por lagarta do funil de milho, é uma praga nativa do continente americano, que desde a sua introdução no continente Africano, tem sido responsável por elevadas perdas de rendimento na cultura de milho. Em Moçambique já foram reportadas perdas na ordem de 50% de rendimento da cultura de milho causadas por esta praga, que devido ao seu grande poder migratório já se encontra espalhado em todas as províncias do país. Até ao presente momento, têm sido recorridos aos insecticidas sintéticos para conter a infestação por esta praga. Porém, estes insecticidas para além de provocarem sérios problemas ambientais, têm sido responsáveis por surgimento de biótipos resistentes desta praga. Uma das formas mais eficaz de controlo desta praga é o uso de insecticidas botânicos, uma vez que além da sua comprovada eficácia, esses insecticidas podem favorecer principalmente o pequeno agricultor, já que são de fácil utilização, não exigindo pessoal qualificado, são mais acessíveis, e não afectam o meio ambiente. O presente trabalho teve como objectivo principal a avaliação da actividade insecticida de extractos aquosos e etanólicos de folhas e casca de caule de *Trichilia emetica* e *Trichilia capitata* em comparação com extractos aquosos e etanólicos de folhas de *Azadirachta indica* sobre lagarta do funil de milho. Para tal, foram preparados extractos aquosos e etanólicos de folhas e casca de caule de *T. emetica* e *T. capitata* e de folhas de *A. indica* através de Soxhlet, nas concentrações de 1% a 0,01% (p/v). Através de imersão, larvas de terceiro instar de *Spodoptera frugiperda* provenientes da criação foram alimentadas com folhas de milho tratadas com estes extractos, usando como controlo água destilada e etanol a 96%. Foram também realizados testes fitoquímicos nos extratos com o objectivo de identificar os metabolitos primários e secundários que são responsáveis pelas actividades insecticidas, tendo o resultado revelado às presenças de alcalóides, flavonóides, taninos, antraquinonas, esteróides e terpenóides, glicosídeos, açúcares redutores e aminoácidos e proteínas. Os resultados dos testes biológicos com os extractos vegetais mostraram uma forte acção insecticida das três plantas testadas, em função das suas concentrações, com particular destaque para extrato aquoso de casca de *T. capitata*, com DL₅₀ igual a 0,051%.

Palavras-chave: *Spodoptera frugiperda*, insecticida, *Trichilia emetica*, *Trichilia capitata*, *Azadirachta indica*.

SUMMARY

Spodoptera frugiperda, commonly known as Fall Armyworm, is a pest native to the American continent, which since its introduction to the African continent; has been responsible for high yield losses in the corn crop. In Mozambique, losses in the order of 50% of corn yield caused by this pest have already been reported. Due to its great migratory power, this pest is already widespread in all the provinces of the country. To date, synthetic insecticides have been used to contain infestation by this pest. However, these insecticides, in addition to causing serious environmental problems, have been responsible for the emergence of resistant biotypes of these pests. One of the most effective ways to control this pest is the use of botanical insecticides. In addition to their proven effectiveness, these insecticides can mainly benefit the small farmer, because they are easy to use, not requiring qualified personnel, they are more accessible, and do not affect the environment. The present work had as main objective the evaluation of the insecticidal activity of aqueous and ethanol extracts of leaves and stem bark of *T. emetica* and *T. capitata*, in comparison with aqueous and ethanol extracts of *A. indica* leaves on fall Armyworm. For this purpose, aqueous and ethanol extracts of leaves and stem bark of *T. emetica* and *T. capitata*, and aqueous and ethanol extracts of *A. indica* leaves were prepared using Soxhlet, in concentrations of 1% to 0.01% (w / v). Through immersion, third instar larvae of *Spodoptera frugiperda* from the breeding were fed with corn leaves treated with these extracts, using distilled water and 96% ethanol as control. Phytochemical tests were also carried out on the extracts in order to identify the primary and secondary metabolites that are responsible for the insecticidal activities, and the result revealed the presence of alkaloids, flavonoids, tannins, anthraquinones, steroids and terpenoids, glycosides, reducing sugars and amino acids and proteins. The results of the biological tests with the plant extracts showed a strong insecticidal action of the three plants tested, depending on their concentrations, with particular emphasis on the aqueous extract of *T. capitata* bark, with LD₅₀ equal to 0.051%.

Keywords: *Spodoptera frugiperda*, insecticide, *Trichilia emetica*, *Trichilia capitata*, *Azadirachta indica*.

1. INTRODUÇÃO

Em Moçambique, mais de 80% dos habitantes dedicam-se à actividade agrícola. Desta população, mais de 90% constitui o sector familiar o qual vive no meio rural dependendo maioritariamente da agricultura de sequeiro como meio de subsistência e de rendimento. No sector familiar, o milho constitui não só alimento básico, mas também serve de fonte de rendimento em caso de excedentes (Cugalaet *al.*, 2017).

O milho (*Zea mayz*) é uma planta pertencente à família *Poaceae*. O milho é uma das principais culturas alimentares em Moçambique. De acordo com dados do Censo Agropecuário de 2000, as culturas do milho e da mandioca totalizam 50% do valor de produção agrícola. Os produtores do sector familiar alocam entre 20 e 60% das suas áreas agrícolas para produzir milho, em todo o país, sendo, portanto, reconhecida sua contribuição para a segurança alimentar da população Moçambicana. (Mabilanaet *al.*, 2012)

Dentre os factores bióticos, as pragas constituem elementos relevantes nesta cultura. A lagarta do funil de milho (*S. frugiperda*) é considerada praga-chave da cultura em condições de campo, causando danos em praticamente toda a fase vegetativa do milho comprometendo a produção. (Siloto, 2002)

Apesar da eficácia questionável, tem-se recorrido aos insecticidas sintéticos no controle da *S. frugiperda*, facto que além de causar problema como aumento significativo no custo de produção, permanência de resíduos dos pesticidas no alimento e aparecimento de pragas secundárias, poucos insecticidas oferecem controle satisfatório, uma vez que seu uso indiscriminado favorece o aparecimento de biótipos resistentes (Castelo Branco, 1990; França *et al.*, 1985).

Esses problemas podem ser minimizados com o uso de métodos alternativos de controle, dentre os quais o uso de plantas insecticidas tem surgido como uma ferramenta importante no manejo de insectos praga. Nesse sentido, o potencial insecticida de plantas do género *Trichilia* tem sido avaliado nos vários estudos obtendo-se resultados promissores com algumas espécies como *T. pallida* e *T. pallens* (Bogorni e Vendramim, 2005). Com caule e folhas destas plantas foram obtidos, em relação a *S. frugiperda*, resultados similares aos

registados com *A. indica*, considerada actualmente a mais eficiente planta insecticida. (Martinez, 2002; Rodríguez, 1995).

O presente estudo tem a finalidade de avaliar a actividade biopesticida de duas espécies do género *Trichilia*, nomeadamente *T. emetica* e *T. capitata* em comparação com *A. indica* sobre a lagarta do funil de milho, que é considerada a principal parasita da cultura de milho em Moçambique.

1.2.Objectivos

1.2.1. Objectivo geral

- Avaliar a actividade insecticida dos extratos de *Trichilia emetica*, *Trichilia capitata* e *Azadirachta indica*, sobre a lagarta do funil de milho (*S. frugiperda*) na cultura de milho (*Zea mays*)

1.2.2. Objectivos específicos

- Identificar as classes dos metabolitos secundários presentes nos extratos de *T. emetica*, *T. capitata* e *A. indica*;
- Preparar insecticidas botânicos a partir de extratos aquosos e etanólicos de *T. emetica*, *T. capitata* e *A. indica*;
- Testar a eficácia dos extratos produzidos sobre a lagarta do funil de milho (*S. frugiperda*).

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Características gerais de *S. frugiperda*

A lagarta do funil de milho (*S. frugiperda*) é uma praga de *lepidopteros*, que se alimenta em grande escala de folhas e caule de mais de 80 espécies, causando maior estrago em milho, arroz, sorgo, cana-de-açúcar, bem como, em alguns vegetais e algodão. (Centre for Agriculture and Bioscience International [CABI], 2020).

Nativa das Américas, as primeiras observações em África ocorreram em Janeiro de 2016 no sudoeste da Nigéria, e o ataque foi inicialmente atribuído às espécies indígenas do género *Spodoptera*, *Guenée, 185 (Lepidoptera noctudae)* que ocorrem comumente na África Ocidental (Goergen *et al.*, 2016). Apesar de terem sido reportadas ocorrências dessa praga em alguns países da América do norte, as condições climáticas ideais para a lagarta do funil de milho presentes em muitos países da África e da Ásia e a abundância de plantas hospedeiras adequadas a esta praga, fazem com que a praga produza muitas gerações numa única época e provavelmente levará a praga a se tornar endêmica. (CABI, 2020).

Em Moçambique, o levantamento da ocorrência (presença ou ausência) da lagarta do funil de milho foi conduzida durante a época chuvosa da campanha agrícola 2016/2017 nas principais zonas de produção de milho das províncias de Maputo, Gaza, Manica, Tete, Zambézia e Niassa (Cugala, *et al.*, 2017), onde posteriormente foi confirmada a presença da praga, primeiramente nessas províncias, e, posteriormente nas restantes províncias do país.

Lagarta do Funil de milho (LFM) é uma praga *Lepidoptera*, que pode ocorrer em duas raças, nomeadamente, a raça do arroz e a raça do milho (Rwomushana *et al.*, 2018). As primeiras alimentam-se de arroz e várias outras gramíneas e as últimas se alimentam de milho, algodão e sorgo. Contudo, as duas raças são morfologicamente semelhantes.

O ciclo de vida é completado em 30 dias. (Capinera, 2017). Contudo, o aumento da temperatura favorece o desenvolvimento da lagarta, fazendo com que esta complete o ciclo de vida em intervalo de tempo mais reduzido. Pelo contrário, no inverno, o ciclo de vida da LFM pode chegar até 60 dias. Os ovos medem 0,4 mm de diâmetro e 0,3 mm de altura. Eles são amarelos pálidos ou creme na altura da oviposição e tornam-se castanho claro quando estão

prestes a eclodir. A maturidade dos ovos dura entre 2-3 dias (20-30° C). Os ovos são usualmente colocados em massa de aproximadamente 150-200 ovos que podem estar em duas ou quatro camadas na superfície da folha. A massa de ovo é geralmente coberta com uma camada protetora de cor cinza-rosa. Cada fêmea pode colocar mais de 1000 ovos e a massa de ovos é muitas vezes colocada no verso ou no topo das folhas. Nalguns casos, particularmente em borboletas muito jovens, os ovos podem ser colocados no caule. (CABI, 2020)

As larvas são verde-claro a castanho-claro com listras longitudinais. No sexto instar, as larvas podem chegar a 4,5 cm de comprimento. Na eclosão são verdes com linhas e manchas pretas, à medida que crescem, permanecem verdes ou ficam marrom-amarela. Têm linhas pretas dorsais e espiraculares. As larvas são caracterizadas por um “Y” invertido de cor amarela na cabeça, pináculos dorsais pretos com cerdas primárias longas (dois de cada lado de cada segmento dentro da zona dorsal pálida) e quatro pontos pretos dispostos em um quadrado no último segmento abdominal. Existem seis instares, que ocasionalmente podem ser cinco (CABI, 2020).

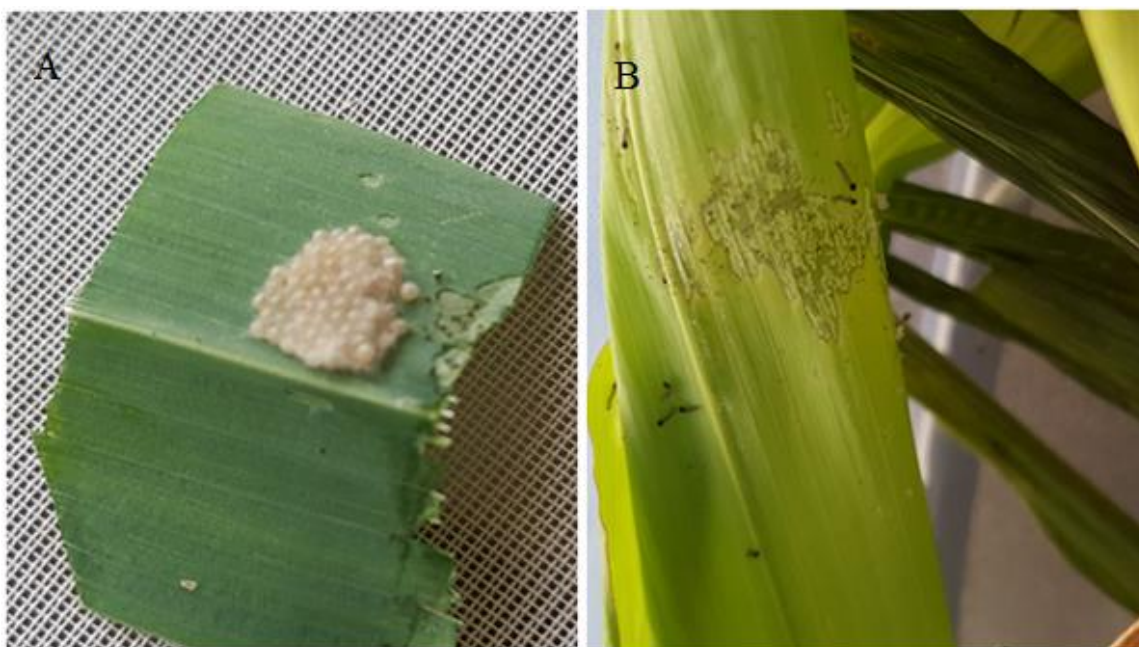


Figura1. Massa de ovos (A) e larvas recém-eclodidas de *S. frugiperda* (B)

Fonte: Autor

A pupação normalmente acontece no solo entre 2 a 8 cm de profundidade. A larva controla o casulo solto oval com comprimento de 20 a 30 mm amarrando partículas do solo com seda. Se o solo for muito duro, as larvas podem juntar restos de folhas e outros materiais para formar um casulo na superfície do solo. A pupa é vermelha-acastanhada e mede 14 a 18 mm de comprimento e cerca de 4,5 mm de largura. A duração da fase de pupa é de cerca de 8 a 9 dias no verão, chegando a 20 dias no inverno da Florida, por exemplo. (CABI, 2020; Capinera, 2017).



Figura 2. Larva do 6º instar (A) e Pupas (B) de *S. frugiperda*

Fonte: Autor

As mariposas (borboleta) da LFM tem uma envergadura de 32 a 40 mm. No macho, a asa anterior geralmente é sombreada de cinzenta acastanhada, com manchas brancas triangulares na ponta e perto do canto da asa. (fig. 3). As asas anteriores das fêmeas são menos distintamente manchadas, variando de um cinzento acastanhado uniforme a uma fina camada de coloração cinzenta ou castanha. A asa posterior é branca iridescente prateada com uma borda escura em ambos os sexos. Os adultos são noturnos, isto é, são mais activos durante as noites. A actividade dos adultos é ainda maior nas noites quentes e húmidas. Depois de um período de pré-oviposição de 3 -4 dias, a mariposa fêmea geralmente deposita a maior parte de seus ovos durante os primeiros 4 a 5 dias de vida, mas pode ocorrer alguma oviposição até 3 semanas. A duração da vida do adulto é estimada em cerca de 10 dias, com um intervalo de cerca de 7-21 dias (Capinera, 2017).



Figura3. Macho adulto de *S. frugiperda*

Fonte: Autor

S. frugiperda é uma praga polífaga, isto é, alimenta-se de diferentes espécies vegetais. Estudo feito por Montezano *et al.* (2018), conclui que existem um total de 244 espécies hospedeiras de *S. frugiperda*, pertencentes a 76 famílias ,*poaceae* (106), *asteraceae* (31) e *fabaceae* (31).

2.2. Impacto económico causado por *S. frugiperda* na cultura de milho

Na ausência de manejo e/ou na ausência de controlo biológico natural, LFM pode causar perdas significativas em milho ou em outras plantas hospedeiras. Existem muitas variáveis a considerar para determinar a potencial perda de cultura causada pela infestação por LFM. No geral, como a cultura responde a infestação por LFM está geralmente dependente do nível de população da peste e ao tempo da infestação, inimigos naturais e níveis patogêneos que podem ajudar a regular naturalmente a saúde e o vigor da planta (estado nutricional e de humidade). (GAPI, 2020).

A relação entre percentagem de plantas infestadas por LFM com o rendimento da produção de milho foi bem estudada por Cruz & Turpin (1983). Estes autores não encontraram diferença significativa no rendimento da produção de milho entre uma parcela com 100% de folhas infestadas com massa de ovo de LFM e outra com 20% de folhas infestadas. Este

resultado suporta a observação de Morrill & Greene (1973) que constataram que logo no primeiro instar, a LFM começa a disperçar da planta onde ocorreu a eclosão. O comportamento da dispersão resulta em mais plantas com larvas de LFM quando 20% de plantas ou mais são infestados pela massa de ovo. De acordo com esses autores, massas de ovo em 100 e 20% de plantas produziu significativamente redução no rendimento da parcela, quando comparadas com outras parcelas não infestadas (controlo). A demais, a diferença das taxas de redução do rendimento entre as parcelas com 100% e a de 20% de suas plantas infestadas não foi significativa, uma vez que a redução no rendimento em relação a controlo foi de 17,1; 17,0; 7,7; 4,5; e 1,7% para 100; 20; 15; e 5% de plantas infestadas com massa de ovos, respectivamente. A redução de número de graus foi de 13,9 para 13,6 quando a percentagem de plantas infestadas com massa de ovos de LFM variou de 100 para 20%.

Baudron *et al.* (2019), no estudo que realizaram que tinha como objectivo estimar o impacto económico causado por LFM na África subsahariana e que teve lugar em duas regiões do Zimbabwe, esses pesquisadores constataram níveis de infestação que variavam entre 26,4 a 41,9% que foram capazes de reduzir o rendimento da produção em 11,57%. Ainda em Zimbabwe, mais concretamente ao longo do vale do Zambeze, Chimweta *et al.* (2019) encontraram uma taxa de infestação de 94 a 100% que foi responsável pela redução do rendimento da produção em 58%. Esta diferença dos resultados entre estes dois estudos pode se dever ao facto de o primeiro estudo ter sido realizado numa área dominada por espécies graníneas que tal como milho, são hospedeiras de LFM. Outro factor que pode ter contribuído para a fraca severidade de LFM no estudo realizado por Baudron *et al.* (2019), é a predominância de inimigos naturais de LFM na área de estudo.

No estudo que realizaram e que tinha como objectivo avaliar o nível de expansão e o impacto causado pela infestação por LFM nas áreas de produção de milho na Quênia, De Groote *et al.* (2020) constataram que os níveis de infestação foram de 63% em 2017 e 83% em 2018. Paradoxalmente, as percentagens das perdas registadas pelos produtores afectados decresceram de 54% em 2017 para 42% em 2018. De uma forma geral, Quênia perdeu nestes dois anos um terço da sua produção anual estimada em 1 milhão de toneladas de milho.

Em Moçambique, de acordo com fontes do Departamento de Sanidade vegetal do Ministério da Agricultura e Desenvolvimento Rural (MADR), a LFM que eclodiu em algumas

regiões do país causou uma perda de 50 a 60% do rendimento da produção. De acordo com a mesma fonte, as áreas mais afectadas localizam-se nas províncias de Niassa com cerca de 65% de perda, seguida da província de Maputo com 56% e da província da Zambézia com 46%..

LFM ataca plantas como milho em todos os estágios do desenvolvimento da planta, alimentando-se de órgãos de crescimento da planta, ou seja, alimentando-se do funil da planta de milho, daí o nome de Lagarta do funil de milho. O dano causado depende do estágio de desenvolvimento da planta, da severidade (densidade de larvas) por planta, e do estágio de desenvolvimento da larva. Larvas jovens inicialmente consomem tecidos de um dos lados do galho. A partir do 2º e 3º instar, larvas começam a fazer buracos na folha comendo de borda da folha para dentro. A densidade larval é usualmente reduzida para uma ou duas por planta quando as larvas se alimentam muito próximas umas das outras devido ao facto de as larvas serem canibais. As larvas mais velhas causam desfolhamento extenso. (Capinera, 2017)

No estudo realizado com intuito de avaliar os danos causados por LFM sobre duas variedades de milho, nomeadamente, milho doce e milho amassado, onde a infestação ocorreu quando as plantas estavam no estágio de 6 e 12 folhas, na proporção de 10, 20 e 40 larvas por planta de milho, Wiseman (1984) constatou que os lagartos causaram maior dano sobre as folhas de plantas no estágio de 6 folhas por planta do que no de 12 folhas por planta, facto que os levou a inferir que independentemente da sua quantidade, as larvas da LFM atacam mais folhas de plantas jovens.

2.3. Insecticidas botânicos

Roelat *al.*(2000) avaliaram em condições de laboratório o efeito de diferentes concentrações (peso/volume) de extractos orgânicos (acetónico, metanólico, de Acetato de etila e hexânico) de folhas e ramos de *Trichilia pallida* Swartz sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) Os quatro extratos foram testados nas concentrações de 0,008; 0,04; 0,2 e 1%, tendo sido impregnados em folhas de milho e oferecidos às larvas de *S. frugiperda* durante 10 dias. Comparando os quatro extractos, a maior actividade tóxica foi verificada no extracto acetónico, seguido do metanólico, de Acetato de etila e de extracto hexânico em todas as partes da planta testadas. De uma forma geral, os extractos de ramos de *T. pallida* foram mais eficazes que os de folha. A mortalidade acumulada até o final da avaliação (10º dia) evidenciou menor actividade do extracto metanólico de folhas, no qual o valor 100% só foi registrado na

concentração de 1% (6º dia). Nos demais tratamentos, a mortalidade total só não foi atingida na menor concentração (0,008%) do extracto acetônico de folhas, na qual, ainda assim, constatou-se valor superior a 90% de mortalidade aos 10 dias. Com extractos de ramos, ocorreu 100% de mortalidade em todos os tratamentos sendo a actividade retardada em concentrações mais baixas, como foram os casos de extractos acetônicos e metanólicos, cujas actividades duraram 8 e 7 dias, respectivamente.

Sousa e Vendramim (2000) em seu estudo, compararam a bioactividade de extratos aquoso a 3%(p/v) de 3 meliáceas, *M. Azadirach* (fruto verde), *Trichilia pallida* Swartz (ramos) e *Azadirachta indica* A. Juss (sementes) em relação a mosca branca, *Bremisia tabaci* (gennadus) biotipo B, criada em tomateiro. No primeiro experimento, os extractos foram aplicados sobre ovos com 3 dias de idade, avaliando se a mortalidade e a duração dessas fases, e no segundo experimento, os extratos foram aplicados apenas sobre as ninfas avaliando-se a longevidade e a fecundidade dos adultos. Em relação à fase de ovos, os extratos de *T. pallida* foram os que mais provocaram mortalidade, seguida de *A. indica* e de *M. azedarach*. Nenhum dos extratos afectou a duração da fase de ovo, de ninfas, bem como a longevidade e fecundidade da praga em estudo.

Bogorni e Vendramin(2005) avaliaram o efeito de extratos aquosos de folhas e ramos de 6 espécies de *trichilia*(*T. caseretti*, *T. catigua*, *T. claussoni*, *T. elegans*, *T. pallens* e *T. pallida*) sobre o desenvolvimento de *S. frugiperda* (J. Smith) em condições de laboratório. Foram imersas folhas de milho em extratos dessas espécies vegetais a 1% (peso/volume) por três minutos, e, depois de evaporar o excesso de humidade, foram oferecidas as lagartas do 1º instar. Os parâmetros avaliados foram peso das lagartas ao 8º e 14º dia após o início do tratamento, duração e mortalidade na fase pupal, peso das pupas formadas e percentagem de formação de adultos. Como resultado, constatou-se que entre as espécies de *trichilia* testadas, a maior eficácia foi verificada em folhas de *T. pallens* e ramos de *T. pallida* que afectaram todos os parâmetros avaliados.

Wheeler, *et al.*(2001) em seu estudo incorporaram em dieta artificial extractos metanólicos de partes diferentes (galho, tronco, casca, e folha) de seis espécies de *trichilia* que ocorrem na Costa Rica, nomeadamente *T. quadrijugata* (Kunth) C.D.C, *T. maritiana* C.D.C, *T. americana* (Sesse & Mocimo) Pennington, *T. hirta* L., *T. glabra* L., e *T. pleeana* (A. Juss)

C.D.C. Todas as seis espécies testadas reduziram significativamente o crescimento da lagarta *S. frugiperda* até 3,9% do peso das lagartas do controlo a 1000 ppm. A menos activa foi *T. glabra* enquanto que os extratos de galhos de *T. americana* mostraram serem mais activos do que o de tronco, casca ou folha, na medida em que estes reduziram o crescimento de larvas de *S. frugiperda* em 50% na concentração de 17,2 ppm. Os autores notaram uma acentuada queda do peso das larvas, bem como o aumento do tempo para chegar a esse peso, causados pelo incremento da concentração de extratos de *T. americana*. A título de exemplo, concentrações de 25; 50; e 75 ppm ocasionaram uma redução do peso das larvas em torno de 600 mg. Um outro facto observado neste estudo foi o aumento de instares por parte das larvas, causada pelos extractos nas concentrações mais reduzidas, chegando mesmo a atingir 7 a 8 instares. De uma forma geral, estes extratos causaram poucas mortes, com excepção de *T. americana*, onde poucas larvas sobreviveram nos seus extratos.

2.4. Técnicas usadas na busca de substâncias de plantas com actividade insecticida

As plantas medicinais contêm muitos componentes químicos como alcalóides, glicosídeos, saponinas, resinas, oleoresinas, sesquiterpenos e óleos (Rajalkshmiet *al.*, 2013)

As plantas produzem metabolitos químicos primários e secundários que desempenham um papel vital no desenvolvimento normal e na reprodução. Os metabolitos secundários são conhecidos por desempenhar um papel importante na sobrevivência das plantas e no mecanismo de defesa contra diversas adversidades biótica e abiótica. (Edriss, 2012).

De acordo com Ahmadet *al.*, (2013), extracção é a separação de porções medicinalmente activos dos tecidos das plantas e animais usando solventes selectivos através de procedimentos padronizados.

O produto obtido das plantas é uma mistura complexa de metabolitos, no estado líquido ou semi-sólido ou (depois da remoção do solvente) no estado em pó e é necessário para uso oral ou external. (Tiwari *et al.*, 2011).

Os métodos de extração usados envolvem a separação da porção biologicamente activa do tecido da planta do componente inactivo/inerte usando solventes selectivos. Durante a

extração, os solventes penetram no material sólido da planta e dissolvem componentes com polaridade similar. (Ncube *et al.*, 2008)

O objectivo da extração é de obter a substância/extrato pretendido e eliminar materiais desnecessários através do tratamento com solvente selecionado. Este produto contém mistura complexa de muitos metabolitos medicinais da planta tais como alcalóides, glicosídeos, terpenoides, flavonoides e ligninas (Ncube *et al.*, 2008).

Os parâmetros que influenciam a qualidade de extractos são Parte da planta usada como material de partida, Solvente usado para a extração e Procedimentos da extração (Ncube *et al.*, 2008).

De acordo com Tiwari *et al.* (2011), Os constituintes naturais da planta podem derivar de qualquer parte da planta como tronco, folhas, flor, raiz, fruto, semente, etc. Qualquer parte da planta pode conter os componentes activos.

As plantas são usadas na forma seca (ou como extratos aquosos). Usualmente são secadas no ar. Outros pesquisadores secam as plantas no forno em cerca de 40° C por 72h

Um dos métodos mais usado na extração de substâncias biologicamente activas das plantas é o Soxhlet. Porém, este método deve ser usado quando as substâncias que se pretendem extrair são pouco solúveis num solvente e os resíduos são insolúveis neste mesmo solvente. Se as substâncias activas forem solúveis no solvente usado na extração, uma simples filtração pode ser usada para separar os compostos activos das substâncias insolúveis. A vantagem deste método quando comparado com os demais, é o facto de muita quantidade da droga ser extraída por pequena quantidade de solvente, na medida em que é o mesmo solvente que passa muitas vezes pelo material vegetal, ou seja, o solvente é reciclado. Porém, o método tem a desvantagem de não poder ser usado para compostos sensíveis ao aquecimento prolongado, com o risco de estes poderem se degradar por causa do calor. (Nikhal, 2010 citado por Tiwari *et al.*, 2011).

Outros métodos de extração incluem a homogeneização do material vegetal num solvente selecionado, seguidos de agitação e filtração, maceração, Decoção, infusão, digestão, Percolação e Sonicação. (Tiwari *et al.*, 2011).

2.5. Classes de metabolitos Secundários de plantas com actividade insecticida

Na análise fitoquímica, a identidade botânica da planta estudada deve ser autenticada por uma reconhecida autoridade de Botânicos ou taxonomistas. Se possível, deve-se deixar uma amostra da planta (Harborne, 1998).

Fitoquímicos são substâncias biologicamente activas produzidas pelas plantas. Entre os principais fitoquímicos, destacam-se:

2.5.1. Compostos fenólicos

Compostos fenólicos são provavelmente os compostos naturais mais explorados devido a sua potencial bioactividade, tal como já foi demonstrado em muitos estudos (Del Rio *et al.*, 2010). De uma forma geral, o termo "compostos fenólicos" refere-se a mais de 8000 compostos que se encontram no reino vegetal que apresentam pelo menos um anel aromático com um ou mais substituintes hidroxil, incluindo derivados funcionais como éster, metileter, glicosídeos, etc. (Cartea *et al.*, 2011). Os compostos fenólicos regulam várias funções metabólicas incluindo estrutura, crescimento e pigmentação e são resistentes a diferentes patógenos na planta. De acordo com o número de carbono, os compostos fenólicos que se encontram comumente nas plantas podem ser classificados em diversos grupos (Harborne, 1989). No entanto, iremos destacar os grupos mais abundantes no reino das plantas e que já demonstraram suas actividades insecticidas em vários estudos, com particular destaque para flavonoides e taninos.

2.5.1.1 Flavonoides

Flavonoides são compostos polifenólicos que contêm 15 carbonos com duas cadeias aromáticas ligadas a uma ponte de três carbonos (Brandt & Christensen, 2006). São mais numerosos dos compostos fenólicos e estão distribuídos dentro do reino vegetal (Harborne, 1993). Eles são também os pigmentos de plantas mais importantes. Na natureza existem mais de 4000 tipos diferentes de flavonoides (Harborne, 1989) estão presentes em altas concentrações na epiderme de folhas e de casca de frutos, e como metabolitos secundários, desempenham papéis importantes e variáveis. Na planta, os flavonoides estão envolvidos em diversos processos como protector de UV, pigmentação, estimulação da fixação de nitrogénio, nódulo e resistência a doenças (Koes *et al.*, 1994; Pierpoint, 2000). Os flavonoides podem ser divididos em diferentes grupos, dependendo do carbono do anel C no qual o anel B está

ligado e do grau de insaturação e de oxidação do anel C. (fig. 4). Os flavonoides nos quais o anel B está ligado na posição 3 do anel C são chamados isoflavonas. Os que o anel B está ligado na posição 4 são chamados neoflavonoides, enquanto que os flavonoides em que o anel B está ligado na posição 2 podem ainda ser subdivididos em vários subgrupos baseados na característica estrutural do anel C. Esses subgrupos são: Flavonas, flavonóis, flavanonas, flavanóis, ou catequinas, antocianinas e chalconas.

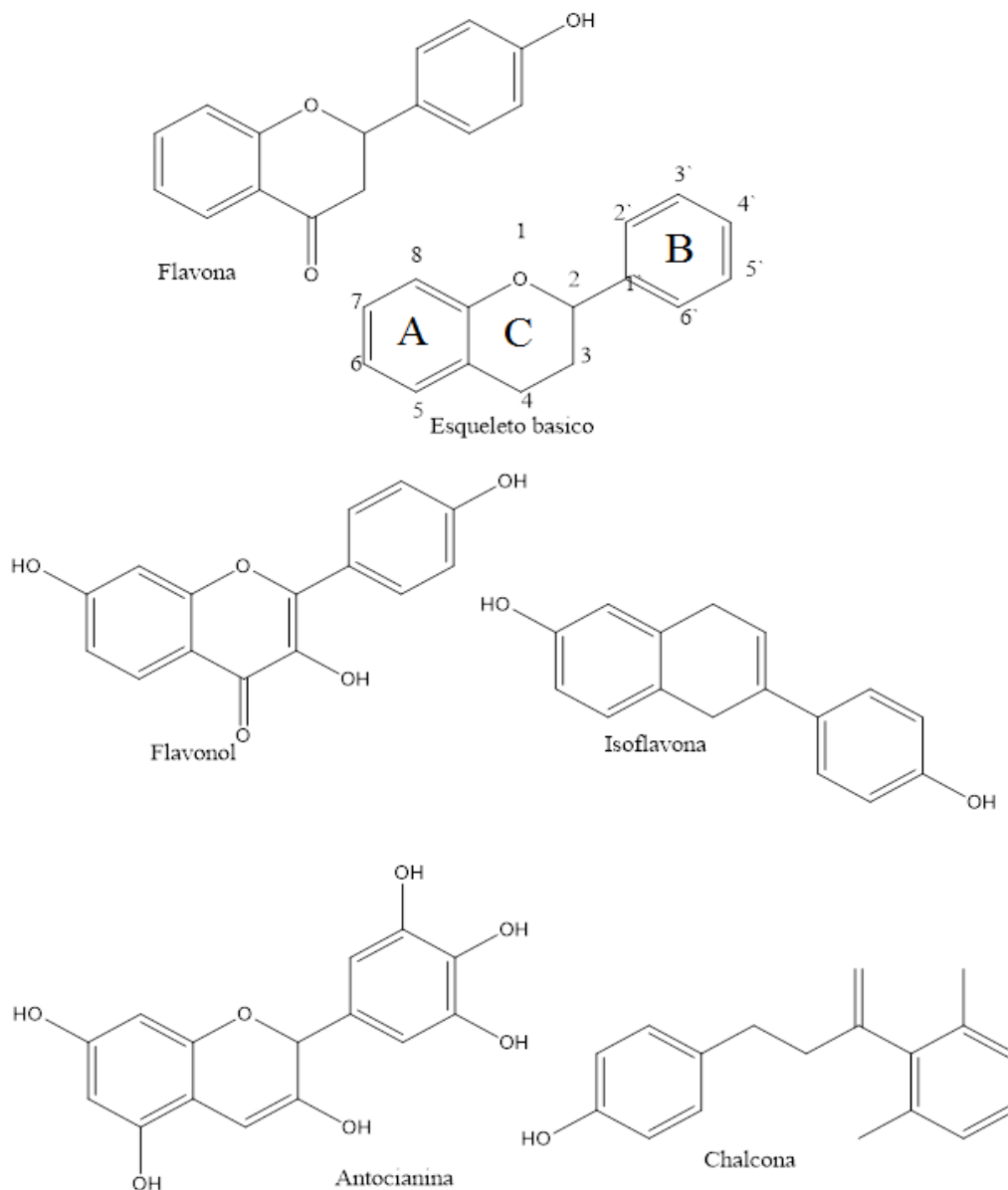


Figura4. Estrutura química dos flavonoides

Fonte: Panche (2016)

Muitos aparecem ligados a açúcares, razão pela qual muitos flavonoides ocorrem na forma de glicosídeos. (Bhuyan & Basu, 2017). Os flavonóides são solúveis em água e podem ser extraídos com etanol a 70%. Os flavonóides mudam de cor quando tratados com bases ou amoníaco. (Harborne, 1998).

2.5.1.2. Taninos

Os taninos são o terceiro grupo mais importante dos polifenóis depois de flavonóides e ácidos fenólicos. Podem ser divididos em dois grupos: Taninos condensados e taninos hidrolisáveis. (Porter, 1989). São polímeros de alto peso molecular. Os taninos condensados ou proantocianidinas estão distribuídos por diversas famílias do reino vegetal, em geral, em plantas lenhosas. São polímeros de flavan-3-ol e/ou flavan-3,4-diol (fig. 5), produtos do metabolismo do fenilpropanol (HEIL *et al.*, 2002). As proantocianidinas são assim denominadas pelo facto de apresentarem pigmentos avermelhados da classe das antocianidinas, como cianidina e delphinidina. As moléculas têm grande variação estrutural, resultante de padrões de substituições entre unidades flavânicas, diversidade de posições das ligações e a estereoquímica (MELLO & SANTOS, 2001).

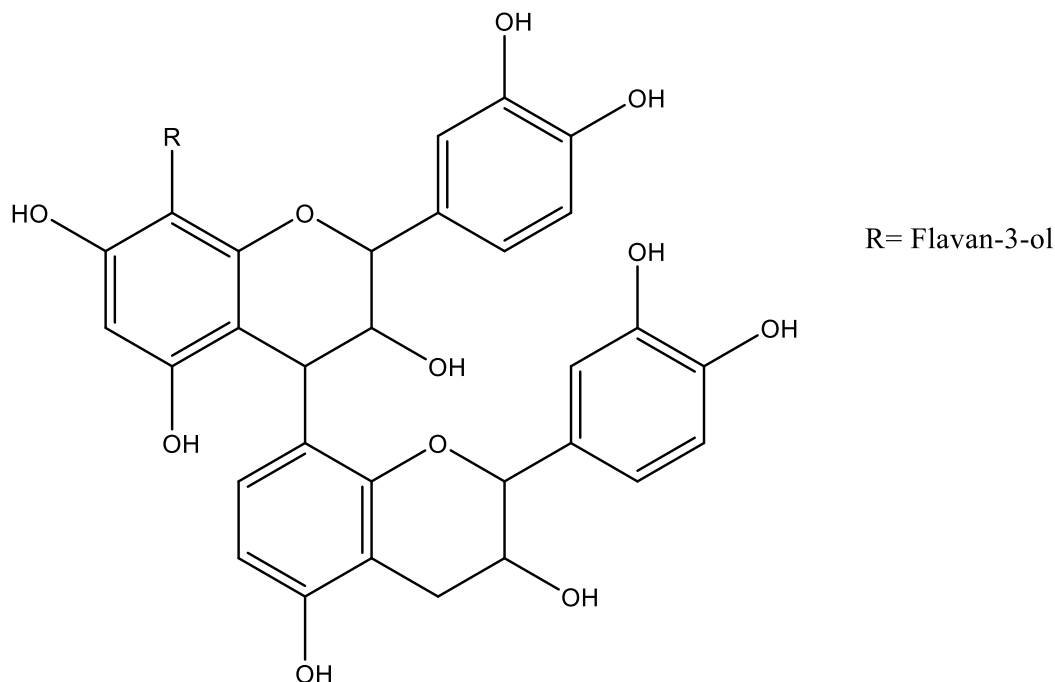


Figura5. Estrutura química de taninos condensados

Fonte: Lekha & Lonsane (1997)

Os taninos hidrolisáveis são presentes nas famílias *Choripetalae* das dicotiledôneas, dicotiledôneas herbáceas e lenhosas (MELLO & SANTOS, 2001). Algumas árvores desta classe, como o castanheiro e o carvalho são utilizadas como fontes industriais de tanino. Taninos hidrolisáveis (fig. 6) possuem um grupo polioli central (em sua maioria, é β -d- glicose, mas também o ácido quínico, outros fenóis e outros glicósidos); e hidroxilas esterificadas pelo ácido gálico (parte fenólica) (KHANBABAE & REE, 2001).

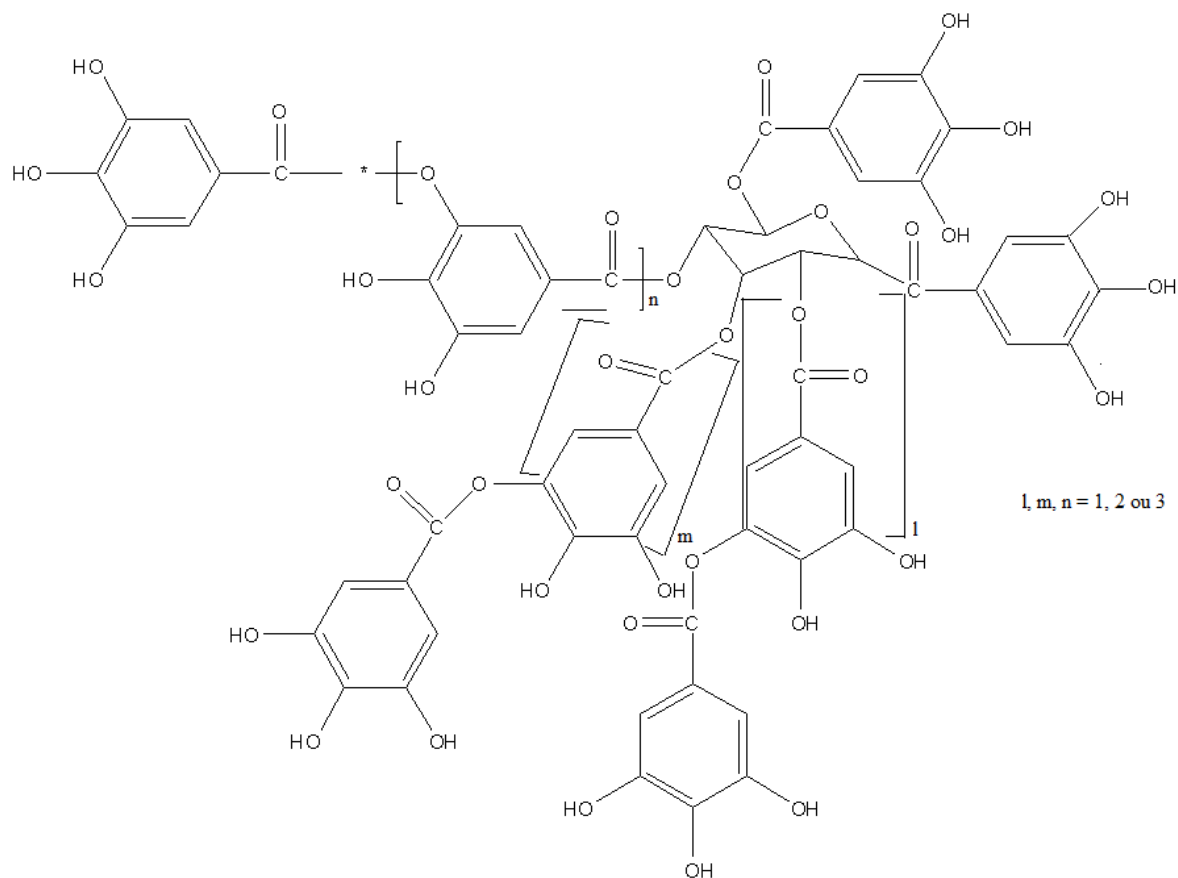


Figura 6. Estrutura química de taninos hidrolisáveis

Fonte: Nakamura *et al.* (2003)

Os taninos hidrolisáveis são ainda classificados em galotaninos e elagitaninos. Os galotaninos são compostos por unidades de ácido gálico unidas por ligações depsídicas entre elas (fig. 7). De acordo com CLIFFORD *et al.* (2000), o “ácido tânico”, utilizado comercialmente é uma mistura de vários taninos gálicos. É extraído principalmente de folhas e

galhas de arbustos do género *Rhus* (sumagre), das vagens de *Caesalpinia spinosa* (tara) e dos galhos de várias espécies de carvalho.

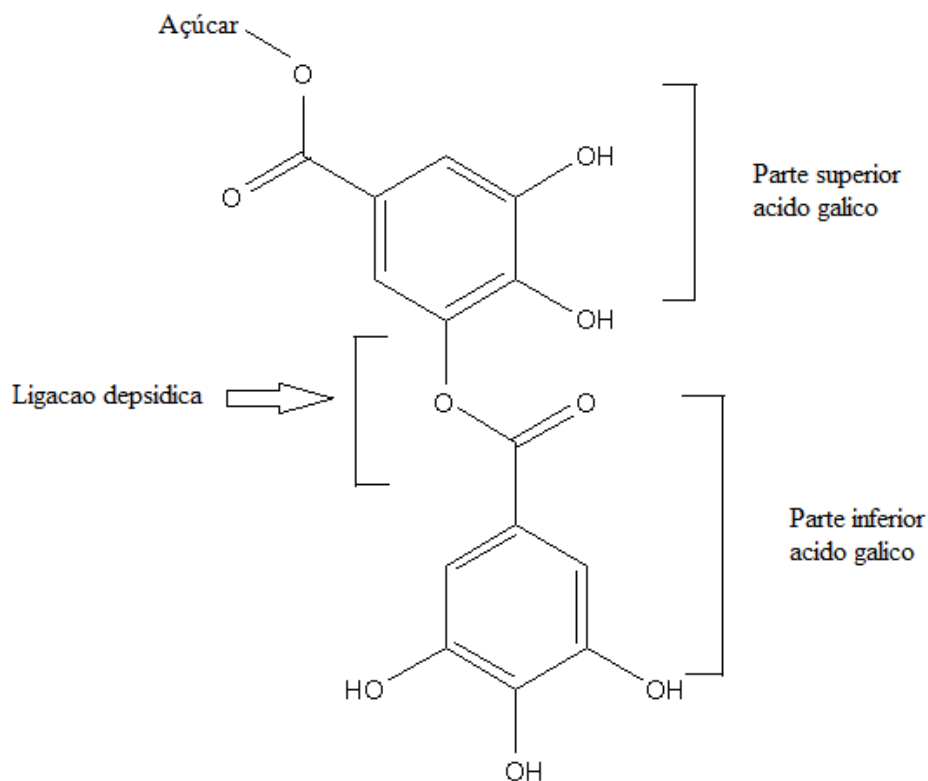


Figura7. Exemplo de ligação depsídica formada entre o grupo fenólico superior e o grupo inferior de uma unidade de ácido gálico

Fonte: Harvey (2001)

Os elagitaninos são moléculas que possuem um ou dois resíduos de hez-hidroxidifenoila de configuração R ou S, os quais são obtidos pelo acoplamento oxidativo C-C entre dois resíduos de ácido gálico adjacentes. Após a hidrólise ácida das ligações ésteres, ocorre a liberação do ácido difênico, que se rearranja espontaneamente para o ácido elágico. Os elagitaninos isolados até o presente momento são monômeros, dímeros, trímeros e tetrâmeros (MELLO & SANTOS, 2001). É possível encontrar taninos elágicos em vinhos envelhecidos em barricas de madeira de carvalho, como resultado da difusão da madeira durante o estágio de produção em barricas (CLIFFORD *et al.*, 2000).

Os dois tipos de taninos podem ocorrer na mesma planta. (Harborne, J. B., 1998). Os taninos têm sido alvo de diversos estudos, sendo que a maioria vem abordando interações ecológicas entre vegetais e herbívoros, visto que se têm sugerido que os teores de taninos podem diminuir a taxa de predação por se tornarem impalatáveis, afastando seus predadores naturais. (Monteiro *et al.*, 2005). Provavelmente, devido à habilidade de ligar-se às proteínas e outras macromoléculas, os taninos apresentam actividades tóxicas. Ayres *et al.* (1997) verificaram que a rápida mortalidade de insetos tratados com taninos condensados deveu-se à atividade tóxica destes compostos e não pela inibição da digestibilidade.

2.5.2. Esteróides e terpenos

Uma enorme variedade de substâncias das plantas é formada por terpenóides, termo que é usado para indicar que todas essas substâncias têm em comum mesma origem biossintética. Apesar de apresentarem diferenças estruturais entre si, todos os terpenos/terpenoides são basicamente estruturados em blocos de cinco carbonos – unidades de isopreno (C_5H_8) normalmente, ligadas entre si pela ordem “cabeça-a-cauda” (Fig.10).

Os terpenos são classificados de acordo com a quantidade de unidades de isopreno podendo ser monoterpenos (duas unidades, 10C), sesquiterpenos (3 unidades 15C), diterpenos (4 unidades 20C), triterpeno (6 unidades 30C) e tetraterpenos (8 unidades, 40C). Além desta classificação, os terpenos podem ser sub-classificados em termos do grau de ciclização da molécula, ou seja, como acíclicos (moléculas abertas), monocíclicos ou bicíclicos (Fig. 9) (Dewick, 2002).

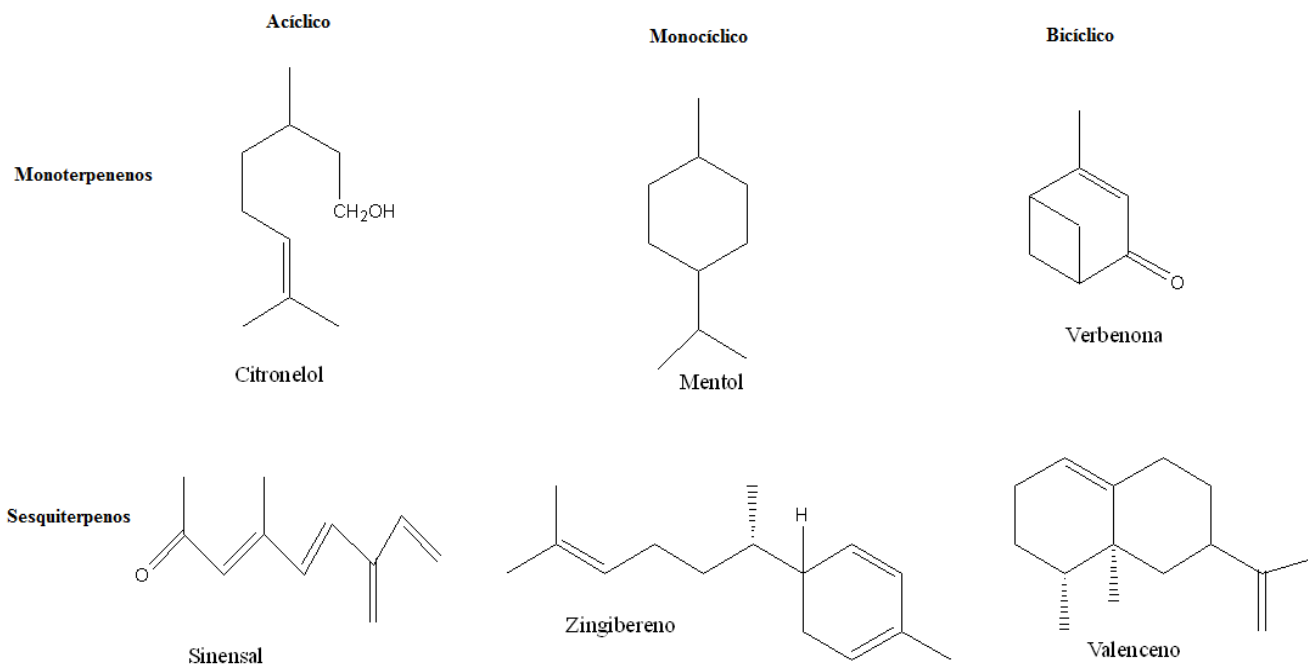


Figura8. Exemplos de monoterpenos e sesquiterpenos acíclicos, monocíclicos e bicíclicos

Fonte: Felipe e Bicas (2016)

Os monoterpenos e sesquiterpenos, de menor massa molecular, apresentam volatilidade acentuada. Essa característica é de grande importância para o aroma dos produtos naturais, particularmente de frutas cítricas, ervas aromáticas, especiarias e condimentos. (Farkas & Mohácsi-Farkas, 2014).

Os esteroides são sintetizados a partir de triterpenoides. (Feliu, 2011; Harborne, 1998). Todos os triterpenoides naturais podem ser considerados como produtos finais de uma sequência biogénica que começa com a formação de Isopentenil pirofosfato, IPP (a unidade activa de isopreno). O acoplamento cabeça-a-cauda de IPP com o seu isómero dimetilalil pirofosfato (DMAPP) e uma molécula secundária de IPP leva a formação de C₁₅, FPP (Farnesil pirofosfato) via C₁₀, Geranyl pirofosfato (GPP) (fig. 10). A dimerização reductiva cauda-a-cauda de dois FPP leva a formação de esqualeno C₃₀. ((Popjak *et al.*, 1969). A regra de isopreno se transformou na "regra de esqualeno", uma vez que o esqualeno é o intermediário essencial na biossíntese de colesterol e o esqueleto carbónico de todos outros triterpenos cíclicos até então conhecidos. ((Eschenmoser *et al.*, 1955). Quimicamente os terpenóides são

geralmente lipossolúveis e estão localizados no citoplasma da célula da planta. Os óleos essenciais às vezes ocorrem na superfície das folhas das plantas, os carotenoides estão associados com cloroplastos nas folhas e com clomoplastos nas pétalas. (Harborne, 1998).

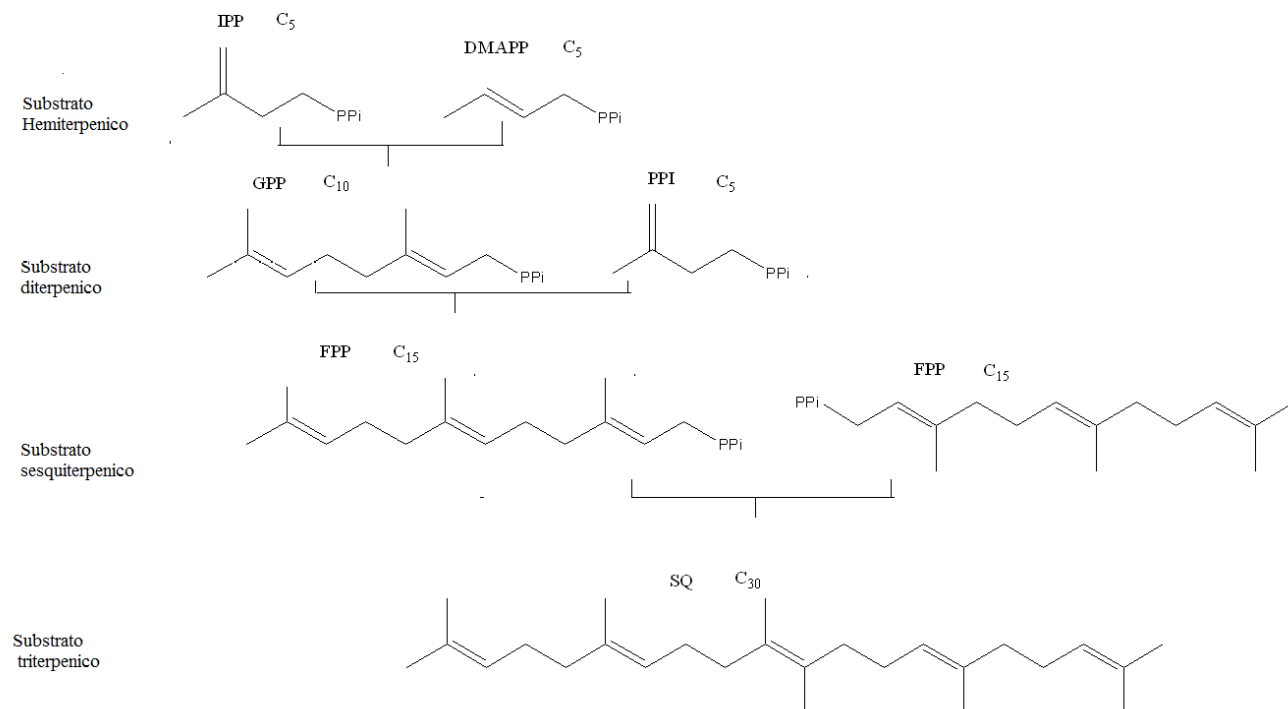


Figura 9. Esquema simplificado de formação de triterpenoides por etapas de condensação de unidades de isopreno C₅ (IPP e DMAPP) via C₁₀, GPP e C₁₅, FPP para formar C₃₀ esqualeno (SQ)

Fonte: Hillier and Lathe (2019)

Alguns triterpenóides possuem suas actividades fisiológicas bastante estudadas. Muitos dos terpenóides com algumas variações na sua estrutura são biologicamente activos e são usados para o tratamento de várias doenças, como é o caso de taxol e seus derivados que são usados no tratamento de vários tipos de cancro. Os limonóides são um dos triterpenóides com acção insecticida mais conhecidos conferindo sabor amargo às frutas cítricas. A azadiractina é um exemplo de limonóide tóxico e deterrente, letal para alguns insectos mesmo em baixíssimas concentrações (abaixo de 50ppb). (Dewick, 2009). Outros limonóides triterpénicos com actividade insecticida são as várias trichilinas que já foram extraídas a partir de plantas do género *trichilia*.

2.5.3. Saponinas

Saponinas são glicosídeos de esteróides ou de terpenos policíclicos. Têm uma estrutura com caráter anfifílico, parte da estrutura com característica lipofílica (triterpeno ou esteróide) e outra hidrofílica (açúcar). Essa característica determina a propriedade de redução da tensão superficial da água e suas ações detergentes e emulsificante (Schenkel, *et al.*, 2001). São classificadas de acordo com o número fundamental da aglicona, e também, pelo seu caráter ácido, básico ou neutro. Assim, quanto à aglicona, denominam-se saponinas esteroidais ou saponinas triterpênicas (fig.10).

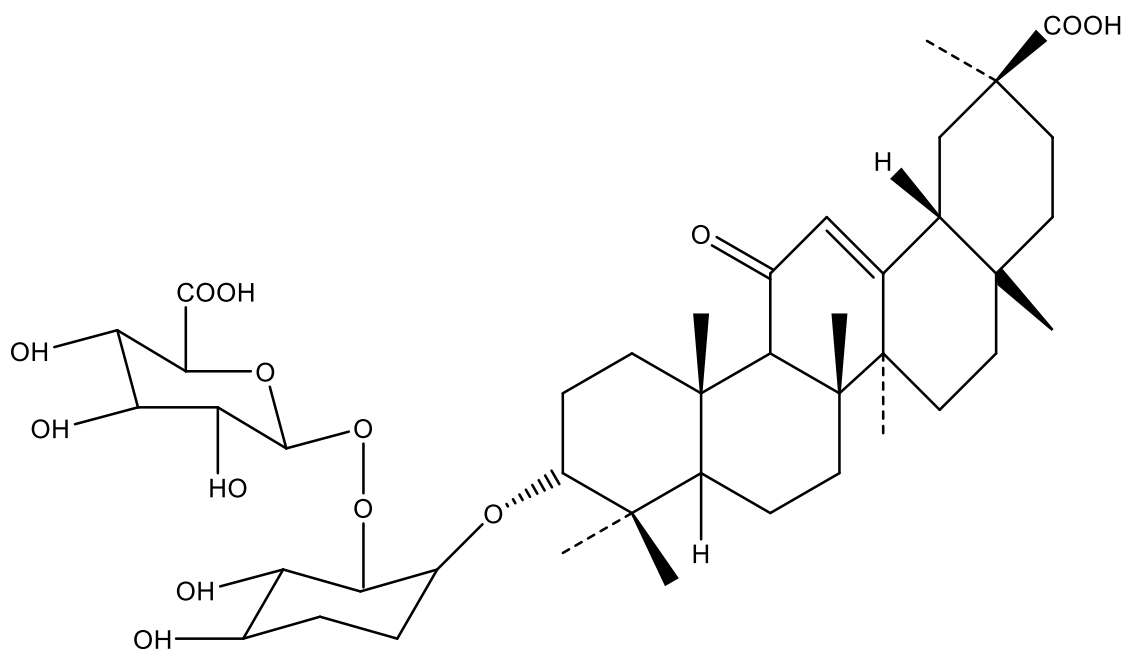


Figura10. Ácido glicirricínico, uma saponina triterpênic

Fonte: Siedentopp (2008)

O caráter ácido ocorre pela presença de grupamento carboxila na aglicona ou na cadeia de açúcares. O caráter básico decorre da presença de nitrogênio, em geral sob forma de uma amina secundária ou terciária (Schenkelet *al.*, 2001). Outra classificação refere-se ao número de cadeias de açúcares ligados a aglicona. Assim, saponinas monodesmosídicas possuem uma cadeia de açúcar, enquanto as saponinas bidesmosídicas possuem duas cadeias de açúcares, a maioria com ligação éter na hidroxila em C-3 e outras com ligação éster (WINA et al., 2005) As saponinas são substâncias derivadas do metabolismo secundário das plantas, relacionadas,

principalmente, com o sistema de defesa. São encontradas nos tecidos que são mais vulneráveis ao ataque fúngico, bacteriano ou predatório dos insetos (Wina *et al.*, 2005), considerando-se parte do sistema da defesa das plantas e indicadas como “fitoprotectoras” (Pizarro *et al* 1999).

2.5.4. Glicosídeos

Glicosídeos são moléculas em que um açúcar se encontra ligado através do seu carbonoanomérico a outros grupos e forma ligações glicosídicas do tipo O-ligação glicosídica ou S-ligação glicosídica; estes últimos são também chamados tioglicosídeos e as moléculas que contém ligação N-glicosídica são designadas glicosilamina. O grupo de açúcar é designado glicone e o grupo não açucarado é aglicone ou parte da aglicona ou genuína do glicosídeo. (Mondai,2019). O glicone pode consistir em açúcares simples (monossacarídeos) ou grupo de açúcares (oligossacarídeos). A porção glicona e aglicona pode ser quimicamente separada por hidrólise na presença de ácidos. Também existem numerosas enzimas que podem formar e/ou quebrar as ligações glicosídicas. As enzimas de clivagem mais importantes são hidrolase de glicosídeos e as enzimas sintéticas mais importantes são glicosil transferase. (Mondai,2019). Os glicosídeos apresentam três classificações, que são: Quanto ao tipo de açúcar que o forma, podendo ser glucosídeos, frutosídeos ou glicuronídeo, conforme o açúcar seja glocose, frutose ou ácido glucurónico. Quanto ao tipo de ligação glicosídica podem ser α -glocosídeos ou β -glicosídeos, dependendo se a ligação glicosídica se encontra "acima" ou "abaixo" do plano da molécula de açúcar, respectivamente. Dependendo da natureza da substância que se liga ao açúcar para formar o glicosídeo, estes podem ser glicosídeos esteroidais ou glicosídeos cardíacos, glicosídeos antraquinónicos, glicosídeos cumarínicos, glicosídeos cianogénicos, glicosídeos de flavonóides, glicosídeos de saponinas, tioglicosídeos, glicosídeos de esteviol, e glicosídeos fenólicos. (Mondai,2019).

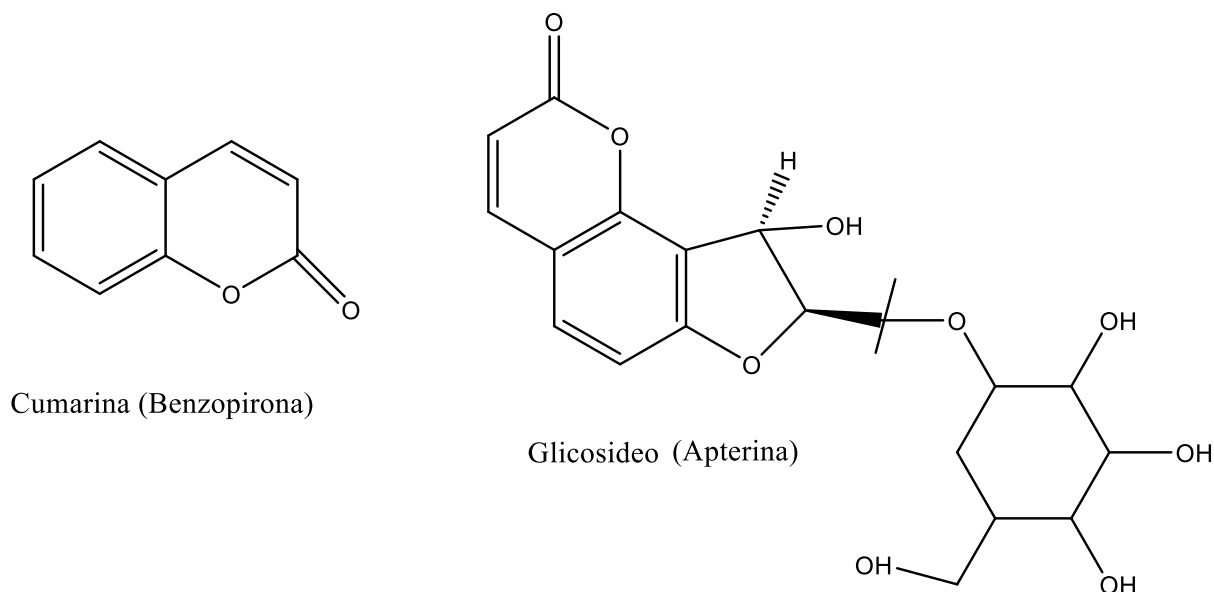


Figura 11. Benzopirona (cumarina) e Apterina, um glicosídeo cumarinico

Fonte: Mondai (2019)

Os glicosídeos cardíacos são uma classe importante de substâncias naturais, cujas acções incluem efeitos benéficos e tóxicos no coração. As plantas que contêm esteróides cardíacos são usadas como veneno e como agentes cardíacos no tratamento de insuficiência cardíaca congestiva e para o tratamento de fibrilação arterial. (Mondai,2019)

2.5.5. Alcalóides

Segundo Pelletier (1983) os alcalóides são substâncias nitrogenadas que geralmente contêm nitrogénio em um anel aromático num estado de oxidação negativo (fig. 12). O nome alcalóide vem do facto de essas substâncias serem álcalis, uma vez que o nitrogénio heterocíclico apresenta electrões desemparelhados que lhes confere um carácter básico.

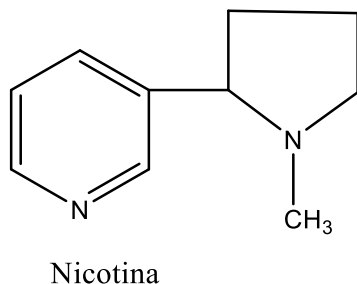


Figura 12. Estrutura química de nicotina como exemplo de estrutura dos alcalóides

Fonte: ALLINGER *et al* (1981)

Os alcalóides constituem-se num vasto grupo de metabólitos com grande diversidade estrutural, representando cerca de 20% das substâncias naturais descritas (Henriques *et al.*, 2003). Na planta existem sugestões de que eles não têm função metabólica importante. Contudo, imensos trabalhos relatam que essas substâncias têm função de defesa contra insectos herbívoros. (Carlos, 2007). Os alcalóides podem ocorrer em diferentes órgãos vegetais, como raíz, folhas, casca do fruto, e sementes. Em relação a sua localização intracelular, são produzidos no retículo endoplasmático, concentrando-se em seguida nos vacúolos. (Taiz & Zeiger, 1998).

2.6. Mecanismo de actuação dos fitoquímicos com actividade insecticida

O modo de acção e o local de afecto nas actividades insecticidas dos bioinsecticidas já foram estudados por vários autores (Lewis *et al.*, 1993; Roeder, 1994; Vanden, Broeck *et al.*, 1995; Zafra-Polo *et al.*, 1996; Enan, 1998 ; Kostyukovsky *et al.*, 2002; Priestley *et al.*, 2003). Uma das vantagens da aplicação de bioinsecticidas é a acção conjunta de diversos fitoquímicos que constituem esses biopesticidas, pois, a mistura de metabolitos secundários pode ser deterente para insectos e herbívoros por longo periodo, do que um composto singular e, as diferentes propriedades físicas podem conferir maior implantação ou maior persistência da defesa (Rattan, 2010).

É evidente de que os insecticidas botânicos afectam a fisiologia do insecto de várias maneiras e em vários locais de actuação (Rattan, 2010). Em larvas de Lepidoptera, terpenos (drimane sesquiterpeno) bloqueiam os efeitos estimuladores da glicose e do inositol nas células receptoras quimossensoriais localizadas nas partes bucais e também podem actuar nos

receptores de outras maneiras (Gershenzon & Dudareva, 2007). Os alcalóides são insecticidas em concentrações baixas e também são tóxicos para os vertebrados. O seu modo de acção varia,mas muitos afectam os receptores de acetilcolina no sistema nervoso, (ex. Nicotina) ou membrana dos canais de sódio nos nervos (ex. Veratrina). (Stedman & Barger, 1925). Estes químicos não são voláteis, e podem ser usados como repelentes quando queimando directamente na chama ou numa bobina de mosquito criando um fumo insecticida que repele insectos através da intoxicação directa. (Secoy & Smith, 1983; Johnson, 1998).

Roelet *al* (2010), no seu estudo destinado a analisar o efeito de doses subletais do óleo de *A.indica* (Meliaceae) no mesêntero de *S.frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera, Noctuidae), onde analisaram o canal alimentar de dez larvas de 3º instar de *S. frugiperda* alimentadas em dieta artificial tratadas com óleo de nim a 0,006; 0,05 e 0,4% em comparação com testemunhas. Entre tantas outras constatações, estes pesquisadores observaram que, nas dietas com óleo de nim na concentração, 0,05 e 0,006%, a ingestão de alimentos causou alterações na estrutura e morfologia do revestimento do intestino médio das larvas. Nos insectos tratados com 0,4% de óleo de nim, a matriz peritrófica foi espessada, degradada e dobrada. Houve ondulações ao longo do intestino médio causando achatamento das células e aumento de microvilosidades. O tubo digestivo no nível de concentração de 0,4% estava praticamente vazio, era menor e mais fino.

Os taninos hidrolisáveis de carvalho são conhecidos como compostos fenólicos que podem influenciar negativamente o crescimento da mariposa cigana (Rossiter,*et al.*, 1988). Estes compostos fenólicos vegetais foram considerados como um dos mais importantes agentes defensores contra insectos em vários estudos (Berbehenn & Martin, 1994; Berbehenn *et al.*, 1996; Henn, 1997).Apesar do seu modo específico de acção não ser ainda conhecido com clareza (Rattan, 2010).

Alguns terpenóides já exibiram considerável toxicidade contra insectos com baixa toxicidade em mamíferos (Fengel & Wegener, 1984; Golob *et al.*, 1999).Os monoterpenos das plantas *Porophyllumgracile* demonstram aumentar a toxicidade do poliacetileno para os lepidópteros *Ostrinia nubilalis*. Contudo, a mistura dos terpenos contendo compostos com propriedades físicas diferentes é mais tóxica e com maior persistência na defesa. Os terpenos sinergizam os efeitos de outras toxinas, agindo como solventes para facilitar sua passagem

pelas membranas. Um exemplo desse sinergismo acontece em resina de coníferas, que são uma mistura de olefinas de monoterpene com actividade anti-herbívora e antipatogénica e diterpenos tóxicos e dissuasores para herbívoros. Outro exemplo bem estudado são os piretróides (ou seja, ésteres de monoterpenos) encontrados em certas folhas e flores de espécies de crisântemo, cuja toxina causa distúrbios no sistema nervoso, causando paralisia e mortalidade, tornando os pesticidas comerciais mais bem-sucedidos (Gershenzon & Croteau, 1991; Raffa & Priestler, 1985).

As saponinas dão origem a maiores níveis de mortalidade, menor ingestão de alimentos, redução de peso, redução e /ou interrupções no desenvolvimento e diminuição da reprodução em insetos pragas. O mecanismo exato por trás desses efeitos ainda é amplamente desconhecido, mas é provável que seja uma combinação de várias actividades. Os possíveis modos de acção encontrados na literatura incluem actividade repelente ou dissuasora, captação reduzida de alimentos pelo intestino, bloqueio da assimilação do esteroide, habilidades de permeabilização da membrana e actividade indutora de apoptose (De Geyter, 2012).

2.7. Extratos e substâncias de meliaceas com actividades insecticida

Na medida em que eram descobertas plantas do género *trichília* com actividade insecticida, muitos outros estudos foram realizados com objectivo de identificar as substâncias presentes nessas plantas que conferem tais propriedades.

Abdelgaleil & Nakatani (2002) isolaram varios limonoides (cerca de 15 limonoides diferentes) a partir de caule de *Khaya senegalensis* (*Meliaceae*), com objectivo de avaliar actividade antialimentar dessas substâncias sobre larvas do 3º instar de *Spodoptera littoralis*. Foram usados n-hexano, dietileter, acetona, e metanol como extratantes, tendo a acetona e eter apresentado maior quantidade de limonoides. Os extratos foram submetidos à cromatografia em contracorrente de gotículas da qual resultaram várias fracções, e essas fracções foram purificadas através de cromatografia líquida de alta resolução (TLC), donde resultaram os limonoides usados nos bioensaios. O potencial antialimentar dos compostos isolados foi testado através do método de imersão de folhas de couve china em solventes contendo as substâncias em diferentes concentrações por dois minutos e depois oferecidas a *Spodoptera littoralis*. Os compostos isolados mostraram actividade antialimentar nas concentrações entre 100 a 1000 µg/ml, tendo *khayalactol* apresentado maior actividade com uma percentagem

antialimentar de 83,8 a 100 μ g/ml, enquanto *quekhayanoside* apresentou menor potencial antialimentar (15,1%) na mesma concentração.

Carpinelaet *al.*, (2003) testaram o efeito antialimentar e insecticida do limonoide *meliartemina*, extraído a partir de fruto maduro de *Melia azedarach* (Meliaceae), colhida na Argentina. A actividade antialimentar do extrato de fruto foi testada para uma variedade de insectos herbívoros e granívoros. 17 espécies pertencentes a três ordens diferentes mostraram significativa redução no consumo quando foram testados com o extrato. Os autores confirmaram, por exemplo, que o limonoide meliartemína e o seu isómero 12-hidroxiamorasteína inibiram alimentação de larvas de *Epilachna paemulata* Gem (*coleoptera coccinellidae*) com um valor de CL₅₀ 0,80 μ g/dm³, comparável com o de *Azadiractina* e mais baixo que o de *toosendamina* (0,72 e 3,69 μ g/dm³, respectivamente. No que diz respeito aos pesos dos insectos tratados, estes pesquisadores constataram que este diminuiu significativamente 96h após o tratamento. Depois de 6 dias (144h) todas larvas tratadas tinha pesos inferiores a metade das larvas alimentadas com folhas não tratadas. A redução de peso em função de concentração foi também observada em larvas de *S. litura* 72 horas após o seu tratamento com meliatoxina A₂ e meliatoxina B₁, dois compostos isolados de *M. azedaracha* a 480 e 600 μ g/dm³, respectivamente. Esses novos compostos também causaram mortalidade das larvas em 20%, a partir de 24h após o início de tratamento. A taxa de mortalidade aumentava com o aumento de concentração do extrato e com o decorrer do tempo. Outro facto digno de menção foi o acto de as larvas tratadas com *meliarteminamorrerem* mais rapidamente do que as que foram deixadas sem alimentação, facto que mostra o potencial insecticida dessa substância.

Klocke & Kubo (1982) compararam três limonoides extraídos de citrinos, limonina (1), nomilina (2) e obacunona (3) com o limonide proveniente de semente de nim, azadiractina (4) em relação as suas capacidades antialimentares em duas pragas agrícolas, *S. frugiperda* e a lagarta de algodão, *heliiothis zea*. Neste estudo, discos de folhas das plantas hospedeiras foram imersas em 25 μ l de acetona contendo entre 1 a 6 μ g dos limonoides. Passadas 48 horas após o início do tratamento foram removidas as larvas e comparadas as actividades antialimentares dos limonoides através dos seus PC₉₅ (95% de concentração protetiva), valor onde estão concentrações nas quais <5% de folhas tratadas, mas >95% de folhas não tratadas foram

consumidas. Comparando os 4 limonoides, a limonina foi 10 vezes ($PC_{95} = 60\mu\text{g}/\text{disco}$ de folha), menos activo que os restantes limonoides de citrinos ($PC_{95} = 6\mu\text{g}/\text{disco}$) contra *H. zea*. Azadiractina foi o mais potente com PC_{95} de $0,1\mu\text{g}/\text{disco}$. Em relação à sobrevivência e aos pesos das larvas, os autores constataram que concentrações de azadiractina inferiores a 1ppm foram capazes de inibir o crescimento de ambos insectos em 50%. Os limonoides dos citrinos molina e abacunona apresentaram uma taxa de redução de crescimento 100 vezes inferior que a de azadiractina e 10 vezes mais alta que a de limonina.

Simmondset al.(2001) conseguiram isolar 5 novos compostos a partir de raiz de *T. pallida* (*meliacea*), compostos esses que estavam relacionados com os já obtidos antes, histina (1) e acetilhistina e testaram suas actividades antialimentares contra 4 espécies de *lepidoptera*: *Spodoptera littoralis*, *Spodoptera exigua*, *Helliothis virescens* e *Helicoverpa armigera*. Através de análise dos espectos UV-vis dos compostos, constatou-se que os quatro compostos isolados tinham estruturas bastante semelhantes, diferindo-se apenas na quantidade de radicais acetil e Hidrogénio (fig. 13) Os compostos 2 e 4 tinham mais radicais hidrogénio do que radicais acetil, enquanto que os compostos 1 e 3 tinham mais radicais acetil que hidrogénio. Relacionado a isso, o composto 4 foi o único a causar actividade sobre as quatro espécies de *lepidoptera*. Os compostos 1 e 3 não apresentaram qualquer actividade, enquanto que o composto 2 apresentou actividade sobre *H. virescens* e *H. armigera* mas não apresentou qualquer actividade sobre *S. littoralis* ou *S. exigua*. Este resultado suporta a ideia segundo a qual, pequenas mudanças na estrutura de uma molécula, alteram a sua actividade antialimentar. Outra constatação curiosa foi o facto de o extrato acetónico de *T. pallida* apresentar potencial actividade antialimentar contra larvas de *S. littoralis* a 100ppm enquanto que o potencial antialimentar de cada um dos tetranontriterpenoides sobre *S. littorales* foi inferior a este valor.

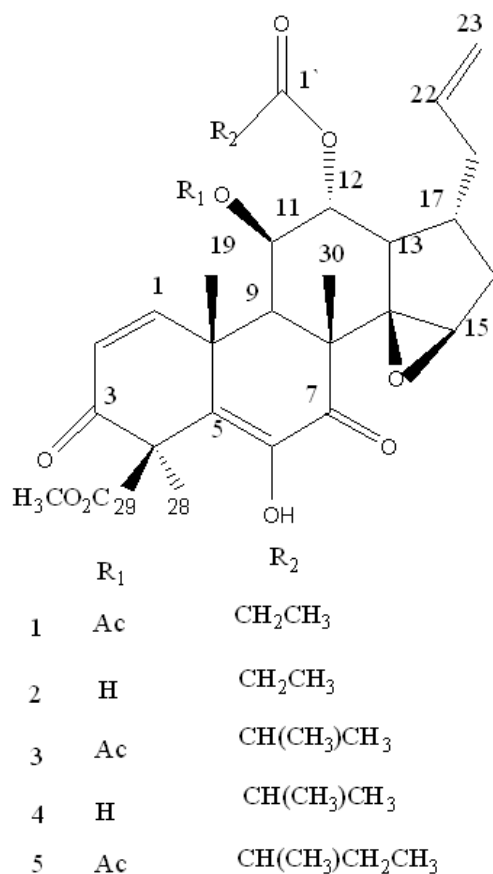


Figura 13. Terpenoides extraídos a partir de extrato acetônico de raiz de *T. pallida*

Fonte: Simmonds *et al.* (2001)

Xie *et al.* (1994) testaram 22 extratos etanólicos pertencentes a 9 espécies diferentes de *trichilia*, sendo oito provenientes de Costa Rica e uma (*T. canaroides*) proveniente da Índia, com objectivo de avaliar suas actividades insecticida e caracterizar bioactividade do limonoide hirtina, extraído de *T. hirta*, contra *Peridroma sunzia* e *Spodoptera litura*. Quando *P. Saucia* foi alimentada com dieta artificial contendo hirtina nas concentrações de 5 a 25ppm por 7 dias, o crescimento larval foi significativamente reduzido em forma de dose-resposta, de tal sorte que depois de 7 e 10 dias de alimentação, o EC₅₀ (concentração capaz de inibir crescimento em 50% em relação ao controlo) foi de 13,0 e 11,5 ppm, respectivamente. O crescimento larval dos dois pestes (*P. Saucia* e *S. litura*) foi significativamente e negativamente correlacionado com a concentração dos extratos na dieta.

Num estudo bastante tedioso e com uso de HPLC de forma muito cuidadosa, Nakatani *et al.*, (1981) conseguiram isolar limonoides *trichilinas* a partir de raíz de *Trichilia roca*, que são antialimentar contra insectos pestes da América do norte (*Spodoptera eridonia*) e besouro de feijão mexicano (*Epilachna varivestis*). Neste estudo, os autores constataram relação entre estrutura/actividade insecticida das *trichilinas* isoladas. No teste realizado com os insectos constataram que as *trichilinas* cujas estruturas apresentavam num dos aneis aromáticos radical 12α -OH eram mais potentes com actividade até 200ppm, seguidos dos compostos com 12β -OH com 300ppm, seguidos das *trichilinas* com 12α -desoxil com 400ppm e dos compostos do tipo 12α -acetoxi também com 400ppm. A acetoxilação ou cetonação de 7-OH ou cetonação em C-12 resultou em compostos inactivos.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Entomologia do Departamento de Proteção Vegetal, Faculdade de Agronomia e Engenharia Florestal (FAEF) e no Laboratório de Produtos Naturais do Departamento de Química, Faculdade de Ciências da Universidade Eduardo Mondlane, em Maputo, com o objectivo de avaliar a actividade insecticida dos extratos aquoso defolhas e cascas de caule de *T. emetica* Martin Vahl e *T. capitata* J. Klotzsch em comparação com extrato aquoso de folhas de *A. indica* A. juss sobre a lagarta do funil de milho *S. frugiperda* (J.E. Smith 1797) (*Lepidoptera: Noctuidae*).

3.1. Obtenção e criação dos insectos

Foram usadas plantas de milho como hospedeiras do LFM. Para tal, foram semeadas sementes de milho de variedade Matuba em vasos, e deixadas na estufa da Faculdade de Agronomia e Engenharia Florestal da Universidade Eduardo Mondlane, aonde as plantas se desenvolveram até atingir o estágio de 25 a 40 dias, que é o estágio em que as plantas de milho são mais susceptíveis ao ataque por larvas de LFM. O cultivo de milho foi de acordo com as técnicas propostas por Cruz, *et al.* (2006), com pequenas alterações, onde a rega foi gota-a-gota com recurso a regadores de mão e uso de NPK granulado como fertilizante.



Figura14. Plantas de milho usadas no bioensaio

Fonte: Autor

A criação do insecto foi de acordo com a metodologia proposta por Green,*et al.*(1976). A primeira colónia de lagarta do funil de milho foi obtida junto dos agricultores de Paulo Samuel kankomba (PSK), em Boane, a 30 km do centro da cidade de Maputo. Foram recolhidas larvas do 5º instar e individualizadas em frascos de aproximadamente 4 cm de diâmetro e 5 cm de altura e alimentadas com folhas de milho até atingirem estágio de pupa. As tampas dos frascos foram furadas com agulha para permitir trocas gasosas e as folhas de milho eram trocadas de dois em dois dias. Quando os insectos atingiram estágio de pupa, foram retirados dos frascos e colocados em gaiola, onde permaneciam até atingir a fase adulta. As mariposas (adultas) permaneciam na gaiola, em quantidade de seis borboletas por gaiola e foram alimentadas com solução de mel a 10% e água. Em cada gaiola foram colocadas três plantulas de milho para a postura. Após a postura, as folhas de milho que continham os ovos foram cortadas com tissor e colocadas em tigelas plásticas tapadas com tecido, onde permaneceram até a eclosão das larvas. As larvas recém-eclodidas permaneciam nas tigelas, sendo alimentadas com folhas de milho novas.



Figura 15. Massas de ovos prestes a eclodir (A) e larvas recém-eclodidas de *S. frugiperda* (B)

Fonte: Autor

Nesta fase, as folhas de milho com as quais se alimentavam as larvas eram renovadas de dois em dois dias. Para tal, as novas folhas eram colocadas por cima das folhas antigas. Na medida em que as folhas novas eram colocadas sobre as folhas antigas, as larvas abandonavam folhas antigas para se fixarem nas folhas novas. Para fazer face ao comportamento canibal que caracteriza as larvas do LFM, logo que atingiam 2º instar, as larvas eram individualizadas em frascos. As larvas permaneciam nestes frascos até atingir 3º instar, que é a fase em que as larvas eram usadas para os bioensaios.

3.2. Colecta de amostras vegetais

As folhas e casca de caule de *T. emetica* foram colectadas na fronteira de Goba, distrito de Namahacha, província de Maputo no dia 27 de Julho de 2019, enquanto que folhas e casca de *T. capitata* foram colectados na área concecionada por Katapú, no distrito de Cheringoma, província de Sofala no dia 11 de Julho de 2019. Por sua vez, as folhas de *A. indica* foram colectadas no recinto do campus principal da UEM, na cidade de Maputo no dia 10 de Agosto de 2019. Logo após a sua colheita, as três espécies em estudo foram autenticadas no herbário do departamento de ciências biológicas da faculdade de ciências da UEM, através de comparação destas com as espécies que se encontravam no herbário com número de cupom 2781 para *T. emetica*, 1122 para *T. capitata* e 345 para *A. indica*. Após a autenticação, o material colectado das três espécies foi levado até ao Laboratório de Produtos Naturais do Departamento de Química da FC da UEM onde foi desidratado em estufa a 40° C, por 48 h.



Figura16. Folhas (A) e casca de caule (B) de *Trichilia capitata*, após a secagem na estufa

Fonte: Autor

Após essa etapa, o material vegetal foi triturado em moinho de facas até a obtenção de um pó fino. Os pós foram armazenados separadamente em frascos hermeticamente fechados até o preparo dos extratos.

3.3.Preparação dos extratos vegetais

Para a preparação dos extratos aquoso, 15 gramas de cada material em pó, em separado, foram submetidos à extração por Soxhlet com 120 ml de água, durante 8 h, obtendo-se extratos aquosos (fig. 17). Os extratos obtidos foram concentrados em rotavapor, a

temperatura de 50° C. Após a concentração, os extratos das três plantas foram pesados e conservados na geleira até a realização dos bioensaios.

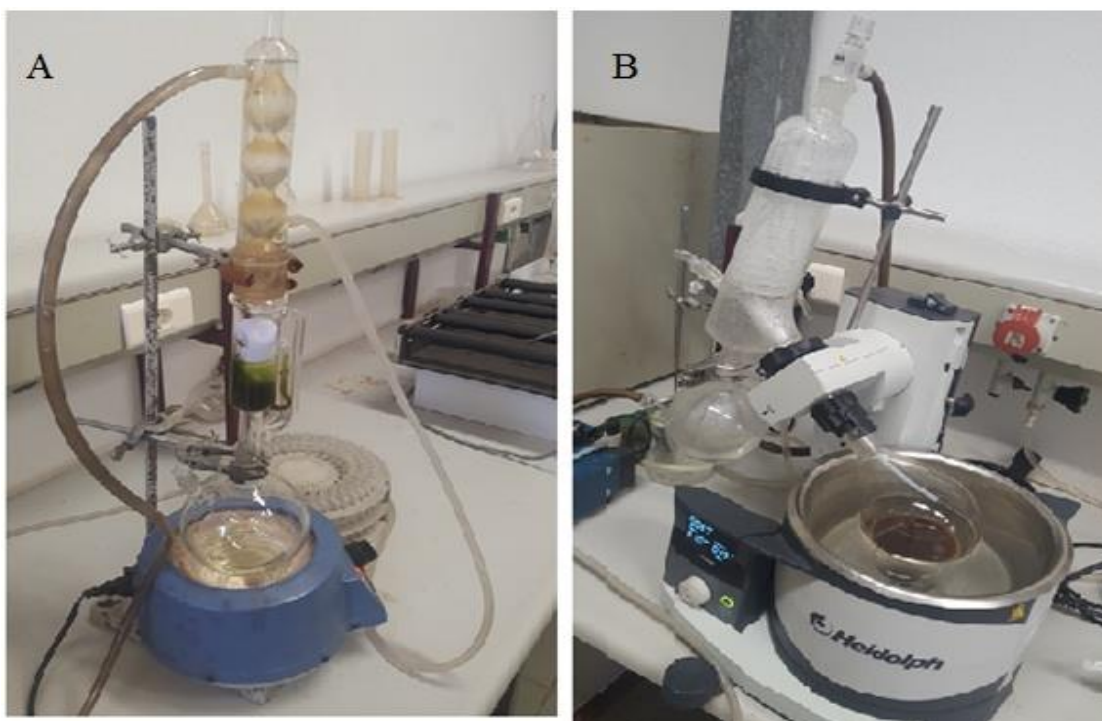


Figura 17. Extração de substâncias activas de folhas de *T. capitata* com etanol (A) e secagem de extrato aquoso de casca de caule de *T. capitata* (B)

Fonte: Autor

Na preparação do extrato etanólico foram seguidos os mesmos procedimentos. A única diferença reside no facto de os extratos etanólicos terem sido concentrados a temperatura de 40° C.

O rendimento de cada extração foi calculado através da fórmula:

$$R = \frac{m_f}{m_i} * 100\%$$

Onde R é o rendimento da extração, m_f é a massa final do extrato, e m_i é a massa inicial do material vegetal sólido usado na extração.

3.4. Análises fitoquímicas

As análises fitoquímicas tinham como objectivo identificar as classes dos metabólitos presentes nas plantas em análise e que são responsáveis pela actividade insecticida. De uma forma geral, as análises obedeceram aos procedimentos propostos por Ahmad *et al.* (2013) e Tiwari *et al.* (2011) e foram investigadas as presenças de alcalóides, flavonóides, glicosídeos, esteróides e terpenóides, taninos, aminoácidos, saponinas, açúcares redutores, coumarinos, e antraquinonas.

3.5. Testes biológicos

Os bioensaios para a determinação da actividade insecticida dos extratos vegetais foram realizados no laboratório de Entomologia, localizado na Faculdade de Agronomia e Engenharia Florestal (FAEF), a 30 ± 5 °C de temperatura, $70\pm 5\%$ de humidade relativa e fotofase natural, por imersão, de acordo com os procedimentos propostos por (Zhanget *al.*, 2017; Conceschiet *al.*, 2011; Matos *et al.*, 2006; Maroneze & Gallegos, 2009).

Lagartas de terceiro instar provenientes da criação foram individualizadas em tubos de criação (4 cm de diâmetro e 5 cm de altura), dentro dos quais foi colocada uma pequena quantidade de folhas de milho. Antes de serem oferecidas às lagartas, as folhas de milho foram submersas nos extratos nas diferentes concentrações testadas (Tabela 1) por 3 minutos, e deixadas ao ar livre por 10 minutos para a evaporação da água.



Figura 18. Folhas de milho imersas em extrato aquoso de folhas de *T. capitata* (A) e Frascos plásticos contendo larvas de *S. frugiperda* sendo alimentadas com folhas de milho previamente tratadas com os extratos.

Fonte: Autor

De dois em dois dias retiravam-se as folhas velhas e novas porções foliares eram oferecidas às lagartas. O ensaio constou de sete tratamentos e dez repetições, por tratamento, em delineamento inteiramente casualizado.

Tabela1. Tratamentos feitos com os extratos aquosos e etanólicos das três plantas em estudo

Material vegetal	Concentrações do extrato aquoso (g/ml)	Concentrações do extrato etanólico (g/ml)
Controlo (água)	—	—
Controlo (etanol)	—	—
<i>T. emetica</i> -folha	0.05; 0.10; 0.20; 0.40; 0.60; 0.80; 1.0	0.05; 0.10; 0.20; 0.40; 0.60; 0.80; 1.0
<i>T. emetica</i> -casca	0.01; 0.05; 0.10; 0.20; 0.40; 0.60; 0.80	0.01; 0.05; 0.10; 0.20; 2.0; 0.40; 0.60; 0.80
<i>T. capitata</i> -folha	0.01; 0.05; 0.10; 0.20; 0.40; 0.60; 0.80;	0.01; 0.05; 0.10; 0.20; 0.40; 0.60; 0.80
<i>T. capitata</i> -casca	0.01; 0.03; 0.05; 0.10; 0.20; 0.40; 0.60	0.01; 0.03; 0.05; 0.10; 0.20; 0.40; 0.60
<i>A. indica</i> -folha	0.01; 0.03; 0.05; 0.10; 0.20; 0.40; 0.60	0.01; 0.03; 0.05; 0.10; 0.20; 0.40; 0.60

Cada tubo de criação foi vedado com tampa perfurada com auxílio de uma agulha, permitindo as trocas gasosas com o ambiente. As avaliações foram feitas diariamente até a emergência das pupas, verificando a mortalidade larval e os períodos (dias) larvais. As lagartas eram consideradas mortas quando tocadas, com um pincel, não apresentavam movimentos. Os dados da mortalidade larval foram submetidos à análise de variância (ANOVA) para verificar se havia diferença significativa entre os tratamentos e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Estimou-se também a concentração letal (CL₅₀), realizando primeiramente testes preliminares para determinar os limites superior e inferior, ou seja, uma concentração que causou mortalidade próxima a 100% e outra com mortalidade próxima a testemunha (Bliss, 1934) Para o cálculo da CL₅₀ estimada, os dados de mortalidade e de concentração foram submetidos à análise de Probit. Para tal, os valores das concentrações

foram transformados em log (concentração), através dos quais foram contruídos graficos de log (concentração) x % Mortalidade através do pacote informático excel.

4. RESULTADOS

4.1. Análises fitoquímicas

As análises fitoquímicas tiveram lugar no Laboratório de Produtos Naturais do Departamento de Química da UEM. Como resultado das análises, foram confirmadas as presenças de alcalóides, flavonóides, glicosídeos, esteróides e terpenóides, taninos condensados, proteínas, saponinas, cumarinas, antraquinonas e açúcares redutores (Tab. 2). Importa referir que se tratou de análises qualitativas, visando apenas confirmar as presenças ou ausência dos metabolitos e não a quantificação dos mesmos.

Tabela 2. Resultado das análises fito-químicas de extratos etanólico e aquoso de folhas e cascas de *T. emetica* e *T. capitata* e folhas de *A. indica*

Material	Extrato	Fitoconstituíntes										
		Al	FV	GL	ET	TC	TH	PT	SP	CM	AQ	AR
Folha de <i>T. emetica</i>	Aquoso	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+
	Etanólico	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-
Casca de <i>T. emetic</i>	Aquoso	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+
	Etanólico	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+
Folha de <i>T. capitata</i>	Aquoso	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+
	Etanólico	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-
Casca de <i>T. capitata</i>	Aquoso	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+
	Etanólico	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+
Folha de <i>A. indica</i>	Aquoso	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+

Legenda: +: Positivo; -: Negativo; AL: Alcalóides; FV: Flavonóides; GL: Glicosídeos; ET: Esteróides e Terpenóides; TC: Taninos Condensados; TH: Taninos Hidrolisáveis; PT: Proteínas; SP: Saponinas; CM: Cumarinas; AQ: Antraquinonas; AR: Açúcares Redutores.

4.2. Rendimento dos extratos

As plantas testadas apresentaram rendimentos ligeiramente diferentes. Por outro lado, observou-se que partes diferentes da mesma planta extraídas com o mesmo solvente tiveram rendimento diferente (Tabela 3). De uma forma geral, os extratos etanólicos tiveram maior rendimento do que os aquosos, tendo o maior rendimento sido encontrado em extrato etanólico de folhas de *T. emetica* com 16,55% e o menor rendimento foi verificado em extrato aquoso

de folhas de *A. indica* com 13,9%. O rendimento da extração refere-se ao peso do extrato em relação ao peso do material sólido da planta submetido à extração. Foram feitas 4 extrações para a obtenção dos diferentes extratos e as médias dos rendimentos podem ser vistas na tab.3

Tabela3. Rendimento em percentagem da extração por sohxlet de folhas e cascas de *T. emetica* e *T. capitata* e folhas de *A. indica* com etanol e água

Planta	Parte da planta	Solv. Extratante	Rendimento (%)
<i>Trichilia emetica</i>	Folha	Etanol	16,4
		Água	14,3
	Casca	Etanol	16,55
		Água	15,8
<i>Trichilia capitata</i>	Folha	Etanol	14,5
		Água	14,4
	Casca	Etanol	15
		Água	14,75
<i>Azedirachta indica</i>		Etanol	15
	Folha	Água	13,9

4.3. Actividade insecticida

Todos os lagartos do 3º instar de *S. frugiperda* que foram alimentados com folhas de milho imersas em extratos etanólicos de folhas de *T. emetica*, *T. capitata* e *A. indica* e cascas de caule de *T. emeticae* *T. capitata*, assim como os lagartos do controlo (alimentados com folhas de milho previamente imersas em etanol) morreram dentro de 24h após o tratamento. Este facto leva a suspeita de que estas mortes deveram-se a presença de alguma substância no etanol e que não originou dos materiais vegetais, uma vez que contrariam todos os resultados encontrados nas literaturas.

No que diz respeito aos extratos aquosos, os resultados das mortalidades das larvas de *S. frugiperda* testadas com diferentes concentrações destes extratos durante cerca de duas semanas foram diferentes, em função da concentração e do tipo de extrato (tabelas 4, 5, 6, 7 e 8). Em relação aos extratos aquosos de casca de caule de *T. capitata*, as médias de

mortalidades causadas por esses extratos nas concentrações de 0,01, e 0,03% não diferiram significativamente com as do controle pelo teste de Turkey a 95% de significância. 100% de mortalidade foram atingidos nas concentrações de 1%, 0,8%, 0,8%, 0,6 e 0,6% de extratos aquosos de folhas e casca de *T. emetica*, folhas e casca de *T. capitata* e folhas de *A. indica*, respectivamente. Para a comparação entre os diferentes extratos foram calculados DL_{50} (concentração capaz de causar mortalidade em 50% dos indivíduos testados) (Tabela 9). De acordo com esses valores, maior actividade insecticida foi observada no extrato aquoso de casca de *T. capitata* com $DL_{50} = 0,051 \text{ g.ml}^{-1}$, enquanto que a menor actividade larvicida foi observada em extratos aquosos de folhas de *T. emetica* com $DL_{50} = 0,212 \text{ g.ml}^{-1}$. As figuras 19, 20, 21, 22 e 23 mostram os gráficos através dos quais foram calculados os valores de DL_{50} para os diferentes extratos.

Tabela4. Médias \pm Desvio padrão de mortalidade (%) larval de lagartas de 3º instar de *S. frugiperda* alimentadas com folhas de milho tratadas com diferentes concentrações de extrato aquoso de folhas de *T. emetica*

Concentração (% m/v)	Mortalidade (n)	Mortalidade (%)
1	10	100 \pm 0,000a
0,8	9	90 \pm 0,316 ab
0,6	8	80 \pm 0,422 ab
0,4	6	60 \pm 0,516 abc
0,2	4	40 \pm 0,516 bcd
0,1	2	20 \pm 0,422 cd
0,05	1	10 \pm 0,316 cd
0	0	0 \pm 0,000 d

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Turkey ($p \leq 0,05$)

Tabela5. Media \pm desvio padrão demortalidade (%) larval de lagartas do 3º instar de *S. frugiperda* alimentadas com folhas de milho tratadas com diferentes concentrações de extrato aquoso de casca de *T. emetica*

Concentração (% m/v)	Mortalidade (n)	Mortalidade (%)
0,8	10	100 \pm 0,000 a
0,6	9	90 \pm 0,316 ab
0,4	8	80 \pm 0,422 ab
0,2	5	50 \pm 0,527 bc
0,1	2	20 \pm 0,422 cd
0,05	1	10 \pm 0,316 cd
0,01	0	0 \pm 0,000 d
0	0	0 \pm 0,000 d

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Turkey ($p \leq 0,05$)

Tabela6. Medias \pm desvio padrão de mortalidade (%) larval de lagartas de 3º instar de *S. frugiperda* alimentadas com folhas de milho tratadas com diferentes concentrações de extrato aquoso de folhas de *T. capitata*

Concentração (% m/v)	Mortalidade (n)	Mortalidade (%)
0,8	10	100 \pm 0,000 a
0,6	9	90 \pm 0,316 ab
0,4	7	70 \pm 0,483 abc
0,2	6	60 \pm 0,516 abcd
0,1	4	40 \pm 0,516 bcde
0,05	2	20 \pm 0,422 cde
0,01	1	10 \pm 0,316 de
0	0	0 \pm 0,000 e

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Turkey ($p \leq 0,05$)

Tabela7. Media \pm desvio padrão de mortalidade (%) larval de lagartas de terceiro instar de *S. frugiperda* alimentadas com folhas de milho tratadas com diferentes concentrações de extrato aquoso de casca de *T. capitata*

Concentração (% m/v)	Mortalidade (n)	Mortalidade (%)
0,6	10	100 \pm 0,000 a
0,4	9	90 \pm 0,316 a
0,2	8	80 \pm 0,422 ab
0,1	7	70 \pm 0,483 abc
0,05	5	50 \pm 0,527 abcd
0,03	3	30 \pm 0,483 bcd
0,01	2	20 \pm 0,422 cd
0	0	0 \pm 0,000 d

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste de turkey ($p \leq 0,05$)

Tabela8. Médias \pm desvio padrão de mortalidade (%) larval de lagartas de terceiro instar de *S. frugiperda* alimentadas com folhas de milho tratadas com diferentes concentrações de extrato aquoso de *A. indica*

Concentração (% m/v)	Mortalidade (n)	Mortalidade (%)
0,6	10	100 \pm 0,000 a
0,4	7	70 \pm 0,483 ab
0,2	6	60 \pm 0,516 abc
0,1	4	40 \pm 0,422 bcd
0,05	2	20 \pm 0,316 bcd
0,03	1	10 \pm 0,000 cd
0,01	0	0 \pm 0,000 d
0	0	0 \pm 0,000 d

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste de turkey ($p \leq 0,05$)

Tabela9. Estimativa de DL₅₀(%) de extrato aquoso de folhas e casca de *T. emetica* e *T. capitata* e folhas de *A. indica* para larvas de terceiro instar de *S. frugiperda*

Planta	Parte da planta	DL ₅₀
<i>Trichilia emetica</i>	Folha	0,212
	Casca	0,155
<i>Trichilia capitata</i>	Folha	0,12
	Casca	0,051
<i>Azadirachta indica</i>	Folha	0,13

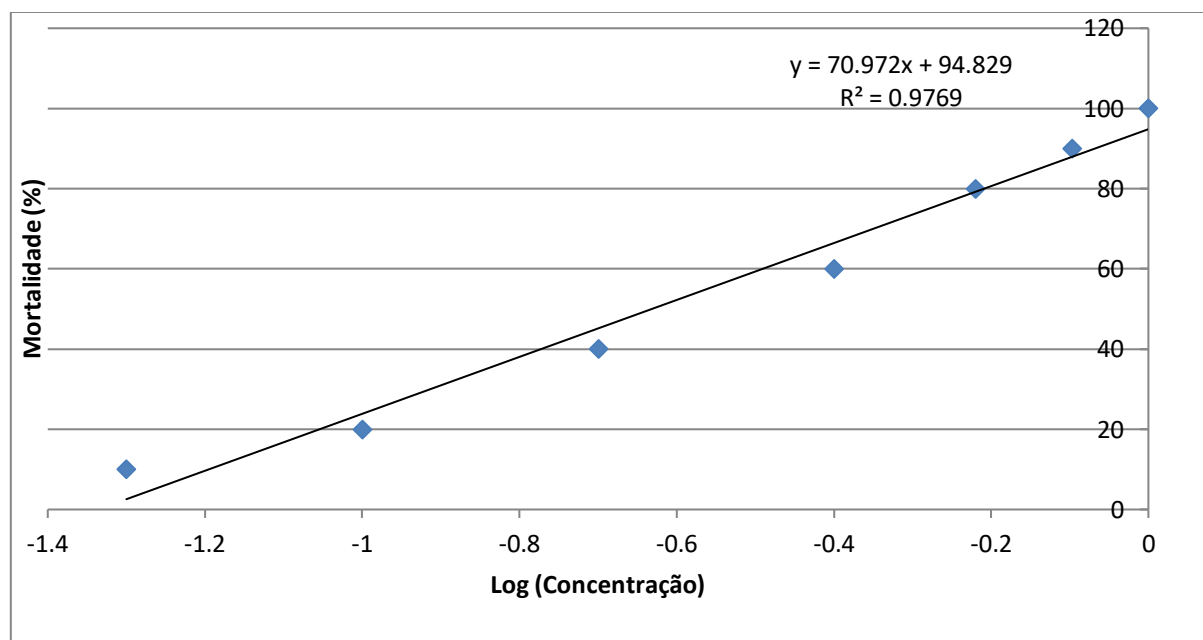


Figura19. Mortalidade de larvas de terceiro instar de *S. frugiperda* em função do log de concentração de extrato aquoso de folhas de *T. emetica* aplicadas em folhas de milho em laboratório

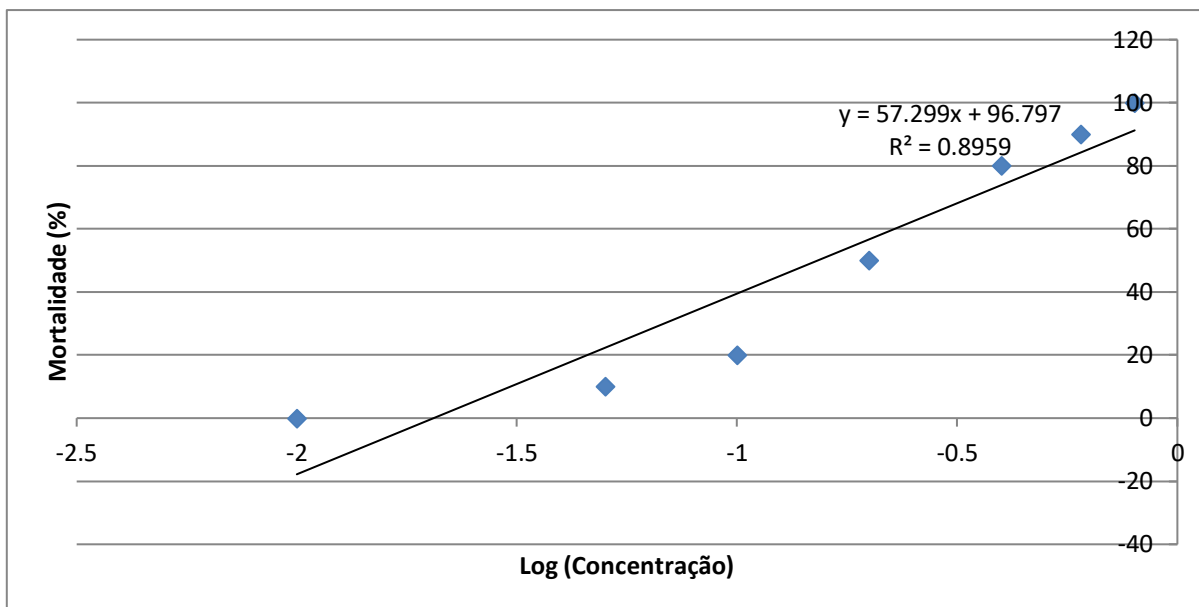


Figura20. Mortalidade de larvas de terceiro instar de *S. frugiperda* em função de log da concentração de extrato aquoso de casca de *T. emetica* aplicada em folhas de milho em laboratório

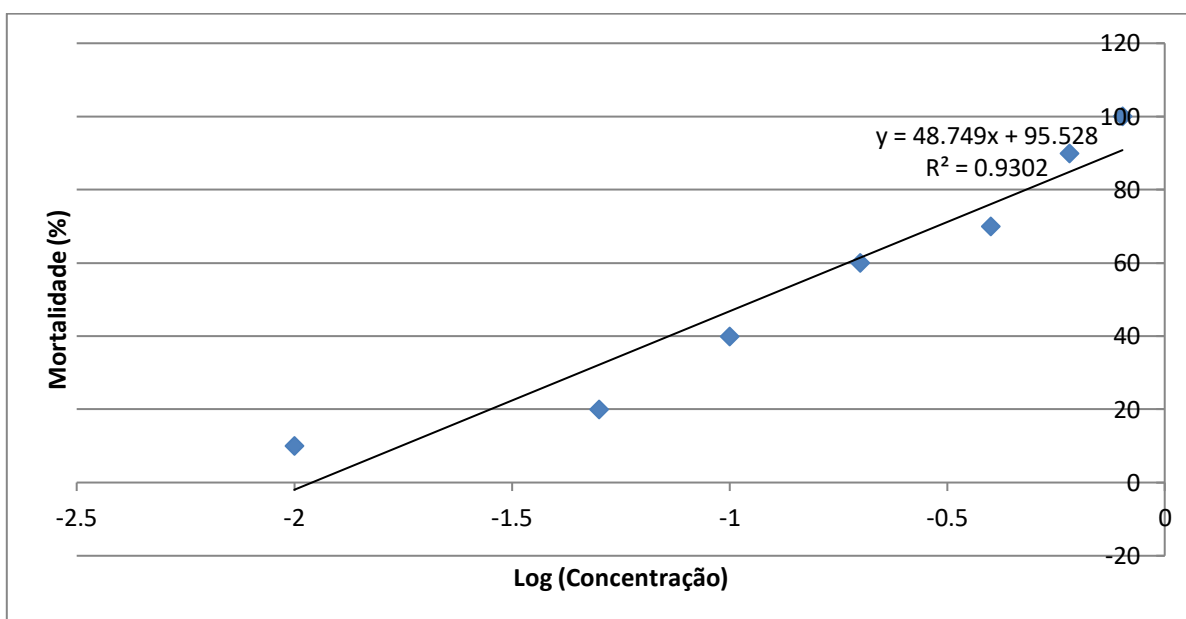


Figura21. Mortalidade de larvas de terceiro instar de *S. frugiperda* em função do log da concentração de extrato aquoso de folhas de *T. capitata* aplicados em folhas de milho em laboratório

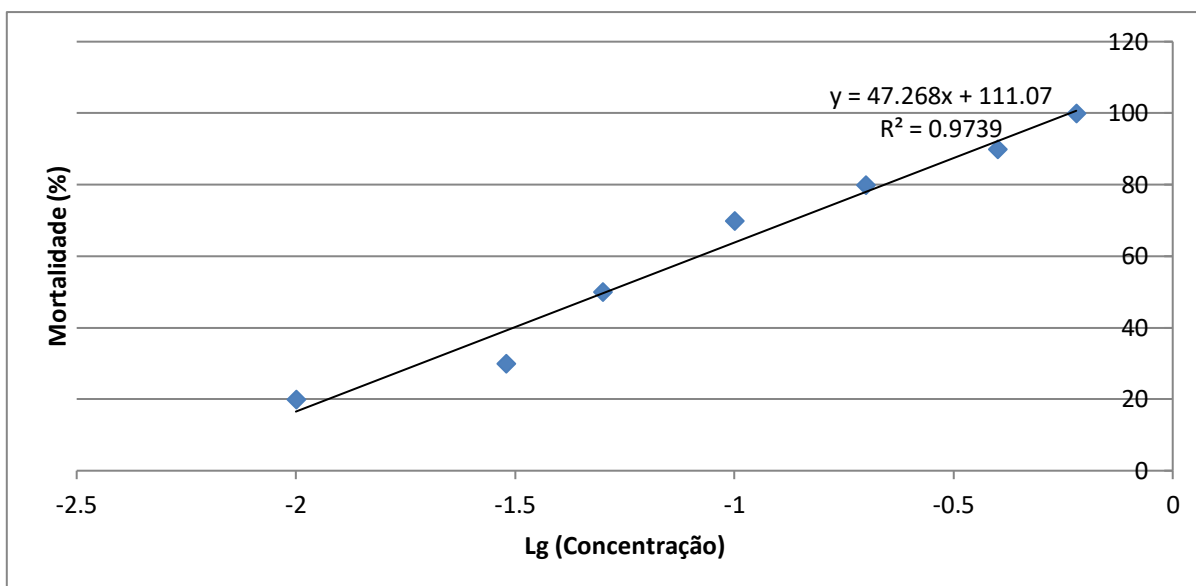


Figura22. Mortalidade de larvas de terceiro instar de *S. frugiperda* em função do log da concentração de extrato aquoso de casca de *T. capitata* aplicadas em folhas de milho em laboratório

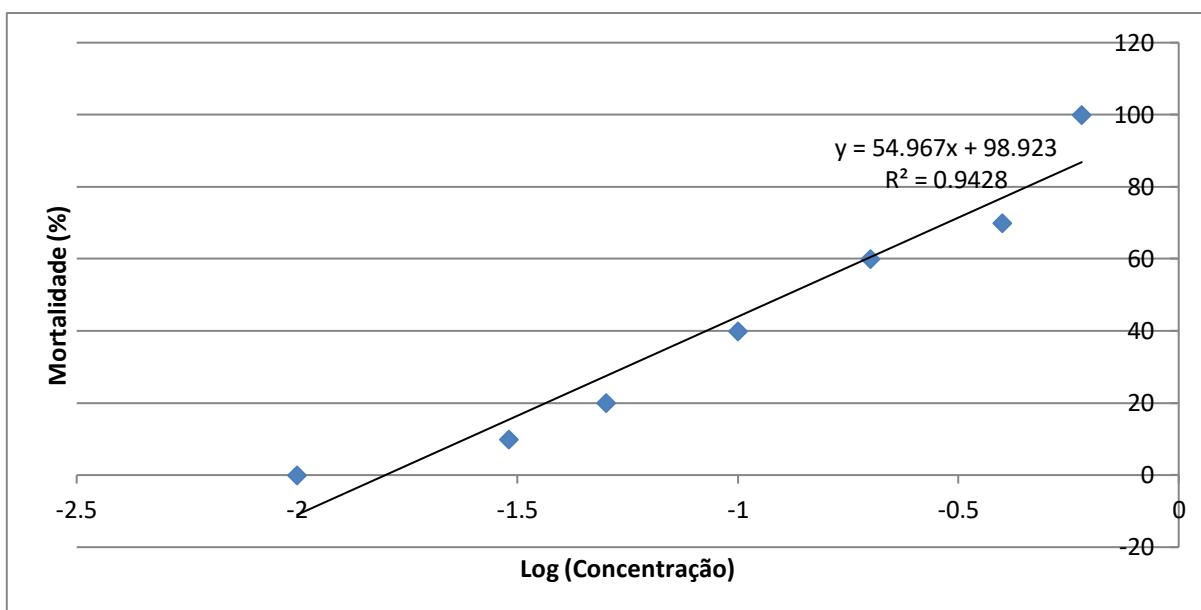


Figura23. Mortalidade de larvas de *S. frugiperda* em função do log da concentração de extrato aquoso de folhas de *A. indica* aplicadas em folhas de milho em laboratório

5. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

5.1. Análises fitoquímicas

Os resultados das análises fitoquímicas dos extratos de *T. emetica* e *T. capitatae* A. *indicare* revelaram a presença de Flavonóides, Antraquinonas e Taninos condensados, para todos os extratos analisados (Tab. 2). No entanto, verificou-se que as presenças e/ou ausência de alcalóides, glicosídeos, esteróides e terpenóides, proteínas e aminoácidos, saponinas, cumarinas e açúcares redutores variaram de uma espécie para outra, assim como do tipo de solvente extratante usado na extração. Não foram constatadas diferenças nos constituintes fitoquímicos entre partes diferentes (folha ou casca) da mesma planta. Outro facto digno de menção observado nos resultados dos testes fitoquímicos é a presença de saponinas em todos os extratos aquosos analisados e ausência e/ou presença em menor quantidade das mesmas nos extratos etanólicos.

Esta variação de constituintes fitoquímicos entre plantas do mesmo género pode se dever ao facto de as amostras terem sido colhidas em locais diferentes, pois, os factores ambientais, tais como clima, altitude, precipitação e outras condições podem afectar o crescimento das plantas que por sua vez pode afectar a qualidade dos constituintes presentes numa espécie mesmo que elas sejam produzidas no mesmo país (Kokate *et al.*, 2004). Esta condição pode produzir maior variação nos componentes bioactivos presentes nas plantas. Muitos outros estudos onde se pretendia encontrar os componentes fitoquímicos de plantas do mesmo género tiveram resultados similares. Análises fitoquímicas de espécies diferentes do género *Serjania* colhidas em locais diferentes revelaram as presenças de fenóis, flavonas, flavanóis, flavanonas, leucoantocianidinas, xantonas, esteroides, taninos, saponinas e antraquinonas; em galhos e flavonoides e taninos nas folhas de *S. lethalis*. Por sua vez, nas folhas de *S. erecta* foram descritas às presenças de flavonoides glicosilados, taninos e saponinas, e nas partes aéreas, flavonoides, catequinas, esteroides, triterpenoides, taninos e saponinas. (Rodríguez & Pinto, 2014)

Em contrapartida, Blessing *et al* (2011), compararam os constituintes fitoquímicos de folhas, caule e raiz de quatro espécies de *Jatropha*, nomeadamente, *J. curcas* L., *J. gossypifolia* L., *J. multifida* L., e *J. Podogrigrica*, todas colectadas ao longo do delta do Níger, objectivando verificar se existia alguma diferença em termos qualitativos ou

quantitativos na composição de alguns metabolitos secundários, tais como alcalóides, taninos, saponinas, flavonoides e fenóis. Os resultados mostraram que todos os metabolitos estiveram presentes nas quatro espécies estudadas, mas em diferentes concentrações. A concentração de taninos nas folhas foi na ordem decrescente de 7,43% em *J. curcas*, 6,79% em *J. podagrica*, 5,16% em *J. multifida* e 5,14% em *J. gossypifolia*. A concentração de saponina nas folhas e sementes das espécies foi: *J. Curcas* (4,89 e 2,33%); *J. gossypifolia* (4,15 e 2,3%); *J. multifida* (3,15 e 2,44%); *J. padagrica* (3,15 e 2,44%). A concentração de saponinas nas folhas e sementes de *J. Multifida* e *J. Podagrica* foi a mesma, sugerindo uma estreita afinidade entre as espécies. Estes resultados mostram que existe semelhança na composição fitoquímica entre estas plantas do mesmo género, sobretudo quando estão próximas uma da outra.

A presença de saponinas em maior quantidade em extratos aquoso em relação a extratos etanólico já foi constatada por Mahdiyeh *et al.*(2018), quando extraíram saponina a partir de folhas de *Ziziphus spina-christi*, em banho maria, usando água, etanol e metanol como solventes, tendo confirmado que a extração com água providenciou maior quantidade de saponina em comparação com etanol e metanol, uma vez que quando esses três extratos foram agitados, observou-se maior quantidade de espuma em extrato aquoso do que em outros extratos, facto que leva a concluir que havia maior quantidade de saponina no extrato aquoso do que no extrato etanólico e metanólico, pois, volume da espuma gerada pode ser correlacionada com a concentração de saponina num determinado extrato(Rosenet *al*, 1999).

As análises fitoquímicas envolvendo plantas do género *trichiliatêm* revelado uma série de metabolitos primário e secundário de plantas. Ayensu& Quartey (2014) analisaram extratos de éter de petróleo, acetato de etilo e metanólico de casca de caule de *Trichilia tessemannii* (Harms) (*Meliaceae*), tendo constatado a presença de diversos metabolitos secundários tais como: Taninos, açúcares redutores, antraquinonas, alcalóides, saponinas, glicosídeos, glicosídeos cardíacos, terpenóides, cumarinas, e fitosteróis.

Munyemana e Alberto (2017) analisaram os constituintes fitoquímicos de extratos de metanol, hexano, acetato de etilo, e etanol, de casca de raíz, casca de caule e folhas de *Trichilia emetica* em ordem crescente de polaridade, tendo confirmado a presença de alcalóides, flavonoides, taninos, saponinas, cumarinas, esteróides/terpenóides, antraquinonas, aminoácidos, açúcares redutores e proteínas nestes extratos obtidos por maceração.

Ben (2013) avaliou os constituintes fitoquímicos em extratos de casca de caule de *Trichilia monadelpha* (Thonn) JJ De Wilde (*Meliaceae*) de éter de petróleo, acetato de etilo e etanol, tendo confirmado a presença de importantes metabólitos secundários em função de cada solvente utilizado, os metabólitos encontrados neste estudo foram: Alcalóides, terpenóides, fitoesteróis, açúcares redutores, e cumarinas em éter de petróleo; no extrato etanólico foram encontrados taninos, alcalóides, terpenóides, fitoesteróis, açúcares redutores, flavonoides, glicosídeos cardíacos, antraquinonas, e saponinas, enquanto que os extratos de acetato de etilo tiveram taninos, alcalóides, açúcares redutores, glicosídeos cardíacos, antraquinonas, terpenóides, e fitoesteróis.

Bankole *et al.*(2015) nos seus estudos onde pretendiam identificar os fitoquímicos e avaliar a actividade antimalárica de extratos aquosos de folhas de *Markhamia tomentosa* e de *Polyalthia longifolia* e casca de caule *Trichilia heudelotii*, as três espécies usadas no tratamento de malária na Nigéria, analisaram qualitativa e quantitativamente estes extratos tendo confirmado a presença de taninos, saponinas, glicosídeos cardíacos, antraquinonas, compostos fenólicos, proteínas e terpenos nos extratos aquoso de *Trichilia heudeloti*.

Babalola e Adelokun (2018) estudando análise fitoquímica e actividade antimicrobiológica de *Trichilia emetica* Vahl (*Meliaceae*), analisaram os extratos etanólicos de casca de caule de *Trichilia emetica* colectados na Nigéria e extraídos através de sohxlet, onde foi revelado que o extrato da planta é muito rico em saponinas, flavonoides, triterpenos, taninos, antraquinonas, e glicosídeos cardíacos. Neste estudo não foi revelada a presença de alcalóides.

Azadirachta indica como uma das plantas mais usada em todo mundo, sobretudo em medicina tradicional, tem sido alvo de muitos estudos conduzidos no sentido de se acharem os seus constituintes fitoquímicos que são responsáveis por essas propriedades. Em relação a esta espécie, os resultados das análises fitoquímicas encontrados nas literaturas também variam em função do tipo de solvente extratante, parte da planta analisada e de factores ambientais do local da colecta da amostra da planta. Os resultados das análises fitoquímicas em folhas de *A. indica* revelaram as presenças de alcalóides, flavonoides, glicosídeos, taninos, proteína, antraquinona e açúcar redutor para extrato etanólico e flavonóide, esteróide/terpenóide, tanino, saponina, cumarina, antraquinona e açúcar redutor para extrato aquoso. Estes resultados vão de

acordo com os resultados encontrados porVinoth *et al* (2012) quando analisaram os fitoconstituíntes de extratos de metanol, etanol e acetona de folhas de *A. indica* colectadas na Nigéria para verificar as presenças e/ou ausência dealcalóides, saponinas, taninos, terpenóides, flavonoides, glicosídeos, óleo volátil e açúcar redutor. Esses autores encontraram a presença de açúcares redutores, flavonoides, saponinas e taninos para o extrato etanólico; açúcares redutores, glicosídeos e terpenóides para extrato metanólico e açúcares redutores, saponina, glicosídeos e terpenóides para extratos acetónicos. A única diferença entre esses dois estudos esta relacionada com o facto de estes últimos autores não terem encontrado alcalóides nas suas análises com extratos etanólicos.

Já o estudo realizado por Ogbonnaet *al* (2016) destinado a investigar os constituíntes fitoquímicos e estimar os compostos bioativos de extratos de folhas de *Spondias mombin* e *Azadirachta indica* em metanol, clorofórmio e éter de petróleo ainda na Nigéria, estes autores acharam a presença de compostos fenólicos, taninos, flavonoides, saponinas, glicosídeos, esteróides, e alcalóides. Portanto, os mesmos fitoconstituíntes por nós encontrados.

Idokoet *al* (2018) analisando e comparando a composição fitoquímica de extratos aquoso e etanólicos de folhas, casca de caule e raíz de *A. indica*, tendo achado as presenças de alcalóides, flavonoides, saponinas, glicosídeos cianogénicos, compostos fenólicos, e taninos, estando ausentes glicosídeos cardíacos, esteróides, açúcares redutores e antraquinona, em extratos etanólicos de folhas de *A. indica*. Enquanto que os extratos aquosos de folhas da mesma planta revelaram a presença de alcalóides, flavonóides, saponinas, glicosídeos cianogénicos, glicosídeos cardíacos, compostos fenólicos e taninos; e constataram a ausência de esteróides, açúcares redutores e antraquinona.

5.2. Actividade insecticida

A morte de larvas de terceiro instar de *S. frugiperda* quando alimentadas com folhas de milho previamente imersas nos extratos etanólicos das plantas analisadas incluindo em etanol (testemunha) provavelmente deveu-se à presença de Benzoato de denatônio (substância bastante amarga utilizada para evitar o consumo de álcool usado em laboratórios) no álcool utilizado nos bioensaios. Esta substância já mostrou acção repelente contra *Vespula germanica* (Sackmann, P.*et al.*, 2007), acção anti-alimentar e larvicida contra *Plutella xylostella* (Perera *et al.*, (2000), já foi referenciada como sendo responsável pela redução de alimentação e

oviposição da fêmea adulta de *Heliothis virescens* e causadora da redução de alimentação em *Myzus persicae* (Perera *et al.*, 1995; Ramaswamy *et al.*, 1992).

Em relação aos extratos aquosos, os resultados das análises biológicas mostraram uma forte actividade dos extratos aquosos das três plantas estudadas e uma forte correlação entre as percentagens das mortalidades e as concentrações dos extratos. Embora todos os extratos aquosos tenham mostrado uma forte acção larvicida contra *S. frugiperda*, os extratos de casca de *T. capitata* foram os mais eficazes. (Tab. 9). Estes resultados não são ao todo surpreendentes, na medida em que muitas outras plantas do género *Trichilia* já mostraram actividade insecticida contra as larvas de *S. frugiperda*. Por outro lado, as propriedades insecticidas e antialimentares de *A. indica* estão bem estabelecidas, particularmente contra pestes da ordem das *lepidopteras* (Martinez, S. S. & Van Emden, H.F., 1999; Roel, A.R. *et al.*, 2010). Os resultados das análises da acção insecticida também mostraram que concentrações mais elevadas dos extratos causaram mortes das larvas num intervalo de tempo bastante curto, enquanto que concentrações mais baixas, ou fizeram com que as larvas levassem mais tempo para morrer, ou alongaram o estágio larval dos insectos, isto é, larvas alimentadas com folhas de milho previamente imersas nos extratos em concentrações baixas levaram mais tempo para mudarem para pupa, quando comparadas com larvas do controlo. Este acto, pode se dever ao facto de doses altas destes insecticidas causarem intoxicação das larvas, levando-as a morte rápida, e doses baixas causarem redução na alimentação das larvas, facto que era visível através de redução de seus pesos, o que provocou nelas uma morte lenta, ou mesmo alongou seus períodos larvais. Em alguns casos, as pupas provenientes das larvas tratadas com doses baixas dos extratos aquosos apresentaram algumas deformações, facto que deve ter diminuído suas viabilidades para a formação de adultos.

Bogorni & Vendramin (2003) testaram eficácia de extratos aquosos de folhas e ramos de seis espécies de *Trichilia* (*T. casaretti*, *T. catigua*, *T. claussenii*, *T. elegans*, *T. pallens* e *T. pallida*), em comparação com a do extrato aquoso de sementes de *A. indica* (nim) sobre larvas de primeiro instar de *S. frugiperda* em condições de laboratório. Neste estudo, os autores constataram que o extrato de folhas de *T. pallens* causou mortalidade larval muito próxima a mortalidade causada pelo extrato de nim, enquanto que os extratos de ramos de *T. pallens*, e

de ramos e folhas de *T. pallida*, embora menos eficientes, também reduziram a sobrevivência e o peso das larvas de *S. frugiperda*.

Estudando o efeito residual do extrato de acetato de etila de *Trichilia pallida* Swartz (*Meliaceae*) para lagartas de diferentes instares de *S. frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), Roel e Vendramim (2006) constataram 83,3% de mortalidade entre as larvas de *S. frugiperda* recém-eclodidas, quando estas foram alimentadas com folhas de milho tratadas com este extrato a 2% (p/v).

Roel *et al* (2000) testaram em condições de laboratório o efeito de diferentes concentrações (peso/volume) de extratos orgânicos de folhas e ramos de *Trichilia pallida* Swartz (*Meliaceae*) sobre *S. frugiperda*, onde verificaram mortalidade a cima de 80% em extratos de acetona, e acetato de etila de folhas e ramos desta espécie a 1%.

Resultados diferentes foram encontrados por Conseschiet *al.* (2011) que avaliaram a eficácia de dois extratos aquosos de folhas de *A. indica* e de *T. pallida* sobre lagartas de *S. frugiperda* alimentadas em folhas de milho sob diferentes formas de aplicação. Os resultados diferiram substancialmente dos resultados por nós encontrados e dos resultados encontrados por Bogorni & Vendramin (2003), com extratos aquosos de folhas de *A. indica* a apresentarem maior actividade (cerca de 90% de mortalidade) do que os das folhas de *T. pallida* que se situou em torno de 40%.

Outros Resultados diferentes foram encontrados por Phambala *et al.* (2020) quando estudavam a bioactividade de 10 plantas pesticidas, entre as quais *A. indica* e *T. emetica* contra larvas de *S. frugiperda*. Entre vários outros resultados, estes pesquisadores encontraram diferença estatisticamente significativa na eficácia de *A. indica* e *T. emetica*, com *A. indica* a causar mortalidade acima de 50%, enquanto que a mortalidade causada por extratos aquosos de *T. emetica* esteve a baixo de 40%.

Para além da actividade insecticida ser inerente a cada espécie, os resultados da literatura sugerem que os extratos aquosos apresentam menor actividade insecticida quando comparados com os extratos orgânicos. Cruz-Estrada *et al* (2013) quando estudaram efeito insecticida de extratos aquosos e etanólicos de folhas de *Acalypha gaumeri*, *Annona*

squamosa, *Carlowrightia myriantha*, *Petiveria alliaceae* e *Trichilia arborea* em comparação com *Azadirachta indica* sobre ovos e ninfas de *Bemisia tabaci* verificaram que os extratos etanólicos de todas plantas testadas na concentração de 10 mg mL⁻¹ causaram entre 99 a 100% de mortalidade em ninfas de *B. tabaci*, mortalidade essa que foi significativamente igual a mortalidade causada pelo inseticida químico usado como controlo. Enquanto que para os extratos aquosos, com excepção de *C. myriantha*, não foi observado nenhum efeito insecticida contra ninfas de *B. tabaci*. A mortalidade causada pelos extratos aquosos foi significativamente menor que a mortalidade causada pelo inseticida químico.

Marcomini *et al.* (2009) avaliaram o efeito de extratos aquosos, etanólicos, extratos de hexano e de diclorometano de partes diferentes (raíz, semente, folhas ramos e fruto) de várias espécies (*Annona muricata*, *Azadirachta indica*, *Chenopodium ambrosioides*, *Eucalyptus grandis*, *Melia azedarach*, *Ocimum basilicum*, *Ruta graveolens* e *Tagetes erecta*) sobre *Alphitobius diaperinus* (Panzer). Como resultado, estes autores constataram que nenhum extrato aquoso apresentou actividade sobre *Alphitobius diaperinus*, sugerindo então que os compostos com actividade insecticida presentes nestas espécies são extraídos apenas com solventes de média ou baixa polaridade.

A pesar de ainda serem escassos e/ou inexistentes estudos que visam testar actividade insecticida de extratos de *Trichilia capitata*, muitas outras espécies do género *Trichilia* já mostraram serem eficazes contra larvas de insectos do género *Spodoptera*. Wheeler & Isman (2001) testaram a actividade biológica de extrato metanólico de *Trichilia americana* contra larvas de *Spodoptera litura*, tendo constatado que o extrato de *T. americana* causou a redução na alimentação de larvas do 5º instar de *S. litura* em função da sua concentração. Aumento da concentração do extrato ocasionou redução da taxa de alimentação por parte dos pestes. Além da redução da alimentação, estes autores também constataram que a incorporação de extrato de *T. americana* na alimentação das larvas de *S. litura* causou a redução da taxa de crescimento dessas larvas em relação ao controlo. Estes resultados confirmaram o efeito antialimentar e tóxico deste extrato. A redução da alimentação por parte das larvas ocasiona uma redução de crescimento das mesmas. Como consequência, haverá menos larvas a atingirem a fase adulta, o que levaria ao surgimento de mais gerações de insectos na plantação.

No proceguimento de seu estudo convista a avaliar a actividade biológica de extratos de plantas do género *Trichilia* sobre larvas de insectos do género *Spodoptera*, Wheeler et al. (2000), testaram a eficácia de extratos etanólicos de 39 amostras provenientes de seis espécies de *trichilia* sobre larvas recém eclodidas de *Spodoptera litura* (*T. quadrijuga*, *T. martiana*, *T. americana*, *T. hirta* L., *T. glabra* L., *T. pleeana*), tendo constatado que as seis espécies testadas reduziram significativamente o crescimento das larvas 10 dias após o tratamento. Comparando a eficácia das espécies testadas, os autores constataram que o extrato de galhos de *T. americana* foi que causou maior redução de crescimento de *S. litura*, tendo reduzido o crescimento de larvas deste peste até 3,9% do controlo, a 100ppm e a menos activa foi *T. grobla*. A concentração causadora de redução de crescimento das larvas em 50% (EC₅₀) para *T. americana* foi de 17.2 ppm.

Os níveis de mortalidade de *S. frugiperda* causados pelos extratos aquosos de folhas e casca de caule de *T. emetica* e *T. capitata* e os respectivos valores de DL₅₀ estiveram próximo, e no caso de casca de *T. capitata*, foi superior a mortalidade causada por extratos aquosos de *A. indica*, espécie com actividade insecticida amplamente comprovada (Martinez, 2002; Schmutterer, 1998). Estes resultados colocam estas espécies no grupo de principais plantas insecticidas. Resultados similares a estes foram encontrados por Campos (2012) estudando o efeito de óleo de nim (*A. indica*) sobre larvas de *S. frugiperda*, tendo encontrado DL₅₀ estimado em 0,213% (v/v). Maroneze & Gallegos (2009) constararam 100% de mortalidade de lervas recém-eclodidas de *S. frugiperda* quando foram alimentadas com folhas de milho previamente imersas em extratos aquoso de *Melia azedaracha* nas concentrações de 1 e 5% (p/v). Bogorni & Vendramin (2003) observaram que extratos aquosos de folhas de *T. pallens* (5% p/v) ocasionaram até 100% de mortalidade em larvas de *S. frugiperda*.

5.3. Relação entre composição fitoquímica de extrato de plantas e sua actividade insecticida

A partir dos resultados das análises fitoquímicas e das actividades insecticidas dos extratos testados, pode-se inferir que as fortes actividade insecticida dos extratos em estudo devem-se aos fitoquímicos identificados como estando presentes nestes extratos de forma individual ou sinérgica. Este resultado não é novo, uma vez que muitos outros pesquisadores conseguiram com sucesso relacionar a actividade insecticida de tantos outros extratos vegetais

com suas composições fitoquímicas. Papachristos *et al.* (2004) estudando a relação entre a composição química de três óleos essenciais extraídos de várias partes de três plantas aromáticas gregas, nomeadamente *Lavandula hybrida* Rev, *Rosmarinus officinalis* Labil e *Eucalyptus globulus* Labil e suas actividades insecticida contra *Acanthoscelides obtectus* (Say), verificaram que os óleos essenciais provenientes dessas três plantas eram constituídos principalmente por monoterpenos oxigenados em 75 a 85%. Nos testes das actividades insecticidas, estes pesquisadores constataram que todos os óleos essenciais das três plantas testadas demonstraram uma forte actividade insecticida contra o insecto adulto de *A. obtectus* com DL₅₀ a depender do sexo do peste e da composição do óleo essencial, sendo que o óleo essencial de folhas de *Lavender e rosemary* foi o mais activo com DL₅₀ igual a 0.5–2.4 mg litro⁻¹, seguido do óleo extraído de flores de *lavender* (DL₅₀ 1.9–3.7 mg litro⁻¹) e de fruto maduro de eucalipto (DL₅₀ 2.4 e 4.7 mg litro⁻¹) para machos e fêmeas, respectivamente.

Acheuk e Bahia (2013) extraíram alcalóides a partir de extratos da parte aérea (folhas e casca de caule) de *Pergularia tomentosa* (*Asclepiadaceae*) e testaram a sua actividade contra larvas de quinto instar de *Locusta migratoriacerascens* (Fabricius 1781), tendo o resultado mostrado que este produto não só proporcionou uma considerável actividade insecticida na ordem de 96% a 180 µg depois de 10 dias após o tratamento e acima de 240 µg a mortalidade atingiu 100 %, os autores também constataram que o alcalóide em questão foi capaz de causar no insecto o efeito anti-alimentar e redução de peso pela redução de proteína e carboidrato no peste.

Hayashiet *al.*, (1988) extraíram alcalóides indólicos okaramines A e B a partir de microorganismos *penicillium simplicissimum* proveniente da fermentação de *okara*, uma espécie que ocorre no Japão. De seguida testaram sua actividade insecticida contra as larvas do terceiro instar de Bicho-de-seda (*Bombyx mori*) e contra larvas do segundo instar de *Spodoptera exigua*. Como resultado do bioensaio, os autores confirmaram que ambos os alcalóides causaram 100% de mortalidade de larvas de *Bombyx mori* na concentração de 0,3 ppm, enquanto que o composto tido como mais activo (okaramine B) causou o mesmo efeito contra larvas do segundo instar de *Spodoptera exigua*.

De Geyter *et al* (2007) na busca de novas substâncias naturais com actividade insecticida, testaram saponina comercial em pó extraída de casca de *quillaja* e testaram a sua

actividade contra *Spodoptera littoralis* e *Acyrtosiphon pisum*, através da sua inserção em dieta artificial em diferentes concentrações. Como resultado, os autores confirmaram que além de causar mortalidade, a saponina inibiu o crescimento dos insectos testados.

Cuiet *al.*, (2019) testaram por acção de contacto e de intoxicação estomacal a actividade de saponinas extraídos da semente da planta de chá (*Camellia oleifera*) contra a praga desta mesma cultura (*Ectropis obliqua*) e mais adiante, estudaram o mecanismo de actuação desta substância. Como resultado, os autores constataram que as saponinas extraídos causaram uma grande intoxicação por contacto com $DL_{50} = 8,459$ mg/L e intoxicação alimentar ($DL_{50} = 22,395$ mg/L). Em relação ao mecanismo, o estudo demonstrou que as saponinas do chá podem destruir a camada cerosa da epiderme causando perdas sérias de água, e podem penetrar dentro do intestino de *E. obliqua*. Após o consumo das saponinas do chá, as vilosidades intestinais foram encurtadas e as cavidades da parede intestinal foram rompidas, o que resultou em morte larval.

Romanelliet *al* (2010) conseguiram sintetizar os flavonóides, cromona, xantona, e flavona e testaram suas actividades contra larvas de primeiro instar de lagarta de funil do milho (*S. frugiperda*), através de imersão de folhas de milho em extratos aquoso e acetónicos desses flavonoides. Tendo constatado maior actividade em flavonas, os pesquisadores sintetizaram uma série de nove flavonas substituídas e testaram suas actividades contra as mesmas larvas, tendo observado que a eficácia desses biopesticidas era influenciada por estrutura e localização dos substituíntes no anel benzênico do cromanóide.

5.4. Considerações gerais

A extração por Soxhlet, que foi o método utilizado no presente trabalho, permitiu ter maior quantidade de extrato em menor intervalo de tempo, quando comparado com maceração, por exemplo, que tem sido o método usado em muitos trabalhos do género. Além disso, pelos resultados das análises fitoquímicas e dos testes biológicos obtidos, fica a ideia de que este método de extração não influenciou negativamente na actividade dos extratos.

Os resultados das análises fitoquímicas revelaram a presença de constituintes fitoquímicos que já mostraram sua actividade contra muitas espécies de insectos em outros estudos. (Papachristos *et al.*, 2004; Acheuk e Bahia, 2013; Hayashi *et al.*, 1988)

Os resultados dos testes biológicos feitos sugerem que tal como *A. indica*, *T. emetica* e *T. capitata* constituem uma valiosa fonte de insecticidas botânicos, que estão à disposição dos produtores de milho, principalmente em países como Moçambique onde maior parte de agricultores são de sector familiar e dispõem de poucos recursos para adquirir insecticidas sintéticos. Por outro lado, estes biopesticidas são de fácil preparação e não oferecem qualquer perigo durante o seu manuseamento, além de não serem agressivos para o meio ambiente.

Até então, um dos insecticidas sintéticos mais recomendados para fazer face a infestação por lagartas do funil de milho no nosso país é *Beauveria bassiana*, na dose de 1kg/100 litros de água, o que equivale a 0,01g/ml (Cugalaet *al* (2017)). A DL_{50} para extrato aquoso de casca de *T. capitata* é 0,05g/ml, um valor que coloca esta espécie entre as principais plantas insecticida.

Se tivermos em conta de que os extratos vegetais não estão constituídos na sua totalidade por substâncias activas, ainda assim o extrato aquoso de casca de *T. capitata* apresentou LD_{50} igual a 0,05 g/ml, seria interessante isolar a substância responsável por este princípio activo e testar sua actividade insecticida sobre o mesmo peste ou outros. Existe uma grande possibilidade de esta substância isolada ser mais eficaz do que muitos dos insecticidas sintéticos que actualmente são usados para fazer face a infestação por de *S. frugiperda*.

6. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

6.1. Conclusões

Nas condições em que os experimentos foram conduzidos, foi possível concluir que:

- Os extratos aquosos e etanólicos de folhas e cascas de *T. emetica*, *T. capitata* e *A.indica* apresentam a seguinte composição fitoquímica: Alcalóides, flavonóides, taninos, antraquinonas, esteróides e terpenóides, glicosídeos, açúcares redutores e aminoácidos e proteínas.

- Os extratos aquosos de *T. emetica*, *T. capitata* e *A.indica* apresentam actividade insecticida sobre as larvas de terceiro instar de *S. frugiperda*;

- De entre os extratos testados, o extrato aquoso de casca de *T. capitata* é o que apresenta maior potencial insecticida contra larvas de terceiro instar de *S. frugiperda*;

6.2. Recomendações

➤ Aos extensionistas agrários:

- Que sejam divulgados os resultados deste estudo aos produtores de milho para que estes comecem a apostar nestas e/ou noutras plantas insecticidas para fazer face a infestação por *S. frugiperda*.

➤ Aos futuros pesquisadores:

- Que isolem as substâncias responsáveis por princípio activo de *T. emetica*, *T. capitata* e *A. indica* e testem sua eficácia contra *S. frugiperda*, como forma de introduzir novas substâncias com actividade insecticida contra lagarta do funil de milho;

- Que testem a eficácia dos extratos aquosos ou orgânicos de *T. emetica*, *T. capitata* e *A. indica* sobre outros insectos pragas de outras culturas para aferir se a actividade destes extratos se limitam a *S. frugiperda* ou não.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abdelgaleil, S. A. M. & Nakatani, M. (2003). *Antifeeding activity of limonoids from Khaya senegalensis (Meliaceae)*. Journal of Applied Entomology, **127**: 236–239;

Acheuk, F. and Bahia, D. (2013). *Insecticidal activity of alkaloids extract of Pergularia tomatosa (Asclepiadaceae) against fifth instar larvae of locusta migratoria cinerascens (Fabricius 1781) (Orthoptera: Acrididae)*. Corpus ID: 29305592;

Ahmad, T., Singh, S. B., Pandey, S., (2013). *Phytochemical screening and physicochemical parameters of crude drugs: A brief review*. Int J Pharm Res Rev, **2**(12): 53-60;

Allinger, N.R., Cava, M.P., de Jongh, D.C., Lebel, N.A. & Stevens, C.L. (1991). *Química orgánica. Segunda edición*. Editorial Reverte, S. A. Barcelona;

Ayensu, I., and Quartey, A.K. (2015). *Phytochemical screening and in-vitro antioxidant properties of the stem bark of Trichilia tessemanni (harms) (Meliaceae)*. World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, **4**: 2278 – 4357;

Ayres, M.P., Clausen, T.P., Maclean, S.F., Redman, A.M. e Reichardt P.B. (1997). *Diversity of structure and antiherbivore activity in condensed tannins*. Ecological society of America, **78**: 1696-1712;

Babalola, I.T. & Adelokun, E.A. (2018). *Phytochemical analysis and antimicrobial activity of Trichilia emetica Vahl (Meliaceae)*. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry; **7**: 1980-1982

Bankole, A.E. et al. (2015). *Phytochemical Screening and in vivo antimalarial activity of extracts from three medicinal plants used in malaria treatment in Nigeria*. Parasitology Research, **115**: 299-305;

Baudron, F., Zaman-Allah, M.A., Chaipa, I., Chari, N. e Chinwada, P. (2019). *Understanding the factors influencing fall armyworm (Spodoptera frugiperda J.E. Smith) damage in African smallholder maize fields and qualifying its impact on yield. A case study in Eastern Zimbabwe*. Crop Protection **120**: 141–150;

Ben, I.O., Woode, E., Abotsi, W.K.M and Boakye-Gyasi, E. (2013). *Preliminary Phytochemical Screening and In vitro Antioxidant Properties of Trichilia monadelpha (Thonn.) J. J. de Wilde (Meliaceae)*. Journal of Medical and Biomedical Sciences, **2**(2): 6-15;

Berbehenn, R.V., Martin, M.M. 1994. *Tannin sensitivity in larvae of Malacosoma disstria (Lepidoptera): roles of the peritrophic envelope and midgut oxidation*. Journal of Chemical Ecology **20** (8): 1985–2001;

Berbehenn, R.V., Martin, M.M., Hagerman, A.E. (1996). *Reassessment of the roles of the peritrophic envelope and hydrolysis in protecting polyphagous grasshoppers from ingested hydrolyzable tannins*. Journal of Chemical Ecology **22** (10):1901-1919;

Bhuyan, D.J., & Basu, A.(2017). *Phenolic compounds: potential health benefits and toxicity*. In Q. V. Vuong (Ed), *Utilisation of bioactive compounds from Agricultural and food waste*. pp. 27-59;

Blessing, N.A., Agbagwa, I.O. and Okoli, B.E. (2011). *Comparative phytochemical of Jatropha L. species in the Niger Delta*. Research Journal of Phytochemistry, pp.819-3471;

Bliss, C.I. (1934). *Method of probits*. Science, **79**: 38-39;

Bogorni, P.C. e Vendramim, J.D., (2005). *Efeito Subletal de Extratos Aquosos de Trichilia spp. Sobre o Desenvolvimento de Spodoptera frugiperda (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em Milho*. Neotropical Entomology **34**(2):311-317

Broeck, J.V., Vulsteke, V., Huybrechts, R. & De Loof, A. (1995). *Characterization of a Cloned Locust Tyranine Receptor cDNA by Functional Expression in Permanently Transformed Drosophila S₂ Cells*. J Neurochem, **64**(6):2387-95;

CABI (2020). *Spodoptera frugiperda (fall armyworm). Invasive species compendium*. Wallingford, UK: CAB International. <https://www.cabi.org/isc/datasheet/29810>;

Campos, A.P. (2012). *Efeito de óleo de nim (Azadirachta indica) SOBRE Spodoptera frugiperda (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) E Podisus nigrispinus (Dallas, 1851) (Hemiptera: Pentatomidae)*. (Tese de doutoramento em entomologia agrícola). Universidade Estadual Paulista;

Capinera, J.L. (2017). *Fall armyworm: entomology & Nematology*. FDACS/DP, EDIS, University of Florida, and USDA;

Carlos, L.A. (2007). *Alcalóides de Rauvolfia grandiflorae rauvolfia mattfeldana (Apocynaceae)*. Campos dos Goytacazes, 200p. Tese de doutoramento (centro de ciências Tecnológicas e Agropecuárias), Universidade Estadual do norte Fluminense;

Carpinella, M.C., Defago, M.T., Valladares, G. And Palacios, S.M. (2003). *Antifeedant and Insecticide Properties of a Limonoid from Melia azedarach (Meliaceae) with Potential Use for Pest Management*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, **51**:369–37;

Cartea, M.E., Fancisco, P. Soengas and Velasco, P. (2011). *Phenolic compound in Brassica vegetables*. Molecules, **16**: 251-280;

Castelo Branco, M. (1990). *Controlo Químico de Traços de tomateiro: Horticultura brasileira*, **8**: 25;

Christensen, L.P. & Brandt, K. (2006). *Bioactive polyacetilenes in food plants of the apiaceae family; occurrence, bioactivity and analyses*. **41**: 683-693;

CLIFFORD, M. N. & SCALBERT, A. (2000). *Ellagitannins – nature, occurrence and dietary burden*. Journal of the Science of Food and Agriculture, **80**: 1118–1125;

Conseschi, M. et al (2011). *Efeito de extratos aquosos de Azadirachta indica e de trichilia pallida sobre lagartas de Spodoptera frugiperda (J.E. Smith) (Lepidoptera:Noctuidae) em milho*. Sociedade Entomológica do Brasil, **6**:10-.30;

Cruz et al, (2006). *Manejo da cultura do milho*. Embrapa Milho e Sorgo - Circular Técnica (INFOTECA-E); pp.12

Cruz I.And Turpin, F.T. (2016). *Yield Impact of Larval Infestations of the Fall Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) to Midwhorl Growth Stage of Corn*. J. Econ. Entomol. **76**: 1052-1054;

Cugala, D., Agostinho, T., Madogolele, N., Simbine, A., Lazaro, A., Vaz, A.& Pacho, D. (2017). *Situação actual de lagarta do funil de milho, spodoptera frugiperda, em Moçambique*. (Relatório de trabalho realizado), Maputo, Abril;

Cui, Cuanjian (2019). *Insecticidal Activity and Insecticidal mechanism of Total saponins from Camelia oleifera*. *Molecules*, **24** (24): 24244518;

Cunha, U.S. (2004). *Busca de substâncias de Trichilia pallida e Trichilia pallens (Meliaceae) com actividade sobre a traça-de-tomateiro Tutela absoluta (meyrica) (Pep.:Gelechiidae)*. (Tese de Doutoramento), Escola Superior de Agricultura Luz de Queiroz, São Paulo;

De Geyter, E., (2012). *Toxicity and mode of action of steroid and terpenoid secondary plant metabolites against economically important pest insects in agriculture*. PhD dissertation, Faculty of Bioscience Engineering, Ghent University, Ghent;

Del Rio, D., Borges, G., & Crozier, A. (2010). *Berry flavonoids and phenolics: bioavailability and evidence of protective effects*. *British Journal of Nutrition*, **104**: 67–90;

Dewick, P.M. (2009). *Medicinal Natural Product- a biosynthetic approach*. 3rd edition. John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, 546pp

Edriss, A., Elsayed, A.Z. & Satti, A.A. (2012). *Phytochemical screening of important secondary metabolites in some extracts of two Sudanese plants*. **1**: 199-202;

Enan, E.E.. (1998). *Insecticidal Action of Terpenes and Phenols to the Cockroaches: Effect on Octopamine Receptors*. International Symposium on Crop Protection, Ghent, Belgium;

Eschenmoser, A. Ruzicka, L. Jeger, O. & Arigoni, D. (1955). *Eine stereochemische Interpretation der biogenetischen Isoprenregel bei den Triterpenen*. *Helvetica Chimica Acta* 381890–381904;

FARKAS, J., MOHÁCSI-FARKAS, C. (2014). *In: MOTAJERMI, Y. (ed). 1^o Ed. Safety of foods and beverages: spices and seasonings*. *Encyclopedia of Food Safety*, **3**: 324-330;

Felipe, L.O. e Bicas, J. (2018). *Terpenos, aromas e a química dos compostos naturais*. *Química e Sociedade*, **39**(2): 120-130;

Feliu, D.A. (2011). *Análise de terpenóides de espécie de Croton sect Lamprocroton (Mull. Arg.) Pax. (Euphorbiaceae)*. Dissertação (Mestrado em ciências na área de botânica) IB/USP;

Fengel, D., Wegener, G. (1984). *Wood Chemistry, Ultrastructure, Reactions*. Water De Gruyter, Berlin;

França, F. H. *et al* (1985). *Libertações semanais de trichograma pretiosum controlam a traça de tomateiro em tomate para processamento industrial no distrito federal-Horticultura brasileira*, **3**: p43;

Gershenzon, J., Dudareva, N. (2007). *The function of terpene natural products in the natural world*. *Nature Chemical Biology*, **3**: 408-414;

Goergen, G., Kumar, P.L., Sankung, S.B., Togola, A., Tamò, M. (2016). *First Report of Outbreaks of the Fall Armyworm Spodoptera frugiperda (J E Smith) (Lepidoptera, Noctuidae), a New Alien Invasive Pest in West and Central Africa*. *PLoS ONE* **11**(10);

Golob, P., Moss, C., Dales, M., Fidgen, A., Evans, J. (1999). *FAO Agricultural Services bulletin N° 137*, Rome;

Gonsalves-Gervasio, R. S. R., (2003) *Efeitos de extratos de Trichilia palida Swartz e Azedirachta indica A. Jus (Maliaceae) sobre tufa absoluta (Meyrick). E seus PARASITOIDES Trichograma pretiosum* (Tese de doutoramento em Entomologia). Universidade estadual de São Paulo, Piracicaba;

Greene, G.L., Leppla, N.C. & Dickson, E.A. (1976). *Velveteen caterpillar: a rearing procedure and artificial medium*. *J. Econ. Entomology*. **69**: 187-488;

Harborn, J.B. (1998). *Phytochemical Methods. A guide to modern techniques of plant analysis*. Third edition;

Harborne, J.B. (1989). *Methods in plant biochemistry. General procedure and Measurement of Total Phenolics*. **1**: 1-28;

Harborne, J.B. (1993) *The Flavonoids: Advances in Research Since 1986*. Chapman & Hall, London.

HARVEY, M. I. (2001). *Analysis of hydrolysable tannins*. Animal Feed Science and Technology **91**: 3-20;

Hayashi, H., Takihuchi, K., Murao, S. and Arai, M. (1989). *Structure and activity of New Indole Alkaloids, Okaramines A and B, from Penicillium simplicissimum AK-40*. Agric. Biol. Chem., **53**(2);

HEIL, M.; BAUMANN, B., ANDARY, C., LINSENMAYER, K. E., MCKEY, D. (2002). *Extraction and quantification of "condensed tannins" as a measure of plant anti-herbivore defence? Revisiting an old problem*. Naturwissenschaften. 89:519-524;

Henriques, A.T., Kerber, V.A., e Moreno, P.R.H. (2003). *Alcalóides: Generalidades e aspectos básicos*. Farmacognosia-da planta ao medicamento. 5 ed.: Editora da UFSC, pp. 765-791;

Hillier, S.G. & Lathe, R. (2019). *Terpenes, hormones and life: isoprene rule revisited*. Journal of Endocrinology, 242: 9-22;

KHANBABAEE, K.; van REE, T. (2001). *Tannins: Classification and Definition*. Natural Product. Reports, **18**: 641-649;

King, A. & Young, G. (1999). *Characteristics and occurrence of phenolic Phytochemicals*. **99**: 213-218;

Klock, A.J. & Kubo, I. (1982). *Citrus limonoid by-products as insect control agents*. Entomologia. Experimentalis et applicata, **32**: 299-301.

Koes, R. E., Quattrocchio, F., & Mol, J. N. M. (1994). *The flavonoid biosynthetic pathway in plants: Function and evolution*. BioEssays, **16**(2): 123–132.

Kokate, C.K., Purohit, A.P. & Gokhale, S.B. (2004) *Pharmacognosy*. 26th Edition, Nirali Prakashan, Pune;

Kostyukovsky, M., Rafaeli, A., Gileadi, C., Demchenko, N., Shaaya, E., (2002). *Activation of octopaminergic receptors by essential oil constituents isolated from aromatic plants: possible mode of action against insect pests*. *Pest Management Sci.* **58**(11): 1101-1106.

LEKHA, P. K. & LONSANE, B. K. (1997). *Production and application of Tannic Acyl Hydrolase: State of the art*. *Advances in Applied Microbiology*, 44;

Lewis, M.A., Arnason, J.T., Philogene, J.R., Rupprecht, J.K., McLaughlin, J.L., (1993). *Inhibition of respiration at site I by asimicin, an insecticidal acetogenin of the pawpaw, Asimina triloba (Annonaceae)*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* **45**: 15-23;

Mabilana, H.A., Fontana, D.C., & Fonseca, E.L. (2012). *Desenvolvimento de modelo agrometeorológico espectral para estimativa de rendimento do milho na Província de Manica-Moçambique*. *Rev. Ceres*, **59**: 337-349;

Maroneze, D. M. e Gallego, D. N. M., (2009), *Efeito de extrato aquoso de Melia azedarach no desenvolvimento das fases imatura e reprodutiva de Spodoptera frugiperda (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae)*. *Ciências Agrárias*, **30**: 537-549;

Martinez, S.S. (2002). *O Nim-Azadiracta indica: natureza, usos múltiplos*. Produção. Londrina: Instituto agrônomo do Paraná, 142p;

Martinez, S.S., van Emden, H.F. (1999.) *Sublethal concentrations of azadirachtin affect food intake, conversion efficiency and feeding behaviour of Spodoptera littoralis (Lepidoptera: Noctuidae)*. **88**: 65–71;

Matos, A. P. et al, (2006). *Atividade Biológica de Extratos Orgânicos de Trichilia spp. (Meliaceae) sobre Spodoptera frugiperda (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em Dieta Artificial*. *Sociedade Entomológica do Brasil*, **1**:7;

MELLO, J. C.P., SANTOS, S. C. (2001). *Taninos*. In: SIMÕES, C.M., SCHENKEL, E. P., GOSMANN, G., MELLO, J. C.P., MENTZ, L.A., PETROVICK, P.R. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. ed. Porto Alegre: Ed.UFRGS/Ed.UFSC, **24**: 517-543;

Mohaddes-Kamrانشahi, M., Jafarizadeh-Malmiri, H., Simjoo, M. and Jafarizad, A. (2019). *Evaluation of the saponin green extraction from Ziziphus spina-christi leaves using hydrothermal, microwave and Bain-Marie water bath heating methods*. Green Processing and Synthesis, **8**: 62-67;

Mondai, Dr Sumanta (2019). *B Pharm VII Phytochemistry UNT-IV Gycoside*. Doi-10.13140/RG.2.2.14662.73287. disponivel em: https://www.researchgate.net/publication_em/12/03/2020.

Monteiro, J.M., Albuquerque, U.P., Araújo, E.L. & Amorim, E.L.C. (2005). *Taninos: uma abordagem da química à ecologia*. Química nova, **28**(5)

Montezano, D.G., Specht, D.R., Sosa-Gómez, D.R., Roque-Specht, J.C., Sousa-Silva, J.C. (2018). *Host Plants of Spodoptera frugiperda (Lepidoptera: Noctuidae) in the Americas*. African Entomology, **26**(2): 286-300;

Morrill, W.L. & Greene, G.L. (2013). *Distribution of Fall Armyworm Larvae. I. Regions of field corn plants Infested by Larvae*. Environmental Entomology, **2**: 195-198;

Munyemana F, Alberto A.L., (2017). *Evaluation of larvicidal activity of selected plant extracts against Plutella xylostella (Lepidoptera:Plutellidae) larvae on cabbage*. Adv Med Plant Res, **5**(1): 11-20;

NAKAMURA, Y., TSUJI, S., TONOGAI, Y. (2003). *Method for analysis of tannic acid and its metabolites in biological samples: Application to tannic acid metabolism in the rat*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, **51**: 331-339;

Nakatani, M., James, J.C. and Nakanishi, K. (1981). *Isolation and Structures of Trichilins, Antifeedants against the Southern Army Worm*. J. Am. Chem. SOC, **103**: 1228-1230;

Ncube, N.S., Afolayan AJ, Okoh AI. (2008). *Assessment techniques of antimicrobial properties of natural compounds of plant origin: current methods and future trends*. African Journal of Biotechnology, **7** (12): 1797-1806;

Nwali O.N., Idoko, A.1., Okolie, J.E., Ezeh, E., Ugwudike, P.O., Rita, O.N., Ezenwali, M.O., Odo, I.A., Ani, P.N. and Okolie, S.O. (2018). *Comparative Analysis of the Phytochemical Compositions of Leaf, Stem-bark and Root of Azadirachta indica (neem)*. Universal Journal of Pharmaceutical Research, **3**: 2456-8058;

Ogbonna, O.A., Ogbonna P.C. and Dike M.C. (2016). *Phytochemical screening, Quantitative estimates of bioactive compounds in Spondias mombin and Azadirachta indica*. Research Journal of Chemical Sciences, **6**(1), 38-40;

Panche, A.N., Diwan, A.D. Chandra, S.R. (2016). *Flavonoids: an overview*. JOURNAL OF NUTRITIONAL SCIENCE, **5**:1-15;

Papachristos, D.P., Karamanoli, K.I., Stamopoulos, D.C. and Menkissoglu-Spiroudi, U. (2004). *The relationship between the chemical composition of three essential oils and their insecticidal activity against Acanthoscelides*. Obtectus (Say). Pest Manag Sci, **60**:514–520;

Pelletier, W.S. (1992). *Alkaloids: Chemical and Biochemical Perspective*. **8**: 1-150;

Perera, D., Armstrong, G., Senanayake, N. (2000). *Effect of antifeedants on the diamondback moth (Plutella xylostella) and its parasitoid Cortesia plutellae*. Pest Manag Sci. **56**:486–490;

Phambala, T., Kasambala, K., Stevenson, & Belmain. (2020). *Bioactivity of Common Pesticidal Plants on Fall Armyworm Larvae (Spodoptera frugiperda)*. Plants, **9**(1): 112;

Pierpoint, W.S. (2000). *Why do plants make medicines*. Biochemist, **22**: 37–40;

Pizarro, A.P.B., Oliveira, A.M., Parente, J.P., Meio, M.T.V., Santos, C.E. e Lima, P.R. (1999). *O aproveitamento do resíduo da indústria do sisal no controle de larvas de mosquitos*. Revista da sociedade Brasileira de medicina tropical **32**(1): 23-29;

Popjak, G., Edmond, J., Clifford, K. & Williams, V. (1969). *Biosynthesis and structure of a new intermediate between farnesyl pyrophosphate and squalene*. Journal of Biological Chemistry **244**: 1897–1918;

Porter, L.J. (1989). *Tannins*, in J.B. Harborn (ed.), *Methods in plant biochemistry*. Academic press, **1**: 389-419;

Priestley, C.M.; Williamson, E.M.; Wafford, K.A.; Satelle, D.B. (2003). *Thymol, a constituent of thyme essential oil, is a positive allosteric modulator of human GABAA receptors and a homooligomeric GABA receptor from Drosophila melanogaster*. Br. J. Pharmacol. **140**: 1363p;

Raffa, K.F., Priester, T.M. (1985). *Synergists as research tools and control agents in agriculture*. Journal of Agricultural Entomology, **2**: 27-45;

Rajalkshmi, G., Ramarendran R., Gomathi N., (2013). *Phytochemical Screening and Antifungal Activity of Medicinal Plant*, **2**(3): 8-9;

Ramaswamy, S.B., Cohen, N.E., Hanson, F.E. (1992). *Deterrence of feeding and oviposition responses of adult Heliothis virescens by some compounds bitter-tasting to humans*. Entomol Exp Appl.,**65**:81–93;

Rattan, R.S. (2010). *Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin*.,**29**: 913-920;

Rodriguez H.C., Vendramim, J.D. (1996). *Toxicidade de extratos aquosos de meliaceas em Spodoptera frugiperda (Lepidoptera: Noctuidae)*. Manejo integrado de pragas, **43**: 14-22;

Rodriguez, H.C. (1995). *Efeito de extratos aquoso de meliaces no desenvolvimento de Spodoptera frugiperda (J. Smith, 1797) (lepidoptera: Noctuidae)*.(Tese de Doutorado em Entomologia)-ESALQ/USP;

Rodríguez, R. H. & Pinto, A. C. (2014). *Constituintes Químicos e Propriedades Biológicas de Espécies do Gênero Serjania*. Rev. Virtual Quim, **6**: 1583-1606;

Roeder, T. (1994). *Biogenic amines and their receptors in insects*. Comparative Biochemistry and Physiology, vo 107C, No. pp. 1-12;

Roel, A. R., & Vendramim, J. D. (2006). *Efeito residual do extrato acetato de etila de Trichilia pallida Swartz (Meliaceae) para lagartas de diferentes idades de Spodoptera frugiperda (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae)*. *Ciência Rural*, **36**(4): 1049–1054;

Roel, A.R., Vendramim, J.D., Frighetto, R.T.S. & Frighetto, N. (2000). *Atividade Tóxica de Extratos Orgânicos de Trichilia pallida Swartz. (Meliaceae) sobre Spodoptera frugiperda (J.E.Smith)*. *Soc. Entomol. Brasil* **29**(4): 799-808;

Roel, AR., Dourado, D.M., Matias, R., Porto, K.R.A., Bednaski, A.V., Costa, R.B. (2010). *The effect sub-lethal doses of Azadiracta indica (Meliaceae) oil on the midgut of Spodoptera frugiperda (Lepidoptera: Noctuidae)*. *Rev. Bras. Entomol.* **54**: 505-510;

Romanelli, G. P., et al (2010). *Sustainable Synthesis of Flavonoid Derivatives, QSAR Study and Insecticidal Activity against the Fall Armyworm, Spodoptera frugiperda (Lep.: Noctuidae)*. *J. Agric. Food Chem*, **58**: 6290–6295;

Rosenthal, G.A. and Berenbaum, M.R. (1992). *HERBIVORES.THEIR INTERACTIONS WITH SECONDARY PLANT METABOLITES*. *Physiological Entomology*, **17**(3): 308–308;

Rossiter, M.C., Schultz, J.C., Baldwin, I.T. (1988). *Relationships among defoliation, red oak phenolics and gypsy moth growth and reproduction*. *Ecology* **69**: 267-277

Rwomushana, I. et al. (2018). *Fall armyworm: impact and implication for Africa: Evidence note Update*, October. <https://www.researchgate.net/publication/328687643>. Acesso em 20/03/2020.

Sackmann, P., Corley, J.C. (2007). *Control of Vespula germanica (Hymenoptera: Vespidae) population using toxic baits: bait attractiveness and pesticide efficacy*. *J.appl. Entomol.* **131**:9-10;

SCHENKEL, E.P., GOSMANN, G. & PETTOVICK, P.R. (2001). *Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos*. In: Simões, C.M.O., Schenkel, E.P.; Gosmann, G; Mello, J.C.P.; Mentz, L.A.; Petrovick, P.R. (org.) *farmacognosia: da planta ao medicamento*. Editora da universidade UFRGS/Editora da UFSC, **15**: 301-332;

Schmutterer, H. (1990). *Properties and potential natural pesticides from the neem tree*. Annual Review of Entomology, **35**: 271-297;

Secoy, D.M., Smith, A.E. (1983). Use of plants in control of agricultural and domestic pests. **37**: 28-57;

SIEDENTOPP, U. (2008). *El regaliz, una planta medicinal eficaz para la tos y las efecções de estómago*. Revista Internacional de Acupuntura, 2:((2);

Siloto, R.C. (2002). *Danos e Biologia de Spodoptera frugiperda (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em Genótipos de milho*. Dissertação (Mestrado em Entomologia)-Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba-São Paulo;

Simmonds, M.S.J., Stevenson, P.C., Porter, E.A., and Veitch, N.C. (2001). *Journal of Natural Products*, **64**: 1117-112;

Souza, A.P. & Vendramim, J.D. (2000). *Efeito de extratos aquosos de Meliaceas sobre Bemisia tabaci Biótipo B em Tomateiro*, **59**(2): 173-179;

Stedman, E., Barger, G. (1925). *Physostigmine (eserine). Part III*. Journal of the Chemical Society (London), **127**: 247-258;

Taiz, L., Zeiger, E. (1998) *Plant physiology* 2. Ed. Massachusetts: sinauerassociats, 792p;

Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., Kaur, H. (2011). *Phytochemical screening and extraction: A Review*. Int Pharmaceut Sci, **1**(1): 98-106.

Torrecillas, S.M. (1997). *Efeito de extratos aquoso de trichilia pallida Swartz (Meliaceae) no desenvolvimento de spodoptera frugiperda (J.E. Smith, 1797) (lepidoptera: Noctuidae) criadas em diferentes genótipos de milho*. (Dissertação: Mestrado em Entomologia)-ESALQ/USP;

Verporte, R. & Alfermann, A.W. (2000). *Metabolic engineering of plant secondary metabolism*. Kluwer Academic publishers, 1-29;

Vinoth, B., Manivasagaperumal, R. And Rajaravindran, M. (2012). *Phytochemical Analysis and Antibacterial Activity of Azadirachta indica A Juss.* International Journal of Research in Plant Science, **2**(3): 50-55;

Wheeler, D. A. & Isman, M. B. (2001). *Antifeedant and toxic activity of Trichilia Americana extract against the larvae of Spodoptera litura.* Entomologia experimentalis et applicata **98**: 9-16;

Wheeler, D.A., Isman, M.B., Sanchez-Vindasb, P.E. and Arnason, J.T. (2001). *Screening of Costa Rican Trichilia species for biological activity against the larvae of Spodoptera litura (Lepidoptera: Noctuidae).* Biochemical Systematics and Ecology, **29**: 347–358;

Wina, E., Muetzel, S. and Becker, K. (2005). *The impact of saponins or saponin-containing plant materials on Ruminant Production-A review.* J. Agric. Food Chem., **53**: 8093–8105;

Wiseman, B.R. and Widstrom, N.W. (1984). *Fall Armyworm Damage Ratings on Corn at Various Infestation Levels and Plant Development Stages.* J. Agric. Entomol. **1**(2): 115-119,

XIE, Y.S. et al. (1994). *Biological Activity of Extracts of Trichilia Species and the Limonoid Hirtin Against Lepidopteran Larvae.* Biochemical Systematics and Ecology, **22**: 129-136;

Zafra-Polo, M.C, González, M.C., Estornell, E., Sahpaz, S., Cortes, D. (1996). *Acetogenins from Annonaceae, inhibitors of mitochondrial complex I.* Phytochemistry. **42**(2):253-271;

Zhang, T., et al. (2017). *RNA Locate: A resource for RNA subcellular localization.* Nucleic Acids Res, **45**:135-138.