



Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal

TOXICIDADE DE EXTRATOS DE *Strychnos pseudoquina* (LOGANIACEAE) PARA *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

TAINÁ APARECIDA ALVES SOUZA

MESTRADO

Ipameri-GO
2023

TAINÁ APARECIDA ALVES SOUZA

**TOXICIDADE DE EXTRATOS DE *Strychnos pseudoquina*
(LOGANIACEAE) PARA *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA:
NOCTUIDAE)**

Orientador: Prof. Dr. Márcio da Silva Araújo

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Goiás – UEG, Unidade Universitária de Ipameri, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal para obtenção do título de MESTRE.

Ipameri – GO
2023

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UEG
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

SS072 Souza, Tainá Aparecida Alves
9t TOXICIDADE DE EXTRATOS DE *Strychnos pseudoquina*
(LOGANIACEAE) PARA *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA:
NOCTUIDAE) / Tainá Aparecida Alves Souza; orientador
Márcio da Silva Araújo. -- Ipameri, 2023.
41 p.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação
Mestrado Acadêmico em Produção Vegetal) -- Unidade de
Ipameri, Universidade Estadual de Goiás, 2023.

1. Lagarta-do-cartucho-do-milho. 2. Manejo de
pragas. 3. Metabólitos secundários. 4. Planta
inseticida. I. Araújo, Márcio da Silva, orient. II.
Título.



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: “TOXICIDADE DE EXTRATOS DE *Strychnos pseudoquina* (LOGANIACEAE) PARA *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)”

AUTOR(A):) Tainá Aparecida Alves de Souza

ORIENTADOR(A): Márcio da Silva Araújo

Aprovado(a) como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE(A) EM PRODUÇÃO VEGETAL, pela comissão Examinadora:

Prof. Dr. Márcio da Silva Araújo (Orientador)

Universidade Estadual de Goiás / Unidade Universitária Ipameri- GO



Documento assinado digitalmente
MARCIO DA SILVA ARAUJO
Data: 09/03/2023 15:18:54-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof. Dr. Flávio Gonçalves de Jesus

Instituto Federal Goiano/ Campus Urutaí- GO



Documento assinado digitalmente
FLAVIO GONCALVES DE JESUS
Data: 10/03/2023 07:37:53-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof. Dr. André Cirilo de Souza Almeida

Instituto Federal Goiano/ Campus Urutaí- GO



Documento assinado digitalmente
ANDRE CIRILO DE SOUSA ALMEIDA
Data: 10/03/2023 07:18:14-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Data da realização: 28 de fevereiro de 2023

Registro de Declaração

Número: 178

Livro: R-01

Folhas: 03A

Data: 28/03/2023



AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, que sempre esteve à cima de tudo, me conduzindo, capacitando e me dando sabedoria, para que eu conseguisse concluir mais uma etapa na minha formação acadêmica.

Aos meus pais Nilva Alves Teixeira e Adão de Souza Silva, por serem a minha base. Parte do ser humano que me tornei, é graças à educação e valores éticos por eles ensinados. Agradeço em especial à minha mãe, pelo amor, incentivo e força, desde a minha graduação até aqui, sendo sempre minha maior inspiração. Honrarei seus sacrifícios e juntas compartilharemos da mesma alegria.

A todos os meus familiares, que sempre estiveram dispostos a me ajudar e apoiar em quaisquer circunstâncias da minha vida acadêmica. Ao meu amigo e namorado Yago César Rodrigues Morais que conheci ao longo dessa jornada, por tornar a saudade de casa menos dolorosa.

Ao meu professor e orientador Dr. Márcio da Silva Araújo, pelos ensinamentos, incentivos e colaborações constantes, além da paciência e sabedoria com que me acalmou durante momentos de aflição. Pode ter certeza, que durante essa minha passagem pela UEG, você cumpriu sua missão como professor.

Ao Prof. Dr. Antônio Carlos Severo Menezes e a acadêmica Cássia Kênia Garcia Santos, pela preparação dos extratos, base para a execução deste trabalho. Ao Prof. Dr. Flávio Gonçalves de Jesus, por fornecer as lagartas utilizadas no desenvolvimento deste trabalho. Ao Prof. Dr. Ednaldo Cândido Rocha pela valiosa ajuda para execução das análises estatísticas do experimento. E à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES), pela bolsa de estudo concedida.

A todos os professores e colaboradores da Universidade Estadual de Goiás – Unidade Universitária de Ipameri.

À Universidade Estadual de Goiás, por me conceder a oportunidade de cursar a pós-graduação.

E a todos que não foram citados, mas que, direta ou indiretamente, contribuíram para a concretização desse sonho. Com certeza levarei comigo muito de cada um e espero ter deixado o melhor de mim.

SUMÁRIO

RESUMO	v
ABSTRACT	vi
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	4
3. MATERIAL E MÉTODOS	5
3.1. Local de realização dos experimentos	5
3.2. Coleta do material vegetal.....	5
3.3. Preparo dos extratos.....	6
3.4. Criação de <i>Spodoptera frugiperda</i>	6
3.5. Cultivo de milho para alimentação das lagartas	7
3.6. Preparo e oferecimento dos diferentes extratos para as lagartas	7
3.7. Efeito antixenose dos extratos de <i>S. pseudoquina</i> em <i>S. frugiperda</i>	7
3.8. Efeito antibiose dos extratos de <i>S. pseudoquina</i> em <i>S. frugiperda</i>	9
3.9. Efeito de flavonoides isolados de <i>S. pseudoquina</i> em <i>S. frugiperda</i>	9
3.10. Análises estatísticas	11
4. RESULTADOS	12
4.1. Efeito antixenose dos extratos de <i>S. pseudoquina</i> em <i>S. frugiperda</i>	12
4.2. Efeito antibiose dos extratos de <i>S. pseudoquina</i> em <i>S. frugiperda</i>	12
4.3. Efeito larvicida de metabólitos secundários isolados de <i>S. pseudoquina</i> em <i>S. frugiperda</i>	25
5. DISCUSSÃO	27
6. CONCLUSÃO	30
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31

RESUMO

A lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*) é uma praga polífaga que causa prejuízos econômico para importantes culturas agrícolas. Não diferente da maioria dos insetos-praga, seu controle é feito quase que exclusivamente com inseticidas organossintéticos, o que torna essa situação questionável em relação à sua eficiência agrônômica e, também, em relação à segurança aos seres humanos ao meio ambiente como um todo. Remonta a muitos anos atrás o uso de plantas para controle de insetos-praga, entretanto, no Brasil, particularmente para a região do cerrado, pouco se conhece sobre a flora com potencial de uso para controle de insetos-praga. Portanto, este trabalho teve como objetivo, investigar a toxicidade de extratos da folha e da casca do caule, bem como metabólitos secundários isolados da casca de *Strychnos pseudoquina*, sobre uma população de *S. frugiperda*, em condições de laboratório. Extratos de cascas e folhas dessa planta foram fracionados por meio de diferentes solventes (acetato de etila, etanol, metanol e hexano) e, do extrato acetato de etila da casca foram refractionados e isolados os flavonoides 3-O-metilquercetina e estricnobilavona. Os extratos fracionados com os diferentes solventes e, também os dois flavonoides, em diferentes concentrações, foram oferecidos juntamente com alimentação para as lagartas do inseto. Os flavonoides isolados foram, também, aplicados de forma tópica nas lagartas. Avaliou-se efeitos antixenose e antibiose dos extratos de casca e folhas da planta e dos metabólitos secundários isolados, oferecido às lagartas neonatas. Nossos resultados destacaram efeito larvicida promovido por todas as frações do extrato de cascas investigados. Em relação ao extrato de folhas, somente o extrato obtido a partir do solvente acetato de etila apresentou efeito larvicida. Os dois flavonoides testado não apresentaram efeito larvicida significativo, entretanto, não pode ser ignorada a possibilidade de promoverem algum efeito deletério ao inseto quando em sinergismo com outros metabólitos secundários da planta. Outras variáveis biológicas verificadas na população de *S. frugiperda* tratadas com os extratos da planta foram: repelência de lagartas neonatas, consumo alimentar de folhas tratadas, peso larval e pupal, alterações na duração do ciclo de vida, razão sexual e algumas anormalidades visíveis em insetos ao longo do estudo são apresentados no trabalho. Destacado efeito larvicida de todos os extratos da casca e, o extrato de folhas obtido a partir do solvente acetato de etila indicam o potencial dessa planta ser utilizada em programas de manejo dessa praga.

Palavras-chave: Lagarta-do-cartucho-do-milho; Manejo de pragas; Metabólitos secundários; Planta inseticida.

ABSTRACT

The fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) is a polyphagous pest that causes economic damage to important agricultural crops. Not unlike most insect pests, their control is carried out almost exclusively with organosynthetic insecticides, which makes this situation questionable in terms of their agronomic efficiency and also in terms of safety for humans and the environment as a whole. The use of plants to control insect pests goes back many years, however, in Brazil, particularly in the Cerrado region, little is known about the flora with potential use for controlling insect pests. Therefore, this work aimed to investigate the toxicity of leaf and stem bark extracts, as well as secondary metabolites isolated from the bark of *Strychnos pseudoquina*, on a population of *S. frugiperda*, under laboratory conditions. Extracts of bark and leaves of this plant were fractionated using different solvents (ethyl acetate, ethanol, methanol and hexane) and the flavonoids 3-O-methylquercetin and strychnobiflavone were refracted from the ethyl acetate extract of the bark. The fractionated extracts with the different solvents, and also the two flavonoids, in different concentrations, were offered together with food for the neonate larvae. The isolated flavonoids were also topically applied to the neonate larvae. Antixenosis and antibiosis effects of extracts from the bark and leaves of the plant and isolated secondary metabolites, offered to neonate larvae were evaluated. Our results highlighted the larvicidal effect promoted by all fractions of the investigated bark extract. Regarding the leaf extract, only the extract obtained from the ethyl acetate solvent showed larvicidal effect. The two flavonoids tested did not show a significant larvicidal effect, however, the possibility of promoting some deleterious effect on the insect when in synergism with other secondary metabolites of the plant cannot be ignored. Other biological variables verified in the population of *S. frugiperda* treated with plant extracts were: repellency of newborn larvae, food consumption of treated leaves, larval and pupal weight, changes in the duration of the life cycle, reason sex and some abnormalities visible in insects throughout the study are presented in the work. Outstanding larvicidal effect of all extracts of the bark and the extract of leaves obtained from the solvent ethyl acetate indicate the potential of this plant to be used in management programs for this pest.

Keywords: Fall armyworm; Insecticide plant; Pest management; Secondary metabolites.

1. INTRODUÇÃO

A *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) é uma praga polífaga que no estágio larval, é capaz de atacar mais de 353 espécies de plantas hospedeiras pertencentes à 76 famílias, incluindo culturas economicamente importantes, como milho, soja, algodão, sorgo e trigo (CHEN *et al.*, 2022). E apesar de ser predominantemente encontrada no Brasil e em países das Américas, estudos indicam ocorrências em países situados na África, Ásia e mais recentemente na Austrália (REN *et al.*, 2020; CHEN *et al.*, 2022).

O milho (*Zea mays*) é a planta hospedeira de preferência da lagarta-do-cartucho, assim comumente chamada. Incidente em todo seu ciclo fenológico, a lagarta-do-cartucho ataca principalmente a fase vegetativa da planta, porém, também é comum atacar partes da espiga durante a fase reprodutiva, como os estilo-estigmas ou até mesmo os grãos em formação (VASSALLO *et al.*, 2019; EMBRAPA, 2002). Estes ataques durante o desenvolvimento, podem provocar reduções de 21 a 73% na produtividade, que variam conforme o estágio afetado (HORIKOSHI *et al.*, 2021). Segundo Ayil-Gutiérrez *et al.* (2018), isto, representa em média um prejuízo anual de 400 milhões de dólares para o produtor.

Além do potencial polífago, essa praga apresenta como características, um ciclo de vida curto, alta taxa reprodutiva e capacidade migratória, que possibilita sua ocorrência durante todo o ano e em diferentes localidades, tornando-a difícil de controlar (KUZHUPPILLYMYAL-PRABHAKARANKUTTY *et al.*, 2021).

Dentre as medidas de controle adotadas atualmente, destaca-se o uso de inseticidas organossintéticos, que apesar de eficientes, podem acarretar danos ao meio ambiente e a saúde humana quando aplicados em excesso ou incorretamente devido à sua alta toxicidade e, além disso, seleciona insetos resistentes à diversos produtos inseticidas (LEÃO *et al.*, 2020; TRINDADE *et al.*, 2015).

Outra estratégia é o uso de culturas geneticamente modificadas, como o milho transgênico Bt, que contém proteínas extraídas da bactéria *Bacillus thuringiensis*, que expressam ação inseticida (NOGUEIRA *et al.*, 2018). Embora essas proteínas sejam capazes de aumentar a resistência da planta contra *S. frugiperda*, Michelotto *et al.* (2017) ressaltam que essa estratégia é mais eficaz na redução de danos, quando associada a aplicação de inseticidas. Isto porque, a pressão seletiva imposta pelo plantio contínuo de milho Bt, pode ter sido uma das causas da evolução em *S. frugiperda* para a resistência à essas proteínas (NOGUEIRA *et al.*, 2018).

Os extratos de plantas têm demonstrado ser uma alternativa promissora aos compostos sintéticos, por conterem substâncias com potencial inseticida, derivadas do metabolismo secundário (LEÃO *et al.*, 2020). Além disso, de acordo com Oliveira *et al.* (2018) essas substâncias são menos prejudiciais a organismos não-alvos, como os inimigos naturais, polinizadores e os consumidores, tornando-as propícias para o controle de insetos-pragas. Por esta razão, pesquisas vêm sendo desenvolvidas com produtos naturais, na busca de compostos que sejam mais seguros e eficazes (SILVA *et al.*, 2013).

De acordo com Ahmed *et al.* (2022), muitas espécies de plantas medicinais também podem expressar ação inseticida. Plantas do Bioma do Cerrado, são fontes de descobertas importantes, por apresentar em sua composição química, uma diversidade de compostos ativos com potencial biopesticida, que variam de acordo com a espécie e parte da planta utilizada (TAVARES *et al.*, 2013). Esses compostos orgânicos são classificados, de acordo com a via biossintética, em três grupos principais: alcaloides, fenólicos e terpenoides. Sendo também utilizados, eficientemente, para diversos fins terapêuticos, como antibacteriano, antifúngico, antiúlcera, antioxidantes (RUTTANAPHAN *et al.*, 2020).

Espécies do gênero *Strychnos* L. vem se destacando na medicina popular ao longo dos anos, devido à presença de importantes metabólitos secundários em sua composição química (ADEBOWALE *et al.*, 2016). Pertencente à família Loganiaceae, este gênero compreende cerca de 200 espécies distribuídas pelas Américas, África, Austrália e Ásia, sendo, portanto, o maior dentre os 16 gêneros representantes desta família (SETUBAL *et al.*, 2021; ADEBOWALE *et al.*, 2016).

A *Strychnos pseudoquina*, popularmente conhecida como “Quina do Cerrado”, é uma espécie nativa da América do Sul, encontrada no cerrado brasileiro (CÔRTEZ *et al.*, 2013). É uma árvore de galhos grossos e troncos volumosos, cuja altura varia entre 3 a 6 metros, características estas, que favorecem sua propagação e tolerância às adversidades, como as queimadas, presentes neste bioma (LEITE *et al.*, 2021; MIGUÉIS *et al.*, 2019).

Vários estudos têm sido realizados para identificar as propriedades farmacológicas e fitoquímicas de *S. pseudoquina*. Segundo Lage *et al.* (2015), a grande quantidade de flavonoides presentes na casca do caule, exibem atividade antileishmania, além do efeito anti-inflamatório e anti-herpes (BOFF *et al.*, 2016). Nela também é possível identificar alcaloides capazes de expressar efeito antioxidante (GONTIJO *et al.*, 2020). E a presença de taninos e fenóis simples contribui para o processo de cicatrização (SARANDY *et al.*, 2018). Já as folhas de *S. pseudoquina* apresentam efeitos cicatrizante, antioxidante e antibacteriano (BONAMIN *et al.*, 2011).

Outras espécies desse gênero demonstram potencial fitoterápico, como as folhas de *Strychnos spinosa* que possuem efeito antimicrobiano (ISA *et al.*, 2014) e ação anti-inflamatória (ISA *et al.*, 2016). Extratos de folhas e casca do caule de *S. lucida* apresentam atividade antibacteriana, antioxidante e anticancerígena (SARMENTO *et al.*, 2015). Extratos de caules e raízes de *S. icaja* tem eficiente ação antioxidante e anti-inflamatória (SAMSENY *et al.*, 2021). Já o extrato das folhas a *Strychnos nux-vomica*, exibem atividade citotóxica contra carcinomas, propriedades antipiréticas, anti-inflamatórias, antinociceptiva (ELDAHSHAN e ABDEL-DAIM, 2015) e antimicrobiano (STEFFY *et al.*, 2017). Suas sementes possuem atividade analgésica e anti-inflamatória (CHEN *et al.*, 2012). E, segundo Jonville *et al.* (2013), a casca do caule mostrou atividade antiplasmodial.

Embora a utilização destas plantas, seja ainda, em grande parte, feita com base na medicina popular, não existem, até então, estudos em periódicos que indicam algum potencial inseticida de espécies do gênero *Strychnos*.

2. OBJETIVOS

Investigar toxicidade de extratos da folha e da casca do caule, bem como, metabólitos secundários isolados da casca de *Strychnos pseudoquina* sobre uma população de *Spodoptera frugiperda*, em condições de laboratório.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Local de realização dos experimentos:

Os procedimentos para obtenção dos extratos da planta de *S. pseudoquina* foram realizados na Universidade Estadual de Goiás, em Anápolis, no Laboratório de Química do *Campus* Henrique Santillo. Os ensaios para avaliação da atividade biológica dos extratos, e compostos isolados da mesma, sobre a população de *S. frugiperda* foram realizados no Laboratório de Entomologia da Universidade Estadual de Goiás, UnU Ipameri.

3.2. Coleta do material vegetal:

As folhas e cascas do caule de *Strychnos pseudoquina* foram coletadas em 06 de março de 2021, em 5 plantas adultas, localizadas em ambiente de cerrado, no povoado de Garimpinho, no município de Niquelândia-Goiás, Brasil: latitude: 14° 23' 33.5" S, longitude: 47° 55' 37.8" W. Exsicata da planta coletada foi cadastrada no SisGen (número A36DDE3). A identificação do material foi realizada pelo professora Dra. Mirley Luciene dos Santos e depositadas no herbário da UEG (registro HUEG 14494). Visão geral de uma planta adulta de *S. pseudoquina* de onde foram coletadas partes das folhas e de cascas para nosso experimento é apresentada na Figura 1.



Figura 1. Visão geral de uma planta adulta de *Strychnos pseudoquina* localizada no município de Niquelândia, GO.

3.3. Preparo dos extratos:

As folhas de *S. pseudoquina* foram secas em temperatura ambiente e depois trituradas. Esse material triturado (1340,0 g) foi transferido para Erlenmeyers e deixado em contato com três séries dos solventes (hexano, acetato de etila e em seguida etanol), ficando em repouso por sete dias cada. Em cada etapa, o material foi filtrado em funil de separação utilizando algodão e os solventes evaporados à vácuo em evaporador rotativo, sendo extraídos até obter o extrato seco (96,35 g). Ao fim do processo, foram obtidos os seguintes pesos secos: 12,39 gramas de extratos via hexano, 47,52 gramas via acetato de etila e, 36,44 gramas via etanol. Todo o material retido em filtros foi descartado.

As cascas do caule de *S. pseudoquina* foram secas em estufa de circulação de ar a 45°C por 48 h e trituradas em moinho de facas. Em Erlenmeyers, o material triturado (1157,0 g) foi mergulhado em etanol 96% à temperatura ambiente por período de sete dias. Na sequência, era filtrado em funil de separação utilizado algodão e, o solvente utilizado foi removido em evaporador rotativo, obtendo ao final do processo, 122 gramas de extrato, denominado de extrato bruto. Do extrato etanólico (bruto), foi feito o fracionamento com os solventes acetato de etila e metanol. Esse extrato bruto “torta”, era colocado para ser dissolvido nos referidos solventes por igual período (sete dias), e após esse período era filtrado a vácuo, com incorporação de adjuvante celulose microcristalina D. Ao fim do processo, foram obtidos os seguintes pesos secos: 66,60 gramas de extrato via acetato de etila e, 52,20 gramas de extrato via metanol.

Os metabólitos secundários (flavonoides) isolados a partir do extrato acetato de etila de cascas de *S. pseudoquina* que foram investigados em nosso estudo foram o 3-O-metilquercetina e a estricnobilavona. A metodologia para isolamento desses compostos bem como sua identificação podem ser consultadas em Santos (2022).

Todas as frações dos extratos de folhas e cascas obtidos, bem como os metabólitos secundários isolados, foram colocados em frascos de vidro com tampa rosqueável, cobertos com papel alumínio e, mantidos em geladeira até a utilização nos ensaios biológicos.

3.4. Criação de *Spodoptera frugiperda*:

As lagartas de *S. frugiperda* utilizadas no experimento foram obtidas de criação de laboratório e mantidas em dieta artificial, conforme metodologia de Kasten Junior *et al.* (1978). A sala do Laboratório de Entomologia onde realizou-se os ensaios biológicos foi mantida com temperatura de 25±2 °C, umidade relativa de 67±2% e fotofase de 12 horas, conforme condições adotadas por Bezerra *et al.* (2019).

3.5. Cultivo de milho para alimentação das lagartas:

O milho foi cultivado em casa de vegetação na Universidade Estadual de Goiás, município de Ipameri, GO. Utilizou-se vasos com capacidade de oito litros, compostos por mistura de terra, areia e esterco bovino na proporção de 2:1:1, conforme metodologia adotada por Pires Junior (2021). Em cada vaso foram distribuídas seis sementes do cultivar convencional AG 1051. Desde o plantio, nos vasos era feita irrigação diária e, não foram feitas nenhuma aplicação de inseticidas e/ou outros defensivos. Folhas das plantas jovens (com idade em torno de 35 dias) eram colhidas e levadas ao laboratório para alimentação diária das lagartas de *S. frugiperda*.

3.6. Preparo e oferecimento dos diferentes extratos para as lagartas:

Para a diluição de todos os extratos testados (provenientes de cascas ou folhas) foi utilizado cetona + água, na proporção 1:1. Tal mistura de solvente proporcionou satisfatória diluição de todos os extratos e dos metabólitos secundários (flavonoides) isolados (3-O-metilquercetina e a estricnobiflavona). Além disso, esse solvente, aplicado de forma isolada na planta de milho, não promovia perceptíveis efeitos de repelência às lagartas de *S. frugiperda*. Igualmente relatado por Bezerra *et al.* (2019), que em experimento semelhante, utilizou esse mesmo solvente para diluir extratos de plantas aplicados para lagartas.

Testes preliminares foram realizados para definição da maior dosagem (com mortalidade relativamente expressiva e repelência irrelevante). Uma vez que, a concentração de 10% peso/volume (p/v) promoveu considerável repelência para lagartas, ou seja, elas não se alimentavam das folhas de milho tratadas, optou-se pela dose de 5%. Sendo assim, as doses crescentes utilizadas foram 0,01; 0,05; 0,1; 0,5; 1; 2,5 e 5% p/v. Essa metodologia foi uma adaptação das adotadas por Bezerra *et al.* (2019) e Pires Junior (2021), que também estudaram efeito adverso de extratos de plantas em *S. frugiperda*.

Os extratos diluídos nas diferentes concentrações eram aplicados em partes de folhas recém-colhidas de plantas jovens de milho. Essa aplicação era feita em toda a superfície dos fragmentos da folha com auxílio de um pincel e, em seguida, colocados em folhas de papel filtro para secagem natural em bancadas do laboratório. Após esse procedimento (que durava em torno de 20 minutos), eram oferecidas como alimento para as lagartas de *S. frugiperda*.

3.7. Efeito antixenose dos extratos de *S. pseudoquina* em *S. frugiperda*:

No teste com chance de escolha, para avaliar eventual atração ou repelência das frações de extratos nas diferentes concentrações, foram retirados lotes de lagartas de *S. frugiperda* de 2º instar da dieta artificial, que eram colocadas em copos de plástico com tampa com capacidade de 1,0 L. Essas lagartas permaneciam nesse ambiente, sem nenhum tipo de alimentação, por

um período de 1,5 horas. Em sequência, com auxílio de um pequeno pincel, eram transferidas para bandejas contendo as folhas de milho tratadas com os extratos de *S. pseudoquina*.

Neste bioensaio, a unidade experimental consistiu em uma bandeja de plástico de 30 cm de diâmetro, onde ao seu fundo, forrado com papel filtro, na sua região de borda, foi colocado pedaços de folhas do milho convencional tratados com os extratos de folha de *S. pseudoquina* nas concentrações 0,5 e 5% p/v. No centro da bandeja eram liberadas, de uma só vez, 14 lagartas que se movimentavam por livre escolha aos diferentes fragmentos de folhas de milho tratados com os extratos. Essas bandejas eram fechadas com tampas transparentes para facilitar a visualização da movimentação e localização das lagartas (Figura 2). Liberadas as lagartas no centro da bandeja, os tempos estabelecidos para contagens de lagartas nos fragmentos de folhas de milho tratadas, distribuídas de forma equidistantes, foram de 15, 30, 60, 120, 240, 720 e 1440 minutos. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com seis tratamentos e o tratamento controle (somente água deionizada), com seis repetições.

Procedimento similar foi realizado para os diferentes extratos de casca de *S. pseudoquina* preparados nas mesmas concentrações.

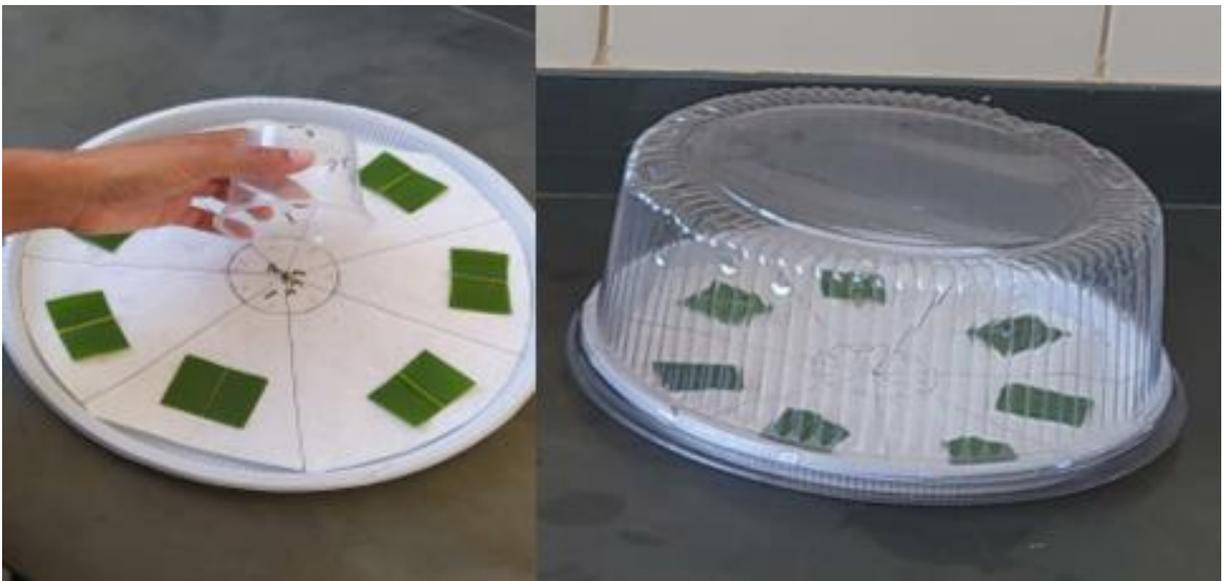


Figura 2. Detalhe de uma bandeja de plástico transparente usada para realização dos testes de escolha de folhas de milho tratadas com extratos de folha e de cascas de *S. pseudoquina* por lagartas de segundo instar de *S. frugiperda*

No teste sem chance de escolha, o consumo de folhas tratadas pelas lagartas, foi avaliado seguindo a metodologia do teste de antibiose apresentado em sequência (Item 3.8).

3.8. Efeito antibiose dos extratos de *S. pseudoquina* em *S. frugiperda*:

Neste experimento, a unidade amostral foi constituída por um copo de plástico com tampa, de 250 mL, forrado com papel filtro levemente umedecido com água deionizada, um fragmento da folha tratada com extrato e, uma lagarta de *S. frugiperda* recém entrada em seu segundo instar (retirada da dieta artificial e colocada para alimentar-se dessa folha). Os tratamentos avaliados foram: extratos de casca (fração etanol “bruto”, acetato de etila e metanólica) e, extratos de folha (etanol “bruto”, acetato de etila e hexano), nas concentrações 0,01; 0,05; 0,1; 0,5; 1; 2,5; 5% p/v. O delineamento adotado foi o inteiramente casualizado com 30 repetições.

Os fragmentos de folha de milho tratados com os extratos foram pesados antes de serem oferecidos às lagartas e, depois de 24 horas, foram recolhidos e pesados novamente. A partir desse momento, era oferecido para as lagartas, diariamente, de forma *ad libitum* as folhas frescas do mesmo milho não transgênico, até a sua pré-pupação. Diariamente, era feita a troca de folhas do milho e, também a retirada de fezes e exúvias. Nessa condição, acompanhou-se o desenvolvimento de todo o ciclo de vida do inseto. As variáveis analisadas foram: peso larval após sete dias de consumo de folhas tratadas com os extratos, peso de pupas 24 horas após a sua formação, duração do período larval e pupal, mortalidade larval e pupal, duração da fase adulta, razão sexual e, registros de anomalias em insetos, a olho nu.

O procedimento para aplicação dos extratos de folhas e de cascas de *S. pseudoquina* nos fragmentos de folhas de milho foram os mesmos adotados para o teste de antixenose, e está descrito no item 3.6.

3.9. Efeito de flavonoides isolados de *S. pseudoquina* em *S. frugiperda*:

Os metabólitos secundários isolados e testados neste bioensaio, foram extraídos da casca de *S. pseudoquina*, a partir do fracionamento do extrato obtido por acetato de etila. Essa escolha deveu-se ao fato dessa fração de extrato ter apresentado, em testes preliminares, destacado efeito larvicida para *S. frugiperda*, quando comparado aos demais em estudo. Portanto, a partir deste, foi realizado a prospecção fitoquímica para o refracionamento, isolamento e identificação de metabólitos secundários observados em quantidades majoritárias, os flavonoides.

Em nosso estudo, é apresentado o efeito larvicida de dois flavonoides isolados de cascas de *S. pseudoquina* sobre uma população de *S. frugiperda*. Detalhes de toda a metodologia para refracionamento do extrato acetato etílico da casca de *S. pseudoquina* até a obtenção dos metabólitos secundários (flavonoides) isolados e identificados, que foram investigados em nosso trabalho, podem ser consultados em Santos (2022).

Os flavonoides isolados e identificados foram: 3-O-metilquercetina – fórmula molecular $C_{16}H_{12}O_7$ – e a estricnobiflavona – fórmula molecular $C_{32}H_{22}O_{14}$. A estrutura química dessas duas moléculas é apresentada na Figura 3.

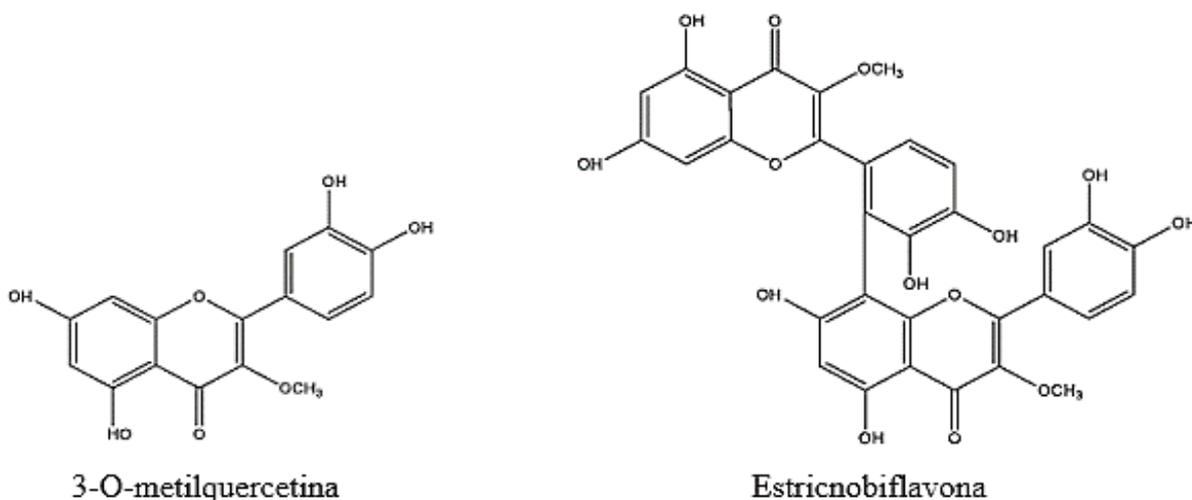


Figura 3. Estruturas químicas dos flavonoides isolados da casca do caule de *Strychnos pseudoquina*. Fonte: (SANTOS, 2022).

O refractionamento e demais procedimentos para isolamento e identificação dos flavonoides destacados anteriormente foram feitos com a quantidade 30 g de extratos de cascas de *S. pseudoquina*, obtidos por solvente acetato de etila. Esse extrato foi submetido à cromatografias por adsorção em coluna de vidro e, em sequência compostos separados eram identificados por análise de ressonância magnética nuclear (RMN) e espectrometria de massa de alta resolução, metodologia essa, detalhada por Santos (2022). Ao final do processo era produzido uma substância de aspecto sólido amarelada, composta majoritariamente pelo flavonoide 3-O-metilquercetina e, em quantidade minoritárias, pelo biflavonoide estricnobiflavona. Nesse processo, foram produzidos somente 23 mg.

A diluição dos dois flavonoides para o nosso ensaio biológico foi realizada de forma satisfatória com solvente água + cetona (1:1). As concentrações usadas foram 10.000 ppm, 5.000 ppm e 2.500 ppm (partes por milhão). Como os compostos testados foram produzidos em quantidades muito reduzidas, usou-se como referência, doses aplicadas, de metabólitos secundários isolados de planta, equivalentes aos testes de toxicidade realizado em pulmões por Sotelo-Leyva *et al.* 2020.

O procedimento para aplicação dos metabólitos secundários isolados de *S. pseudoquina* nos fragmentos de folhas de milho foram os mesmos adotados para o teste de antibiose, descrito em item anterior. Entretanto, somente a dose de 10.000 ppm foi utilizada para ser oferecida as lagartas, sendo adotado 12 repetições por tratamento.

O potencial efeito larvicida desses metabólitos secundários isolados da planta também foi testado de forma tópica. Para isso, aplicava-se a quantidade de 1,0 μ L de cada um desses metabólitos diretamente na região notal do corpo da lagarta (n=30), com auxílio de uma microseringa de 10 μ L. Depois de tratada com esse metabólito, a lagarta era depositada em copo de 250 mL contendo folha do mesmo milho convencional (AG 1051). A lagarta era monitorada diariamente, até empupação, registrando eventual mortalidade promovida pela aplicação tópica do extrato. O tratamento controle era feito da mesma forma, mas somente o solvente (cetona + água, na proporção 1:1).

3.10. Análises estatísticas:

Os dados referentes à preferência/repelência (antixenose) dos extratos de casca e folhas de *S. pseudoquina*, com chance de escolha para *S. frugiperda*, foram analisados por meio de análise de variância (ANOVA). Para antixenose sem chance de escolha, avaliou-se o consumo de folhas tratadas com os extratos pelas lagartas, pelo teste não paramétrico Kruskal-Wallis, a $p < 0,05$ e em sequência comparados ao tratamento controle pelo teste Mann-Whitney, a $p < 0,05$. O efeito antibiose, peso larval e pupal, duração de diferentes estádios e razão sexual do inseto sob os diferentes tratamentos, também foram submetidos ao teste Mann-Whitney a 5 % de significância. E a mortalidade larval e pupal verificada nos diferentes tratamentos foram analisadas pelo teste Kruskal-Wallis, a $p < 0,05$.

A verificação da relação doses de extrato e mortalidade larval e pupal foi realizada por meio de um modelo linear generalizado (GLM) com distribuição binomial “logit” e comparados a partir de intervalos de confiança com 95% de significância. Particularmente, para verificação de efeito larvicida dos extratos de *S. pseudoquina* ao longo do tempo, utilizou-se o método não paramétrico de Kaplan-Meier, que estima a probabilidade de sobrevivência a partir dos tempos observados (KAPLAN; MEIER, 1958).

Todas as análises foram realizadas com o auxílio do software R versão 4.2.2 (R CORE TEAM, 2022).

4. RESULTADOS

4.1. Efeito antixenose dos extratos de *S. pseudoquina* em *S. frugiperda*:

No teste com chance de escolha, em nenhum dos tempos avaliados, as lagartas de segundo instar de *S. frugiperda* manifestaram preferência significativa pelos extratos de folha e de casca de *S. pseudoquina* quando comparados ao controle (Tabelas 1 e 2).

Quanto ao teste sem chance de escolha (Tabela 3), para o consumo de folhas de milho tratadas com os extratos de casca de *S. pseudoquina*, o extrato bruto proporcionou um baixo consumo alimentar em todas as suas concentrações, destacando-se significativamente do tratamento controle. Ao contrário do metanol e do acetato de etila (deste último, com exceção da concentração 0,05 e 0,1%) que se assemelharam ao tratamento controle por apresentarem um consumo elevado. Já os extratos foliares de *S. pseudoquina*, não apresentaram diferença significativa do tratamento controle, exceto a concentração de 2,5 e 5% do acetato de etila, que apresentaram menor consumo (0,048 e 0,045 g, respectivamente).

4.2. Efeito antibiose dos extratos de *S. pseudoquina* em *S. frugiperda*:

A ingestão de extratos de folhas de *S. pseudoquina* pelas lagartas de segundo instar de *S. frugiperda* implicou em redução significativa de peso das mesmas em todos os tratamentos. Em relação à ingestão de extratos de cascas da mesma planta pelas lagartas, todas as concentrações do extrato bruto e extrato metanólico promoveram reduções no peso larval diferindo significativamente do tratamento controle. Maiores concentrações do extrato acetato de etila (1 e 5%) promoveram ganho de peso semelhante ao verificado no tratamento controle (Tabela 3).

Quanto ao peso da pupa (24 h após sua formação), o extrato metanólico, acetato de etila e o extrato bruto de cascas de *S. pseudoquina* (com exceção da concentração 0,05 e 2,5%) promoveram ganhos de peso semelhantes ao tratamento controle. Em relação aos tratamentos com extratos de folhas da planta, todas as concentrações com extrato bruto, a menor concentração de hexano e as maiores concentrações de extrato acetato de etila também não diferiram do tratamento controle (Tabela 3).

Tabela 1. Atratividade de folhas de milho tratadas com extratos da CASCA de *Strychnos pseudoquina* para lagartas de *Spodoptera frugiperda*.

Tratamento	Concentração (%)	Número de lagartas atraídas (média e desvio-padrão)						
		Tempo (minutos)						
		15	30	60	120	240	720	1140
Acetato de etila	0,5	1,17 ± 0,98	1,50 ± 0,84	1,67 ± 1,03	1,67 ± 0,82	1,33 ± 1,03	1,00 ± 0,89	1,50 ± 1,22
Acetato de etila	5	1,33 ± 0,52	1,50 ± 0,55	1,50 ± 0,55	1,67 ± 0,82	2,50 ± 1,22	1,67 ± 0,82	0,83 ± 0,75
Bruto	0,5	1,67 ± 1,03	1,83 ± 1,17	1,67 ± 1,37	1,67 ± 0,52	1,83 ± 0,75	1,33 ± 0,52	0,67 ± 0,52
Bruto	5	0,83 ± 0,75	1,00 ± 1,10	1,50 ± 1,38	1,17 ± 0,98	1,00 ± 0,63	1,50 ± 0,55	1,67 ± 0,52
Metanol	0,5	1,67 ± 1,37	1,83 ± 1,47	1,67 ± 1,21	1,50 ± 1,05	2,00 ± 0,89	1,67 ± 0,52	1,00 ± 0,63
Metanol	5	1,33 ± 1,37	1,67 ± 1,51	1,33 ± 1,37	1,83 ± 1,33	1,83 ± 0,75	2,33 ± 1,63	1,17 ± 0,75
Controle	0	1,83 ± 1,72	1,83 ± 1,83	2,33 ± 1,97	1,67 ± 1,75	1,67 ± 1,21	2,17 ± 0,75	1,00 ± 0,63
<i>p-value</i>		0,79	0,91	0,97	0,89	0,20	0,17	0,26

Não foi verificada diferença significativa de atratividade entre os tratamentos nos diferentes tempos de avaliação (ANOVA, a p<0,05).

Tabela 2. Atratividade de folhas de milho tratadas com extratos da FOLHA de *Strychnos pseudoquina* para lagartas de *Spodoptera frugiperda*.

Tratamento	Concentração (%)	Número de lagartas atraídas (média e desvio-padrão)						
		Tempo (minutos)						
		15	30	60	120	240	720	1140
Acetato de etila	0,5	1,00 ± 0,89	1,33 ± 1,51	1,67 ± 1,37	1,33 ± 1,21	2,67 ± 1,03	1,67 ± 0,82	1,00 ± 0,63
Acetato de etila	5	0,83 ± 0,75	1,67 ± 1,03	1,67 ± 0,82	1,50 ± 0,55	1,17 ± 0,75	1,67 ± 0,82	1,00 ± 0,00
Bruto	0,5	1,83 ± 1,33	2,33 ± 0,52	2,50 ± 0,55	2,33 ± 1,51	2,50 ± 0,55	1,83 ± 1,47	0,67 ± 0,82
Bruto	5	1,00 ± 1,67	1,33 ± 1,75	2,00 ± 1,79	2,33 ± 1,63	2,00 ± 0,89	1,67 ± 1,21	1,17 ± 1,47
Hexano	0,5	1,17 ± 1,60	1,33 ± 1,51	1,33 ± 1,51	1,33 ± 1,03	1,33 ± 1,03	1,33 ± 0,52	0,67 ± 0,82
Hexano	5	1,17 ± 1,33	1,33 ± 1,63	1,67 ± 1,37	1,33 ± 1,21	1,67 ± 1,21	2,33 ± 1,03	1,83 ± 0,75
Controle	0	1,83 ± 1,83	1,33 ± 1,03	1,67 ± 1,37	1,50 ± 0,84	1,67 ± 0,52	1,67 ± 0,52	1,83 ± 1,47
<i>p-value</i>		0,78	0,59	0,61	0,70	0,05	0,74	0,16

Não foi verificada diferença significativa de atratividade entre os tratamentos nos diferentes tempos de avaliação (ANOVA, a p<0,05).

Tabela 3. Consumo alimentar (folhas de milho tratadas com diferentes concentrações e extratos de CASCA e FOLHA de *Strychnos pseudoquina* oferecidas às lagartas de segundo instar de *Spodoptera frugiperda* por um período de 24 horas), peso individual médio de lagarta (mensurado sete dias após oferecimento de folhas tratadas), peso de pupas (mensurado 24 horas após sua formação).

Tratamento	Concentração (%)	Extrato de casca			Extrato de folha		
		Consumo de folhas de milho tratadas (g)	Peso (g)		Consumo de folhas de milho tratadas (g)	Peso (g)	
			Lagarta (7 dias após tratadas)	Pupa (24 h após sua formação)		Lagarta (7 dias após tratadas)	Pupa (24 h após sua formação)
Bruto	0,01	0,036 ± 0,011 ^b	0,103 ± 0,069 ^b	0,159 ± 0,012 ^a	0,074 ± 0,031 ^a	0,226 ± 0,034 ^b	0,175 ± 0,019 ^b
Bruto	0,05	0,038 ± 0,016 ^b	0,141 ± 0,092 ^b	0,151 ± 0,028 ^b	0,071 ± 0,026 ^a	0,245 ± 0,053 ^b	0,174 ± 0,020 ^b
Bruto	0,1	0,037 ± 0,010 ^b	0,135 ± 0,058 ^b	0,164 ± 0,058 ^a	0,062 ± 0,026 ^a	0,230 ± 0,084 ^b	0,174 ± 0,018 ^b
Bruto	0,5	0,048 ± 0,027 ^b	0,179 ± 0,054 ^b	0,154 ± 0,054 ^a	0,063 ± 0,027 ^a	0,189 ± 0,059 ^b	0,172 ± 0,015 ^b
Bruto	1	0,038 ± 0,010 ^b	0,137 ± 0,080 ^b	0,159 ± 0,002 ^a	0,063 ± 0,028 ^a	0,190 ± 0,091 ^b	0,184 ± 0,022 ^b
Bruto	2,5	0,039 ± 0,011 ^b	0,161 ± 0,057 ^b	0,152 ± 0,009 ^b	0,066 ± 0,024 ^a	0,183 ± 0,054 ^b	0,179 ± 0,024 ^b
Bruto	5	0,034 ± 0,013 ^b	0,274 ± 0,121 ^b	0,159 ± 0,033 ^a	0,069 ± 0,024 ^a	0,245 ± 0,102 ^b	0,183 ± 0,021 ^b
Acetato de etila	0,01	0,062 ± 0,032 ^a	0,211 ± 0,065 ^b	0,166 ± 0,017 ^a	0,063 ± 0,024 ^a	0,153 ± 0,060 ^b	0,162 ± 0,028 ^b
Acetato de etila	0,05	0,043 ± 0,022 ^b	0,237 ± 0,063 ^b	0,166 ± 0,017 ^a	0,079 ± 0,027 ^a	0,147 ± 0,059 ^b	0,154 ± 0,028 ^a
Acetato de etila	0,1	0,051 ± 0,025 ^b	0,234 ± 0,046 ^b	0,166 ± 0,022 ^a	0,060 ± 0,021 ^a	0,229 ± 0,073 ^b	0,144 ± 0,034 ^a
Acetato de etila	0,5	0,056 ± 0,026 ^a	0,207 ± 0,068 ^b	0,168 ± 0,027 ^a	0,067 ± 0,014 ^a	0,113 ± 0,076 ^b	0,166 ± 0,027 ^b
Acetato de etila	1	0,076 ± 0,037 ^a	0,375 ± 0,120 ^a	0,177 ± 0,015 ^a	0,058 ± 0,017 ^a	0,139 ± 0,071 ^b	0,146 ± 0,042 ^a
Acetato de etila	2,5	0,055 ± 0,021 ^a	0,204 ± 0,060 ^b	0,168 ± 0,026 ^a	0,048 ± 0,018 ^b	0,204 ± 0,082 ^b	0,164 ± 0,022 ^b
Acetato de etila	5	0,073 ± 0,037 ^a	0,309 ± 0,141 ^a	0,164 ± 0,024 ^a	0,045 ± 0,022 ^b	0,240 ± 0,103 ^b	0,166 ± 0,021 ^b
Metanol	0,01	0,066 ± 0,030 ^a	0,209 ± 0,038 ^b	0,171 ± 0,021 ^a	-	-	-
Metanol	0,05	0,067 ± 0,026 ^a	0,209 ± 0,047 ^b	0,164 ± 0,020 ^a	-	-	-
Metanol	0,1	0,063 ± 0,028 ^a	0,244 ± 0,076 ^b	0,172 ± 0,027 ^a	-	-	-
Metanol	0,5	0,066 ± 0,030 ^a	0,251 ± 0,087 ^b	0,167 ± 0,028 ^a	-	-	-
Metanol	1	0,055 ± 0,024 ^a	0,214 ± 0,090 ^b	0,166 ± 0,021 ^a	-	-	-
Metanol	2,5	0,059 ± 0,026 ^a	0,247 ± 0,074 ^b	0,164 ± 0,023 ^a	-	-	-
Metanol	5	0,071 ± 0,028 ^a	0,228 ± 0,082 ^b	0,169 ± 0,023 ^a	-	-	-

...continua...

Tabela 3, Cont.

Hexano	0,01	-	-	-	0,054 ± 0,023 ^a	0,126 ± 0,031 ^b	0,188 ± 0,026 ^b
Hexano	0,05	-	-	-	0,061 ± 0,024 ^a	0,128 ± 0,033 ^b	0,192 ± 0,023 ^a
Hexano	0,1	-	-	-	0,069 ± 0,030 ^a	0,140 ± 0,140 ^b	0,196 ± 0,023 ^a
Hexano	0,5	-	-	-	0,066 ± 0,025 ^a	0,123 ± 0,039 ^b	0,190 ± 0,016 ^a
Hexano	1	-	-	-	0,064 ± 0,025 ^a	0,112 ± 0,038 ^b	0,194 ± 0,021 ^a
Hexano	2,5	-	-	-	0,065 ± 0,030 ^a	0,128 ± 0,039 ^b	0,205 ± 0,020 ^a
Hexano	5	-	-	-	0,068 ± 0,026 ^a	0,119 ± 0,034 ^b	0,203 ± 0,032 ^a
Controle	0	0,086 ± 0,056 ^a	0,313 ± 0,055 ^a	0,179 ± 0,026 ^a	0,086 ± 0,056 ^a	0,313 ± 0,055 ^a	0,179 ± 0,026 ^b

Médias e respectivos desvios-padrão seguidos da mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente do tratamento Controle pelo teste de *Mann-Whitney* ($p < 0,05$).

A mortalidade larval (Figura 4), nos extratos da casca de *S. pseudoquina* (acetato de etila, bruto e metanólico) apresentaram efeito larvicida para *S. frugiperda* em todas as concentrações, quando comparado ao tratamento controle ($p < 0,0001$). Entretanto, para os extratos foliares de *S. pseudoquina* avaliados, apenas o acetato de etila (todas as concentrações) e o bruto (nas concentrações de 0,1; 0,5 e 1 %) manifestaram esse mesmo potencial. Já o extrato hexânico não diferiu estatisticamente do tratamento controle ($p < 0,0001$).

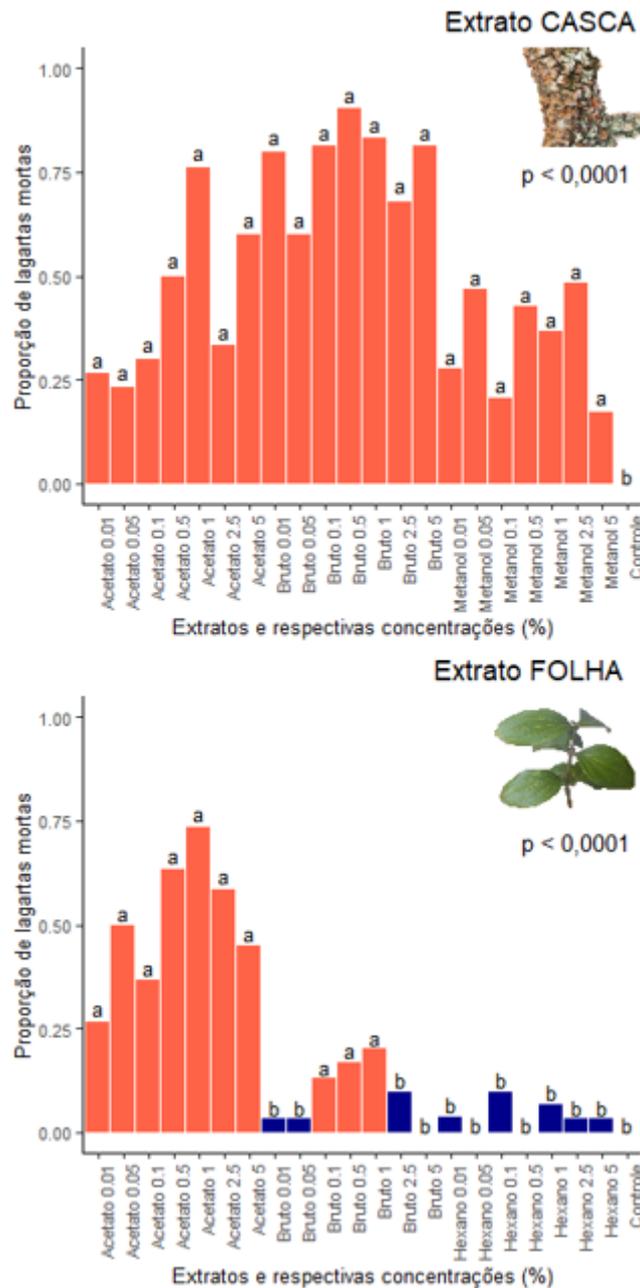


Figura 4. Mortalidade de lagartas de *Spodoptera frugiperda* alimentadas com folhas de milho tratadas com diferentes concentrações de extratos de cascas e folhas de *Strychnos pseudoquina*. Proporções de mortalidade dos tratamentos com extratos da planta foram comparadas com tratamento controle. Barras representado a proporção de mortalidade de lagartas com mesma letra não diferem do tratamento controle (Kruskal-Wallis, $p < 0,0001$).

O extrato bruto e o acetato de etila (concentração 1 e 5%) da casca promoveram taxas de mortalidades larval superiores a 50%. O que não foi verificado no extrato metanólico, em que a maior taxa de mortalidade foi de 48% na concentração de 2,5%. Quanto aos extratos foliares que foram significativos, apenas as concentrações de 0,5; 1 e 2,5% do acetato de etila, alcançaram taxas de mortalidades superiores a 50%, com 63, 73 e 59% respectivamente.

Somente foi verificado uma relação linear significativa entre concentração vs mortalidade de lagartas de *S. frugiperda* para extrato acetato etílico de cascas de *S. pseudoquina* (verificado por meio do modelo de regressão binomial: $Y = \exp(a+bx) / 1 + \exp(a+bx)$; $p = 0,01$). Os demais extratos não indicaram relação linear significativa para essa relação.

Na Tabela 4 são apresentados os dados de mortalidade larval de *S. frugiperda* para plantas de milho tratadas com os extratos de folhas e cascas de *S. pseudoquina* que apresentaram as mortalidades mais expressivas, ou seja, o extrato bruto e o extrato feito a partir de acetato de etila.

Tabela 4. Comparação do efeito das diferentes concentrações de extratos da CASCA e FOLHA de *Strychnos pseudoquina* (Bruto e Acetato de etila), na mortalidade larval de *Spodoptera frugiperda* alimentadas com folhas de milho tratadas.

Tratamento	Concentração (%)	Mortalidade larval (%)	
		Extrato de casca	Extrato de folha
Bruto	0,01	80 ^a	3 ^b
Bruto	0,05	60 ^a	3 ^b
Bruto	0,1	81 ^a	13 ^b
Bruto	0,5	90 ^a	17 ^b
Bruto	1	83 ^a	20 ^b
Bruto	2,5	68 ^a	10 ^b
Bruto	5	81 ^a	0 ^b
Acetato de etila	0,01	27 ^a	27 ^a
Acetato de etila	0,05	23 ^b	50 ^a
Acetato de etila	0,1	30 ^a	37 ^a
Acetato de etila	0,5	50 ^a	63 ^a
Acetato de etila	1	76 ^a	73 ^a
Acetato de etila	2,5	33 ^b	59 ^a
Acetato de etila	5	60 ^a	45 ^a

Taxa de mortalidade (%) seguida da mesma letra nas linhas, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de *Mann-Whitney* ($p < 0,05$).

O extrato bruto da casca em todas as concentrações, apresentou efeito larvicida maior do que o extrato bruto da folha. Já o extrato acetato de etila, obteve efeito semelhante entre casca e folhas, exceto nas concentrações de 0,05 e 2,5%, em que o extrato da casca foi inferior ao da folha. Os dados mostram mortalidade larval maior com extratos da casca e, também, com seu extrato etanólico.

Quando ingeridos pelas lagartas de *S. frugiperda*, o extrato acetato etílico de cascas de *S. pseudoquina* em maiores concentrações (1 e 5%) promoveu mortalidade de forma mais rápida do que os demais tratamentos avaliados, conforme verificado nas Figuras 5, 6, 7 e 8, feitas por estimativa de sobrevivência de Kaplan-Meier, a $p < 0,05$. A mortalidade registrada 24 horas após o oferecimento dos extratos para as lagartas foi de 23% na concentração 5% e 52% na concentração de 1% (Figura 5). O extrato de folha à base de acetato de etila promoveu mortalidade superior a 50%, somente a partir do 9º dia do oferecimento dos mesmos às lagartas.

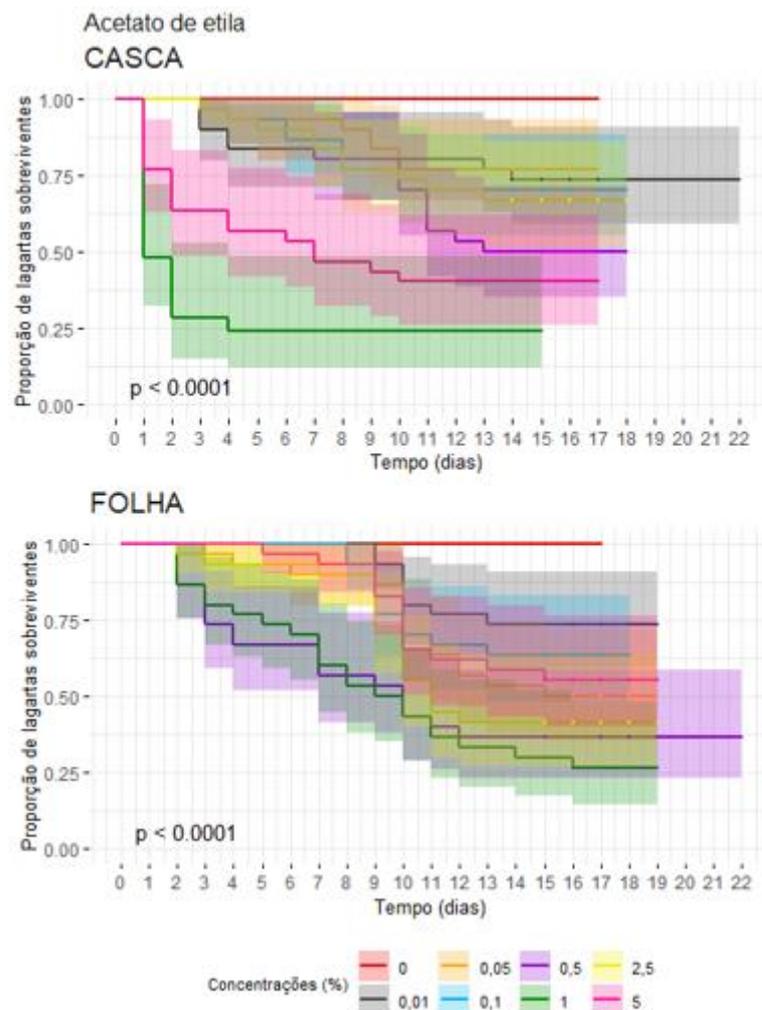


Figura 5. Estimativa de sobrevivência de lagartas de *Spodoptera frugiperda* ao longo do tempo, após ingestão de folhas de milho tratadas com diferentes concentrações do extrato acetato de etila das cascas e das folhas de *Strychnos pseudoquina*. (Estimativa realizada conforme metodologia de Kaplan-Meier).

Aumentos significativos de mortalidade de lagartas de *S. frugiperda* por ação dos extratos brutos de cascas de *S. pseudoquina* foram destacadamente verificados a partir do 7º e 8º dias da aplicação dos tratamentos (Figura 6). Comportamento diferente verificado para extratos brutos de folhas, que promoveram taxas de mortalidade de lagartas muito baixas

(Tabela 5 e Figura 7), sendo a máxima de 20% verificada somente a partir do 13º dia da aplicação dos tratamentos.

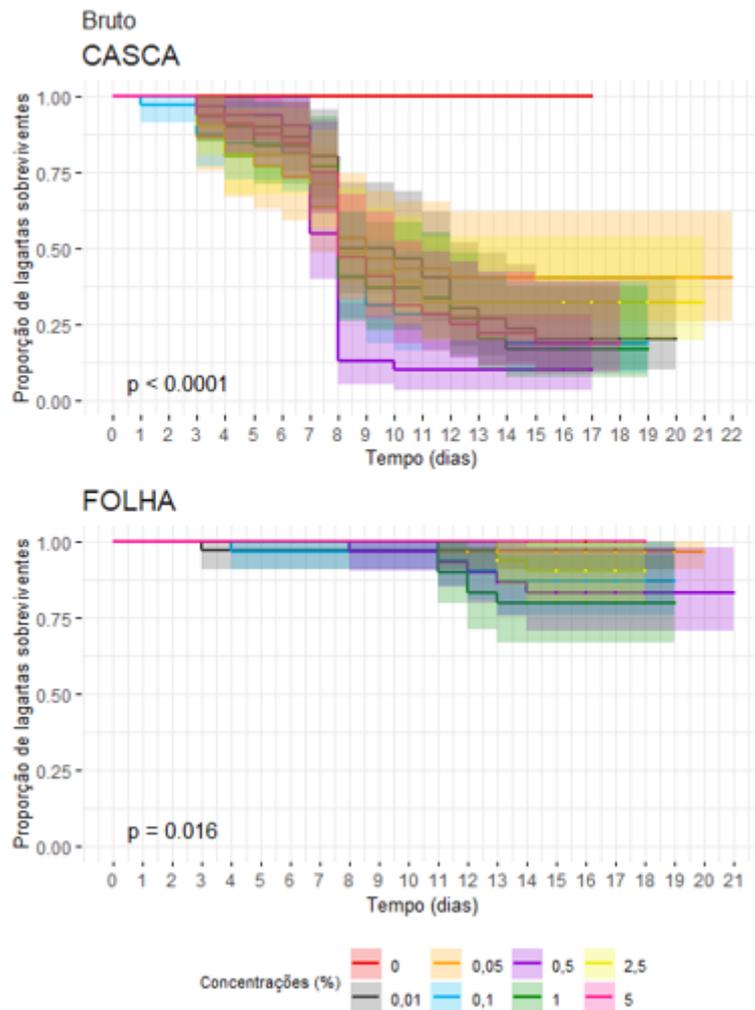


Figura 6. Estimativa de sobrevivência de lagartas de *Spodoptera frugiperda* ao longo do tempo, após ingestão de folhas de milho tratadas com diferentes concentrações do extrato bruto das cascas e das folhas de *Strychnos pseudoquina*. (Estimativa realizada conforme metodologia de Kaplan-Meier).

Extratos metanólicos de cascas de *S. pseudoquina* (Figura 7) promoveram, taxas de mortalidade larval de *S. frugiperda* similares ao tratamento extrato acetato de etila (Figura 5), entretanto, os tratamentos acetato de etila, nas maiores concentrações (1 e 5%) a mortalidade da lagarta se dava em menor intervalo de tempo. Para os extratos metanólicos, não foi verificado mortalidade abrupta de lagartas em nenhum dos tratamentos, sendo que, a mortalidade mais expressiva (concentração 0,05 e 2,5%) se deu apenas no 10º dia de aplicação dos extratos da planta para alimentação da lagarta (Figura 7).

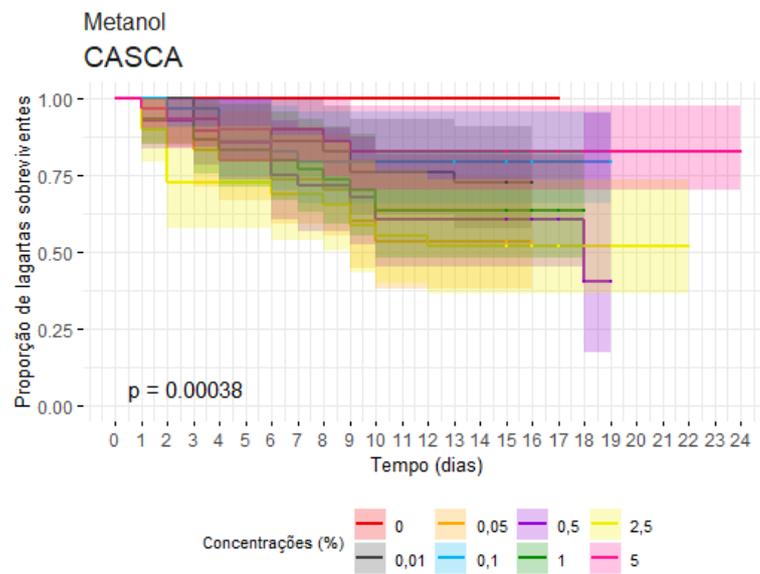


Figura 7. Estimativa de sobrevivência de lagartas de *Spodoptera frugiperda* ao longo do tempo, após ingestão de folhas de milho tratadas com diferentes concentrações do extrato metanólico das cascas de *Strychnos pseudoquina*. (Estimativa realizada conforme metodologia de Kaplan-Meier).

O tratamento extrato hexânico de folhas de *S. pseudoquina* (Figura 8) promoveu reduzida mortalidade larval quando comparado ao extrato acetato etila e, grande parte do tratamento extrato bruto de folhas. Quando essa baixa mortalidade ocorreu, foi somente verificada depois do 8º dia da aplicação dos experimentos, não apresentando diferença significativa entre as demais concentrações ($p=0,36$).

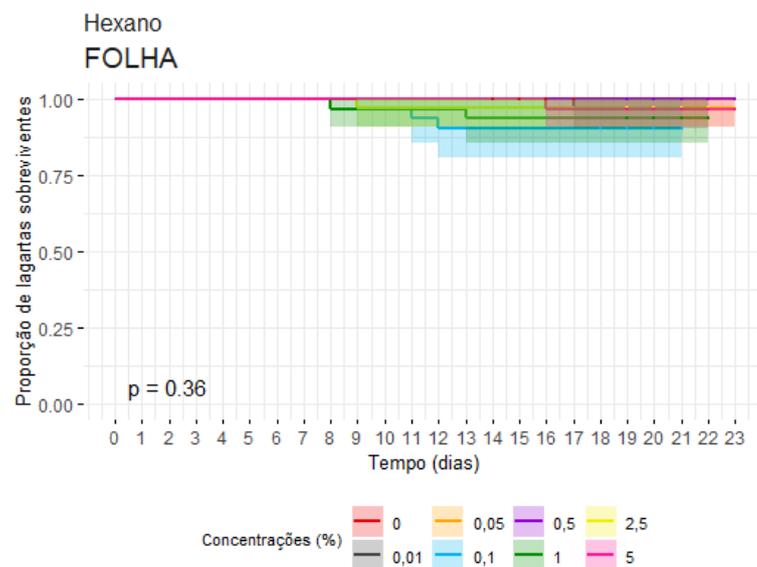


Figura 8. Estimativa de sobrevivência de lagartas de *Spodoptera frugiperda* ao longo do tempo, após ingestão de folhas de milho tratadas com diferentes concentrações do extrato hexano das folhas de *Strychnos pseudoquina*. (Estimativa realizada conforme metodologia de Kaplan-Meier).

Nenhum extrato de folha ou de cascas de *S. pseudoquina*, nas suas diferentes concentrações, promoveram mortalidade pupal de *S. frugiperda* diferente do tratamento controle (teste Kruskal-Wallis, a $p > 0,05$) (Figura 9).

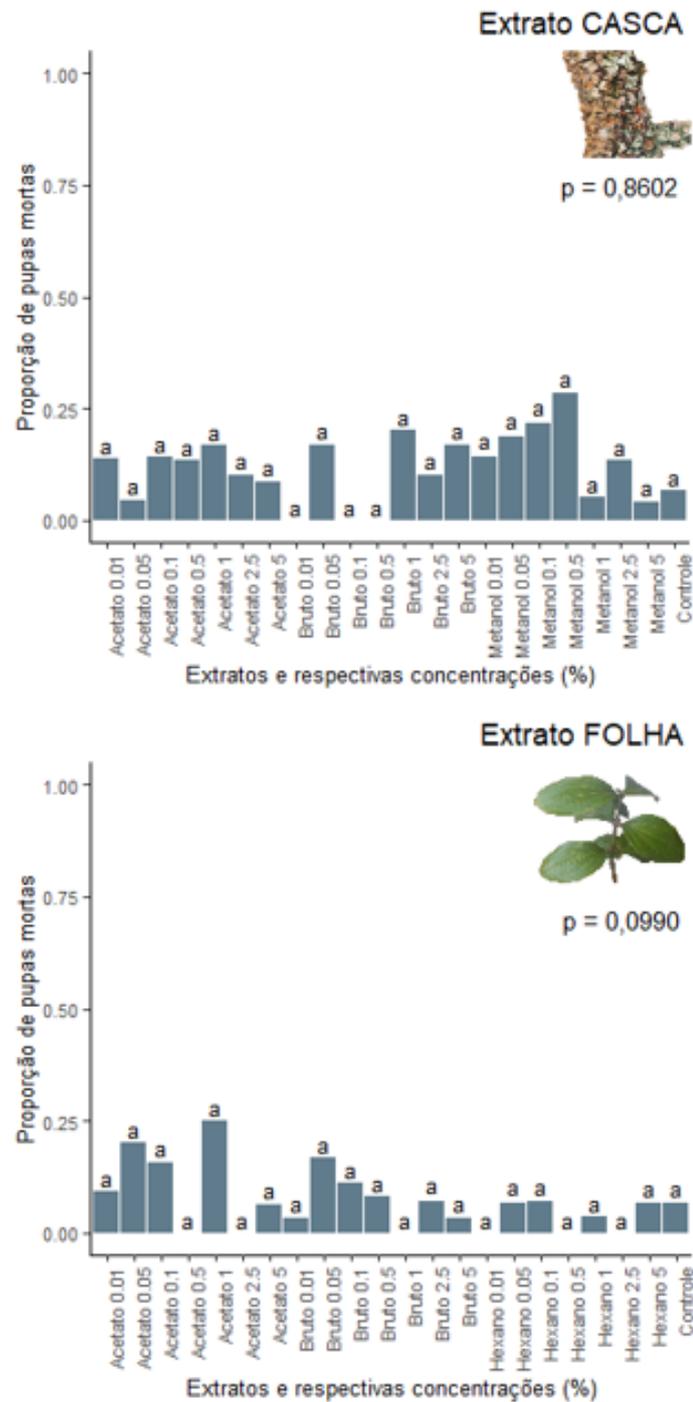


Figura 9. Mortalidade pupal de *Spodoptera frugiperda* alimentadas com folhas de milho tratadas com diferentes concentrações de extratos de cascas e folhas de *Strychnos pseudoquina*. Proporções de mortalidade dos tratamentos com extratos da planta foram comparadas com tratamento controle. Barras representado a proporção de mortalidade de pupas com mesma letra não diferem do tratamento controle (Kruskal-Wallis, $p > 0,05$).

Os dados referentes ao efeito da ingestão dos diferentes extratos de casca e folhas de *S. pseudoquina* na duração dos diferentes estádios de vida da população de *S. frugiperda* são apresentados na Tabela 5. Redução significativa do período larval foi verificado para o extrato de acetato de etila da casca, nas concentrações de 1 e 5%, aquelas mesmas concentrações onde foram verificadas as maiores taxas de mortalidade larval e, também efeito larvicida mais rápido entre os tratamentos, conforme já apresentado na Figura 4 e 5. Demais extratos de casca, de modo geral, não afetaram de forma significativa a duração do ciclo larval de *S. frugiperda*. Em relação ao extrato metanólico, foi verificado um aumento significativo do período pupal em todas as concentrações, mas com exceção da maior concentração (5%), não promoveu alteração na duração do ciclo total do inseto.

Em relação ao extrato de folhas de *S. pseudoquina*, praticamente todos os tratamentos promoveram aumento nos períodos larval, pupal ou adulto do inseto. Particularmente, para o extrato hexânico, foi verificado aumento significativo na duração de todos os estádios de vida do inseto, o que, conseqüentemente promoveu o aumento do seu ciclo total.

Ao longo do estudo foram registrados anormalidade visíveis a olho nu, na população de *S. frugiperda* tratada com os diferentes extratos da planta, quase que exclusivamente nos extratos bruto e hexânico das folhas, entretanto, em números inexpressivos. Em tratamento controle não foi registrado nenhuma anormalidade. Alguns registros feitos dessas anomalias são apresentados na Figura 10.

Tabela 5. Duração de períodos, longevidade e razão sexual de *Spodoptera frugiperda* tratadas com diferentes concentrações de extratos da CASCA e FOLHA de *Strychnos pseudoquina*.

Tratamento	Concentração (%)	Extrato de casca				Razão Sexual (F/M+F)	Extrato de folha				Razão Sexual (F/M+F)
		Duração de período (dias)					Duração de período (dias)				
		Larval	Pupal	Adulto	Total		Larval	Pupal	Adulto	Total	
Bruto	0,01	16 ± 3,28 ^a	9 ± 0,63 ^b	3 ± 0,82 ^b	18 ± 6,94 ^b	-	16 ± 1,77 ^a	9 ± 0,63 ^b	4 ± 1,01 ^a	28 ± 4,18 ^a	0,4 ^a
Bruto	0,05	15 ± 3,78 ^a	9 ± 0,71 ^b	4 ± 1,37 ^b	19 ± 8,74 ^b	0,5 ^a	16 ± 1,52 ^a	9 ± 0,58 ^b	4 ± 0,73 ^a	27 ± 4,66 ^b	0,4 ^a
Bruto	0,1	14 ± 3,25 ^a	9 ± 0,55 ^b	4 ± 0,63 ^b	17 ± 7,29 ^b	0,5 ^a	17 ± 1,70 ^a	9 ± 1,34 ^b	3 ± 0,60 ^b	26 ± 5,69 ^b	0,3 ^a
Bruto	0,5	13 ± 1,57 ^b	8 ± 0,58 ^b	4 ± 0,58 ^b	15 ± 5,00 ^b	1,0 ^a	17 ± 1,78 ^a	8 ± 0,51 ^a	4 ± 0,81 ^a	27 ± 5,39 ^b	0,4 ^a
Bruto	1	15 ± 3,05 ^a	9 ± 0,50 ^b	3 ± 0,50 ^b	17 ± 6,16 ^b	-	17 ± 1,21 ^a	8 ± 1,40 ^a	4 ± 1,02 ^a	27 ± 4,85 ^b	0,4 ^a
Bruto	2,5	15 ± 3,17 ^a	9 ± 0,67 ^b	4 ± 0,87 ^b	18 ± 8,08 ^b	0,4 ^a	17 ± 1,40 ^a	8 ± 0,43 ^a	4 ± 0,98 ^a	27 ± 3,86 ^b	0,4 ^a
Bruto	5	15 ± 2,89 ^a	8 ± 0,55 ^b	4 ± 0,84 ^b	17 ± 6,34 ^b	0,6 ^a	16 ± 1,31 ^a	8 ± 1,35 ^a	4 ± 1,01 ^a	28 ± 2,77 ^a	0,5 ^a
Acetato de etila	0,01	15 ± 3,16 ^a	9 ± 0,73 ^b	5 ± 1,57 ^a	24 ± 8,40 ^a	0,6 ^a	17 ± 1,16 ^a	8 ± 0,69 ^a	4 ± 0,89 ^a	26 ± 6,83 ^b	0,5 ^a
Acetato de etila	0,05	15 ± 1,81 ^a	9 ± 0,65 ^b	4 ± 1,14 ^b	24 ± 6,81 ^a	0,4 ^a	17 ± 2,46 ^a	8 ± 0,78 ^a	4 ± 0,85 ^a	22 ± 7,38 ^b	0,3 ^a
Acetato de etila	0,1	15 ± 2,03 ^a	9 ± 0,69 ^b	5 ± 1,42 ^a	23 ± 7,93 ^a	0,6 ^a	16 ± 1,26 ^a	8 ± 0,66 ^a	4 ± 1,24 ^a	23 ± 6,72 ^b	0,6 ^a
Acetato de etila	0,5	15 ± 2,37 ^a	9 ± 0,65 ^b	5 ± 1,11 ^a	21 ± 7,74 ^a	0,8 ^a	14 ± 4,22 ^b	8 ± 0,54 ^a	5 ± 1,04 ^a	19 ± 9,64 ^a	0,6 ^a
Acetato de etila	1	9 ± 3,24 ^b	11 ± 0,55 ^a	4 ± 1,41 ^b	12 ± 8,90 ^b	0,4 ^a	14 ± 4,00 ^b	9 ± 0,52 ^b	3 ± 1,55 ^b	17 ± 7,21 ^a	0,3 ^a
Acetato de etila	2,5	15 ± 2,38 ^a	9 ± 0,75 ^b	5 ± 1,42 ^a	23 ± 7,97 ^a	0,7 ^a	16 ± 2,34 ^a	9 ± 0,52 ^b	5 ± 1,16 ^a	21 ± 7,85 ^b	0,4 ^a
Acetato de etila	5	11 ± 3,53 ^b	10 ± 0,50 ^a	4 ± 1,25 ^b	17 ± 9,65 ^b	0,2 ^b	16 ± 1,83 ^a	9 ± 0,49 ^b	4 ± 0,99 ^a	23 ± 7,05 ^b	0,2 ^b
Metanol	0,01	15 ± 2,17 ^a	11 ± 0,57 ^a	3 ± 0,92 ^b	24 ± 8,20 ^a	0,2 ^b	-	-	-	-	-
Metanol	0,05	14 ± 2,98 ^a	11 ± 0,52 ^a	4 ± 1,45 ^b	20 ± 9,04 ^a	0,2 ^b	-	-	-	-	-
Metanol	0,1	15 ± 2,55 ^a	11 ± 0,89 ^a	3 ± 0,78 ^b	23 ± 8,78 ^a	0,3 ^a	-	-	-	-	-
Metanol	0,5	15 ± 3,57 ^a	11 ± 0,50 ^a	3 ± 0,87 ^b	19 ± 8,18 ^b	-	-	-	-	-	-
Metanol	1	14 ± 2,86 ^a	11 ± 0,84 ^a	4 ± 0,67 ^b	23 ± 9,30 ^a	0,2 ^b	-	-	-	-	-
Metanol	2,5	14 ± 4,45 ^a	11 ± 0,85 ^a	3 ± 1,09 ^b	20 ± 10,27 ^a	0,3 ^a	-	-	-	-	-
Metanol	5	16 ± 3,51 ^a	11 ± 1,04 ^a	4 ± 0,85 ^b	28 ± 7,95 ^b	0,3 ^a	-	-	-	-	-

...continua...

Tabela 5, Cont.

Hexano	0,01	-	-	-	-	-	20 ± 1,05 ^a	12 ± 1,23 ^a	4 ± 0,69 ^a	35 ± 2,82 ^a	0,5 ^a
Hexano	0,05	-	-	-	-	-	20 ± 0,96 ^a	12 ± 1,23 ^a	4 ± 0,73 ^a	35 ± 4,25 ^a	0,4 ^a
Hexano	0,1	-	-	-	-	-	20 ± 1,31 ^a	12 ± 1,18 ^a	4 ± 0,55 ^a	33 ± 6,90 ^a	0,3 ^a
Hexano	0,5	-	-	-	-	-	20 ± 1,00 ^a	12 ± 1,17 ^a	4 ± 0,76 ^a	36 ± 1,63 ^a	0,6 ^a
Hexano	1	-	-	-	-	-	20 ± 1,51 ^a	12 ± 1,31 ^a	4 ± 0,78 ^a	35 ± 5,74 ^a	0,5 ^a
Hexano	2,5	-	-	-	-	-	20 ± 1,50 ^a	12 ± 1,42 ^a	4 ± 1,06 ^a	36 ± 4,34 ^a	0,3 ^a
Hexano	5	-	-	-	-	-	21 ± 0,95 ^a	12 ± 1,41 ^a	5 ± 0,82 ^a	35 ± 5,13 ^a	0,5 ^a
Controle	0	15 ± 0,76 ^a	9 ± 1,04 ^b	3 ± 1,08 ^b	27 ± 3,49 ^a	0,6 ^a	15 ± 0,76 ^b	9 ± 1,04 ^b	3 ± 1,08 ^b	27 ± 3,49 ^b	0,6 ^a

Médias e respectivos desvios-padrão seguidos da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente do tratamento Controle pelo teste de *Mann-Whitney* ($p < 0,05$). (F/F+M): Número de fêmeas / número de fêmeas + número de machos.

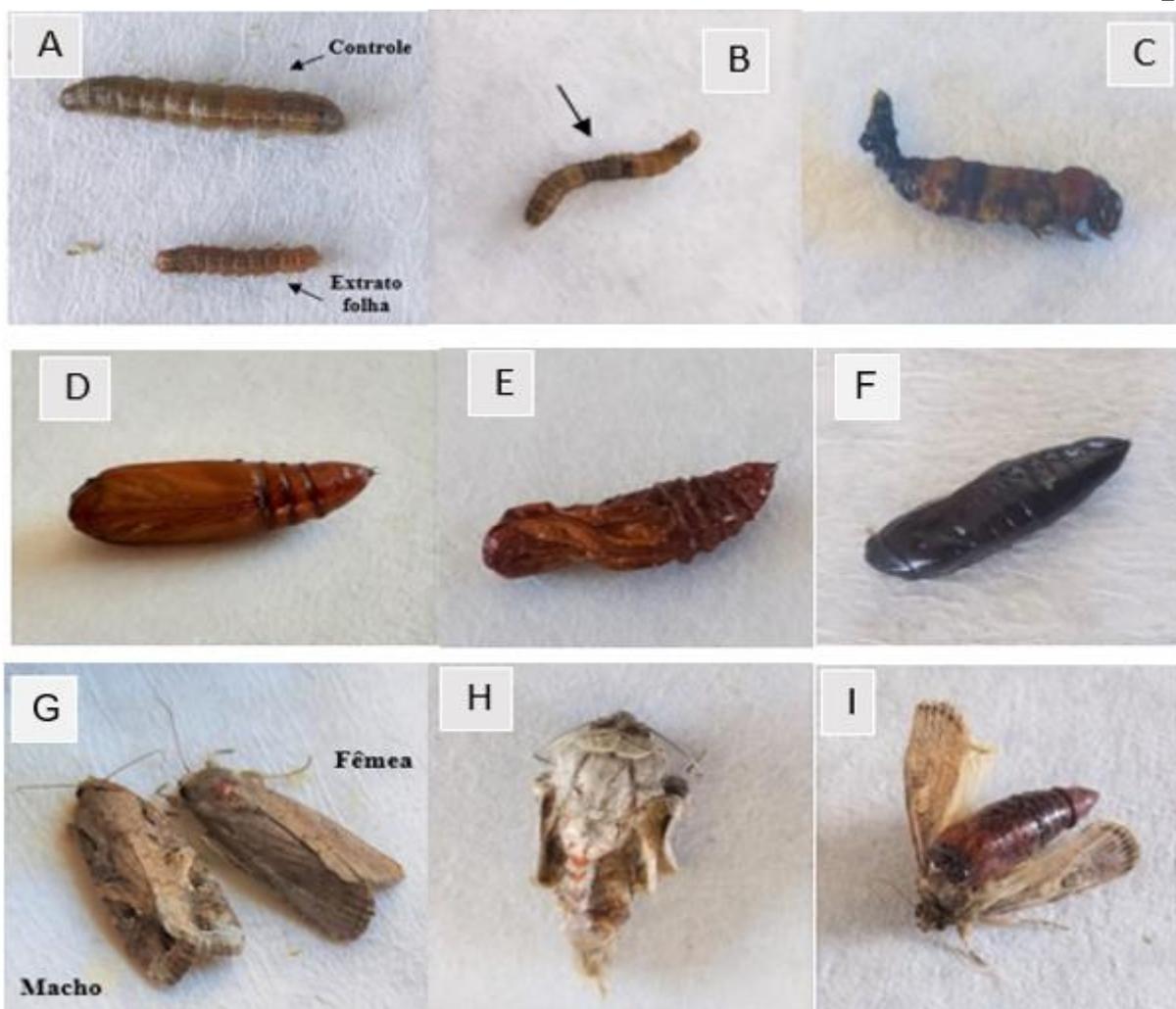


Figura 10. Anomalias verificadas a olho nu, na população de *Spodoptera frugiperda* tratadas com o extrato bruto de folhas de *S. pseudoquina*, e obtidos por fracionamento com solvente hexano. A: Larva com crescimento corporal comprometido; B: larva com seguimento do corpo enegrecidos; C: má formação de pré-pupa; D: pupa de aspecto externo normal; E: pupa malformada e morta; F: escurecimento anormal da pupa; G: Adultos aparentemente normais; H e I: adultos com visíveis deformações nas asas.

4.3. Efeito larvicida de metabólitos secundários isolados de *S. pseudoquina* em *S. frugiperda*:

Nas concentrações investigadas em nosso estudo, os metabólitos secundários testados na forma de ingestão ou contato não promoveram mortalidade larval significativamente diferente do tratamento controle (Tabela 6 e 7) (Kruskal-Wallis, $p < 0,05$).

Tabela 6. Mortalidade larval de *Spodoptera frugiperda* provocada pela aplicação tópica dos metabólitos secundários de cascas de *Strychnos pseudoquina*, obtidos da fração acetato de etila.

Tratamento	Concentração (ppm)	Mortalidade larval (%)
Estricnobilavona	2.500	0 ^a
Estricnobilavona	5.000	7 ^a
Estricnobilavona	10.000	10 ^a
3-O-metilquercetina	2.500	17 ^a
3-O-metilquercetina	5.000	13 ^a
3-O-metilquercetina	10.000	7 ^a
Controle	0	0 ^a

Taxa de mortalidade larval (%) seguida da mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente do tratamento controle. (Kruskal-Wallis, $p < 0,05$).

Tabela 7. Mortalidade larval de *Spodoptera frugiperda* provocada pela ingestão dos metabólitos secundários de cascas de *Strychnos pseudoquina*, obtidos da fração acetato de etila.

Tratamento	Concentração (ppm)	Mortalidade larval (%)
Estricnobilavona	10.000	8 ^a
3-O-metilquercetina	10.000	0 ^a
Controle	0	0 ^a

Taxa de mortalidade larval (%) seguida da mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente do tratamento controle. (Kruskal-Wallis, $p < 0,05$).

5. DISCUSSÃO

O teste de antixenose com chance de escolha, demonstra que as lagartas de *S. frugiperda*, não apresentaram preferência alimentar entre as folhas de milho tratadas com os extratos de casca e folha de *S. pseudoquina* nas diferentes concentrações. Isto é, a curto prazo, elas foram igualmente atraídas aos tratamentos avaliados. Isso, segundo Lara (1991), a preferência pode ser devido à ausência ou quantidades inexpressivas de repelentes presentes nos extratos, ou quando em maiores tempos de exposição dos fragmentos tratados, a não preferência pode ser em função de ausência ou quantidades inexpressivas de estimulantes de alimentação, ou presença de supressantes ou deterrentes.

Segundo Bezerra *et al.* (2019) e Ferreira *et al.* (2020), essa ausência ou a não percepção de substâncias antialimentares nos extratos brutos ou fracionados de plantas, usadas para eventual controle de pragas, pode ser uma relevante característica a ser observada, principalmente quando extratos devem ser ingeridos pela eventual praga.

Em nosso estudo, em teste de preferência alimentar (sem chance de escolha), o extrato bruto de cascas de *S. pseudoquina* foi, o menos consumido pelas lagartas, entretanto, isso não implicou na mortalidade das mesmas, uma vez que, nesse extrato foi verificado as maiores taxas de mortalidade, 60 a 90%.

Esse reduzido consumo pode estar relacionado com a presença de fagodeterrentes, como taninos (predominantes), flavonoides e alcaloides, comumente encontrados na casca de *S. pseudoquina* (SARANDY *et al.*, 2017). De acordo com Taiz & Zeiger (2009) e El-Asward *et al.* (2022), os taninos são compostos fenólicos com propriedades de defesa, produzido pelas plantas, potencialmente tóxico e, com ação antialimentar para muitos herbívoros.

De modo geral, extratos das cascas de *S. pseudoquina* apresentaram efeito larvicida maior do que os de folha. Todos os tratamentos de extrato de cascas promoveram mortalidades significativamente diferentes do controle, o que não se observa nos tratamentos com folhas da planta, principalmente o tratamento com os extratos bruto e hexânico.

A polaridade do solvente usado para arraste de eventuais metabólitos secundários de plantas é importante fator a ser considerado (SARMENTO *et al.*, 2015; BEZERRA *et al.*, 2019; IBRAHIM *et al.*, 2021). Em nosso estudo, particularmente para as folhas da planta isso é destacado, uma vez que os extratos acetato de etila das folhas promoveram mortalidade larval significativamente diferente do extrato obtidos pelo solvente hexano. Importante destacar que, o uso do solvente hexano em nosso estudo se deu por sugestões de Souza Neto *et al.* (2018) e Bezerra *et al.* (2019), que em comparação com acetato de etila e metanol, promoviam maior

efeito larvicida em *Spodoptera* sp. Entretanto, em nosso estudo isso não foi confirmado, ou seja, promoveu insignificante mortalidade larval.

Somente no tratamento acetato etílico de cascas de *S. pseudoquina* foi verificado uma relação linear significativa entre dose de extrato vs mortalidade larval de *S. frugiperda*. Essa relação de não dependência dose/resposta é frequentemente mencionada para insetos em literatura (SOUZA NETO *et al.*, 2018).

Doses maiores do extrato acetato etílico das cascas de *S. pseudoquina*, conforme destacado em nosso trabalho, foram aquelas que promoveram mortalidade larval de *S. frugiperda* de forma mais rápida. De maneira geral, promovendo taxas de mortalidade similares, o extrato acetato etila de folhas e extrato bruto de cascas dessa planta provocaram essa mortalidade de forma mais lenta e gradual. Conforme destacado por Lazarević *et al.* (2020), essa expressiva mortalidade inicial está relacionada com a capacidade de resposta do inseto à estresses oxidativos, que em alta concentrações, podem levar a danos em nível macromolecular.

Os extratos de cascas e folhas que expressaram significativas taxas de mortalidade (bruto e acetato de etila) não apresentaram anormalidade significativa nas pupas formadas e, nem comprometimento significativo em seu peso por ação dos tratamentos. A sexagem dos insetos foi realizada na fase adulta, com número de insetos remanescentes dos tratamentos muito variável, o que não permitiu fazer generalizações seguras sobre essa variável. Portanto, sugerindo efeito predominantemente larvicida.

Alterações significativas de duração de período larval verificada em tratamento com maiores concentrações do extrato acetato de etila, implicaram, na redução do ciclo total do inseto. Embora o número reduzido de lagartas sobreviventes que se alimentaram do milho tratado com esses extratos, possa ter influenciado nessa variável analisada. Ainda assim, é importante destacar que a redução do ciclo total do inseto pode resultar em aumento de gerações durante o ciclo da cultura, conforme Boiça Júnior *et al.* (2013), o que não é interessante sob o ponto de vista de manejo da mesma.

Da fração casca acetato de etila, que apresentou destacado efeito larvicida, foi feito o refração e posterior isolamento e identificação dos flavonoides 3-O-metilquercetina e estricnobilavona, que tiveram sua toxicidade (efeito larvicida) investigada para a população de *S. frugiperda*. De forma isolada, por contato ou ingestão, esses metabólitos secundários não apresentaram efeito larvicida significativo. Portanto, na fração acetato de etila, outros compostos isolados ou em sinergia, foram os responsáveis pelo efeito antibiose. Segundo Ferreira *et al.* (2020), flavonoides e alcaloides presentes em extratos vegetais, podem ser os prováveis responsáveis por prejudicar a alimentação e a digestão desses insetos, liberando

radicais livres que são deletérios para os insetos. Outros efeitos deletérios provocados por extratos de plantas incluem alterações morfológicas que resultam em extrusão do intestino, alterações fisiológicas diversas que impedem a ecdise, perda de hemolinfa, escurecimento anormal de pupas entre outros (MARTÍNEZ *et al.*, 2017).

6. CONCLUSÃO

Por *S. frugiperda* se tratar de uma lagarta desfolhadora, o expressivo efeito deletério promovido pelos extratos de *S. pseudoquina* na fase larval, indica que essa planta apresenta potencial inseticida a ser explorado em programas de manejo integrado da mesma. Esse efeito deletério às lagartas, foram verificados com os extratos da casca e, o extrato de folhas obtido a partir do solvente acetato de etila. Os flavonoides 3-O-metilquercetina e estricnobiflavona, de forma isoladas, não manifestaram significativo efeito larvicida, indicando que, se promoverem algum efeito deletério, seria de forma sinérgica com outros metabólitos secundários da planta.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADEBOWALE, A. et al. Molecular systematics of southern African monkey orange *Strychnos* L. (Loganiaceae). **Kew Bulletin**, v. 71, n. 17, 2016. 17 p.
- AHMED, K. S. et al. Synergized Toxicity of Promising Plant Extracts and Synthetic Chemicals against Fall Armyworm *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) in Pakistan. **Agronomy**, v. 12, n. 1289, p. 1-13, 2022.
- AYIL-GUTIÉRREZ, B. A. et al. Biological effects of natural products against *Spodoptera* spp. **Crop Protection**, v. 114, p. 195-207, 2018.
- BEZERRA, E. F. B. et al. Toxicity of *Machaerium opacum* (Fabaceae) leaf extracts against fall armyworm (*Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Agricultural Science**, v. 11, n. 10, p. 292-301, 2019.
- BOFF, L. et al. *Strychnos pseudoquina* A. St. Hil.: a Brazilian medicinal plant with promising in vitro antiherpes activity. **Journal of Applied Microbiology**, v. 121, p. 1519-1529, 2016.
- BOIÇA JÚNIOR, A. L. et al. Atualidade em resistência de plantas a insetos, p. 207-244. In: Busoli, A. C.; Alencar, J. R. C. C.; Fraga, D. F.; Souza, B. H. S. & Grigolli, J. F. J. (eds) **Tópicos em entomologia agrícola – IV**. Jaboticabal, Maria de Lurdes Brandel, 2013.
- BONAMIN, F. et al. Can a *Strychnos* species be used as antiulcer agent? Ulcer healing action from alkaloid fraction of *Strychnos pseudoquina* St. Hil. (Loganiaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 138, p. 47-52, 2011.
- CHEN, J. et al. Analgesic and anti-inflammatory activity and pharmacokinetics of alkaloids from seeds of *Strychnos nux-vomica* after transdermal administration: Effect of changes in alkaloid composition. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 139, p. 181-188, 2012.
- CHEN, Y. C. et al. The Effect of Temperatures and Hosts on the Life Cycle of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Insects**, v. 13, n. 211, 2022, 15 p.
- CÔRTEZ, M. A. et al. Imunomodulação de Fagócitos do Sangue Humano pelo Extrato de *Strychnos Pseudoquina* ST. HILL Adsorvido em Microesferas de Polietilenoglicol. **Polímeros**, v. 23, n. 3, p. 402-409, 2013.
- ELDAHSHAN, O. A.; ABDEL-DAIM, M. M. Phytochemical study, cytotoxic, analgesic, antipyretic and anti-inflammatory activities of *Strychnos nux-vomica*. **Cytotechnology**, v. 67, n. 5, p. 831-844, 2015.
- EL-ASWAD, A. F.; AISU, J.; KHALIFA, M. H.; Biological activity of tannins extracts from processed *Camellia sinensis* (black and green tea), *Vicia faba* and *Urtica dioica* and *Allium cepa* essential oil on three economic insects. **Journal of Plant Diseases and Protection**, 1v., 2021.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo (Embrapa – Milho e Sorgo). **Cultivo do milho: pragas da fase vegetativa e reprodutiva**. Minas Gerais: Embrapa, 2002. 8 p.

FERREIRA, E. A. et al. Phytochemical Screening and Bioactivity of *Ludwigia* spp. in the Control of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). **Insects**, v. 11, n. 596, p. 1-14, 2020.

GONTIJO, D. C. et al. Assessment of the phenolic content, mutagenicity and genotoxicity of ethanolic extracts of stem bark and leaves from *Strychnos pseudoquina* A. St.-hil. **Drug and Chemical Toxicology**, v. 43, n. 5, p. 539-545, 2020.

HORIKOSHI, R. J. et al. A new generation of Bt maize for control of fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*). **Pest Management Science**, v. 77, p. 3727-3736, 2021.

IBRAHIM, H. et al. Gas chromatography–mass spectrometry (GC–MS) analysis of ethyl acetate root bark extract of *Strychnos innocua* (Delile). **Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 10, n. 65, 2021. 8 p.

ISA, A. I. et al. Some *Strychnos spinosa* (Loganiaceae) leaf extracts and fractions have good antimicrobial activities and low cytotoxicities. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 14, n. 456, 2014. 8 p.

ISA, A. I. et al. Nitric oxide inhibitory activity of *Strychnos spinosa* (loganiaceae) leaf extracts and fractions. **African Journal of Traditional, Complementary, and Alternative Medicines**, v. 13, n. 6, p. 22-26, 2016.

JONVILLE, M. C. et al. Dimeric bisindole alkaloids from the stem bark of *Strychnos nux-vomica* L. **Phytochemistry**, v. 87, p. 157-163, 2013.

KAPLAN, E.L.; MEIER, P. Nonparametric Estimation from Incomplete Observations. **Journal of the American Statistical Association**, v. 53, n. 282, p. 457-481, 1958.

KASTEN JUNIOR, P.; PRECETTI, A. A. C. M.; PARRA, J. R. P. Dados biológicos comparativos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) em duas dietas artificiais e substrato natural. **Revista de Agricultura**, v. 53, n. 1-2, p. 68-78, 1978.

KUZHUPPILLYMYAL-PRABHAKARANKUTTY, L. et al. Effect of *Beauveria bassiana*-Seed Treatment on *Zea mays* L. Response against *Spodoptera frugiperda*. **Applied Sciences**, v. 11, n. 2887, 2021. 15 p.

LAGE, P. S. et al. Antileishmanial activity and evaluation of the mechanism of action of strychnobiflavone flavonoid isolated from *Strychnos pseudoquina* against *Leishmania infantum*. **Parasitology Research**, v. 114, p. 4625-4635, 2015.

LARA, F. M. **Princípio de resistência de plantas a insetos**. 2. ed. São Paulo: Ícone, 1991. 336 p.

LAZAREVIĆ, J. et al. Toxic, Oviposition Deterrent and Oxidative Stress Effects of *Thymus vulgaris* Essential Oil against *Acanthoscelides obtectus*. **Insects**, v. 11, n. 563, 2020. 19 p.

LEÃO, R. M. et al. Secondary metabolites of *Asclepias curassavica* (Apocynaceae) and its effects on food preference and mortality of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Emirates Journal of Food and Agriculture**, v. 32, n. 8, p. 583-590, 2020.

LEITE, J. P. V. et al. Embryo culture, callus induction, and flavonoid profile of *Strychnos pseudoquina* A. St.-Hil., an important medicinal species from the Brazilian Cerrado biome. **Plant Cell Tiss Organ Cult**, v. 145, p. 579-589, 2021.

MARTÍNEZ, A. M. et al. Effects of ethanolic extracts of *Argemone ochroleuca* (Papaveraceae) on the food consumption and development of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Florida Entomological Society**, v. 100, n. 2, p. 339-345, 2017.

MICHELOTTO, M. D. et al. Efficacy of transgenic maize insecticide treatment to control fall armyworm in late-season maize in São Paulo state, Brazil. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 41, n. 2, p. 128-138, 2017.

MIGUÉIS, G. S. et al. Plants used by the rural community of Bananal, Mato Grosso, Brazil: Aspects of popular knowledge. **PLOS ONE**, v. 14, n. 1, 2019. 20 p.

NOGUEIRA, L. et al. Oviposition Preference and Antibiosis to *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazilian Maize Landraces. **Journal of Economic Entomology**, v. 20, n. 20, p. 1-9, 2018.

OLIVEIRA, E. R. et al. Toxicity of *Cymbopogon flexuosus* essential oil and citral for *Spodoptera frugiperda*. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 42, n. 4, p. 408-419, 2018.

PIRES JUNIOR, W. **Toxicidade de extratos foliares de Marmelinho-do-campo (*Austroplenckia populnea*) para a lagarta-do-cartucho-do-milho (*Spodoptera frugiperda*)**. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual de Goiás, Ipameri, Goiás, 2021. 33 p.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2022. Disponível em: <http://www.R-project.org/>. Acesso em: 10/01/2022.

REN, Q. et al. Functional response and intraspecific competition in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Insects**, v. 11, n. 10, 2020, 13 p.

RUTTANAPHAN, T. et al. A Novel Insecticidal molecule extracted from *Alpinia galanga* with potential to control the pest insect *Spodoptera frugiperda*. **Insects**, v. 11, n. 11, 2020. 15 p.

SAMSENY, R. R. R. A.; MENGOME, L. E.; ANGONE, S. A. Evaluation of anti-inflammatory and antioxidant activities from *Strychnos icaia* Baillon (Loganiaceae). **Journal of Complementary Medicine Research**, v. 12, n. 4, p. 235-243, 2021.

SANTOS, C. K. G. **Avaliação da atividade citotóxica da fração acetato de etila das cascas do caule de *Strychnos pseudoquina* (Loganiaceae)**. Dissertação (Mestrado em Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde) – Universidade Estadual de Goiás, Anápolis, Goiás, 2022. 107 p.

SARANDY, M. M. et al. Hydroethanolic Extract of *Strychnos pseudoquina* Accelerates Skin Wound Healing by Modulating the Oxidative Status and Microstructural Reorganization of Scar Tissue in Experimental Type I Diabetes. **BioMed Research International**, v. 2017, n. 9538351, 2017. 11 p.

- SARANDY, M. M. et al. *Strychnos pseudoquina* modulates the morphological reorganization of the scar tissue of second intention cutaneous wounds in rats. **PLOS ONE**, v. 13, n. 4, 2018. 15 p.
- SARMENTO, N. C. et al. Antimicrobial, antioxidant and anticancer activities of *Strychnos lucida* r. Br. **African Journal of Traditional, Complementary, and Alternative Medicines**, v. 12, n. 4, p. 122-127, 2015.
- SETUBAL, R. B. et al. A Toxic Story: Phylogeny and Classification of *Strychnos* L. (Loganiaceae). **Systematic Botany**, v. 46, n. 3, p. 639-655, 2021.
- SILVA, G. et al. Bioactivity of a water extract of boldus (*Peumus boldus* Molina) against *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) and *Helicoverpa zea* Boddie (Lepidoptera: Noctuidae). **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 73, n. 2, p. 135-141, 2013.
- SOTELO-LEYVA, C. et al. Insecticidal compounds in *Ricinus communis* L. (Euphorbiaceae) to control *Melanaphis sacchari* Zehntner (Hemiptera: Aphididae). **Florida Entomologist**, v. 103, n.1, p. 91-95, 2020.
- SOUSA NETO, M. et al. Toxicity of *Andira paniculata* (Fabaceae) extracts to *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Agricultural Science**, v. 10, n. 6, p. 246-271, 2018.
- STEFFY, K. et al. Synthesis and characterization of ZnO phytonanocomposite using *Strychnos nux-vomica* L. (Loganiaceae) and antimicrobial activity against multidrug-resistant bacterial strains from diabetic foot ulcer. **Journal of Advanced Research**, v. 3, n. 9, p. 69-77, 2017.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 848 p.
- TAVARES, W. S. et al. Screening of Extracts of Leaves and Stems of *Psychotria* spp. (Rubiaceae) against *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) and *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) for Maize Protection. **Journal of Food Protection**, v. 76, n. 11, p. 1892-1901, 2013.
- TRINDADE, R. C. P. et al. Extratos aquosos de inhame (*Dioscorea rotundata*Poirr.) e de mastruz (*Chenopodium ambrosioides* L.) no desenvolvimento da lagarta-do-cartucho-do-milho *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 2, p. 291-296, 2015.
- VASSALLO, C. N. et al. Monitoring the Evolution of Resistance in *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) to the Cry1F Protein in Argentina. **Journal of Economic Entomology**, v. 20, n. 20, p. 1-7, 2019.