



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA

DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS

GENÉTICOS VEGETAIS



MILENA FERREIRA COSTA

APROVEITAMENTO DO RESÍDUO LÍQUIDO INDUSTRIAL DO SISAL (*Agave sisalana* Perr.) PARA OBTENÇÃO DE UM INSETICIDA BIOLÓGICO

FEIRA DE SANTANA - BA
2012

MILENA FERREIRA COSTA

**APROVEITAMENTO DO RESÍDUO LÍQUIDO INDUSTRIAL DO SISAL
(*Agave sisalana* Perr.) PARA OBTENÇÃO DE UM INSETICIDA
BIOLÓGICO**

FEIRA DE SANTANA – BAHIA
2012

MILENA FERREIRA COSTA

**APROVEITAMENTO DO RESÍDUO LÍQUIDO INDUSTRIAL DO SISAL
(*Agave sisalana* Perr.) PARA OBTENÇÃO DE UM INSETICIDA
BIOLÓGICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Recursos Genéticos Vegetais, da Universidade Estadual de Feira de Santana, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Recursos Genéticos Vegetais.

Orientador: Prof. Dr. Juan Tomás Ayala Osuna
Co-orientador: Prof. Dr. Hugo Neves Brandão

FEIRA DE SANTANA – BAHIA
2012

Ficha catalográfica: Biblioteca Central Julieta Carteadó – UEFS

Costa, Milena Ferreira

C874a Aproveitamento do resíduo líquido industrial do sisal (*Agave sisalana* Perr.) para obtenção de um inseticida biológico / Milena Ferreira Costa. – Feira de Santana - BA, 2012.

92f. : il.

Orientador: Juan Tomás Ayala Osuna.

Co-orientador: Hugo Neves Brandão.

Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais)– Universidade Estadual de Feira de Santana, Departamento de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, 2012.

1. Fitoquímica. 2. Inseticida vegetal. 3. *Spodoptera frugiperda*. 5. *Zea mays*. I. Ayala Osuna, Juan Tomás. II. Brandão, Hugo Neves. III.

Universidade Estadual de Feira de Santana. IV. Departamento de Ciências Biológicas. V. Título.

CDU: 582.572.43:632.951

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Pedro Luis da Costa Aguiar Alves

Profa. Dra. Adriana Rodrigues Passos

Prof. Dr. Juan Tomás Ayala Osuna
Orientador e Presidente da Banca

Dedico essa conquista ao meu namorado Vinicius, pela imensa compreensão, encorajamento e estímulo na realização dessa etapa de minha vida.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por minha saúde, jovialidade e existência;

Aos meus pais, Antonio Valter de Queiroz Costa e Noibelia Maria Ferreira Costa, que acreditaram e investiram nos meus estudos;

Ao meu namorado, Vinicius Borges Cerqueira, por seu amor e por sempre confiar que eu conseguiria;

Às minhas amigas, Gabriela Carinhonha e Thayana Monteiro, pelos momentos descontraídos e por compartilharem da minha angústia;

À minha irmã, Mahysa Ferreira Costa, pela praticidade e ajuda nos momentos mais difíceis da parte experimental;

À minha prima, Maylane Gaspar, por gostar do que eu faço e me ajudar na avaliação dos experimentos;

À Universidade Estadual de Feira de Santana;

Ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, aos mestres vinculados dedicados ao ensino e aos funcionários sempre solícitos, em especial Alberto e Janilza;

À FAPESB, que financiou esse estudo durante a fase do Mestrado, bem como concedeu o AUXÍLIO-DISSERTAÇÃO para a finalização desse trabalho;

Ao Banco do Nordeste do Brasil pela aprovação do financiamento dessa pesquisa;

Ao prof. Dr. Juan Tomás Ayala Osuna, pela orientação, disponibilidade, paciência e incentivo financeiro na realização desse mestrado;

Ao prof. Dr. Hugo Neves Brandão, pela orientação na parte química desse trabalho, pelos questionamentos e por me acolher em uma área totalmente nova para mim;

Ao Dr. Carlos Ledo, para o qual destaco meu muito obrigado, por dedicar tempo, esforço e colaborar significativamente na análise estatística dos meus resultados;

Aos colegas da Unidade Experimental Horto Florestal, especialmente a Bruno Alvim, Flaviane Leite Araújo e Priscila, pelo incentivo e boa-vontade no empréstimo dos equipamentos;

Ao Fernando Carneiro e os “brôdo” pelo grande auxílio nas coletas;

À Maiane e Danielle pela imensa ajuda na realização da triagem fitoquímica;

À Gravena manecol e a Odair Fernandes pelo envio dos ovos de *Spodoptera* para a realização dessa pesquisa;

À Dra. Mitsue Haraguchi que colaborou substancialmente na metodologia para obtenção dos extratos de sisal;

Ao Jener David dos Santos pela ajuda na secagem dos extratos;

À Ms. Marcela Fonseca Souza pelo início do trabalho e pela disponibilidade;

Ao Ms. Alisson Harley Brito da Silva pelo auxílio na parte estatística;

À Ms. Maria Clarice Vasconcelos Dias, pelo notável empenho em passar todos os conhecimentos que fossem úteis na realização desse trabalho;

À Mariana Carvalho e Anderson Moscoso pelo auxílio na montagem dos experimentos.

RESUMO

O baixo aproveitamento das folhas da *Agave sisalana*, em torno de 4%, motivou esta pesquisa que tem por objetivo avaliar os efeitos de compostos oriundos do metabolismo secundário dessa espécie no desenvolvimento e sobrevivência da lagarta-do-cartucho, na cultura do milho. Para tanto foram utilizados, essencialmente, oito tratamentos: extrato etanólico nas concentrações de 1,25; 2,5; 5; 7,5 e 10 %; extrato acetato de etila a 1,0 e 2,0%; extrato butanólico a 1,5 e 3,0%; e três tratamentos-controle: Inseticida sintético Lannate, água destilada e Bioinseticida NiM-I-Go. Amostras do resíduo foram analisadas por testes colorimétricos e de precipitação, a fim de verificar a composição química. Nos ensaios biológicos foi avaliada a duração das fases de vida larval e pupal, peso, mortalidade, o comprimento e a largura do corpo das lagartas, em testes por contato tópico e ingestão. Foram utilizadas escalas de notas para avaliar, tanto os danos de fitotoxicidade dos extratos, quanto os danos da lagarta em campo, sendo também avaliada a produção da cultura. Foi observada a presença de triterpenoides, saponinas e taninos nas amostras. Os extratos vegetais apresentaram danos de toxicidade foliar equiparáveis aos inseticidas comerciais, sendo da mesma forma em campo, no qual houve controle da infestação a partir da 2ª aplicação, sem interferir na produção da cultura. Os extratos atuam mais marcadamente por ingestão e afetam a sobrevivência da lagarta, tendo destaque para o acetato a 2,0% e o etanólico a 10%, apresentando mortalidade de 100% e ação nos primeiros dias de vida do inseto.

Palavras-chave: Fitoquímica. Inseticida vegetal. *Spodoptera frugiperda*. *Zea mays*

ABSTRACT

(UTILIZATION OF LIQUID INDUSTRIAL WASTE SISAL (*Agave sisalana* Perr.) FOR OBTAINING A BIOLOGICAL INSECTICIDE)

The low utilization of the leaves of *Agave sisalana*, around 4%, motivated this research which aims to assess the effects of compounds from the secondary metabolism of this species in the development and survival of the fall armyworm, in corn. For this purpose were used essentially eight treatments: ethanolic extract at concentrations of 1,25; 2,5; 5,0; 7,5 and 10%, butanolic extract to 1,5 and 3,0%, ethyl acetate extract to 1,0 and 2,0%, and three control treatments: synthetic insecticide Lannate, distilled water and insecticide Nim-I-Go. Samples of residue were analyzed by colorimetric tests and precipitation to verify the chemical composition. In the biological assays was assessed the duration of life stages larval and pupal, the weight, mortality, length and width of body of the larvae, in tests by topical application and ingestion. Scales were used to assess both the damage of phytotoxicity of the extracts as the damage of the fall armyworm in the field, including the production of culture. It was observed the presence of triterpenoids, saponins and tannins in the samples. The plant extracts showed toxicity foliar damage comparable to commercial insecticides, and similarly in the field, where the infestation was controlled as from the 2nd application, without interfering in the production of culture. The extracts act most strongly by ingestion and affect the survival of the larvae, with emphasis on acetate to 2,0% and ethanolic to 10%, with 100% mortality and action in the first days of life of the insect.

Keywords: Phytochemistry. Insecticide plant. *Spodoptera frugiperda*. *Zea mays*

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS

RESUMO

ABSTRACT

INTRODUÇÃO GERAL	13
1.1 <i>Agave sisalana</i> Perrine	15
1.1.1 Extratos vegetais com atividade inseticida	17
1.1.2 Atividade biológica do gênero <i>Agave</i>	19
1.1.3 Efeito de extratos vegetais no controle da lagarta-do-cartucho	21
1.2 <i>Zea mays</i> Lineu	23
1.3 <i>Spodoptera frugiperda</i> (J.E. Smith, 1797)	24
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26

CAPÍTULO I

COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO RESÍDUO LÍQUIDO DE SISAL E TOXICIDADE FOLIAR DOS EXTRATOS SOBRE O MILHO	34
1 INTRODUÇÃO	35
2 MATERIAL E MÉTODOS	36
2.1 Testes para detecção de compostos do metabolismo secundário	37
2.1.1 Análise de antraquinonas	37
2.1.2 Análise de alcaloides	37
2.1.3 Análise de flavonoides	38
2.1.4 Análise de esteroides e triterpenoides	38
2.1.5 Análise de saponinas	38
2.1.6 Análise de fenóis e taninos	38
2.1.7 Análise de cumarinas	39
2.1.8 Análise de antocianinas	39

2.2 Obtenção dos extratos para os testes de fitotoxicidade	41
2.3 Teste de fitotoxicidade de extratos obtidos do resíduo de sisal	41
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
3.1 Triagem fitoquímica de amostras do resíduo líquido de <i>Agave sisalana</i>	45
3.2 Efeito de toxicidade foliar dos extratos de <i>Agave sisalana</i>	52
4 CONCLUSÃO	57
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58

CAPÍTULO II

FRAÇÕES DO RESÍDUO LÍQUIDO DE SISAL SOBRE DESENVOLVIMENTO E MORTALIDADE DA LAGARTA-DO-CARTUCHO	63
1 INTRODUÇÃO	65
2 MATERIAL E MÉTODOS	66
2.1 Obtenção dos extratos	66
2.2 Obtenção da lagarta <i>Spodoptera frugiperda</i>	67
2.3 Cultivo do milho	68
2.4 Avaliação da atividade inseticida do resíduo líquido de <i>Agave sisalana</i>	68
2.5 Avaliação das características relacionadas com a produção	71
2.6 Análise estatística	71
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	72
3.1 Experimentos em laboratório	72
3.2 Experimentos em campo	81
4 CONCLUSÃO	87
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	88

CONSIDERAÇÕES FINAIS	92
-----------------------------	-----------

1 INTRODUÇÃO GERAL

No Brasil, a cultura sisaleira se concentra na região nordeste, em áreas de pequenos produtores, com predomínio do trabalho familiar. Além de ser fonte de renda e emprego para muitos trabalhadores, a cultura do sisal tem enorme importância econômica e social para o Estado da Bahia, constituindo alternativa de desenvolvimento para o semiárido baiano (MARTIN et al., 2009).

As fibras do sisal representam o percentual de apenas 3 a 5% da folha; por sua vez, os 95 a 97% restantes constituem os resíduos do beneficiamento, que são utilizados como adubo orgânico, ração animal e pela indústria farmacêutica (MARTIN et al., 2009). Esses resíduos são compostos por água, seiva vegetal, compostos do metabolismo primário e secundário, partículas de tecido parenquimatoso, pedaços de folhas e fibras de diferentes tamanhos. Em países como o Brasil, eles são, na maioria das vezes, abandonados no campo, sendo poucos os produtores que os aproveitam (SILVA et al., 2006).

O resíduo líquido do sisal apresenta, como principais constituintes do metabolismo secundário, os derivados saponínicos, alcaloides, taninos e cumarinas (BARRETO et al., 2003). Em trabalhos anteriores foi comprovado que o suco do sisal tem ação no controle de ácaros, insetos transmissores de doenças tropicais (PIZARRO et al, 1999; BARRETO et al., 2003), bem como no controle da *Spodoptera frugiperda* (SOUZA, 2009). Estas pesquisas corroboram o resíduo de sisal como possuidor de propriedade inseticida.

Uma série de pragas atacam a cultura do milho, como as do colmo, *Elasmopalpus lignosellus* (Zeller, 1848) e *Diatraea saccharalis* (Fabricius, 1794), a praga das espigas *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850); além das que atacam os grãos armazenados, como *Sitophilus zeamais* (Motschulsky, 1855) e *Sitotroga cerealella* (Olivier, 1819) (CARVALHO, 1987).

No entanto, indiscutivelmente, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) é a praga mais importante do milho e, em um programa de manejo, deve ser considerada a praga chave, uma vez que, seus danos, embora considerados indiretos, decorrem da ingestão das folhas, o que reduz a capacidade fotossintética da planta e compromete a formação da espiga, conseqüentemente, a produção (CARVALHO, 1987).

Para ser considerado um inseticida ideal, é necessário que este seja seletivo, biodegradável e de baixa persistência no meio ambiente (VIEIRA et al., 2007). Dessa forma, o emprego de substâncias extraídas de plantas silvestres com o poder inseticida apresenta algumas vantagens quando comparada aos sintéticos: são renováveis, facilmente degradáveis, ou seja, não contaminam o meio ambiente, e o desenvolvimento de resistência dos insetos é mais lento. Adicionado a isso, não deixam resíduos nos alimentos, são seguros aos operadores, e de baixo custo, tornando-se acessível aos pequenos produtores (OLIVEIRA et al., 2007).

No entanto, o que constitui desvantagem no uso desses produtos é que, em geral, suas estruturas químicas são muito grandes e complexas, difíceis de isolar e sintetizar, e ainda, quando sintetizadas, não possuem a mesma ação que o produto natural (OLIVEIRA et al., 2007).

O controle químico da lagarta-do-cartucho tem demandado significativo aumento no número de pulverizações com inseticidas sintéticos, causando o surgimento de populações resistentes aos diferentes produtos químicos disponíveis, bem como implicações no meio ambiente (ROEL et al., 2000).

Este tipo de controle é a principal medida empregada para evitar que os prejuízos atinjam o nível de dano econômico e, muitas vezes, não tem a eficácia desejada, apresentando alto custo para os produtores rurais, pois geralmente são necessárias várias aplicações, o que proporciona a contaminação dos grãos e deixa resíduos nos alimentos, causando problemas de saúde pública (SOUZA, 2009).

O agravamento da situação leva à substituição de um inseticida por outro, que é geralmente de maior custo e menos compatível com outras medidas de controle. Quando a resistência ocorre para pesticidas considerados “seletivos” (tóxicos para determinadas pragas e pouco efeito sobre os seus agentes de controle biológico), eles geralmente são substituídos por outros mais tóxicos (e menos seletivos), que reduzirão a população dos inimigos naturais, rompendo o controle biológico até então efetivo, levando o controle da praga a depender quase que exclusivamente dos produtos químicos (CRUZ, 2002).

Assim, os avanços nas pesquisas relacionadas aos inseticidas de origem vegetal têm possibilitado perspectivas para sua utilização no controle de pragas,

podendo se constituir em uma alternativa viável a ser adotada pelos produtores rurais, promovendo futuras utilizações para os subprodutos do sisal e possibilitando a abertura de novos mercados para essa cultura.

Em face da importância econômica e social que a lavoura do sisal tem para a Bahia e para o Brasil, é que se propõe, por meio dessa pesquisa, um estudo mais aprofundado, que se torne referência para as diferentes ações relacionadas com os aspectos socioeconômicos da produção de sisal.

Os estudos iniciados por SOUZA (2009) objetivaram verificar a atividade inseticida de extratos orgânicos obtidos a partir do resíduo líquido de *Agave sisalana* sobre *Spodoptera frugiperda*, concluindo que as larvas dessa espécie, ao serem alimentadas com folhas de milho tratadas com os extratos butanólico e hidroetanólico (10g/ 100ml) do suco de sisal, apresentaram significativa taxa de mortalidade (90 e 88%, após 72hs).

A partir da continuidade desses estudos, visa-se avaliar as frações etanólica, butanólica, acetato de etila e precipitado, obtidos do resíduo líquido de *Agave sisalana* Perr., no controle da praga *S. frugiperda* em plantações de milho, através de ensaios em laboratório e a campo, avaliando tanto a produção da cultura quanto a fitotoxicidade que tais extratos representam para esta.

Essa dissertação apresenta uma breve revisão sobre as plantas e o inseto-praga em estudo e está dividida em dois capítulos que descrevem, respectivamente, a triagem fitoquímica de amostras do suco de sisal e os efeitos de toxicidade foliar dos extratos elaborados; e os resultados dos ensaios dos extratos etanólico, butanólico e acetato de etila sobre o desenvolvimento e sobrevivência da lagarta-do-cartucho, extrapolando para campo, os danos ocasionados pela lagarta, bem como sua influência na produção da cultura do milho.

1.1 *Agave sisalana* Perrine

Circunscrita recentemente em Asparagaceae (THE PLANT LIST, 2010), *A. sisalana* é uma monocotiledônea perene em que as folhas e o broto terminal estão inseridos no pseudocaulo, que pode, quando adulto, atingir uma altura de até 1,20 m e um diâmetro de 20 cm. As folhas são lanceoladas, sésseis, rígidas,

de cor verde-escuro e comprimento entre 120 e 160 cm, com 10 a 15 cm de largura na sua parte média. A superfície é côncava, desprovida de espinhos nas bordas, possuindo um único acúleo de 2 cm na extremidade. A inserção da folha no pseudocaule ocorre em forma de espiral, ascendente, formando rosetas. A inflorescência, em forma de pedúnculo floral, apresenta de 6 a 8 m de altura e possui algumas escamas similares às folhas (SILVA et al., 2008).

Agave é um gênero introduzido, sendo a espécie *Agave sisalana* uma planta produtora de fibra, cuja cultura é uma importante alternativa para as áreas mais secas do Nordeste. Algumas outras espécies do gênero fornecem matéria-prima para a fabricação de bebidas alcoólicas muito populares na América Central e que se espalharam por diversos países do mundo, como o pulque e a tequila (SOUZA & LORENZI, 2008).

A adaptação do sisal às condições edafoclimáticas da região semiárida do Nordeste, onde as opções de cultivo são limitadas, confere-lhe uma grande importância sócioeconômica, gerando emprego e renda em uma das regiões possuidoras do IDH (0,589) mais baixo do estado da Bahia (ANDRADE et al., 2010).

No Brasil, os estados da Bahia, Paraíba e Rio Grande do Norte são os principais produtores de sisal, com 93,5%; 3,5% e 3,0%, respectivamente, da produção nacional (MARTIN et al., 2009)

Estima-se que, atualmente, aproximadamente 400 mil agricultores familiares cultivam o sisal em suas propriedades. Ademais, postos de trabalhos diretos são gerados nas etapas de beneficiamento e industrialização do sisal, sendo estes, em sua maioria, nos centros urbanos (ANDRADE et al., 2010).

No Estado da Bahia, no ano de 2010, a produção da fibra de sisal atingiu aproximadamente 140 mil toneladas, cultivados em 68 municípios, alguns desses com maior expressão em termos de produção, como por exemplo: Conceição do Coité, Campo formoso, Valente, dentre outros. No entanto, a produtividade média por hectare concentra-se em 1200 kg/ha (ANDRADE et al., 2010).

O sisal, além de constituir fonte de renda e emprego para um grande contingente de trabalhadores, é um importante agente de fixação do homem à região semiárida nordestina, sendo, em algumas dessas regiões, a única alternativa de cultivo com resultados econômicos satisfatórios. A fibra do sisal,

beneficiada ou industrializada, representa cerca de 80 milhões de dólares em divisas para o Brasil, além de gerar mais de meio milhão de empregos diretos e indiretos por meio de sua cadeia de serviços, que começa com as atividades de manutenção das lavouras, colheita, desfibramento e beneficiamento da fibra e termina com a industrialização e confecção de artesanato (MARTIN et al., 2009).

As principais aplicações da fibra de sisal industrializada são na indústria automobilística e também na fabricação de cordas, barbantes, cabos marítimos, tapetes, sacos, vassouras, estofamentos e artesanato; além disso, tem utilização industrial na fabricação de pasta celulósica para produção do papel Kraft de alta resistência, e de outros tipos de papel fino, como para cigarro, filtro, absorvente higiênico, fralda, etc. (MARTIN et al., 2009).

No artesanato, são produzidas bolsas, tapetes manuais de macramê e tricô, descansadores para painéis, porta-jóias, porta-material didático, etc. (ANDRADE et al., 2010).

Pesquisas vêm sendo desenvolvidas a fim de possibilitar novas utilidades para os subprodutos do sisal, como compósitos plásticos, utilização do resíduo líquido como bio-herbicida, a utilização do resíduo na forma de feno, silagem ou amonizado, como ração para produção de leite ou carne, e, principalmente, para o sustento dos bovinos, caprinos e ovinos no período de estiagem, adicionando aditivos nutricionais (ureia, soja, milho, etc.), que é uma prática ainda pouco utilizada por agricultores da região sisaleira da Bahia (FARIA et al., 2008; ANDRADE et al., 2010).

1.1.1 Extratos vegetais com atividade inseticida

Os produtos naturais inseticidas foram muito utilizados até a década de 40, quando, a partir da II Guerra Mundial, os produtos sintéticos passaram a ganhar espaço. Isso ocorreu devido a pesquisas com produtos biocidas, que se mostraram muito mais potentes e menos específicos que os naturais, até então, utilizados no controle de pragas agrícolas (VIEGAS JUNIOR, 2003).

Os primeiros fitoinseticidas utilizados foram: a nicotina extraída de *Nicotiana tabacum* (Solanaceae), a rianodina extraída de *Ryania speciosa* (Flacuartiaceae), a sabadina e outros alcaloides extraídos de *Schoenocaulon*

officinale (Liliaceae), as piretrinas extraídas do *Chrysanthemum cinerariaefolium* (Asteraceae) e a rotenona extraída de *Derris* spp. e *Lonchocarpus* spp. (Fabaceae) (LAGUNES & RODRÍGUEZ, 1992).

As variações na eficiência do controle, devido às diferenças na concentração do ingrediente ativo entre plantas e, principalmente, o baixo efeito residual, apontava para a necessidade de várias aplicações em períodos curtos, o que fez com que os inseticidas vegetais fossem gradativamente substituídos pelos sintéticos (COSTA et al., 2004). No entanto, quanto a resistência, segundo CRUZ (2002), parece ser menos frequente quando são usados produtos ou formulações não persistentes, ou, de acordo com LIMA et al. (2008), essa menor probabilidade de desenvolvimento de resistência é pela ocorrência de um complexo de princípios ativos.

Nos últimos anos, inúmeras plantas com atividade inseticida, pertencentes a diversas famílias botânicas, têm sido descobertas (GRAINGE & AHMED, 1988). Dentre as espécies estudadas, destacam-se *Azadirachta indica* A. Juss (comumente denominada Nim ou Nime) e *Melia azedarach* (conhecida popularmente por cinamomo, pára-raios ou santa-bárbara) (ROEL et al, 2000), sendo, a primeira, considerada uma das mais eficientes plantas inseticidas já pesquisadas (MORDUE & BLACKWELL, 1993).

Os inseticidas químicos, em geral, possuem um efeito agudo e seu modo de ação (método de causar a morte) é por meio do sistema nervoso, pela inibição da acetilcolinesterase (uma enzima essencial para a transmissão dos impulsos nervosos na sinapse) ou pela ação direta nas células nervosas. A maioria dos inseticidas sintéticos, incluindo os piretroides, são venenos que atuam no sistema nervoso (GULLAN & CRANSTON, 2007). Esses e os fosforados, seguidos dos organoclorados, são os mais utilizados (VIEIRA et al., 2007).

Outros inseticidas químicos afetam os processos metabólicos ou o desenvolvimento dos insetos, seja por imitarem ou interferirem na ação de hormônios, seja por afetarem a bioquímica da produção de cutícula. Dentre esses inseticidas, podemos citar o Nim, *Azadirachta indica*, que, por ser um veneno que atua na alimentação, pode repelir, impedir o estabelecimento e/ou inibir a oviposição, inibir ou reduzir a tomada de alimento, interferir na regulação do

crescimento, bem como a fecundidade, a longevidade e o vigor dos adultos (GULLAN & CRANSTON, 2007).

Os compostos ativos dessa espécie são encontrados no centro das sementes, embora as folhas apresentem uma fonte secundária (SCHMUTTERER, 1990), como demonstrado nos estudos de VIANA & PRATES (2003) com extrato aquoso de folhas de Nim, que causaram elevada mortalidade em *Spodoptera frugiperda*.

As características de produtos naturais, de baixa toxicidade e persistência, fazem com que os extratos vegetais sejam associados a um menor impacto ambiental. Apesar da maior parte dos estudos ainda estar sendo desenvolvida em laboratório, os resultados comprovam que os extratos de plantas podem atuar como protetores de culturas e de produtos vegetais armazenados, inibindo a alimentação e a oviposição, retardando o desenvolvimento, afetando a reprodução e causando mortalidade de insetos-praga (COSTA et al., 2004).

Mesmo que a maioria dos inseticidas vegetais apresente baixa toxicidade a mamíferos e às plantas, há uma concepção errônea de que esses inseticidas são sempre menos tóxicos ou mais seguros que os inseticidas sintéticos. Há inseticidas vegetais registrados que são tóxicos a peixes, insetos benéficos (polinizadores, inimigos naturais de pragas, etc.) e mamíferos. Alguns deles são mais tóxicos ao homem do que certos produtos sintéticos, o que justifica a realização de maiores estudos com extratos vegetais e não a inteira confiabilidade em sua origem natural (MOREIRA et al., 2006).

1.1.2 Atividade biológica do gênero *Agave*

A investigação farmacológica indica que o suco obtido das folhas de *Agave sisalana* estimula a musculatura intestinal e uterina, reduzindo a pressão sanguínea e produzindo aborto em animais gestantes, podendo ainda ser usado para doenças da pele, tratamento da sífilis e como laxante. A seiva da *Agave* tem propriedades antisépticas e é usada para interromper o desenvolvimento de bactérias no estômago e intestino (DEBNATH et al., 2010).

No que se refere à atividade inseticida de plantas da família Asparagaceae, em pesquisas envolvendo o gênero *Agave*, especificamente *Agave sisalana*,

PIZARRO et al. (1999) demonstraram que o extrato pode ser utilizado em campo, na concentração de 100 ppm para o mosquito *Culex quinquefasciatus*, com um aumento do tempo de exposição para três dias, obtendo-se uma mortalidade de 100 % das larvas.

O suco do sisal tem uso comprovado para o controle de nematoides (GONÇALVES JUNIOR, 2002) e carrapatos, ácaros rajados, cupins e lagartas. Para controle de carrapato bovino (*Boophilus microplus*), constatou-se 95% de mortalidade, quando utilizado o extrato bruto, e 100% de mortalidade quando diluído em óleo na proporção 1:1. (OASHI, 1999).

BARRETO et al. (2003) verificaram alta mortalidade (93%) de ácaros rajados da espécie *Tetranychus urticae*, através de ensaios biológicos com extratos da *A. sisalana*. Este mesmo autor, em 2010, publicou uma pesquisa com extratos frescos e curtidos de dois genótipos de *A. sisalana*, e observaram 100% de eficiência do extrato curtido do híbrido 11648, no controle da mesma espécie de ácaro rajado.

CARNEIRO & SANTANA (2007) relataram atividade inseticida do extrato etanólico do resíduo líquido de sisal contra cupins da espécie *Nasutitermes corniger*, sendo encontrado, para a maior concentração utilizada (10g/L), mortalidade acima de 50% em 24 horas de exposição.

SOUZA (2009) obteve 64% de mortalidade para larvas da *Spodoptera frugiperda* submetidas ao extrato hidroetanólico da *A. sisalana*.

BOTURA et al. (2011) avaliaram a atividade antihelmíntica in vivo do extrato aquoso do resíduo de sisal contra nematoides gastrintestinais em cabras, observando ainda o efeito tóxico para esses animais. O resíduo apresentou baixa eficácia para os estágios parasitários e foi moderadamente efetivo contra os ovos e estágios de vida-livre, não apresentando toxicidade para as cabras.

Em atividade antifúngica, conforme os resultados obtidos por KEIDI & PURCHIO (1989), as folhas de *Agave sisalana* apresentaram atividade inibidora pronunciada contra *Cryptococcus neoformans*, *Crebrothecium ashbyi* e *Saccharomyces cerevisiae*, sendo menos ativa contra *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus flavus* (produtor de aflatoxinas) e *A. oryzae*.

SANTOS et al. (2009), ao avaliar a atividade antimicrobiana de extratos de folhas e resíduos resultantes do processo de obtenção de fibras duras de *Agave*

sisalana, observaram que o extrato hidroetanólico obtido de folhas e de resíduo de sisal mostrou significativa inibição de *Candida albicans*.

DUNDER et al. (2010) testaram as propriedades hemolítica, anti-inflamatória e antinociceptiva do extrato hidrolisado de *Agave sisalana* em modelos clássicos de inflamação e sugeriram que o extrato possui atividades anti-inflamatória e analgésica em processos agudos e crônicos.

VERÁSTEGUI et al. (2008), trabalhando com espécies de *Agave* atuando contra bactérias patogênicas e fungos, constatou que *A. picta* produz zonas de inibição de 9–13 mm para *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* e *Vibrio cholerae*, enquanto *Bacillus cereus* e *Yersinia enterocolitica* não foram inibidas. Por outro lado, todas as quatro espécies de *Agave* (*A. lecheguilla*, *A. picta*, *A. scabra* e *A. lophanta*), foram inibitórias contra todas as leveduras e fungos analisados.

1.1.3 Efeito de extratos vegetais no controle da lagarta-do-cartucho

Nesse sentido, para a *S. frugiperda*, algumas pesquisas foram realizadas buscando viabilizar o emprego de plantas inseticidas. Em trabalhos visando identificar espécies com atividade sobre a lagarta-do-cartucho, destacou-se *Trichilia pallida*, pertencente a família Meliaceae (VENDRAMIM, 1997). Além desta espécie, outra citada como promissora no controle de *S. frugiperda*, é *Trichilia pallens* (BOGORNÍ & VENDRAMIM, 2003).

BORGONI & VENDRAMIM (2005), avaliando, em condições de laboratório, o efeito de extratos aquosos de folhas e ramos de *T. casaretti*, *T. catigua*, *T. clauseni*, *T. elegans*, *T. pallens* e *T. pallida*, aplicados em folhas de milho, sobre o desenvolvimento de *S. frugiperda*, verificaram que os extratos de ramos de *T. pallida* e de folhas de *T. pallens* foram os mais eficientes, dentre as seis espécies de *Trichilia* testadas, embora os extratos de folhas de *T. pallida*, *T. catigua*, *T. casaretti* e *T. elegans* e os extratos de ramos de *T. clauseni* e *T. pallens* também tenham afetado o desenvolvimento do inseto.

VIANA & PRATES (2003), estudando o efeito do extrato aquoso de folhas de Nim sobre o desenvolvimento e mortalidade da *S. frugiperda*, realizaram testes em campo, com e sem adjuvantes, e em laboratório, para constatar efeito de

contato e de ingestão. Eles observaram que as folhas submergidas e pulverizadas com o extrato causaram elevada mortalidade (100%) e prejudicaram o desenvolvimento das lagartas sobreviventes, enquanto o extrato pulverizado diretamente sobre o inseto não prejudicou o desenvolvimento larval. Na avaliação em campo, o espalhante adesivo e o óleo de soja, misturados ao extrato, melhoraram a eficiência deste.

SANTOS et al. (2008) avaliaram o potencial inseticida dos extratos aquosos de sementes de *Talisia esculenta* (T.E.) e *Sapindus saponaria* (S.S.) sobre a *Spodoptera frugiperda* e verificaram alta mortalidade (26.71%/T.E.; 63.3%/S.S.) e efeito no peso larval (237.50 mg/T.E.; 86.65 mg/S.S.), quando comparado com o controle (11.3% and 293.45 mg). A eletroforese com gelatina mostrou atividade trípica no intestino médio das lagartas de todos os tratamentos, sendo que, somente as lagartas do tratamento *S. saponaria*, apresentaram diferenças significativas, com uma atividade trípica 10,59% menor. Dessa forma, *Sapindus saponaria* foi superior a *Talisia esculenta*, apresentando bom potencial para uso como agente de controle para *S. frugiperda*.

RODRIGUES et al. (2008) avaliaram, em condições de laboratório, o efeito de extratos etanólicos de *Ocotea minarum*, *Nectandra megapotamica*, *Mascagnia pubiflora*, *Terminalia argentea* e *Tabebuia aurea*, sobre *S. frugiperda* e concluíram que todas as plantas apresentaram atividade inseticida, sendo que *Tabebuia aurea* promoveu maior mortalidade larval. Os extratos de *O. minarum*, *M. pubiflora* e *N. megapotamica* promoveram redução na duração da fase larval, em relação à testemunha e, já para o extrato de *T. argentea* foi observado aumento na duração dessa fase.

Foi constatado por LIMA et al. (2009) que o óleo essencial de pimenta-longa, espécie *Piper hispidinervium* C.DC., possui atividade inseticida sobre *S. frugiperda*, causando redução alimentar e mortalidade, sendo o safrol (82%) seu constituinte majoritário. Além disso, pelo teste de aplicação tópica, foi visualizada toxicidade aguda, sendo também observados sintomas de neurotoxicidade, como agitação, hiperatividade e o efeito *knock-down*.

1.2 *Zea mays* Lineu

O milho (*Zea mays* L.) é uma das principais culturas agrícolas cultivadas no Brasil, não somente pelo aspecto quantitativo, mas também por sua importância estratégica, visto que é a base da alimentação animal e, conseqüentemente, humana (NICOLAI et al., 2006). Além disso, o Brasil é o terceiro maior produtor mundial desse grão, com produção de 52.723,3 mil toneladas (CONAB, 2011).

No Brasil, o milho é explorado na maioria das propriedades agrícolas, desde a pequena propriedade rural, onde é produzido com baixa tecnologia e em caráter de subsistência, até em grandes áreas, com emprego de alta tecnologia e com elevada produtividade, sendo matéria-prima destinada para agroindústria (SILOTO, 2002).

Nessa cultura, a presença de pragas em todos os estádios de desenvolvimento da planta é o que leva a sérias perdas de produtividade, sendo, no Brasil, inferior a dos países mais desenvolvidos. CRUZ et al. (1995) destacaram quatro grupos bem definidos: pragas iniciais, pragas da parte aérea, pragas do colmo e pragas das espigas.

Dentre as pragas iniciais, pode-se citar *Elasmopalpus lignosellus* (Lepidoptera: Pyralidae) que vem se tornando, juntamente com a lagarta-do-cartucho, uma das principais pragas da cultura do milho em condições de campo; *Agrotis ipsilon* (Lepidoptera: Noctuidae), que torna as plantas atacadas totalmente improdutivas devido à secção nos estádios iniciais da cultura e Tripes (Thysanoptera), que ainda é pouco conhecida pelos agricultores, pois têm aumentado de importância em áreas localizadas.

Como pragas da parte aérea, estão *Mocis latipes* (Lepidoptera: Noctuidae); *Deois flavopicta* (Homoptera: Cercopidae); *Peregrinus maidis* (Homoptera: Delphacidae) e *Dalbulus maidis* (Homoptera: Cicadellidae); e *Rhopalosiphum maidis* (Homoptera: Aphididae).

Para as pragas do colmo, pode-se citar *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae) e, dentre as das espigas, está *Helicoverpa zea*, que é considerada uma das mais importantes pragas de milho nos Estados Unidos, causando mais danos que qualquer outro inseto, e *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), a qual, embora mais comum no cartucho da planta, tem aumentado a sua

ocorrência nas espigas, especialmente em função dos insucessos no seu controle ainda no cartucho.

No milho, a lagarta-do-cartucho causa perda de 20% na produção de grãos, quando o desfolhamento ocorre próximo a floração, sendo que os maiores danos ocorrem na fase em que a planta apresenta de 8 a 10 folhas, podendo ocorrer uma redução de 19% no rendimento dos grãos. A larva deste inseto pode atacar em todos os estádios da cultura, assumindo grande importância no México, América Central e América do Sul (ROEL, 1998).

A dimensão das perdas provocadas pode variar em função do cultivar utilizado, da fase fenológica, do sistema de produção empregado e do local de plantio (SARMENTO et al., 2002).

De acordo com CARVALHO (1987), o uso de cultivares resistentes deve fazer parte de uma programação avançada de manejo, pois é uma técnica adequada para ser associada a outros métodos de controle, sendo compatível com todos, como o uso de extratos vegetais, podendo, dessa forma, contribuir para a redução de doses e aplicações de inseticidas químicos sintéticos (COSTA et al., 2004).

1.3 *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797)

A lagarta-do-cartucho, taxonomicamente, pode ser reconhecida pela coloração, que varia de pardo-escura, verde até quase preta. Apresenta ainda três finíssimas linhas longitudinais branco-amareladas na parte dorsal do corpo e, na parte lateral, logo abaixo da linha branco-amarelada, existe uma linha escura mais larga e, inferiormente a esta, uma listra amarela irregular marcada com vermelho. O desenvolvimento da lagarta é do tipo holometabólico, compreendendo as fases de ovo, larva, pupa e adulto (GALLO et al., 1988).

As crisálidas ocorrem no solo e possuem coloração avermelhada. Como característica da família Noctuidae, as larvas são, normalmente, eruciformes (cabeça diferenciada do corpo e três pares de pernas verdadeiras). A mariposa possui as asas anteriores pardo-escuras e as posteriores branco-aczentadas, sendo que, como todos os lepdópteros, são evidenciadas escamas nas asas (GALLO et al., 1988).

FERRAZ (1982), que estudou a influência de diferentes temperaturas (20°C, 25°C, 30°C e 35°C) sobre o ciclo de vida de *S. frugiperda*, concluiu que, quanto menor a temperatura, maior a viabilidade das fases de ovo, lagarta e pupa, havendo o aumento da longevidade. Dessa forma, o ciclo biológico (quantidade de dias para a mudança de ínstares) é alongado em temperaturas mais baixas, assim como o peso é aumentado, devido ao maior período de alimentação. O último instar larval, o que causa maiores prejuízos, foi o que apresentou a maior duração, em todas as temperaturas analisadas.

O período larval depende das condições de temperatura, sendo que, nas condições brasileiras, dura em torno de 15 dias. Findo esse período, a lagarta geralmente vai para o solo, onde se empupa. O período pupal varia de 10 a 12 dias nas épocas mais quentes do ano (CRUZ et al., 1995).

Em muitos lepidópteros, a redução da qualidade ou disponibilidade de alimento retarda o crescimento da lagarta ao invés de causar um tamanho adulto final reduzido (GULLAN & CRANSTON, 2007). Esses fatores externos influenciam ao alongar a duração dos instares larvais, o que interfere no tempo da fase de vida do inseto para completar a metamorfose.

Spodoptera frugiperda é uma espécie polífaga que ataca diversas culturas economicamente importantes em vários países. No Brasil, este inseto pode atacar culturas como milho, sorgo, arroz, trigo, alfafa, feijão, amendoim, tomate, algodão, batata, repolho, espinafre, abóbora, couve, entre outras, ocasionando severos prejuízos, com perdas que variam de 15% a 34% da produção (RODRIGUEZ & VENDRAMIM, 1996).

As lagartas recém-eclodidas alimentam-se da própria casca do ovo. Após essa primeira alimentação, permanecem em repouso por um período variável de duas a dez horas. Quando encontram hospedeiro adequado, começam a alimentar-se dos tecidos verdes, geralmente começando pelas áreas mais suculentas, deixando apenas a epiderme membranosa, provocando o sintoma conhecido como "folhas raspadas". À medida que as lagartas crescem, começam a fazer orifícios nas folhas, podendo causar severos danos às plantas. É comum também o ataque na base da espiga ou mesmo diretamente, nos grãos leitosos (CRUZ et al., 1995).

Os danos vão desde a raspagem das folhas pelas lagartas nos primeiros instares larvais até a destruição total do cartucho do milho pelas lagartas maiores. O período crítico de ataque é o pré-florescimento, sendo tais danos maximizados nas épocas secas do ano (FUNDAÇÃO DE ESTUDOS AGRÁRIOS LUIZ DE QUEIROZ, 1992).

Quando o ataque ocorre nos primeiros estádios da cultura, ele pode provocar a morte das plantas, reduzindo a população inicial. Em estádios mais adiantados, pode-se encontrar a lagarta atacando o pendão e até mesmo as espigas em formação, ocorrendo, dessa forma, em todas as fases de desenvolvimento da planta de milho e em todas as suas estruturas aéreas (LIMA et al., 2008).

É possível identificar a lagarta-do-cartucho em campo, ao notar folhas perfuradas, presença de lagarta no interior do cartucho (pode até existir mais de uma, porém separadas por lâminas foliares) e grande volume de excremento no local do ataque (GALLO et al., 1988).

Baseado em CARVALHO (1970), o momento propício à aplicação de inseticidas no controle da *S. frugiperda* é quando aos danos foliares corresponde uma média de notas da escala visual igual ou superior a 2 e a porcentagem dos danos correspondentes às notas 4 e 5 está próxima de 10% e 5%, respectivamente.

Em função do seu controle depender, quase que exclusivamente, de inseticidas químicos, o inseto tem desenvolvido, ao longo do tempo, resistência às principais classes de inseticidas, através de múltiplos mecanismos para essa resistência, incluindo aumento da taxa de desintoxicação desses inseticidas por enzimas diversas e insensibilidade da acetilcolinesterase (CRUZ, 2002).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, R.; ORNELAS, J. & BRANDÃO, W. 2010. **Situação atual do sisal na Bahia e suas novas possibilidades de utilização e aproveitamento**. Disponível em <http://www.seagri.ba.gov.br/pdf/3_comunicacao01v9n1.pdf> Acesso em 15 de janeiro de 2012.

BARRETO, A.F.; ARAÚJO, E.; BELTRÃO, N.E.M.; CARDOSO, G.D. & SILVA, C.I.R.E.E. 2003. **Efeito de extrato de agave sobre ácaros rajados *Tetranychus***

***urticae* (Koch, 1836) em plantas de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L. r *latifolium* Hutch). Parte da dissertação do 1º autor.** Disponível em <www.cnpa.embrapa.br/produtos/algodao/publicacoes/.../061.pdf> Acesso em 16 de junho de 2010.

BOGORNI, P.C. & VENDRAMIM, J.D. 2003. Bioatividade de extratos aquosos de *Trichilia* spp. sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.32, p. 665-669.

BOGORNI, P.C. & 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**, v. 34, n. 2, p. 311-317

BOTURA, M.B.; SILVA, G.D.; LIMA, H.G.; OLIVEIRA, J.V.A.; SOUZA, T.S.; SANTOS, J.D.G.; BRANCO, A.; MOREIRA, E.L.T.; ALMEIDA, M.A.O. & BATATINHA, M.J.M. 2011. In vivo anthelmintic activity of an aqueous extract from sisal waste (*Agave sisalana* Perr.) against gastrointestinal nematodes in goats. **Veterinary Parasitology**, v. 177, p.104–110

CARNEIRO, F.S.; SANTANA, J.R.F. 2007. Atividade bioinseticida do resíduo líquido de *Agave sisalana* Per. cultivada na Bahia. In: **XII Seminário de Iniciação Científica da UEFS**. Feira de Santana, BA.

CARVALHO, R.P.L. 1987. Pragas do milho. In: PATERNIANI, E. & VIÉGAS, G.P., ed. **Melhoramento e produção do milho**. Campinas, cap. 15, p. 637-712.

CARVALHO, R.P.L. 1970. **Danos, flutuação da população, controle e comportamento de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) e susceptibilidade de diferentes genótipos de milho, em condições de campo.** Tese de Doutorado, ESALQ-USP, Piracicaba, SP. 170p.

CONAB. 2011. **Acompanhamento de safra brasileira: grãos**, Quarto levantamento. Companhia Nacional de Abastecimento, Brasília, DF.

COSTA, E.L.N.; SILVA, R.F.P. & FIUZA, L.M. 2004. Efeitos, aplicações e limitações de extratos de plantas inseticidas. **Acta Biologica Leopoldensia**, v. 26, n 2, p. 173-185

CRUZ, I.; WAQUIL, J.M.; VIANA, P.A. & VALICENTE, F.H. 1995. **Pragas: diagnóstico e controle**. ARQUIVO DO AGRÔNOMO N° 2. 2ª ed – ampliada e totalmente modificada.

CRUZ, I. 2002. **Manejo da resistência de insetos-praga a inseticidas, com ênfase em *Spodoptera frugiperda* (Smith)**. Documentos 21. Embrapa, Sete Lagoas – MG.

DEBNATH, M.; PANDEY, M., SHARMA, R.; THAKUR, G.S. & LAL, P. 2010. Biotechnological intervention of *Agave sisalana*: A unique fiber yielding plant with medicinal property. **Journal of Medicinal Plants Research**, v 4, n. 3, p. 177-187.

DUNDER, R.J.; QUAGLIO, A.E. V.; MACIEL, R.P.; LUIZ-FERREIRA, A.; ALMEIDA, A.C.A.; TAKAYAMA, C.; FARIA, F.M. & SOUZA-BRITO, A.R.M. 2010. Anti-inflammatory and analgesic potential of hydrolyzed extract of *Agave sisalana* Perrine ex Engelm., Asparagaceae. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 20, n.3, p. 376-381.

FARIA, M.M. de S.; JAEGER, S.M.P.L.; OLIVEIRA, G.J.C.; OLIVEIRA, R.L.; LEDO, C.A. da S. & SANTANA, F.S. 2008. Composição bromatológica do co-produto do desfibramento do sisal tratado com uréia. **R. Bras. Zootec.**, v.37, n.3, p.377-382

FERRAZ, MARIA CLARICE VASCONCELOS DIAS. 1982. **Determinação das exigências térmicas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera, Noctuidae) em cultura de milho**. Dissertação de Mestrado em Entomologia, Escola Superior de agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP. 81p.

FUNDAÇÃO DE ESTUDOS AGRÁRIOS LUIZ DE QUEIROZ. 1992. **Curso de entomologia aplicada à agricultura**. Piracicaba, SP, 760p

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

GONÇALVES JUNIOR. 2002. **Avaliação de extratos de Agave no controle de galhas radiculares do tomateiro**. Dissertação de mestrado em agronomia, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba, Areia (PB). 31 f.

GRAINGE, M. & AHMED, S. 1988. **Handbook of plants with pest-control properties**. NewYork: JohnWiley, 470p.

GULLAN, P.J. & CRANSTON, P.S. 2007. **Os insetos: um resumo de entomologia**. São Paulo: Roca, 440p. 3ª Ed.

KEIDI, U. & PURCHIO, A. 1989. Substâncias antifúngicas, inibidoras de *Aspergillus flavus* e de outras espécies fúngicas, isoladas de *Agave sisalana* (sisal). **Ciênc. cult. (São Paulo)**, v. 41, n. 12, p. 1218-24

LAGUNES, T.A. & RODRÍGUEZ, H.C. 1992. **Los extractos acuosos vegetales con actividad insecticida: el combate de la conchuela del frijol**. Texcoco: USAID-CONACYT-SMECP, 57p.

LIMA, J.F.M.; GRÜTZMACHER, A.D.; CUNHA, U.S.; PORTO, M.P.; MARTINS, J.F.S. & DALMAZOI, G.O. 2008. Ação de inseticidas naturais no controle de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho cultivado em agroecossistema de várzea. **Ciência Rural**, v.38, n.3, p. 607-613.

LIMA, R. K.; CARDOSO, M. G.; MORAES, J. C.; MELO, B. A.; RODRIGUES, V. G. & GUIMARÃES, P. L. 2009. Atividade inseticida do óleo essencial de pimenta longa (*Piper hispidinervum* C. DC.) sobre lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Acta amazônica**, v. 39, n. 2, p. 377 – 382.

MARTIN, A.R.; MARTINS, M.A.; MATTOSO, L.H.C. & SILVA, O.R.R.F. 2009. Caracterização Química e Estrutural de Fibra de Sisal da Variedade *Agave sisalana*. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, vol. 19, nº 1, p. 40-46.

MORDUE, A.J. & BLACKWELL, A. 1993. Azadirachtin: an update. **Journal of Insect Physiology**, Oxford, v.39, n.11, p.903-924.

MOREIRA, M.D.; PICANÇO, M.C.; SILVA, É.M.; MORENO, S.C. & MARTINS, J.C. 2006. **Uso de inseticidas botânicos no controle de pragas**. Disponível em <[http://xa.yimg.com/kq/groups/25029988/865598723/name/Capitulo+livro+Control e+Alternativo%5B1%5D.pdf](http://xa.yimg.com/kq/groups/25029988/865598723/name/Capitulo+livro+Control+e+Alternativo%5B1%5D.pdf)>. Acesso em julho de 2011.

NICOLAI, M.; CARVALHO, S.J.P.; LÓPEZ-OVEJERO, R.F.; CHRISTOFFOLETI, P.J. 2006. Aplicação conjunta de herbicidas e inseticidas na cultura do milho. **Bragantia**, Campinas, v.65, n.3, p.413-420

OASHI, M. C. G. 1999. **Estudo da cadeia produtiva como subsídio para pesquisa e desenvolvimento do agronegócio do sisal na Paraíba**. 1998. Tese de doutorado (Engenharia de produção), Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina, 123 f.

OLIVEIRA, M.S.S.; ROEL, A.R.; ARRUDA, E.J. & MARQUES, A.S. 2007. Eficiência de produtos vegetais no controle da lagarta-do-cartucho-do-milho

Spodoptera frugiperda (J.E.Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Ciênc. Agrotec.**, Lavras, v.31, n.2, p.326-331.

PIZARRO, A.P. B.; FILHO, A.M.O.; PARENTE, J.P.; MELO, M.T.V.; SANTOS, C.E. dos & 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** v. 32, p. 23-29.

RODRIGUES, S.R.; COUTINHO, G.V.; GARCEZ, W.S; GARCEZ, F.R. & ZANELLA, D.P.F. 2008. Atividade inseticida de extratos etanólicos de plantas sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Agrarian**, v.1, n.1, p.133-144.

RODRIGUEZ H.C. & VENDRAMIM, J.D. 1996. Avaliação da bioatividade de extratos aquosos de Meliaceae sobre *Spodoptera frugiperda* (L.E. Smith). **Revista da Agricultura**, Piracicaba, v.72, p.305-318.

ROEL, A.R. 1998. **Efeito de extratos orgânicos de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) na sobrevivência e desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera:Noctuidae).**1997. Tese de Doutorado (Entomologia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz / USP, Piracicaba, 115 f.

ROEL, A. R.; VENDRAMIM, J. D.; FRIGHETTO, R. T. S. & FRIGHETTO, N. 2000. Efeito do extrato acetato de etila de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) no desenvolvimento e sobrevivência da Lagarta-do-Cartucho. **Bragantia**, Campinas, v. 59, n. 1, p. 53-58.

SANTOS, J.D.G; BRANCO, A., SILVA, A.F.; PINHEIRO, C.S.R.; NETO, A.G.; UETANABARO, A.P.T.; QUEIROZ, S.R.O.D. & OSUNA, J.T.A. 2009. Antimicrobial activity of *Agave sisalana*. **African Journal of Biotechnology**, v. 8, n. 22.

SANTOS, W.L.; FREIRE, M.G.M.; BOGORNI, P.C.; VENDRAMIM, J.D. & MACEDO, M.L.R. 2008. Effect of the Aqueous Extracts of the Seeds of *Talisia esculenta* and *Sapindus saponaria* on Fall Armyworm. **Braz. Arch. Biol. Technol**, v.51, n.2, p 373-383

SARMENTO, R.A.; AGUIAR, R.W.S.; AGUIAR, R.A.S.S.; VIEIRA, S.M.J.; OLIVEIRA, H.G. & HOLTZ, A.M. 2002. Revisão da biologia, ocorrência e controle de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera, Noctuidae) em milho no Brasil. **Biosci J.**, v.18, n. 2, p. 41-48.

SCHMUTTERER, H 1990. Proprieties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. **Annual Review of entomology** v. 35, p. 271-97

SILOTO, R.C. 2002. **Danos e biologia de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em genótipos de milho**. Dissertação de mestrado em Ciências, Área de concentração entomologia, da Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.

SILVA, O.R.R.F.; COUTINHO, W.M.; CARTAXO, W.V.; SOFIATTI, V.; SILVA FILHO, J.L.; CARVALHO, O.S. & COSTA, L.B. 2008. **Cultivo do sisal no nordeste brasileiro**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 24p. (Circular Técnica, 123).

SILVA, O.R.R.F.; SUINAGA, F.A. & COUTINHO, W.M. 2006. Cadeia produtiva. In: ANDRADE, W (Org.). **O sisal do Brasil**. Salvador: SINDIFIBRAS-Sindicato das Indústrias de Fibras Vegetais da Bahia, 156 p.

SOUZA, M.F. 2009. **Atividade inseticida de extratos obtidos a partir do resíduo líquido de *Agave sisalana* Perrine no controle da praga *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho**. Tese de mestrado em Biotecnologia da Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, BA. 64p.

SOUZA, V.C. & LORENZZI, H. 2008. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II**. 2ª ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum.

THE PLANT LIST. 2010. **Versão 1. Publicada na Internet; Disponível em** <<http://www.theplantlist.org/>>. Acesso em 17 de janeiro de 2012.

VENDRAMIM, J.D. 1997. **Uso de plantas inseticidas no controle de pragas**. In: CICLO DE PALESTRAS SOBRE AGRICULTURA ORGÂNICA, 2., 1997, Campinas. **Anais..** Campinas, Fundação Cargill, p.64-69.

VERÁSTEGUI, A.; VERDE, J.; GARCÍA, S.; HEREDIA, N.; ORANDAY, A. & RIVAS, C. 2008. Species of *Agave* with antimicrobial activity against selected pathogenic bacteria and fungi. **World J. Microbiol. Biotechnol.**, v. 24, p. 1249-1252.

VIANA, P.F. & PRATES, H.T. 2003. Desenvolvimento e mortalidade larval de *Spodoptera frugiperda* em folhas de milho tratadas com extrato aquoso de folhas de *Azadirachta indica*. **Bragantia**, Campinas, v.62, n.1, p.69-74.

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

VIEIRA, P.C.; FERNANDES, J.B. & ANDREI, C.C. 2007. **Plantas inseticidas. In:** SIMÕES, C.M.O. et al. (org.). Farmacognosia: da planta ao medicamento. 6ª Ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC.

CAPÍTULO I

COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO RESÍDUO LÍQUIDO DE SISAL E TOXICIDADE FOLIAR DOS EXTRATOS SOBRE O MILHO

COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO RESÍDUO LÍQUIDO DE SISAL E TOXICIDADE FOLIAR DOS EXTRATOS SOBRE O MILHO

Milena Ferreira Costa¹; Juan Tomás Ayala Osuna²; Hugo Neves Brandão²; Mitsue Haraguchi³; Carlos Alberto da Silva Ledo⁴; Adriana Rodrigues Passos²; Marilza Neves do Nascimento²; Pedro Luis da Costa Aguiar Alves⁵

¹ Bolsista FAPESB. Programa de Pós-graduação em Recursos Genéticos Vegetais. Departamento de Ciências Biológicas. Unidade Experimental Horto Florestal. Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS) - mile.fcosta@gmail.com.

² Programa de pós-graduação em Recursos Genéticos Vegetais. Departamento de Ciências Biológicas. Unidade Experimental Horto Florestal. Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS) - juanayala@uol.com.br; hugohnb@gmail.com; adrianarpassos@yahoo.com.br; marilzaagro@hotmail.com

³ Centro de Sanidade Animal. Instituto Biológico. São Paulo, SP - haraguchi@biologico.sp.gov.br

⁴ Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e Fruticultura Tropical - ledo@cnpmf.embrapa.br

⁵ Professor adjunto da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - plalves@fcav.unesp.br

RESUMO

A presente pesquisa teve como objetivo realizar triagem fitoquímica com o resíduo líquido de *Agave sisalana*, através de dois processos distintos de extração, coletado nos anos de 2010 e 2011, em Valente (BA), bem como avaliar a toxicidade dos extratos do suco de sisal em plantas de milho. Foram realizados testes colorimétricos e de precipitação para detecção dos componentes químicos do resíduo e, para efeito de fitotoxicidade, as concentrações dos extratos do resíduo (etanólico, butanólico e acetato de etila) foram testadas em comparação com os inseticidas natural Nim, o sintético Lannate e água destilada, sendo atribuídas notas de acordo com a intensidade dos sintomas. Foram encontrados indícios da presença de taninos, triterpenoides e saponinas em todas as amostras do resíduo, sendo que em amostras não levadas à decocção foram encontrados ainda alcaloides e cumarinas. Em ambos os experimentos de fitotoxicidade, o extrato acetato de etila foi o que proporcionou os menores efeitos, enquanto o extrato etanólico causou os maiores danos, dentre os tratamentos. Os extratos vegetais não causaram danos significativos em relação aos controles utilizados. Foi observado que o número de pulverizações aumenta a fitotoxicidade.

Palavras-chave: *Agave sisalana*, Metabólitos secundários, Fitotoxicidade, *Zea mays*

ABSTRACT

This research was aimed to perform phytochemical screening with liquid residue of *Agave sisalana*, through two distinct processes of extraction, collected in the years 2010 and 2011, in Valente (BA), well as to assess the toxicity of extracts from sisal juice in maize plants. Colorimetric tests and precipitation were carried out for detection of chemical components of the waste. For the evaluation of phytotoxicity, different concentrations of the extracts of the residue (ethanolic, butanolic and ethyl acetate) was tested in comparison with natural insecticide Nim, the synthetic Lannate and distilled water, and assigned values according to symptom severity. In all the samples of the residue were found indication of the presence of tannins, triterpenoid and saponins and, in samples not taken to the decoction were found also alkaloids and coumarins. In both experiments phytotoxicity, the ethyl acetate extract provided the smallest effects, while the ethanolic extract caused the greatest damage, among the treatments. The extracts vegetables no caused significant effect of damage compared to the controls used. It was observed that the number of sprayings increases phytotoxic damage to the crop.

Keywords: *Agave sisalana*, secondary metabolites, Phytotoxicity, *Zea mays*

1 INTRODUÇÃO

Os componentes do metabolismo secundário de uma planta dizem respeito a todas aquelas substâncias que, embora não sejam necessariamente essenciais para o organismo produtor, garantem vantagens para sua sobrevivência e para a perpetuação de sua espécie, em seu ecossistema (SANTOS, 2007).

BARRETO et al. (2003) descrevem a presença de taninos, alcaloides e cumarinas, além das saponinas, já confirmadas como constantes do resíduo líquido de *Agave sisalana* (PIZARRO et al., 1999; ZOU et al., 2006). ADE-AJAYI et al. (2011) encontraram ainda glicosídeos, terpenoides e flavonoides no extrato aquoso de *A. sisalana*, salientando a ausência de esteroides.

No entanto, BRANCO et al. (2010) relatam que, somadas a essas, estão os esteroides e açúcares, como o d-manitol, importante suporte/ agente estabilizante em comprimidos, e um excelente regulador osmótico e diurético em neuroanestesia.

Muitas pesquisas vêm sendo desenvolvidas com a finalidade de viabilizar o emprego de plantas com atividade inseticida no controle de pragas (VIANA & PRATES, 2003; BORGONI & VENDRAMIM, 2005; LIMA et al., 2009). Da mesma forma, *Agave sisalana* tem apresentado tal atividade (PIZARRO et al., 1999; GONÇALVES JUNIOR, 2002; BARRETO et al., 2003, 2010; SOUZA, 2009).

Entre as limitações ao uso de extratos vegetais no campo, podem ser apontadas a falta de dados, principalmente no Brasil, relacionados à fitotoxicidade, à persistência e aos efeitos sobre organismos benéficos. Além disso, o isolamento de princípios ativos, a concentração em diferentes partes vegetais, a disponibilidade de matéria-prima, a seleção de solventes e as técnicas de conservação e aplicação dos produtos também devem ser mais pesquisados (COSTA et al., 2004).

Tendo em vista que os estudos com *Agave sisalana* ainda são incipientes e que a diferença de constituição apresentada em trabalhos com essa espécie pode ser explicada pela localidade em que foi coletada, objetivou-se realizar levantamento prévio da composição química de amostras do resíduo líquido de sisal, levadas a dois diferentes processos de obtenção, coletadas no município de Valente (BA) e, em contrapartida, testar os efeitos dos extratos etanólico, butanólico e acetato de etila elaborados desse resíduo, em duas épocas de pulverização, a fim de comprovar a toxicidade foliar para o milho.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O resíduo industrial da *Agave sisalana* foi coletado diretamente nos locais de produção de sisal, entre os municípios de Valente e São Domingos (BA), e separado em duas partes. À primeira foi adicionada água destilada na proporção de 1:1 p/v e submetida à decocção a 90°C por uma hora (Parte A). A outra parte apenas não foi levada a aquecimento (Parte B). As coletas foram realizadas nos anos de 2010, resultando nas partes A1 e B1; e 2011, que deu origem às partes A2 e B2.

As partes A e B foram filtradas a fim de separar a mucilagem do líquido, sendo os sucos transportados para o Laboratório de Extração de Produtos

Naturais, localizado na Unidade Experimental Horto Florestal, onde foram conduzidos os experimentos.

Os sucos de sisal coletados foram distribuídos em bandejas plásticas e levados para a estufa a 60 °C para eliminação da água, até a obtenção do resíduo bruto concentrado, sendo este triturado.

Para a triagem fitoquímica, foi utilizada a metodologia proposta por MATOS (1997), com modificações, sendo realizados testes colorimétricos e de precipitação para qualificar presença de fenóis, taninos, cumarinas, esteroides, triterpenoides, saponinas, alcaloides, flavonoides, antocianinas e compostos antraquinônicos. A mudança de coloração evidente e/ou a observação de precipitado foram considerados para a conclusão de resultado positivo.

2.1 Testes para detecção de compostos do metabolismo secundário.

2.1.1 Análise de antraquinonas

Após a obtenção do extrato hexânico através da diluição de 0,3g de resíduo bruto em 5 ml de hexano, esse foi transferido para tubo de ensaio e cerca de 1 mL de NH_4OH a 6N foi adicionado à solução (Figura 1A). Após agitação, foi observada a reação. Coloração rósea ou vermelha da camada aquosa indica possível presença de compostos antraquinônicos livres (reação de Borntraeger).

2.1.2 Análise de alcaloides

Foi pesado 1g do resíduo bruto e diluído em 50mL de solução de ácido acético a 5%. A mistura foi aquecida em banho-maria até fervura e, transferida para funil de separação, onde foi alcalinizada com hidróxido de amônio (NH_4OH) a 10% e, em seguida, adicionados 20mL de clorofórmio. A solução foi agitada e deixada em repouso por alguns minutos para retirada da fase clorofórmica, que foi colocada em banho-maria para evaporação. Ao resíduo resultante, adicionou-se HCl a 1% e, dessa solução, uma gota foi colocada em lâmina de vidro ao lado de uma gota do reagente de Dragendorff (Figura 1B). Estas soluções foram colocadas em contato e observou-se a reação. O aparecimento de precipitado indica a possível presença de alcaloides.

2.1.3 Análise de flavonoides

O extrato hidroalcoólico foi submetido a duas reações: com hidróxidos alcalinos, empregando 0,5 mL de solução de NaOH 1 N, e com solução alcoólica ácida com fragmentos de magnésio (Reação de Shinoda) (Figura 1C). Na primeira reação, ocorrerá mudança de coloração conforme o tipo de flavonoide e na reação de Shinoda, a solução que supostamente contenha flavonoides, varia a coloração de rósea a vermelha.

2.1.4 Análise de esteroides e triterpenoides

Foi realizado a partir de 10mL do extrato hidroalcoólico, o qual foi levado a banho-maria até secura total. Em seguida, extraiu-se o resíduo seco com 1-2 mL de clorofórmio, por duas a três vezes, sendo a solução filtrada para tubo de ensaio usando funil contendo algodão com Na₂SO₄ anidro. Foram adicionados 1mL de anidrido acético e 3 gotas de H₂SO₄ concentrado ao filtrado (Figura 1C), agitado suavemente e observada a reação. O aparecimento da coloração azul seguida de verde permanente é indicativa da possível presença de esteroides livres, enquanto o aparecimento da coloração entre parda e vermelha indica a possível presença de triterpenoides.

2.1.5 Análise de saponinas

Foi utilizado o resíduo insolúvel em clorofórmio do teste anterior, rediluído em 5-10mL de água destilada e filtrado para tubo de ensaio (Figura 1C). A solução foi fortemente agitada e observada a formação de espuma. Espuma persistente e abundante indica a possível presença de saponinas.

2.1.6 Análise de fenóis e taninos

O teste para fenóis foi conduzido a partir da adição de 3 gotas de solução alcoólica de FeCl₃ ao extrato aquoso do resíduo concentrado bruto de sisal e posterior agitação, sendo avaliado o resultado da reação. Coloração variável entre o azul e o vermelho é indicativo da possível presença de fenóis. Na detecção de taninos, foram realizadas duas reações: uma em que 2 mL do extrato aquoso foram adicionados de 5 gotas de acetato de chumbo a 10% e outra com adição de acetato de cobre a 3% em igual quantidade do extrato (Figura 1D). O

aparecimento de precipitado indica possível presença de taninos.

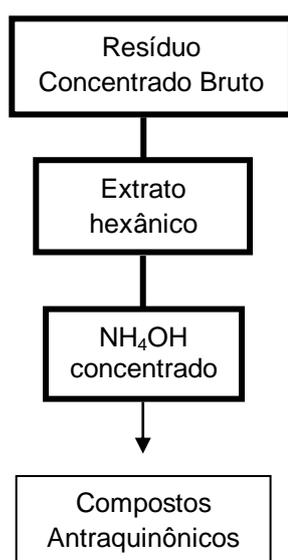
2.1.7 Análise de cumarinas

Foram feitas duas manchas de aproximadamente 1,5 cm de diâmetro com o extrato aquoso do sisal em um pedaço de papel filtro não fluorescente e, sobre uma delas, foi aplicada 1 gota de solução alcoólica de KOHN (Figura 1D). Esse conjunto foi exposto à ação de luz U.V. e verificada a fluorescência da mancha alcalinizada, sendo considerada positiva para a possível presença de cumarinas ao apresentá-la.

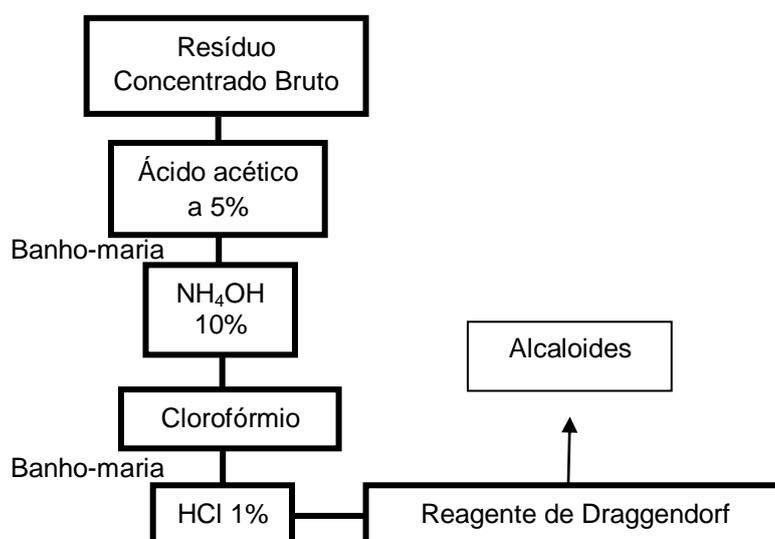
2.1.8 Análise de antocianinas

O extrato aquoso do resíduo de sisal foi filtrado para 3 tubos de ensaio e conduzido, respectivamente, a valores de pH ácido, neutro e alcalino. Para pH ácido, foram adicionadas de 3 a 4 gotas de HCl 6N; para pH básico, adicionadas entre 3 a 4 gotas de NH_4OH 6N e o extrato aquoso foi considerado com pH aproximadamente neutro (Figura 1D). Em suposta presença de antocianinas, o meio ácido adquire coloração vermelha e o meio básico varia de lilás a azul-púrpura.

A)



B)



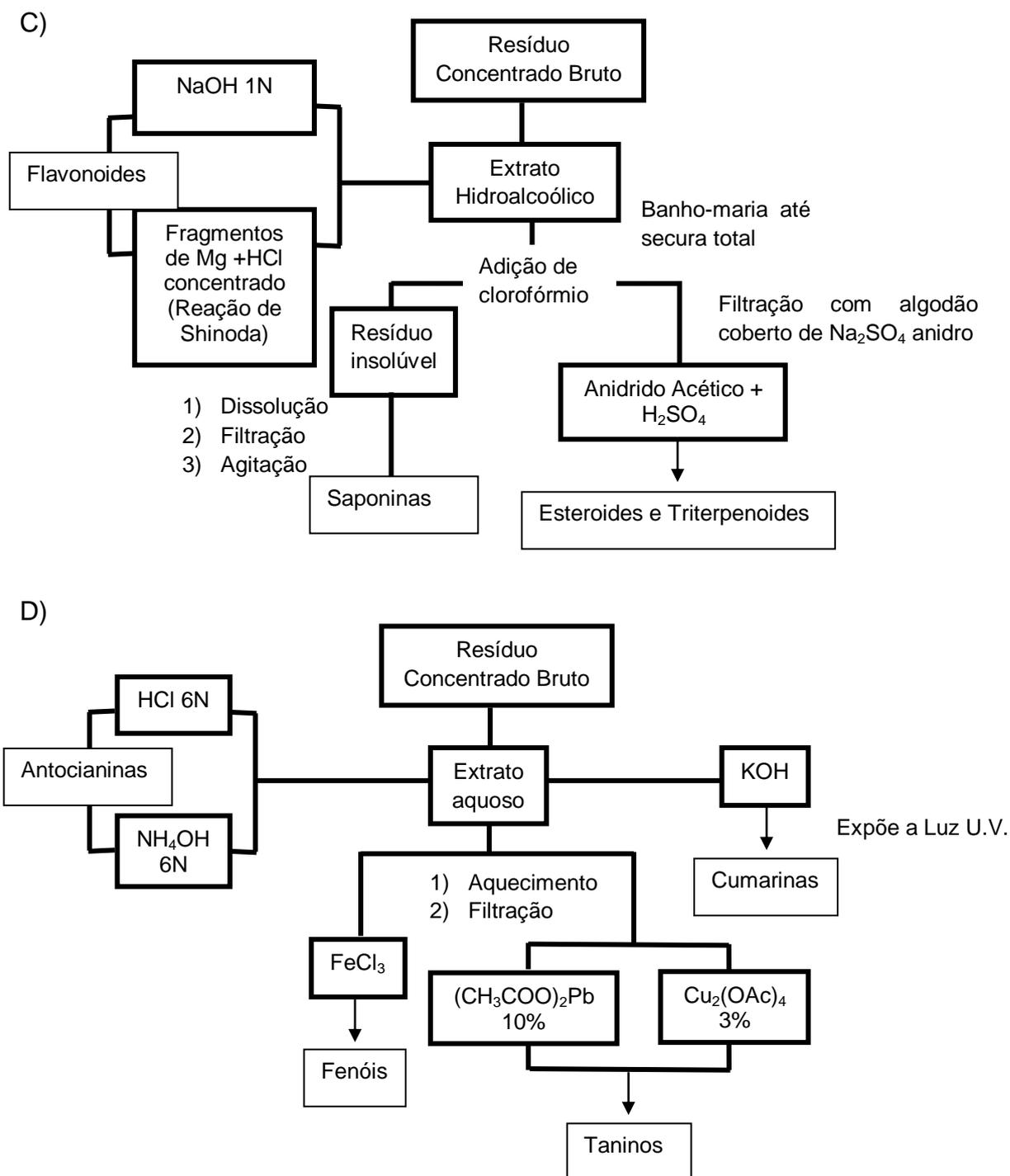


Figura 1. Esquemas representativos da metodologia de triagem fitoquímica de amostras do resíduo líquido de *Agave sisalana*. A: Teste para detecção de compostos antraquinônicos; B: Teste para detectar alcaloides; C: Testes para flavonoides, saponinas, esteroides e triterpenoides, realizados a partir do extrato hidroalcoólico e D: Testes para antocianinas, fenóis, taninos e cumarinas, realizados a partir do extrato aquoso.

2.2 Obtenção dos extratos para os testes de fitotoxicidade

Os extratos etanólico, butanólico e acetato de etila foram obtidos a partir do resíduo líquido de sisal levado a decocção, cuja metodologia se encontra esquematizada nas Figuras 2 e 3. Para uso nos experimentos, os extratos foram diluídos em água destilada, obtendo-se as concentrações apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Tratamentos utilizados para avaliação da toxicidade foliar do resíduo líquido de *Agave sisalana*

<i>Tratamentos</i>	<i>Código</i>	<i>Composição</i>
1	ET 1,25	Extrato vegetal etanólico a 1,25%
2	ET 2,5	Extrato vegetal etanólico a 2,5%
3	ET 5	Extrato vegetal etanólico a 5%
4	ET 7,5	Extrato vegetal etanólico a 7,5%
5	ET 10	Extrato vegetal etanólico a 10%
6	BUT 1,5	Extrato vegetal butanólico a 1,5%
7	BUT 3	Extrato vegetal butanólico a 3%
8	ACET 2	Extrato vegetal acetato de etila a 2%
9	NIM	Inseticida Natural Nim-I-Go
10	QUIM	Inseticida Sintético
11	AD	Água destilada

2.3 Teste de fitotoxicidade de extratos obtidos do resíduo de sisal

Para os testes de toxicidade foliar, foram instalados dois experimentos em casa de vegetação da Unidade Experimental Horto Florestal, utilizando o delineamento experimental em blocos casualizados com 11 tratamentos e 4 repetições. Para tanto, foram utilizadas as sementes de milho da cultivar BR 106, adquiridas em casa de comercialização de produtos agropecuários.

Em comparação com os extratos vegetais, foram utilizados, para controle positivo, o inseticida vegetal Nim-I-Go e o inseticida sintético Lannate, cujo

composto majoritário é o metomil, nas concentrações de 3% (300 ml/100 L de água) e 0,6 L/ha ou 129g/ha, respectivamente, determinadas pelos fabricantes. Para controle negativo foi usada água destilada.

Os tratamentos foram pulverizados nas folhas de milho, aos 45 dias de idade, período de maior incidência da praga, com o auxílio de Pulverizadores Export Guarany, com capacidade para 370ml, ao entardecer, sendo separados por lona plástica, para evitar que, no momento da aplicação, houvesse deriva entre eles.

A avaliação foi realizada 24 horas após as aplicações, sendo utilizada a escala proposta pelo Comitê de Métodos do Conselho Europeu de Pesquisa sobre Plantas Daninhas (EUROPEAN WEED RESEARCH COUNCIL, 1964): 1=Nulo, 2=Muito leve, 3=Leve, 4=Baixa, 5=Média, 6=Quase forte, 7=Forte, 8=Muito Forte e 9=Total (Destruição completa). Na atribuição das notas de toxicidade, foram considerados o grau de clorose e enrugamento das folhas (Figura 4)

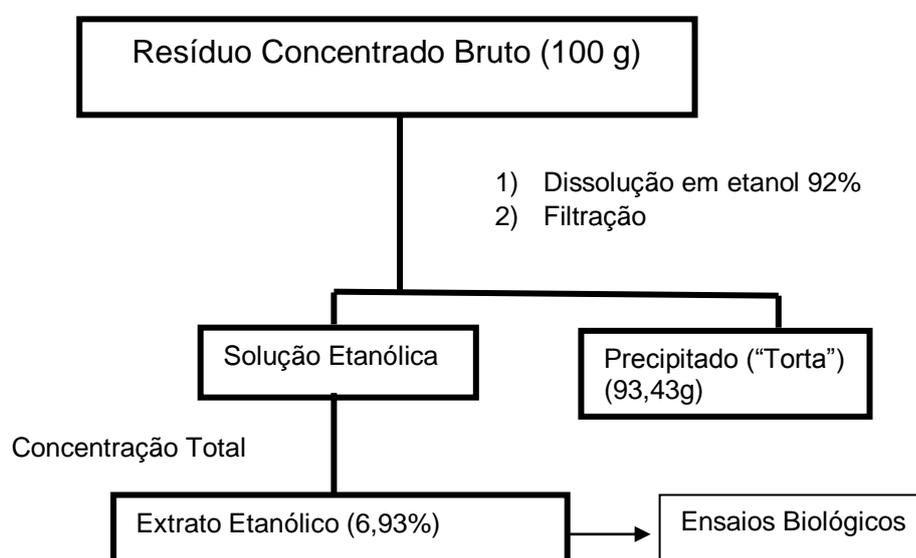


Figura 2. Esquema representativo da metodologia para obtenção do extrato vegetal etanólico.

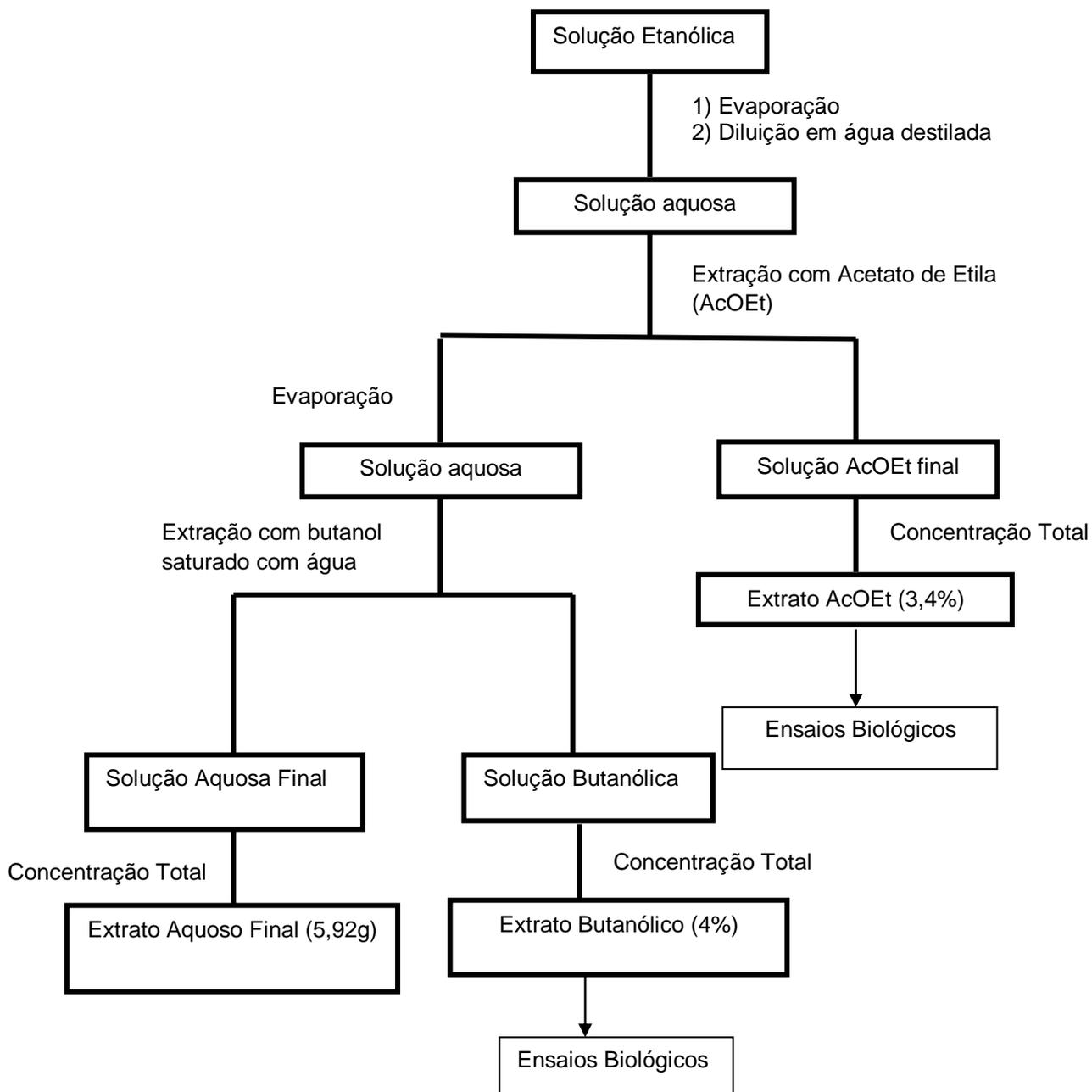


Figura 3. Esquema representativo da metodologia de obtenção dos extratos vegetais butanólico e acetato de etila, a partir da solução etanólica obtida para o extrato anterior.



Figura 4. Efeitos de fitotoxicidade observados nos tratamentos.

No primeiro experimento, a parcela experimental contou com nove plantas e, no momento da aplicação, 30 ml de cada tratamento foram distribuídos uniformemente em todas as quatro repetições. As avaliações foram realizadas por comparação geral entre os extratos vegetais e os controles. Por isso não houve variância e os dados obtidos foram inseridos em tabela (Tabela 3).

Já no segundo experimento, a toxicidade foliar foi avaliada por planta, sendo que cada parcela experimental contou com três plantas e as pulverizações foram realizadas de forma que cada planta recebesse, em média, 2,5 ml do tratamento correspondente. Após 15 dias, foi realizada uma nova aplicação e avaliação dos tratamentos.

Os dados obtidos nesse experimento foram submetidos à análise de variância segundo o modelo estatístico do delineamento em blocos casualizados no esquema de parcelas subdivididas no tempo. As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste t de contrastes ortogonais (Tabela 2) e de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Para as médias dos tratamentos compostos por extrato vegetal à base de etanol (Tratamentos 1 a 5. Tabela 1) foram ajustados modelos de regressão polinomial. As médias das épocas de avaliação foram comparadas pelo teste F a 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas pelo programa estatístico SAS – *Statistical Analysis System* (SAS Institute Inc., 2006).

Tabela 2. Descrição dos contrastes ortogonais para os tratamentos com extratos vegetais de *Agave sisalana* e os controles, utilizados para testar o efeito fitotóxico da espécie.

<i>Contrastes ortogonais</i>	<i>Comparação</i>
$\hat{Y}_1 = 3\hat{m}_1 + 3\hat{m}_2 + 3\hat{m}_3 + 3\hat{m}_4 + 3\hat{m}_5 + 3\hat{m}_6 + 3\hat{m}_7 + 3\hat{m}_8 - 8\hat{m}_9 - 8\hat{m}_{10} - 8\hat{m}_{11}$	Efeito dos extratos vegetais versus os tratamentos controles
$\hat{Y}_2 = \hat{m}_9 + \hat{m}_{10} - 2\hat{m}_{11}$	Efeito dos controles positivos (NIM e Lannate) versus o controle negativo (água)
$\hat{Y}_3 = \hat{m}_9 - \hat{m}_{10}$	Efeito do controle positivo natural versus o controle positivo sintético
$\hat{Y}_4 = \hat{m}_1 + \hat{m}_2 + \hat{m}_3 + \hat{m}_4 + \hat{m}_5 + \hat{m}_6 + \hat{m}_7 - 7\hat{m}_8$	Efeito dos extratos vegetais à base de etanol e butanol versus o extrato vegetal à base de acetato de etila
$\hat{Y}_5 = 2\hat{m}_1 + 2\hat{m}_2 + 2\hat{m}_3 + 2\hat{m}_4 + 2\hat{m}_5 - 5\hat{m}_6 - 5\hat{m}_7$	Efeito dos extratos vegetais à base de etanol versus os extratos vegetais à base butanol
$\hat{Y}_6 = \hat{m}_6 - \hat{m}_7$	Efeito do extrato vegetal à base de butanol 1,5% versus o extrato vegetal à base de butanol 3%

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Triagem fitoquímica de amostras do resíduo líquido de *Agave sisalana*

Na parte A1 foi detectada a possível presença de taninos através da ocorrência de precipitação para a reação com acetato de chumbo e acentuada

mudança de coloração pela adição de acetato de cobre, embora não tenha ocorrido a formação de precipitado com este último (Figura 5A). Para o teste de flavonoides foi observada pequena turvação na reação com NaOH e cor levemente mais escura na reação de Shinoda, sendo interpretada como positiva (Figura 5B). O controle, nesse teste, apresentou diferença da amostra seguinte devido a diluição para permitir melhor visualização da reação. No teste para esteroides e triterpenoides pode-se considerar que, como foi visualizada clara mudança de cor entre parda e vermelha, esse resultado é, possivelmente, positivo para a presença de triterpenoides (Figura 5C). A amostra foi considerada intensamente positiva para a detecção de saponinas (Figura 5D).

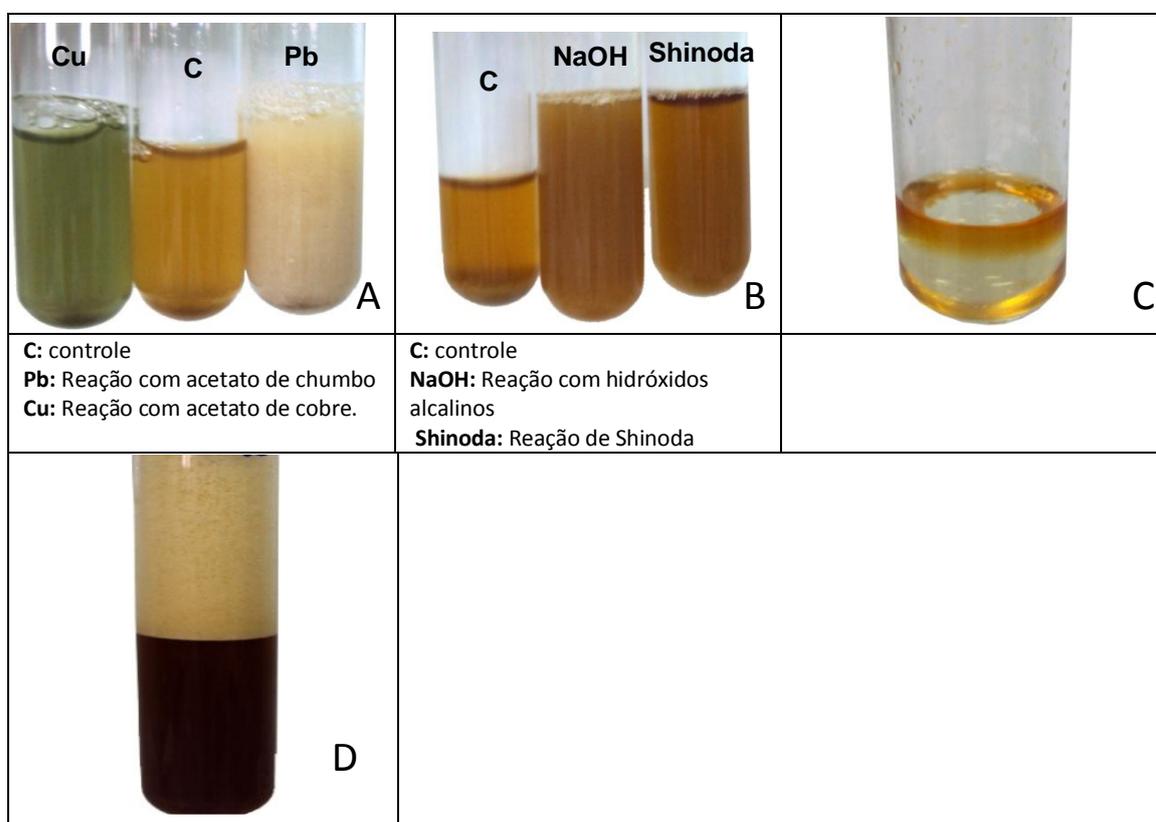


Figura 5. Resultados dos testes realizados para a parte A1. A- Taninos, B- flavonoides, C- triterpenoides e D- saponinas.

Considerando a parte B1 do resíduo líquido de sisal, no teste para presença de taninos, houve mesmo resultado observado para o resíduo anterior (Figura 6A), sendo a amostra considerada positiva. Houve turvação, viscosidade e

mudança de coloração no teste de flavonóides, para a reação com NaOH (Figura 6B), enquanto na reação de Shinoda foi apresentado um tom levemente mais avermelhado (Figura 6C), considerando, dessa forma, como resultado positivo. Além disso, no teste indicativo de cumarinas, a amostra foi considerada positiva, apresentando fluorescência (Figura 6D) e foi observada leve precipitação no teste para detecção de alcaloides, sendo a amostra fracamente positiva (Figura 6E). Como para a amostra anterior, foi visualizada a presença de saponinas (Figura 6F) e triterpenoides (Figura 6G), da mesma maneira.

Para a parte A2, houve ocorrência de precipitação no teste com acetato de chumbo e, embora o controle apresente coloração diferente da reação com acetato de cobre, essa não será interpretada como reação positiva, pois tal controle foi diluído a fim de possibilitar melhor visualização da mudança de cor (Figura 7A). Foi observado também indício da presença de triterpenoides (Figura 7B) e saponinas (Figura 7C).

Em contrapartida, para a parte B2 do resíduo, houve turvação com acetato de chumbo, porém não houve mudança de coloração na reação com acetato de cobre (Figura 8A). Houve formação de precipitado para o teste de alcaloides, tendo a amostra sido interpretada como fracamente positiva (Figura 8C). Foi observado o mesmo resultado obtido nos testes anteriores para a possível presença de triterpenoides (Figura 8B) e saponinas (Figura 8D).

Todas as amostras do resíduo líquido de *Agave sisalana* analisadas apresentaram resultado positivo para a possível presença de triterpenoides, taninos e saponinas (Quadro 1; Figura 9), salientando-se que as partes A2 e B2 apresentaram resultado fracamente positivo para a presença de taninos em relação às partes A1 e B1; o mesmo resultado foi visualizado para triterpenoides e saponinas.

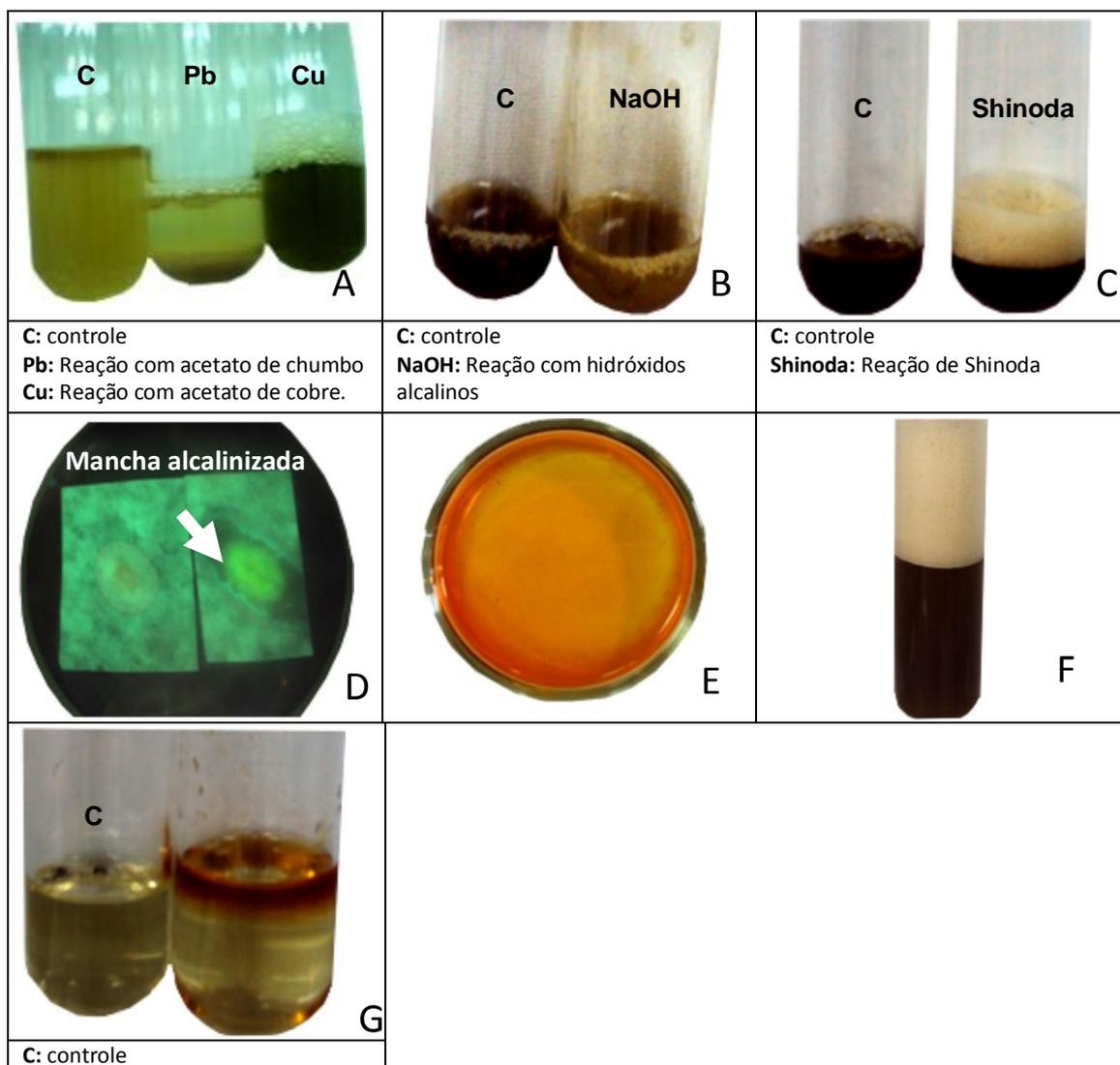


Figura 6. Resultados dos testes realizados para a parte B1. A- Taninos, B e C- flavonoides, D- cumarinas, E- alcaloides, F- saponinas e G- triterpenoides.

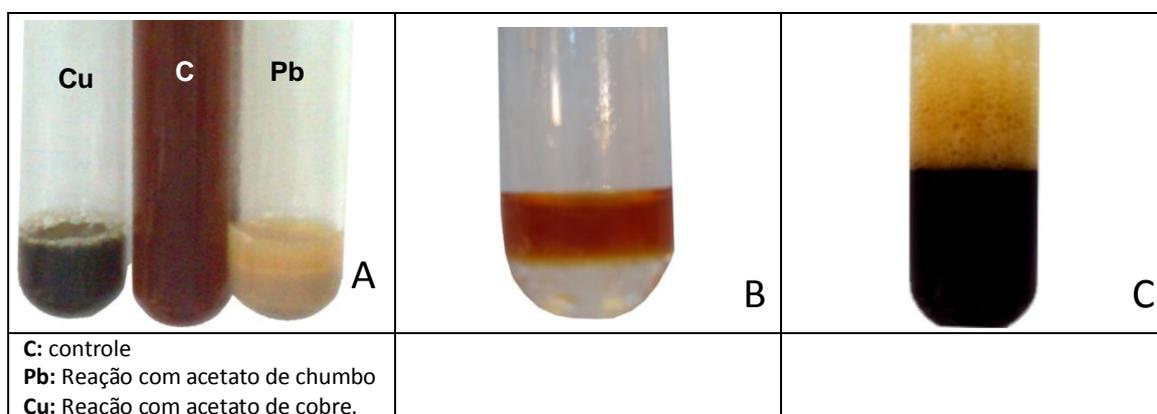


Figura 7. Resultados dos testes realizados para a parte A2. A- Taninos, B- triterpenoides e C- saponinas.

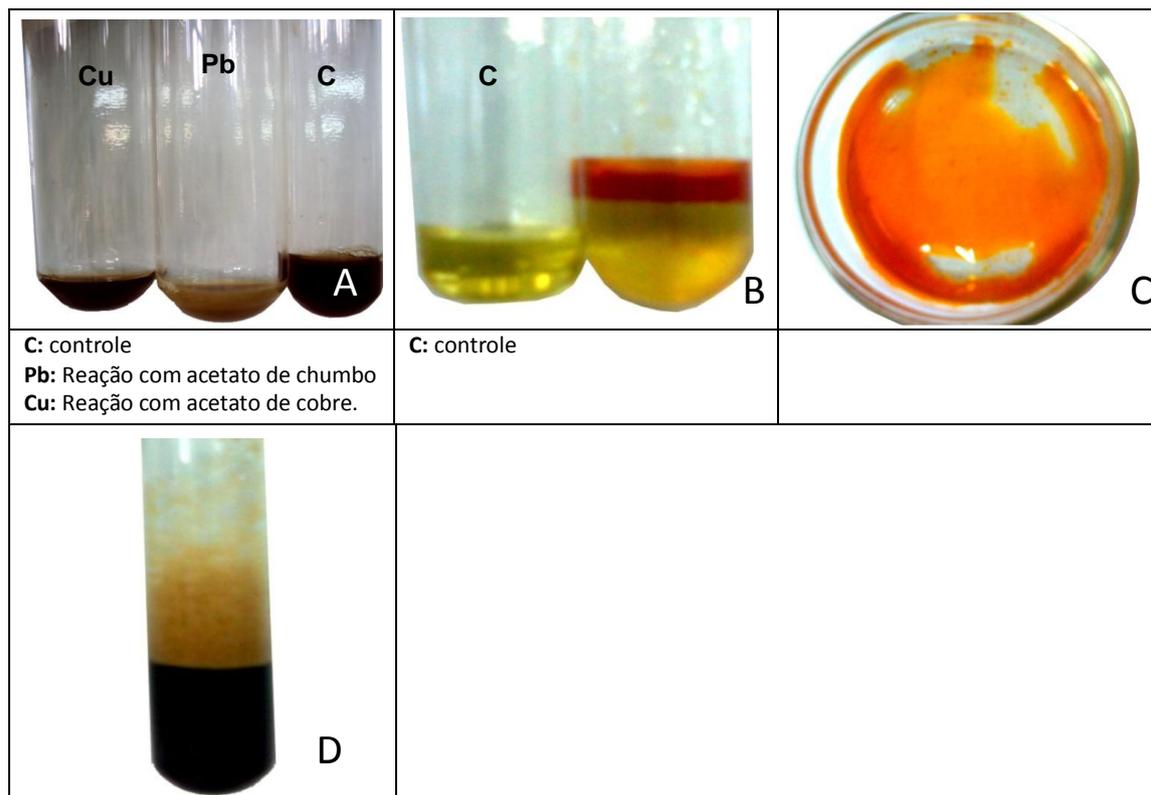


Figura 7. Resultados dos testes realizados para a parte B2. A- Taninos, B- triterpenoides, C- alcaloides e D- saponinas.

Flavonoides estiveram supostamente presentes na coleta realizada em 2010, sendo que sua presença não foi afetada pelo aquecimento. O mesmo já não pode ser dito em relação às cumarinas, cujo aquecimento do resíduo parece influenciar na sua presença, assim como para os alcaloides, que estiveram ausentes nas duas amostras levadas à decocção (Quadro1). Dessa forma, quando coletado o resíduo líquido de *Agave sisalana*, a não submissão à extração por decocção, pode favorecer a presença de mais princípios ativos.

Os pesquisadores que estudam a espécie descrevem a presença de saponinas no resíduo líquido (PIZARRO et al., 1999; BARRETO et al., 2003; ZOU et al., 2006; SANTOS, 2009; BRANCO et al., 2010; DEBNATH et al., 2010). Em algumas amostras foram detectadas ainda a presença de taninos, alcaloides e cumarinas, conforme composição descrita por BARRETO et al. (2003) e flavonóides, corroborando ADE-AJAYI et al. (2011).

Quadro 1. Qualificação dos prováveis metabólitos encontrados nas amostras de sisal.

	taninos	triterpenoides	saponinas	alcaloides	cumarinas	flavonóides
A1	+	+	+	-	-	+
A2	+	+	+	-	-	-
B1	+	+	+	+	+	+
B2	+	+	+	+	-	-

Presença (+)/ Ausência (-). A- resíduos submetidos à decocção, B- resíduos não submetidos à decocção, 1- referente ao ano de 2010 e 2- referente ao ano de 2011.

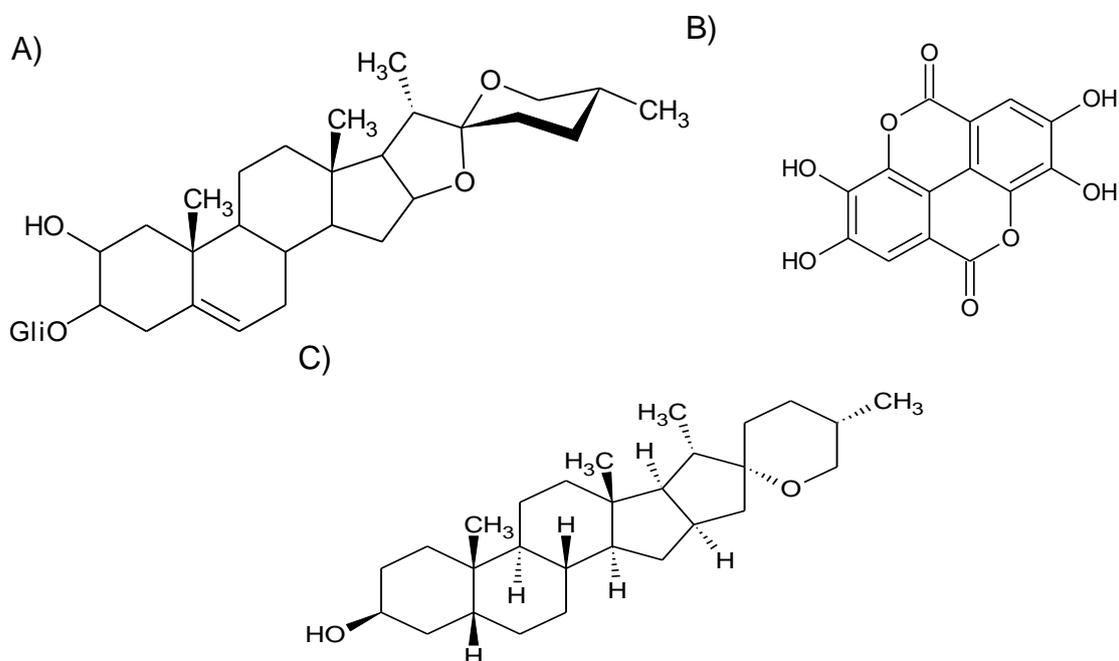


Figura 9. Exemplos de estruturas moleculares de saponina (A), tanino (B) e triterpenoide (C) (GUERRA et al., 2008; BERLINCK, 2010).

Dentre as atividades farmacológicas e biológicas relatadas para os metabólitos secundários possivelmente presentes em *A. Sisalana* destacam-se os taninos, empregados no tratamento de diversas moléstias orgânicas, tais como diarreia, hipertensão arterial, reumatismo, hemorragias, feridas, queimaduras, problemas estomacais, como azia, náusea, gastrite e úlcera gástrica, problemas renais e do sistema urinário e processos inflamatórios em geral. Além disso, são relatadas atividades bactericida, fungicida, antiviral, moluscicida, inibidora de

enzimas, antitumoral e como captadores de radicais livres (SANTOS & MELLO, 2007).

VINAYAKA et al. (2010) detectaram a presença de taninos e esteroides no extrato metanólico do macrolíquen *Parmotrema pseudotinctorum* e constataram atividade inseticida desse contra larvas de segundo ínstar de *Aedes aegypti*, inferindo que a presença de tais constituintes pode ser responsável pela atividade inseticida observada.

As saponinas, devido ao seu comportamento anfifílico e a capacidade de formar complexos com esteroides, proteínas, fosfolipídeos de membranas, apresentam variado número de propriedades biológicas, destacando-se a ação sobre membranas celulares, ao alterar a permeabilidade ou causar sua destruição. Relacionada a essa ação sobre membranas, estão as atividades hemolítica, ictiotóxica e moluscicida frequentemente observadas (SCHENKEL et al., 2007).

Essas moléculas têm importantes funções ecológicas e agronômicas, contribuindo para defesa de culturas de plantas contra pragas, patógenos e predadores, podendo afetar a palatabilidade das plantas para os animais, inclusive humanos (OSBOURN et al., 2011).

DEORE & KHADABADI (2009) publicaram uma pesquisa com saponinas extraídas da planta *Chlorophytum borivilianum* a fim de verificar propriedade larvicida contra mosquitos das espécies *Anopheles stephensi*, *Culex quinquefasciatus* e *Aedes aegypti* e encontraram efetivo controle biológico.

D'ADDABBO et al. (2011) sugerem o uso de saponinas de *Medicago sativa* como bom candidato para formulações de nematicidas naturais, tendo sido efetivas para o controle do *Xiphinema index*, *Meloidogyne incognita* e *Globodera rostochiensis*, reduzindo a densidade populacional do nematoide-alvo nas raízes e no solo, melhorando o crescimento geral da planta e a sua produção.

Os terpenos possuem importância ecológica bem estabelecida como defensivos de plantas, pois a grande maioria de trabalhos na literatura que se referem a terpenoides superiores fazem referência à observações de atividades como inibidores ou retardadores de crescimento, danos na maturação, redução da capacidade reprodutiva, supressores de apetite, podendo levar os insetos predadores à morte por inanição ou toxicidade direta (VIEGAS JUNIOR, 2003).

O nível máximo na sequência de produção de terpenoides é representado pelos limonoides, já que estão presentes em plantas que normalmente não são atacadas por insetos. No nível inferior, os monoterpenos exercem funções de proteção às plantas que os produzem (VIEGAS JUNIOR, 2003).

Nesse sentido, muitas pesquisas têm focado na triagem de Meliaceae para os limonóides através da bem documentada bioatividade da azadiractina (SANTOS et al., 2008). Assim, cerca de 100 triterpenoides foram identificados das sementes, madeira, cascas, folhas e frutos de *Azadirachta indica*, estando intimamente associados à ação supressora de apetite ou inibidora de crescimento em insetos (VIEGAS JUNIOR, 2003).

3.2 Efeito de toxicidade foliar dos extratos de *Agave sisalana*

No 1º experimento, os tratamentos que causaram menor dano às folhas foram o Nim e o extrato acetato de etila, que proporcionaram danos muito leves. O que obteve a maior nota de toxicidade foliar foi o etanólico a 10%, com danos muito fortes (Tabela 3).

Os extratos vegetais que se equipararam aos inseticidas comercialmente utilizados foram o acetato de etila com o inseticida natural (Nim), apresentando danos menores que o inseticida químico (Lannate), o qual obteve os mesmos resultados do extrato butanólico, em ambas as concentrações. O extrato etanólico apresentou as maiores notas de toxicidade foliar, conforme apresentado na Tabela 3.

No 2º experimento, houve efeito significativo dos tratamentos, bem como das épocas de aplicação (Tabela 4). SOUZA (2009) também encontrou efeito dos tratamentos e épocas de aplicação para o experimento de fitotoxicidade realizado com o extrato hidroetanólico de *Agave sisalana*.

Os maiores valores de fitotoxicidade para o milho foram observados na segunda aplicação dos tratamentos (60 dias após a semeadura), deduzindo-se que, à medida que são aumentados os números de aplicações, se favorece o aumento da toxicidade foliar nessa cultura (Tabela 5). SOUZA (2009), realizando aplicações aos 30, 43 e 50 dias da semeadura, não observou aumento significativo na toxicidade foliar à medida que efetuava nova aplicação.

Tabela 3. Avaliação do efeito fitotóxico dos extratos de *Agave sisalana* e dos controles com Nim, Lannate e água destilada, sobre o milho, Feira de Santana (BA), no ano agrícola de 2010.

TRATAMENTO	AVALIAÇÃO DO DANO								
	N	ML	L	B	M	QF	F	MF	T
Etanólico 1,25%				X					
Etanólico 2,5%							X		
Etanólico 5,0%					X				
Etanólico 7,5%						X			
Etanólico 10%								X	
Butanólico 1,5%			X						
Butanólico 3,0%			X						
Acetato 2,0%		X							
Nim		X							
Lannate			X						
Água	X								

N= nulo; ML= muito leve; L= leve; B= baixo; M= médio; QF= quase forte; F= forte; MF= muito forte; T= total (destruição completa).

Dentre os tratamentos aplicados, os controles positivos com formulações comerciais (Nim e Lannate) foram superiores estatisticamente ao controle negativo, com água destilada (Tabela 6). Tal observação corrobora a nulidade de toxicidade para a água destilada e interpõe que os controles positivos apresentam grau de toxicidade devido aos compostos químicos presentes.

A escolha da aplicação de extratos do resíduo líquido de *Agave sisalana* a base de etanol, butanol e acetato de etila, nas concentrações aqui testadas, apresenta padrão de toxicidade semelhante a dos inseticidas já comercializados (Tabela 6).

Os extratos etanólico e butanólico apresentaram toxicidade foliar semelhante e foram significativamente mais tóxicos para a planta do que o extrato

acetato de etila, o que torna esse extrato promissor para uso em campo (Tabela 6).

Tabela 4. Resumo da análise de variância para a toxicidade foliar dos tratamentos com extratos do resíduo líquido de *Agave sisalana* e os controles, em duas épocas de aplicação.

FV	GL	QM
Bloco	3	1,6886**
Tratamentos	10	2,0347**
Erro a	30	0,2471
Épocas	1	5,8607**
Tratamentos x Épocas	10	0,5767
Erro b	33	0,4477
CV (%)		35,05
Média Geral		1,9090

** e * significativo a 1 e 5%, respectivamente, pelo teste de F.

Tabela 5. Valores médios para as épocas de aplicação dos extratos do resíduo líquido de *Agave sisalana* e os controles.

ÉPOCAS DE APLICAÇÃO	MÉDIAS (DANOS)
1	1,6509 a
2	2,1670 b

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de F a 5% de probabilidade.

Tabela 6. Estimativas dos contrastes ortogonais para os tratamentos com os extratos do resíduo líquido de *Agave sisalana* e os tratamentos controle com Nim, Lannate e água destilada, para efeito fitotóxico, avaliado em duas épocas de aplicação.

Contraste	Estimativas
Extrato vegetal vs. Contr.	0,2283
Contr. Pos. vs. Contr. Neg.	0,9888**
NIM vs. QUIM	-0,1050
ET e BUT vs. ACET	0,4429*
ET vs. BUT	0,2411
BUT 1,5 vs. BUT 3	-0,2113

** e * significativo a 1 e 5%, respectivamente, pelo teste de t.

Na Tabela 7 são mostradas as médias para cada tratamento, a fim de enfatizar as diferenças encontradas pelo teste t, podendo ser observado que, dentre os extratos vegetais, o acetato de etila e o etanólico a 2,5% apresentaram danos inferiores aos dos inseticidas comerciais. O extrato que possibilitou a maior toxicidade foliar foi o etanólico a 10% (3,1025).

Referente ao extrato acetato de etila, esses dados estão em acordo com os resultados encontrados no primeiro experimento, no qual ele obteve o menor efeito de toxicidade foliar relacionado aos outros extratos vegetais do resíduo líquido de sisal (ver Tabela 3).

SOUZA (2009) relatou que, para o extrato hidroetanólico do resíduo líquido de *Agave sisalana*, nas concentrações de 2,5; 5 e 10% foram atribuídas as respectivas notas de fitotoxicidade: 1,1667; 2,0867 e 3,2000, notas essas semelhantes às aqui atribuídas.

Como não foi possível ajustar um modelo de equação para os tratamentos com o extrato etanólico, pode-se observar, de acordo com a Figura 10, que a concentração de 10% foi superior, em termos de toxicidade foliar, às demais; o mesmo foi observado no primeiro experimento (ver Tabela 3).

Tabela 7. Valores médios das notas de toxicidade foliar para os extratos do resíduo líquido de *Agave sisalana*, em comparação com o inseticida natural Nim, o inseticida sintético Lannate e água destilada, após duas aplicações.

TRATAMENTOS	MÉDIAS (DANOS)
ET 1,25	2,0413 b
ET 2,5	1,4575 a
ET 5	2,0425 b
ET 7,5	1,8338 b
ET 10	3,1025 c
BUT 1,5	1,7488 b
BUT 3	1,9600 b
ACET 2	1,5838 a
NIM	2,0200 b
QUIM	2,1250 b
AD	1,0838 a

Notas de fitotoxicidade: 1=Nulo, 2=Muito leve, 3=Leve, 4=Baixa, 5=Média, 6=Quase forte, 7=Forte, 8=Muito Forte e 9=Total (Destruição completa) (EUROPEAN WEED RESEARCH COUNCIL, 1964). Médias seguidas pela mesma letra pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

Segundo AGUIAR-MENEZES (2005), os inseticidas saponáceos podem ser tóxicos a alguns vegetais, o que levou SOUZA (2009) a deduzir que seria devido a presença de saponinas no resíduo líquido de sisal, que as soluções de extrato hidroetanólico apresentaram certo nível de fitotoxicidade.

BARRETO et al. (2010) avaliaram os efeitos de extratos frescos e curtidos de sisal quanto à toxicidade para o algodoeiro e verificaram efeito significativo dos tratamentos em todas as aplicações, sendo de leves a muito leves nas plantas dos 10 e 35 dias após a emergência e acentuada aos 65 dias.

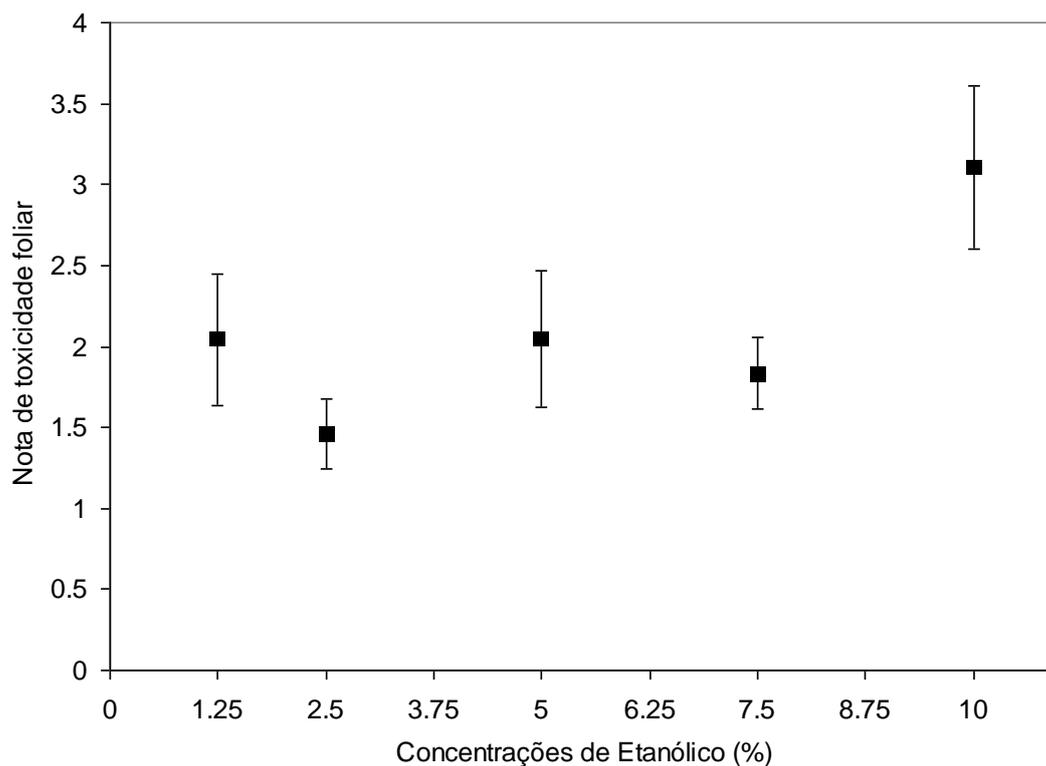


Figura 10. Notas de toxicidade foliar em função das concentrações do extrato etanólico do resíduo líquido de *Agave sisalana*.

4 CONCLUSÕES

As amostras do resíduo líquido de *Agave sisalana*, levadas a dois diferentes processos de extração, apresentam indícios de saponinas, triterpenoides e taninos, sendo que a decocção comprometeu a provável presença de cumarinas e alcaloides.

Os extratos vegetais do resíduo de sisal não apresentaram efeitos fitotóxicos superiores aos encontrados pelas formulações comerciais de inseticidas (Nim e Lannate), testadas para efeito de comparação. Os extratos à base de etanol apresentaram fitotoxicidade para a cultura de milho superior a do tratamento com extratos à base de butanol e acetato de etila. Por esse apresentar, nos dois experimentos realizados, os menores danos de toxicidade foliar, interpõe-se que é o mais propenso para uso em campo. Em contrapartida, o extrato que apresentou os maiores danos, dentre todos os 11 tratamentos avaliados, foi o etanólico a 10%.

O aumento no número de pulverizações interfere para o aumento nos danos de fitotoxicidade observados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADE-AJAYI, A. F.; HAMMUEL, C.; EZEAYANASO, C.; OGABIELA, E. E.; UDIBA, U. U.; ANYIM, B. & OLABANJI, O. 2011. Preliminary phytochemical and antimicrobial screening of *Agave sisalana* Perrine juice (waste). **Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology**. v. 3, n. 7, p. 180-183.

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

BARRETO, A.F.; ARAÚJO, E.; BELTRÃO, N.E.M.; CARDOSO, G.D. & SILVA, C.I.R.E.E. 2003. **Efeito de extrato de agave sobre ácaros rajados *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) em plantas de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L. r *latifolium* Hutch).** Parte da dissertação do 1º autor. Disponível em <www.cnpa.embrapa.br/produtos/algodao/publicacoes/.../061.pdf> Acesso em 16 de junho de 2010.

BARRÊTO, A.F.; ARAÚJO, E.; BONIFÁCIO, B.F. 2010. Eficiência de extratos de *Agave sisalana* (Perrine) sobre o ácaro rajado *Tetranychus urticae* (Koch) e ocorrência de fitotoxidez em plantas de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L. r *latifolium* Hutch). **Rev. Bras. de Agroecologia**, v. 5, n. 2, p. 207-215.

BERLINCK, R. 2010. **Ruminantes, plantas e efeito estufa**. Disponível em <<http://scienceblogs.com.br/quimicaviva/>>. Acesso em 28 de fevereiro de 2012.

BRANCO, ALEXSANDRO; SANTOS, JENER DAVID G.; PIMENTEL, MONALISA M.A.M.; OSUNA, JUAN T.A; LIMA, LUCIANO S.; DAVID, JORGE M. 2010. d-Mannitol from *Agave sisalana* biomass waste. **Industrial Crops and Products** v. 32, p. 507–510

BOGORNI, P.C. & 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**, v. 34, n. 2, p. 311-317

COSTA, E.L.N.; SILVA, R.F.P. & FIUZA, L.M. 2004. Efeitos, aplicações e limitações de extratos de plantas inseticidas. **Acta Biologica Leopoldensia**, v. 26, n 2, p. 173-185

D'ADDABBO, T.; CARBONARA, T.; LEONETTI, P.; RADICCI, V.; TAVA, A. & AVATO, P. 2011. Control of plant parasitic nematodes with active saponins and biomass from *Medicago sativa*. **Phytochem Rev**, v. 10, p. 503–519.

DEBNATH, M.; PANDEY, M., SHARMA, R.; THAKUR, G.S. & LAL, P. 2010. Biotechnological intervention of *Agave sisalana*: A unique fiber yielding plant with medicinal property. **Journal of Medicinal Plants Research**, v 4, n. 3, p. 177-187.

DEORE, S. L. & KHADABADI, S. S. 2009. Larvicidal activity of the saponin fractions of *Chlorophytum borivillianum* Santapau and Fernandes. **Journal of Entomology and Nematology**. v. 1, n. 5, p. 064-066.

EUROPEAN WEED RESEARCH COUNCIL. 1964. **Respost of three third and fourth Medetings of European Weed Research Council Committee on Methods**. Weed Research, v.4, 88 p.

GONÇALVES JUNIOR. 2002. **Avaliação de extratos de Agave no controle de galhas radiculares do tomateiro**. Dissertação de mestrado em agronomia, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba, Areia (PB). 31 f.

GUERRA, J.O.; MENESES, A.; SIMONET, A.M.; MACÍAS, F.A.; NOGUEIRAS, C.; GÓMEZ, A. & ESCARIO, J.A. 2008. Saponinas esteroidales de la planta *Agave brittoniana* (Agavaceae) con actividad contra el parásito *Trichomona vaginalis*. **Rev. biol. Trop**, v.56, n.4.

LIMA, R. K.; CARDOSO, M. G.; MORAES, J. C.; MELO, B. A.; RODRIGUES, V. G. & GUIMARÃES, P. L. 2009. Atividade inseticida do óleo essencial de pimenta longa (*Piper hispidinervum* C. DC.) sobre lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Acta amazônica**, v. 39, n. 2, p. 377 – 382.

MATOS, F.J.A. 1997. **Introdução à fitoquímica experimental**. Fortaleza: UFC. 141p.

OSBOURN, A.; GOSS, R. J. M. & FIELD, R. A. 2011. The saponins – polar isoprenoids with important and diverse biological activities. **Nat. Prod. Rep.**, v. 28, p. 1261–1268.

PIZARRO, A.P. B.; FILHO, A.M.O.; PARENTE, J.P.; MELO, M.T.V.; SANTOS, C.E. dos & 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** v. 32, p. 23-29.

SANTOS, J.D.G; BRANCO, A., SILVA, A.F.; PINHEIRO, C.S.R.; NETO, A.G.; UETANABARO, A.P.T.; QUEIROZ, S.R.O.D. & OSUNA, J.T.A. 2009. Antimicrobial activity of *Agave sisalana*. **African Journal of Biotechnology**, v. 8, n. 22.

SANTOS, R.I. 2007. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C. M.O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Florianópolis: UFSC. 1104 p.

SANTOS, S.C. & MELLO, J.C.P. 2007. Taninos. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Florianópolis: UFSC. 1104p.

SANTOS, W.L.; FREIRE, M.G.M.; BOGORNI, P.C.; VENDRAMIM, J.D. & MACEDO, M.L.R. 2008. Effect of the Aqueous Extracts of the Seeds of *Talisia esculenta* and *Sapindus saponaria* on Fall Armyworm. **Braz. Arch. Biol. Technol**, v.51, n.2, p 373-383

SAS INSTITUTE. 2006. SAS Technical Report. **SAS/ STAT software: Changes and Enhancement**, Release 9.1.1.3, Cary, NC: SAS Institute.

SCHENKEL, E.P; GOSMANN, G. & ATHAYDE, M.L. 2007. Saponinas. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Florianópolis: UFSC. 1104

SOUZA, M.F. 2009. **Atividade inseticida de extratos obtidos a partir do resíduo líquido de *Agave sisalana* Perrine no controle da praga *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho**. Tese de mestrado em Biotecnologia da Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, BA. 64p.

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

VIANA, P.F. & PRATES, H.T. 2003. Desenvolvimento e mortalidade larval de *Spodoptera frugiperda* em folhas de milho tratadas com extrato aquoso de folhas de *Azadirachta indica*. **Bragantia**, Campinas, v.62, n.1, p.69-74.

VINAYAKA, K.S.; KUMAR, S.V. P.; MALLIKARJUN, N. & KEKUDA, T.R.P. 2010. Studies on Insecticidal activity and Nutritive composition of a macrolichen

Parmotrema pseudotinctorum (des. Abb.) Hale (Parmeliaceae). **Drug Invention Today**, v. 2, n. 2, p. 102-105

ZOU, PENG; FU, JING; YU, HE-SHUI; ZHANG, JIE; KANG, LI-PING; MA, BAI-PING; YAN, XIAN-ZHONG. 2006. The NMR studies on two new furostanol saponins from *Agave sisalana* leaves. **Magn. Reson. Chem.** V. 44, p. 1090–1095

CAPÍTULO II

FRAÇÕES DO RESÍDUO LÍQUIDO DE SISAL SOBRE DESENVOLVIMENTO E MORTALIDADE DA LAGARTA-DO-CARTUCHO

FRAÇÕES DO RESÍDUO LÍQUIDO DE SISAL SOBRE DESENVOLVIMENTO E MORTALIDADE DA LAGARTA-DO-CARTUCHO

Milena Ferreira Costa¹; Juan Tomás Ayala Osuna²; Hugo Neves Brandão²; Mitsue Haraguchi³; Carlos Alberto da Silva Ledo⁴; Adriana Rodrigues Passos²; Marilza Neves do Nascimento²; Pedro Luis da Costa Aguiar Alves⁵

¹ Bolsista FAPESB. Programa de Pós-graduação em Recursos Genéticos Vegetais. Departamento de Ciências Biológicas. Unidade Experimental Horto Florestal. Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS) - mile.fcosta@gmail.com.

² Programa de pós-graduação em Recursos Genéticos Vegetais. Departamento de Ciências Biológicas. Unidade Experimental Horto Florestal. Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS) - juanayala@uol.com.br; hugohnb@gmail.com; adrianarpassos@yahoo.com.br; marilzaagro@hotmail.com

³ Centro de Sanidade Animal. Instituto Biológico. São Paulo, SP - haraguchi@biologico.sp.gov.br

⁴ Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e Fruticultura Tropical - ledo@cnpmf.embrapa.br

⁵ Professor adjunto da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - plalves@fcav.unesp.br

RESUMO

O objetivo da presente pesquisa foi avaliar o efeito do precipitado nas concentrações de 2,5 e 5,0% p/v e dos extratos etanólico a 1,25; 2,5; 5,0; 7,5 e 10% p/v, butanólico a 1,5 e 3,0% p/v e acetato de etila a 1,0 e 2,0% p/v, obtidos a partir do resíduo líquido de *Agave sisalana*, sobre o desenvolvimento e sobrevivência da *Spodoptera frugiperda*, em testes por ingestão e contato tópico, bem como a intensidade dos danos ocasionados em campo por esta lagarta, avaliando ainda a produção da cultura do milho. Para tanto, os bioensaios foram instalados em câmara climatizada a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $70\pm 10\%$ e fotofase de 12 horas e foi acompanhada toda a fase de vida larval e pupal do inseto, avaliando a duração dessas fases, peso, mortalidade, comprimento e largura do corpo da lagarta. Os extratos vegetais influenciaram na sobrevivência da lagarta-do-cartucho, através da ingestão, em destaque para o acetato de etila a 2% e o etanólico a 10%, com 100 % de mortalidade e rápida ação inseticida. O extrato etanólico a 2,5%, embora com mortalidade de 50%, proporcionou os menores tempos médios de morte e alongou a fase de vida pupal da lagarta, em teste por contato tópico. Para avaliação dos danos em campo, foi utilizada a escala com notas que variam de 0 a 5 e, para análise de produção, foram mensuradas as espigas, a altura da planta e de inserção da espiga principal. Os extratos vegetais não diferem das testemunhas no controle da intensidade dos

danos ocasionados pela lagarta, sendo que esse é mais efetivo após a 2ª aplicação. Os tratamentos não influenciaram na produção da cultura.

Palavras-chave: *Agave sisalana*, Inseticida vegetal, *Zea mays*, *Spodoptera frugiperda*.

ABSTRACT

The aim of this research was to evaluate the effect of the precipitate at concentrations of 2,5 and 5,0% w/v and of the ethanolic extracts to 1,25; 2,5; 5,0; 7,5 and 10% w/v, butanolic to 1,5 and 3.0% w/v and ethyl acetate to 2.0% w/v, obtained from the liquid residue of *Agave sisalana*, on the development and survival of *Spodoptera frugiperda*, in tests by ingestion and topical application, as well as the intensity of damage caused in the field by this larvae, evaluating still the production of maize. To this end, the bioassays were installed at temperature of $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, relative humidity of $70 \pm 10\%$ and photoperiod of 12 hours, being accompanied the life stage larval and pupal of the insect, assessing the duration of these phases, weight, mortality, length and width of the body of the larvae. The plant extracts influence the survival of the fall armyworm, by ingestion, especially ethyl acetate to 2,0% and ethanolic to 10%, with 100% of mortality and rapid insecticide action. The ethanolic extract to 2,5%, although with a mortality of 50%, had lower mean times of death and lengthened the pupal life stage of the fall armyworm, in test by topic contact. For evaluating of damage in the field, was used scale ranging from 0 to 5 and, for analysis of production, were measured spikes, plant height and insertion main spike. The plant extracts did not differ from controls, decreasing the intensity of damage caused by the larvae, especially after of second application. The treatments did not influence the production of culture.

Keywords: *Agave sisalana*, Vegetable pesticide, *Zea mays*, *Spodoptera frugiperda*.

1 INTRODUÇÃO

O sisal (*Agave sisalana* Perr.) é uma planta de considerável importância econômica e social para o Nordeste do Brasil por ser responsável pela produção mundial de cerca de 70% de fibras duras e pela boa adaptação a essa região, sendo no estado da Bahia onde se concentra a produção nacional, em torno de 93,5% (MARTIN et al., 2009; ANDRADE et al., 2010).

O maior problema encontrado pelos produtores de sisal é o seu baixo aproveitamento que, para produção de fibras para indústria, gira em torno de 4%, sendo os 96% restantes descartados em forma de resíduo líquido e resíduos sólidos, como a mucilagem e a bucha, constituída de fibras curtas (SILVA et al., 2006; SUINAGA et al., 2006; MARTIN et al., 2009).

O aproveitamento do resíduo líquido do sisal como inseticida vem sendo pesquisado como alternativa para o controle de insetos e pragas agrícolas (PIZARRO et al., 1999; GONÇALVES JUNIOR, 2002; BARRETO et al., 2003; SOUZA, 2009), uma vez que novas plantas com ação inseticida têm apresentando resultados satisfatórios, devido à facilidade de serem encontradas, produção em baixo custo e fácil preparação (VASCONCELOS et al., 2006), além de serem menos agressivas ao meio ambiente.

O cultivo do milho apresenta grande importância como base na alimentação animal e humana. Dentre as pragas dessa cultura, *Spodoptera frugiperda*, *Diatraea saccharalis* e *Helicoverpa zea* são aquelas em que as pesquisas em controle biológico têm avançado mais rapidamente, principalmente para as duas últimas, em função do local de ataque, dentro do colmo e na espiga, respectivamente, tornando o controle químico de baixa eficiência (CRUZ et al., 1995). *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) tem ocasionado danos que comprometem a produção com perdas que variam de 15 a 34% (RODRIGUEZ & VENDRAMIM, 1996; CRUZ, 1995; NICOLAI et al., 2006.)

Para o controle de pragas normalmente se utilizam produtos químicos de amplo espectro de ação que, além de acarretarem diversos problemas, tais como resíduos nos alimentos, destruição de inimigos naturais, do equilíbrio biológico e intoxicação de aplicadores, provocam três fenômenos ecológicos distintos:

ressurgência da praga alvo, surtos de pragas secundárias e desenvolvimento de resistência aos inseticidas (CRUZ et al., 1995; ROEL et al., 2000).

Dessa forma, o controle integrado tem sido eficiente por abordar diversas táticas de manejo, sendo os extratos vegetais compatíveis com todas elas (COSTA et al., 2004). De acordo com GALLO et al. (2002), o objetivo principal do uso de extratos vegetais é reduzir o crescimento da população de pragas, de forma que a mortalidade do inseto é apenas um dos efeitos e que, geralmente, necessita de concentrações muito elevadas.

Considerando que trabalhos de controle da *S. frugiperda* em milho, com inseticidas naturais a campo, são inexistentes no Brasil (LIMA et al., 2008), essa pesquisa se propõe a avaliar os efeitos de frações do resíduo líquido de *Agave sisalana* sobre a sobrevivência e desenvolvimento da *Spodoptera frugiperda*, em condições de laboratório, através de testes por contato tópico e ingestão; e, em condições de campo, avaliar os efeitos de três diferentes extratos do resíduo líquido de *Agave sisalana* no controle dessa lagarta, bem como mensurar os caracteres agrônômicos a fim de analisar se os extratos afetam a produção da cultura de milho.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Após coleta direta, em 2011, nos locais de produção de sisal, entre os municípios de Valente e São Domingos (BA), cerca de 100L do resíduo foi adicionado a água destilada na proporção de 1:1 p/v e submetido à decocção por uma hora. Procedeu-se a filtração por duas vezes, a fim de separar a mucilagem do líquido, sendo o suco transportado para o Laboratório de Extração de Produtos Naturais, localizado na Unidade Experimental Horto Florestal - UEFS, onde os experimentos foram conduzidos.

2.1 Obtenção dos extratos

O suco de sisal coletado foi distribuído em bandejas plásticas e levado para a estufa a 60 °C para eliminação da água, até a aquisição do resíduo bruto

concentrado, que foi triturado, obtendo-se o rendimento de 3,794 kg de resíduo, o equivalente a 3,8%.

O resíduo foi macerado com o solvente etanol a 92% de pureza, até a dissolução total, permanecendo em repouso por 24 horas. Houve a formação de precipitado esbranquiçado e sobrenadante verde, mantidos uma noite em geladeira. Esse precipitado foi filtrado em funil de Buchner sob vácuo e lavado duas vezes com volume pequeno de etanol gelado para eliminar a coloração verde. O precipitado retido no funil foi armazenado para uso nos ensaios.

Foi separado cerca de 1/3 do filtrado e concentrado totalmente no rota- evaporador, sob pressão de 600 mmHg e temperatura de 60°C – 70°C, sendo obtida a fração etanólica. Os outros 2/3 da solução, após a evaporação do excesso do solvente anterior, foram dissolvidos em água destilada e transferidos para funil de separação para ser extraído com pequeno volume do solvente acetato de etila (50 ml), exaustivamente. Posteriormente, a solução aquosa foi evaporada parcialmente para eliminar o excesso do solvente anterior e transferida, mais uma vez, para funil de separação para ser extraída com pequeno volume de solvente butanol (50 ml), saturado com água, exaustivamente.

As frações acetato de etila, butanólica e aquosa final foram evaporadas totalmente e armazenadas em freezer, juntamente com a fração etanólica, até utilização nos experimentos.

2.2. Obtenção da lagarta *Spodoptera frugiperda*

As larvas utilizadas nos experimentos foram obtidas da criação de *Spodoptera frugiperda* mantida na Gravena Manecol (Jaboticabal – SP) e permaneceram em dieta artificial conforme BURTON & PERKINS (1972), até que atingissem a fase larval de 3° ínstar, em câmara climatizada (25°C±2°C, umidade relativa de 70±10% e fotofase de 14 horas) (FERRAZ, 1982), na Unidade Experimental Horto Florestal.

2.3 Cultivo do milho

Para os ensaios em laboratório, o milho da cultivar BR 106 foi semeado em casa de vegetação presente na Unidade Experimental Horto Florestal, com espaçamento de 0,50 X 0,20 cm. No momento da semeadura, o solo foi adubado com NPK 10:10:10 e, aos 30 dias de idade da planta, houve adubação com sulfato de amônio. Nenhum método de controle de insetos e pragas, além do manual, foi utilizado, de forma que as folhas oferecidas às lagartas se encontravam livres de pesticidas.

As regas eram realizadas diariamente e, quando o milho apresentava de 7-8 folhas (30 a 40 dias após plantio), as superiores, próximas ao cartucho, por ser a porção preferencial da lagarta quando essa infesta a cultura, foram retiradas para uso nos bioensaios.

A campo, foi conduzido experimento em sistema de plantio direto, realizando a mesma adubação citada para o plantio em casa de vegetação, durante o ano agrícola de 2011, sob infestação natural de *Spodoptera frugiperda*, utilizando o delineamento experimental em blocos casualizados com 11 tratamentos e 4 repetições, onde cada fileira de plantas possuía 2,5 m de extensão e espaçamento de 0,80 X 0,20 cm.

Cada parcela experimental foi constituída de cinco fileiras, sendo apenas a fileira central considerada como área útil e as duas fileiras presentes em cada extremidade foram consideradas para efeito de bordadura. A unidade experimental consistiu de três plantas, livres de pesticidas.

2.4 Avaliação da atividade inseticida do resíduo líquido de *Agave sisalana*

Os extratos orgânicos foram diluídos em água destilada até serem obtidas as concentrações pretendidas (Tabela 1). Tais tratamentos foram testados em relação a testemunha com água destilada, inseticida sintético Lannate e óleo de Nim emulsionado Nim-I-Go, nas concentrações recomendados pelos fabricantes: 0,6 L/ha ou 129g/ha e solução de 3% (300 ml/100 L de água), respectivamente.

Tabela 1. Tratamentos utilizados nos experimentos com o resíduo líquido de *Agave sisalana* sobre a lagarta *Spodoptera frugiperda*.

<i>Tratamentos</i>	<i>Código</i>	<i>Composição</i>
1	ET 1,25	Extrato vegetal etanólico a 1,25%
2	ET 2,5	Extrato vegetal etanólico a 2,5%
3	ET 5	Extrato vegetal etanólico a 5%
4	ET 7,5	Extrato vegetal etanólico a 7,5%
5	ET 10	Extrato vegetal etanólico a 10%
6	BUT 1,5	Extrato vegetal butanólico a 1,5%
7	BUT 3	Extrato vegetal butanólico a 3%
8	ACET 1	Extrato vegetal acetato de etila a 1%
9	ACET 2	Extrato vegetal acetato de etila a 2%
10	PPT 2,5	Precipitado a 2,5%
11	PPT 5	Precipitado a 5%
12	NIM	Inseticida natural Nim-I-Go
13	QUIM	Inseticida Sintético
14	AD	Água destilada

Os bioensaios foram instalados em câmara climatizada com $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $70\pm 10\%$ e fotofase de 12 horas, no modelo experimental em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com 14 tratamentos e 4 repetições, conduzidos sem chance de escolha do alimento e em substrato natural.

As folhas de milho retiradas da casa de vegetação foram lavadas em água corrente e deixadas em descanso na solução de hipoclorito de sódio a 1% por cerca de 5 minutos. Passado esse tempo, foram enxaguadas com água por três vezes consecutivas, sendo que a última lavagem foi feita com água destilada. Posteriormente, as folhas foram mantidas em papel absorvente para a eliminação de grande parte da solução desinfetante. Elas foram cortadas transversalmente às nervuras, em pedaços de aproximadamente 5 cm de comprimento.

Para os testes de ingestão, as folhas de milho foram submersas por dois segundos nos diferentes tratamentos. Após eliminação do excesso de umidade,

cada parte das folhas foi transferida para placas de Petri, previamente autoclavadas, e infestadas com apenas 1 lagarta em 3^o ínstar larval.

As aplicações tópicas dos tratamentos nas lagartas em 3^o ínstar foram feitas com o auxílio de micropipetador, sendo aplicado, aproximadamente, 0,1µl de extrato no dorso de cada lagarta, mesma quantidade utilizada na avaliação da mortalidade, através do contato tópico, por LIMA et al. (2009). Os insetos foram mantidos em placas de Petri contendo partes de folha de milho, previamente lavadas e desinfetadas.

As avaliações foram realizadas em dias alternados até o início da fase adulta do inseto, sendo as folhas trocadas por novas folhas tratadas e as placas limpas para manutenção da qualidade do substrato alimentar para as lagartas, avaliando, ao mesmo tempo, a mortalidade larval por parâmetro de morte/vida, a duração da fase de vida em dias, o peso em gramas com auxílio de balança de precisão analítica, a largura e o comprimento do corpo da lagarta com auxílio de régua. Ao entrarem na fase pupal, foi acompanhada apenas a duração em dias dessa fase de vida.

No teste em campo, os tratamentos foram pulverizados nas folhas de milho, aos 45 dias de idade, com o auxílio de Pulverizadores Export Guarany, com capacidade para 370ml, ao entardecer.

Considerando que para o espaçamento utilizado no cultivo do milho a dosagem padrão é cerca de 300L/ha (ou seja, 5 ml/planta), para tal experimento cada planta recebeu em média 2,5ml do tratamento correspondente.

Foram realizadas duas aplicações, com intervalo de 15 dias entre elas, e os produtos foram colocados no interior dos cartuchos para intoxicar as lagartas de diferentes ínstares, segundo a metodologia proposta por CARVALHO (1987).

As avaliações das injúrias foliares foram feitas antes de cada aplicação e 15 dias após a última aplicação (LIMA et al., 2009), tomando-se nesta, inclusive, os parâmetros para avaliação da produção.

As notas de danos das folhas seguiram a seguinte escala, de acordo com metodologia adaptada de CARVALHO, 1970: **0** – Sem danos, **1** – Plantas com folhas raspadas, **2** – Plantas com folhas furadas, **3** – Plantas com lesão nas folhas e no cartucho, **4** – Planta com o cartucho destruído, **5** – Plantas com muitas folhas e cartucho totalmente destruídos.

Para atribuição de notas, foram considerados os danos foliares causados pelas lagartas nas seis folhas centrais da planta. Quando a planta apresentou danos correspondentes a mais de uma nota, prevaleceu a mais alta (CARVALHO, 1987).

2.5. Avaliação das características relacionadas com a produção

A planta mediana de cada tratamento teve a sua altura medida do nível do solo até a base da panícula em floração e a altura de inserção da espiga foi tomada do nível do solo até a inserção da espiga principal.

As espigas, colhidas das três plantas de cada tratamento, tiveram suas brácteas retiradas e foram acondicionadas em sacos que permitissem a circulação de ar. Sua secagem foi realizada ao longo de três dias sob intensa luz solar e, após esse período, no qual os grãos já apresentavam umidade reduzida, procedeu-se à avaliação dos caracteres agrônômicos.

O comprimento da espiga foi medido com régua graduada em centímetros, da base à ponta desta. A circunferência foi mensurada com auxílio de barbante circundando a porção mediana da espiga, com posterior medição deste em régua graduada.

O peso total foi obtido com as espigas das plantas tratadas em cada parcela experimental, somando-se os quatro blocos, com auxílio de balança de baixa precisão, e calculando-se posteriormente a média por espiga.

2.6. Análise estatística

Para os ensaios em laboratório, os dados obtidos foram submetidos à análise de variância segundo o modelo estatístico do delineamento inteiramente casualizado no esquema fatorial 14 x 2, sendo 14 tratamentos e 2 formas aplicação, no dorso da lagarta e na folha. As médias dos tratamentos foram agrupadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Para as médias das formas de aplicação, os tratamentos foram comparados pelo teste de F a 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas pelo programa estatístico SAS – *Statistical Analysis System* (SAS Institute Inc., 2006).

A frequência de mortalidade do inseto foi calculada dividindo-se o número de lagartas mortas pelo número total, por tratamento, multiplicando o resultado por 100. Para o cálculo do tempo médio de morte (TMM), foi seguida a seguinte fórmula, proposta por MELO (2010):

$$TM = \frac{\sum (D1 \times N1 + D2 \times N2 + \dots + D_n \times N_n)}{\text{Total de larvas mortas pelo extrato}}$$

Onde, D é o dia de avaliação e N é o número de larvas mortas pelo extrato.

Os valores para frequência de mortalidade e TMM foram plotados em gráficos, para efeito de comparação entre os tratamentos e as formas de aplicação.

Para os experimentos em campo, os dados obtidos foram submetidos à análise de variância segundo o modelo estatístico do delineamento em blocos casualizados, sendo que os danos da lagarta foram analisados ainda segundo o esquema de parcelas subdivididas no tempo.

As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste t de contrastes ortogonais (Tabela 2) a 5% de probabilidade. Para as médias dos tratamentos compostos por extrato vegetal à base de etanol (tratamentos 1 a 5) foram ajustados modelos de regressão polinomial. As médias das épocas de avaliação, para o experimento, foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas pelo programa estatístico SAS – *Statistical Analysis System* (SAS Institute Inc., 2006).

Tabela 2. Descrição dos contrastes ortogonais para os tratamentos com extratos vegetais do resíduo líquido de *Agave sisalana* e os controles.

<i>Contrastes ortogonais</i>	<i>Comparação</i>
$\hat{Y}_1 = 3\hat{m}_1 + 3\hat{m}_2 + 3\hat{m}_3 + 3\hat{m}_4 + 3\hat{m}_5 + 3\hat{m}_6 + 3\hat{m}_7 + 3\hat{m}_8 - 8\hat{m}_9 - 8\hat{m}_{10} - 8\hat{m}_{11}$	Efeito dos extratos vegetais versus os tratamentos controles
$\hat{Y}_2 = \hat{m}_9 + \hat{m}_{10} - 2\hat{m}_{11}$	Efeito dos controles positivos (NIM e sintético) versus o controle negativo (água)
$\hat{Y}_3 = \hat{m}_9 - \hat{m}_{10}$	Efeito do controle positivo NIM versus o controle positivo sintético
$\hat{Y}_4 = \hat{m}_1 + \hat{m}_2 + \hat{m}_3 + \hat{m}_4 + \hat{m}_5 + \hat{m}_6 + \hat{m}_7 - 7\hat{m}_8$	Efeito dos extratos vegetais à base de etanol e butanol versus o extrato vegetal à base de acetato de etila
$\hat{Y}_5 = 2\hat{m}_1 + 2\hat{m}_2 + 2\hat{m}_3 + 2\hat{m}_4 + 2\hat{m}_5 - 5\hat{m}_6 - 5\hat{m}_7$	Efeito dos extratos vegetais à base de etanol versus os extratos vegetais à base butanol
$\hat{Y}_6 = \hat{m}_6 - \hat{m}_7$	Efeito do extrato vegetal à base de butanol 1,5% versus o extrato vegetal à base de butanol 3%

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Experimentos em laboratório

Na análise da duração das fases de vida, larval e pupal, da lagarta-do-cartucho houve efeito significativo dos tratamentos na duração de ambas as fases (Tabela 3), sendo que, apenas para a fase de vida pupal, houve interação significativa entre tratamento e forma de aplicação (Tabela 3).

Tabela 3. Resumo da análise de variância para a variável duração das fases de vida larval e pupal da *Spodoptera frugiperda*.

FV	GL	QM	
		Larval (dias)	Pupal (dias)
Forma	1	73,8728	4,0741
Tratamentos	13	121,9548**	5,1363*
Trat. X Forma	13	26,9238	6,5973*
Erro	83 (25 ¹)	26,8908	2,0558
CV (%)		53,17	17,26
Média Geral		9,7523	8,3068

** e * significativo a 1 e 5%, respectivamente, pelo teste de F. ¹Relativo à fase de vida pupal.

Para a fase de vida larval, o Nim-I-Go e o Inseticida sintético proporcionaram os menores tempos de duração, matando o inseto nos primeiros dias, seguidos dos tratamentos ACET 2, ET 10 e ET 2,5, sendo os demais os que proporcionaram os maiores tempos de duração dessa fase (Tabela 4).

Dentre os extratos vegetais, o acetato de etila a 2% apresentou o menor tempo de duração da fase larval, ficando logo atrás dos controles positivos. O extrato butanólico a 1,5% alongou essa fase de vida, apresentando tempo superior ao da água destilada.

TANZUBIL & McCAFERRY (1990) consideram que o atraso no desenvolvimento pode ser decorrente da menor eficiência de conversão alimentar, causada pelo desvio de parte dos nutrientes à degradação de substâncias tóxicas presentes no alimento. Esse crescimento lento das larvas resultará, segundo HERNÁNDEZ & VENDRAMIM (1996), em menor consumo de alimento no campo e menos danos às culturas.

O alongamento de fases do ciclo biológico e a ocorrência de deformações e morte durante essas fases são alguns dos efeitos de extratos vegetais já constatados sobre insetos (COSTA et al., 2004), embora possa ocorrer também a redução da fase larval como uma forma utilizada por *S. frugiperda* para

compensar as condições inadequadas da fonte de alimento, empupando em menor tempo (RODRIGUES et al., 2008).

Tabela 4. Valores médios da duração da fase larval da lagarta-do-cartucho, sob efeito dos tratamentos com as frações do resíduo líquido de *Agave sisalana* e os controles com água destilada, Nim e metomil.

TRATAMENTOS	MÉDIAS (DIAS)
ET 1,25	12,0625 c
ET 2,5	7,3750 b
ET 5	13,4375 c
ET 7,5	11,6250 c
ET 10	7,2500 b
BUT 1,5	14,2500 c
BUT 3	11,4375 c
ACET 2	6,7500 b
NIM	3,7500 a
QUIM	1,0000 a
AD	11,7500 c
ACET 1	11,6250 c
PPT 2,5	11,8125 c
PPT 5	12,7857 c

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

GALLO et al. (2002) abordam a duração de 12 a 30 dias para o período larval e, para o pupal, de 8 a 25 dias. Nesse trabalho, para a fase larval, houve variação de 1,00 a 14,25 dias, na qual a maioria dos tratamentos reduziu sua duração devido ao aumento da mortalidade. Já a fase pupal variou de 5,5 a 14,5 dias.

O tratamento que possibilitou a maior duração em dias das pupas foi o precipitado a 2,5%, para a forma de aplicação na folha, enquanto nos testes de contato tópico o Nim, o precipitado a 2,5% e o etanólico a 2,5% foram os que possibilitaram a maior duração da fase de vida pupal (Tabela 5).

Além disso, o etanólico a 2,5% e o precipitado a 2,5% tiveram diferença significativa na duração da fase de vida a depender da forma de aplicação dos tratamentos. Nessa fração, por contato tópico, a lagarta demora menos na fase pupal, enquanto que essa fase de vida é alongada em testes por ingestão. Já

naquele extrato ocorre o inverso. Nos testes por ingestão a fase de vida é reduzida, e, por contato tópico é alongada, embora não mais que para a fração anterior (Tabela 5).

Tabela 5. Valores médios da interação entre as formas de aplicação e os tratamentos com as frações do resíduo líquido de *Agave sisalana* e os controles com água destilada, Nim e metomil, para a variável duração da fase pupal da lagarta-do-cartucho.

<i>Tratamentos</i>	<i>Forma de aplicação</i>	
	<i>Teste ingestão (dias)</i>	<i>Teste contato tópico (dias)</i>
ET 1,25	8,0000 aA	7,1667 aA
ET 2,5	7,2500 aA	10,5000 bB
ET 5	*	8,1667 a
ET 7,5	*	8,5000 a
ET 10	*	5,5000 a
BUT 1,5	7,8333 aA	7,5000 aA
BUT 3	*	7,5000 aA
ACET 2	*	7,5000 a
NIM	*	10,5000 b
QUIM	*	*
AD	8,8750 aA	8,1667 a
ACET 1	*	7,8333 a
PPT 2,5	14,5000 bB	9,0000 bA
PPT 5	9,0000 aA	8,2500 aA

* Mortalidade em fase larval

Médias seguidas pela mesma letra minúscula nas colunas pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade e pela mesma letra maiúscula nas linhas não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os tratamentos aplicados influenciaram significativamente (Tabela 6) no comprimento das lagartas, para o qual houve influência da forma de aplicação. Nesse caso, para contato tópico, a lagarta cresceu mais (Tabela 7), indicando baixa influência dos tratamentos no seu desenvolvimento para essa forma de aplicação.

Tabela 6. Resumo da análise de variância para o peso, comprimento e largura da lagarta *Spodoptera frugiperda*.

FV	GL	QM		
		Peso (g)	Comprimento (cm)	Largura (cm)
Forma	1	0,0027	3,2658*	0,0081
Tratamento	13	0,0447**	1,6828**	0,0344**
Trat. X Forma	13	0,0262	0,6869	0,0143
Erro	548	0,0167	0,5559	0,0124
CV (%)		96,24	39,04	38,25
Média Geral		0,1344	1,9095	0,2913

** e * significativo a 1 e 5%, respectivamente, pelo teste de F.

Tabela 7. Valores médios das formas de aplicação dos tratamentos para as variáveis morfométricas peso, comprimento e largura da lagarta-do-cartucho.

FORMAS	PESO(g)	COMPRIMENTO (cm)	LARGURA (cm)
Folha	0,1374 a	1,8429 a	0,2907 a
Lagarta	0,1319 a	1,9675 b	0,2919 a

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de F a 5% de probabilidade.

Com relação aos valores morfométricos, os tratamentos que prejudicaram o desenvolvimento da lagarta foram os controles positivos, Nim-I-Go e o inseticida sintético, obtendo os menores valores de peso, comprimento e largura, o que os diferenciou estatisticamente dos extratos vegetais, que proporcionaram ganhos morfométricos à lagarta, não se diferenciando da água destilada (Tabela 8).

Tabela 8. Valores médios dos tratamentos com as frações do resíduo líquido de *Agave sisalana* e os controles com água destilada, Nim e metomil, para as variáveis morfométricas peso, comprimento e largura da *Spodoptera frugiperda*.

<i>Tratamentos</i>	<i>Peso (g)</i>	<i>Comprimento (cm)</i>	<i>Largura (cm)</i>
ET 1,25	0,1345 b	1,8531 b	0,2878 b
ET 2,5	0,1369 b	1,7875 b	0,2875 b
ET 5	0,1394 b	1,9491 b	0,2887 b
ET 7,5	0,1092 b	1,8082 b	0,2673 b
ET 10	0,1150 b	1,7906 b	0,2750 b
BUT 1,5	0,1322 b	1,9186 b	0,2864 b
BUT 3	0,1063 b	1,7667 b	0,2688 b
ACET 2	0,1103 b	1,7613 b	0,2774 b
NIM	0,0547 a	1,4316 a	0,2263 a
QUIM	0,0275 a	1,2625 a	0,1875 a
AD	0,1892 b	2,1667 b	0,3314 b
ACET 1	0,1578 b	2,0860 b	0,3200 b
PPT 2,5	0,1521 b	2,0809 b	0,3170 b
PPT 5	0,1619 b	2,0875 b	0,3188 b

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Como a azadirachtina interfere no desenvolvimento e ecdise dos insetos, os efeitos em resposta da dose podem ser vistos como uma redução no crescimento, mortalidades aumentadas, mudas anormais e atrasadas (MORDUE & NISBET, 2000). Esses padrões foram aqui observados, principalmente no que diz respeito à mortalidade e ao menor crescimento apresentado pela lagarta-do-cartucho tratada com o Nim.

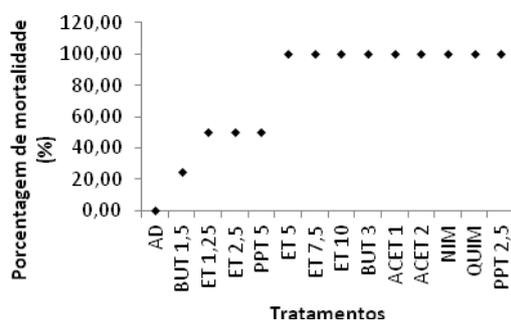
BORGONI & VENDRAMIM (2005), em pesquisa realizada com outras espécies da família Meliaceae, verificaram efeito significativo dos extratos aquosos de folhas de *Trichilia pallens* e ramos de *T. pallida* na diminuição do peso

(ao 14º dia, 46,4g e 41,3g, respectivamente), aumento na duração da fase de vida larval (26,0 dias e 25,5 dias, respectivamente) e acentuada mortalidade para a *Spodoptera frugiperda* (95,4% e 96,4%, ao final da fase larval).

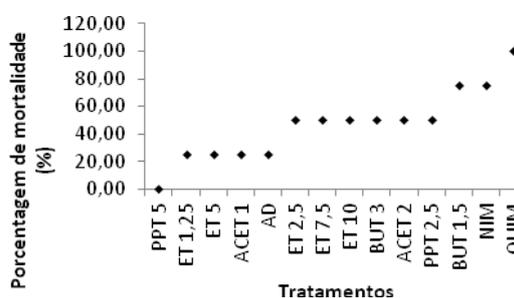
Os inseticidas vegetais afetam, prioritariamente, o desenvolvimento dos insetos, sendo a mortalidade apenas um dos efeitos, dependente da concentração do produto (GALLO et al., 2002; GULLAN & CRANSTON, 2007). Nessa pesquisa foi observado que o efeito dos extratos do resíduo líquido de sisal é, essencialmente, na sobrevivência da *Spodoptera frugiperda*, não no desenvolvimento do inseto (Gráfico 1).

O teste por ingestão obteve as maiores porcentagens de mortalidade em relação ao de contato tóxico, no qual todos os tratamentos, exceto o inseticida químico, tiveram pelo menos uma lagarta que completou a fase de pupa e chegou à fase de imago.

Os extratos acetato de etila a 2% e etanólico a 10 %, que proporcionaram baixos valores na duração em dias da fase larval (6,75 e 7,25 dias, respectivamente), obtiveram também a maior taxa de mortalidade para os testes de ingestão (100%). E, somando ao extrato etanólico a 2,5%, que também apresentou baixa duração da fase de vida larval (7,38 dias), nota-se mais rápido tempo de ação inseticida para esses extratos em relação aos demais (Gráfico 2). A água destilada, no teste por ingestão, e o precipitado a 5%, por contato tóxico, não resultou em morte da lagarta.



Teste por ingestão



Teste por contato tóxico

Gráfico 1. Porcentagem de mortalidade da lagarta-do-cartucho em resposta às frações do resíduo líquido de sisal e às formas de aplicação dos tratamentos.

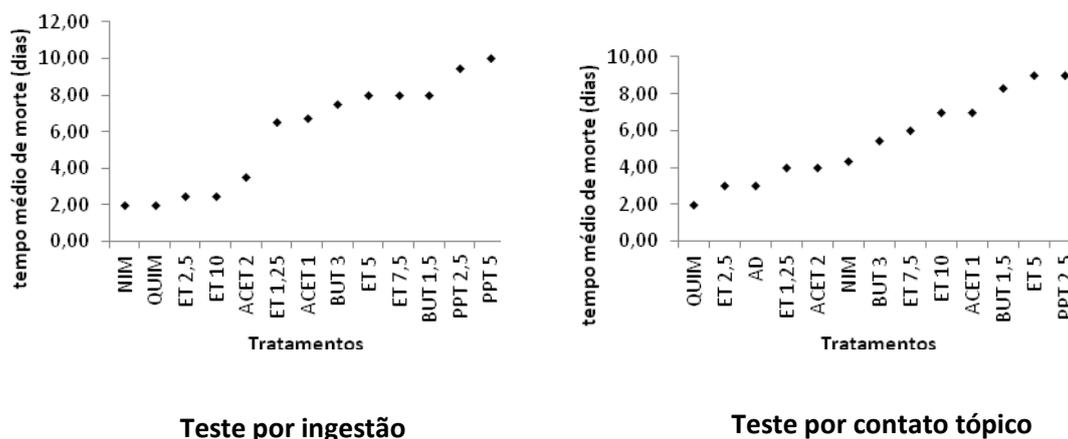


Gráfico 2. Tempo médio de morte da lagarta-do-cartucho em resposta às frações do resíduo líquido de sisal e às formas de aplicação dos tratamentos.

Apesar da diferença de disponibilidade de extrato entre os testes, sendo maior para os testes de ingestão, uma vez que a superfície da folha foi uniformemente molhada, o inseticida químico proporcionou acentuada mortalidade para ambos, o que sugere que, devido às maiores taxas encontradas para os testes de ingestão, as frações do resíduo de *Agave sisalana*, assim como o Nim, atuam como toxina alimentar.

Foram observados ainda alguns padrões de coloração no corpo da lagarta durante o experimento, que podem ser usados, futuramente, na avaliação de efeito inseticida, demonstrando a dificuldade em completar a ecdise. Para o teste de ingestão, foi visualizada a porção anterior do corpo (região cefálica e tórax) esbranquiçada para os tratamentos com os extratos ET 7,5 e o ET 10. Isso também foi observado para o NIM, no teste de contato tópico. Para o BUT 1,5, nesse mesmo teste, foi a porção posterior do corpo que se apresentou esbranquiçada, e que, com o passar dos dias, evoluiu para apenas uma faixa, a partir de quando a lagarta começou a apresentar maior debilidade.

SOUZA (2009), ao avaliar às 24, 48 e 72hs a mortalidade de *Spodoptera frugiperda* pelo extrato hidroetanólico do resíduo líquido de *Agave sisalana*, em teste de ingestão, constatou que a maior porcentagem foi obtida para a concentração de 5%, com 64% de lagartas mortas às 72 horas da montagem do

experimento. Por contato tópico, essa mesma concentração apresentou efeito na mortalidade do inseto, porém em menor valor, 28%.

Calculando a mortalidade diária acumulada, a mesma autora obteve, ao 3º dia da montagem do experimento, para o extrato butanólico a 1,5%, a maior mortalidade (84,66%), seguido pelo extrato hidroetanólico a 10% (79,11%).

MELO (2010), estudando o extrato etanólico da polpa das sementes de *Piper tuberculatum* sobre a mortalidade da *S. frugiperda*, concluiu que o extrato da polpa provoca 100 % de mortalidade larval nas doses a partir de 0,01% (10 mg/ 100 g), em dieta artificial, e o extrato das sementes provoca o mesmo percentual de mortalidade larval nas doses de 0,05% e 0,15% (50 e 150 mg/ 100 g) da mesma dieta.

Além dessa variável, tal autora estudou o tempo larval e pupal, a viabilidade das larvas e das pupas e o tempo médio de morte do inseto. Foi detectado o menor tempo médio de morte para a concentração de 0,25% do extrato etanólico da polpa de *Piper tuberculatum*. Para o tempo larval, todos os extratos apresentaram menor duração dessa fase de vida devido a alta mortalidade encontrada e não ao encurtamento da fase.

ROEL et al. (2000), avaliando os efeitos de diversas concentrações do extrato acetato de etila de folhas e ramos de *Trichilia pallida* (0,0001%, 0,0008%, 0,006%, 0,05%, 0,4% e 3%) observaram que o extrato causou mortalidade larval de 100%, na concentração igual ou superior a 0,05%; afetou o desenvolvimento e sobrevivência da lagarta-do-cartucho na concentração de 0,006%, promovendo o alongamento da fase de vida larval; e não provocou qualquer efeito no inseto com concentração igual ou inferior a 0,0008%.

3.2. Experimentos em campo

As épocas em que foram avaliados os tratamentos tiveram efeito significativo na diminuição dos danos da lagarta (Tabela 9), sendo esses maiores na primeira avaliação, antes da aplicação dos tratamentos, e decrescentes até serem menores na última avaliação, na qual as folhas mais novas já não apresentavam danos, controlando, portanto, a infestação (Tabela 10).

Tabela 9. Resumo da análise de variância para os danos da lagarta *Spodoptera frugiperda* na cultura do milho, em três épocas de avaliação.

FV	GL	QM
Bloco	3	1,9190*
Tratamentos	10	0,5615
Erro a	30	0,5483
Épocas	2	6,4888**
Tratamentos x Épocas	20	0,0739
Erro b	66	0,2111
CV (%)		20,37
Média Geral		2,2556

** e * significativo a 1 e 5%, respectivamente, pelo teste de F.

Tabela 10. Valores médios para as épocas de avaliação dos danos ocasionados pela lagarta-do-cartucho na cultura do milho.

ÉPOCAS DE AVALIAÇÃO	MÉDIAS (DANOS)
1	2,6220 c
2	2,2886 b
3	1,8561 a

0 – Sem danos, **1** – Plantas com folhas raspadas, **2** – Plantas com folhas furadas, **3** – Plantas com lesão nas folhas e no cartucho, **4** – Planta com o cartucho destruído, **5** – Plantas com muitas folhas e cartucho totalmente destruídos.

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

LIMA et al. (2009) ao testarem, em campo, formulações comerciais de Nim e do inseticida biológico Bta, constataram que os índices de injúrias foram reduzidos ao longo das avaliações em virtude do crescimento das plantas com produção de novas folhas.

LIMA et al. (2008), estudando a ação de inseticidas naturais em duas épocas de semeadura, sendo realizadas três aplicações dos tratamentos por época, perceberam que houve maior controle da incidência de lagartas na 1ª época de semeadura, com diminuição do percentual de plantas atacadas após cada pulverização, sendo menor após a terceira, que diferiu significativamente das demais para a maioria dos tratamentos.

Não houve efeito significativo dos tratamentos na diminuição dos danos da *Spodoptera frugiperda* (Tabelas 9, 11 e 12), de forma que a aplicação de inseticidas comerciais ou dos extratos vegetais da *Agave sisalana* controlam a intensidade dos danos da lagarta, principalmente após a segunda aplicação.

Tabela 11. Valores médios para as notas atribuídas ao ataque de plantas de milho por *S.frugiperda*, tratadas com extratos vegetais de *Agave sisalana*, água destilada e formulações de Nim e metomil, no ano agrícola de 2011.

<i>Tratamentos</i>	<i>Médias (danos)</i>
ET 1,25	1,8625 a
ET 2,5	2,3900 a
ET 5	2,3200 a
ET 7,5	2,6392 a
ET 10	1,9442 a
BUT 1,5	2,3333 a
BUT 3	2,1108 a
ACET 2	2,3483 a
NIM	2,3625 a
QUIM	2,2500 a
AD	2,2508 a

0 – Sem danos, 1 – Plantas com folhas raspadas, 2 – Plantas com folhas furadas, 3 – Plantas com lesão nas folhas e no cartucho, 4 – Planta com o cartucho destruído, 5 – Plantas com muitas folhas e cartucho totalmente destruídos.

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste F a 5% de probabilidade.

SOUZA (2009), ao realizar experimento em campo com extrato hidroetanólico, nas concentrações de 5, 8 e 15%, do resíduo líquido de sisal, obteve efeito significativo de tratamento e de época. Os menores danos foram obtidos pelo extrato nas duas maiores concentrações, equiparáveis ao inseticida sintético utilizado (Decis). Os danos encontrados foram reduzidos com o aumento no número de aplicações.

Tabela 12. Estimativas dos contrastes ortogonais dos extratos vegetais do resíduo de *Agave sisalana* e tratamentos controle com água destilada, Nim e metomil, para os danos ocasionados pela lagarta-do-cartucho na cultura do milho.

Contraste	Estimativas
Extrato vegetal vs. contr.	-0,0442
Contr. pos. vs. Contr. neg.	0,0554
NIM vs. QUIM	0,1125
ET e BUT vs. ACET	-0,1198
ET vs. BUT	0,0091
BUT 1,5 vs. BUT 3	0,2225

** e * significativo a 1 e 5%, respectivamente, pelo teste de t.

No resumo da análise de variância apresentado na Tabela 13, observa-se que, para todas as variáveis de produção analisadas, não houve efeito significativo dos tratamentos, indicando que os mesmos não interferem no desenvolvimento e produção de espigas, na cultura do milho.

MILANI (1996) fez uma revisão de trabalhos realizados com alta densidade de plantas, obtida através da diminuição dos espaçamentos, e concluiu que isso tem aumentado a produção total, a partir da obtenção de maior número de espigas, embora haja redução no peso individual das espigas e no comprimento, o que corrobora os dados de produção aqui encontrados para o espaçamento utilizado.

Tabela 13. Análise de variância dos parâmetros de produção avaliados no controle da *S. frugiperda*, em milho cultivado em campo, sob infestação natural. Feira de Santana - BA, ano agrícola 2011.

		QM							
FV	GL	NE	AP (cm)	AIEP (cm)	PMED (kg)	COMP MEN (cm)	COMP MAI (cm)	CIRCM EN (cm)	CIRCM AI (cm)
		2,12	2240,35	793,57	0,0046	25,16	6,27	3,99	0,86
TRAT	10	4,25	2509,28	429,55	0,0055	29,93	8,21	13,62	2,59
Erro	29 ¹	3,05	1607,48	654,10	0,0055	22,02	9,75	15,13	1,84
CV (%)		36,27	21,99	27,38	45,15	35,05	15,07	28,18	7,92
Média Geral		4,82	182,30	93,41	0,16	13,39	20,72	13,80	17,12

NE= número de espigas; AP= altura da planta; AIEP= altura de inserção da espiga principal; PMED= peso médio das espigas desfolhadas; COMP MEN= comprimento da menor espiga; COMP MAI= comprimento da maior espiga; CIRCM EN= circunferência da menor espiga; CIRCM AI= circunferência da maior espiga.

** e * significativo a 1 e 5%, respectivamente, pelo teste de F. ¹GL erro = 30, 28, 25 para as variáveis NE, AP e AIEP, respectivamente.

De acordo com FORNASIERI FILHO (1992), isso ocorre porque, aumentando-se a densidade, a produção individual por planta é limitada a competição entre plantas. Com o aumento da densidade ocorrem alterações morfológicas e fisiológicas no milho, como espigas menores, maior número de plantas sem espiga, as plantas tendem a ficar mais altas e uniformes, os colmos ficam mais finos e pode ocorrer maior acamamento.

No momento da coleta das espigas foram observadas espigas danificadas por aves e insetos, além de espigas pouco desenvolvidas, ou seja, de menor tamanho, que não apresentavam ou que apresentavam poucos grãos. Cerca de 21,38% das espigas coletadas estavam danificadas por aves e 16,98% espigas foram danificadas por insetos.

Dentre os tratamentos, todos os extratos vegetais apresentaram o milho com espiga pouco desenvolvida, sendo que os extratos butanólico a 3% e o

etanólico a 1,25% foram os que apresentaram a maior quantidade (5), enquanto o extrato etanólico a 2,5% obteve a menor (1). Os tratamentos em que todas as espigas se encontravam desenvolvidas foram o Nim-I-Go, o inseticida sintético e a água. Apesar disso, não se pode concluir que os extratos vegetais interferem no desenvolvimento das espigas porque eles se equipararam aos tratamentos controles nos parâmetros agrônômicos analisados (Tabela 14).

Tabela 14. Valores médios dos caracteres agrônômicos da planta e espiga após o tratamento com extratos vegetais do resíduo líquido de *Agave sisalana* e os controles com Nim, Lannate e água destilada.

TRAT	NE	AP (cm)	AIEP (cm)	PMED (kg)	COMP MEN (cm)	COMP MAI (cm)	CIRC MEN (cm)	CIRC MAI (cm)
ET 1,25	4,50 a	203,63 a	95,38 a	0,20 a	12,10 a	21,15 a	13,50 a	17,73 a
ET 2,5	6,25 a	167,55 a	83,50 a	0,19 a	9,58 a	21,38 a	10,15 a	17,20 a
ET 5	4,75 a	206,53 a	101,18 a	0,12 a	18,16 a	21,95 a	14,49 a	15,45 a
ET 7,5	6,00 a	197,76 a	91,08 a	0,13 a	11,05 a	18,65 a	11,48 a	15,95 a
ET 10	5,50 a	125,20 a	95,57 a	0,16 a	12,13 a	21,15 a	15,33 a	17,13 a
BUT 1,5	5,50 a	187,38 a	100,88 a	0,17 a	16,35 a	20,68 a	14,58 a	17,48 a
BUT 3	2,50 a	154,15 a	108,47 a	0,12 a	12,58 a	20,30 a	13,15 a	17,73 a
ACET 2	4,25 a	178,70 a	90,88 a	0,13 a	12,20 a	17,50 a	13,53 a	16,23 a
NIM	4,50 a	206,55 a	107,05 a	0,15 a	11,55 a	21,38 a	14,20 a	17,70 a
QUIM	5,00 a	191,70 a	69,73 a	0,20 a	16,43 a	21,98 a	14,75 a	17,15 a
AD	4,25 a	197,25 a	94,08 a	0,24 a	16,78 a	22,05 a	17,03 a	18,15 a

NE= número de espigas; AP= altura da planta; AIEP= altura de inserção da espiga principal; PMED= peso médio das espigas desfolhadas; COMP MEN= comprimento da menor espiga; COMP MAI= comprimento da maior espiga; CIRC MEN= circunferência da menor espiga; CIRC MAI= circunferência da maior espiga.

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de F a 5% de probabilidade.

Os pesos médios das espigas variaram de 120g a 240g. Quanto ao comprimento, este variou de 9,58 cm a 22,05 cm, enquanto que a circunferência teve amplitude de 10,15 a 18,15 cm.

Os extratos vegetais do resíduo de sisal se equipararam aos controles utilizados, logo, não influenciam na produção da cultura do milho (Tabela 15).

Tabela 15. Estimativas dos contrastes ortogonais dos caracteres agronômicos da planta e espiga após o tratamento com extratos vegetais do resíduo líquido de *Agave sisalana* e os controles com Nim, Lannate e água destilada.

Contraste	NE	AP (cm)	AIEP (cm)	PMED (Kg)	COM PMEN (cm)	COMP MAI (cm)	CIRCM EN (cm)	CIRC MAI (cm)
Extrato vegetal vs. contr.	0,32	-20,89	5,58	-0,04	-1,90	-1,46	-2,05	-0,81
Contr. pos. vs. Contr. neg.	0,50	1,88	-5,69	-0,06	-2,79	-0,38	-2,55	-0,73
NIM vs. QUIM	-0,50	14,85	37,33	-0,06	-4,88	-0,60	-0,55	0,55
ET e BUT vs. ACET	0,75	-1,24	5,70	0,03	0,93	3,25	-0,29	0,72
ET vs. BUT	1,40	9,37	-11,33	0,01	-1,86	0,37	-0,87	-0,91
BUT 1,5 vs. BUT 3	3,00*	33,23	-7,59	0,04	3,78	0,38	1,43	-0,25

* significativo a 5% pelo teste de t.

4 CONCLUSÕES

Supõe-se que as frações do resíduo de sisal, por afetarem a sobrevivência da lagarta-do-cartucho e não o seu desenvolvimento, atuam, principalmente, como toxinas alimentares, enquanto por contato tópico, houve menor mortalidade e maior crescimento da *S. frugiperda*.

Os extratos que mais mataram o inseto foram o acetato de etila a 2% e etanólico a 10%, com 100% de mortalidade e maior eficiência inseticida,

observada pelos menores tempos de duração da fase larval, bem como os menores tempos médios de morte encontrados.

O extrato etanólico a 2,5%, embora tenha causado mortalidade de apenas 50%, obteve rápida ação inseticida e alongou a fase de vida pupal da lagarta, em teste por contato tópico.

Nos testes realizados em campo, não houve efeito significativo dos tratamentos no controle da intensidade dos danos, sendo que os extratos vegetais do resíduo líquido de *Agave sisalana* se equipararam às testemunhas, havendo controle da infestação de *S. frugiperda* após a 2ª aplicação dos produtos.

Todas as características da espiga e da planta não sofreram modificações significativas após a aplicação dos extratos de sisal, de forma que esses não interferem na produção da cultura de milho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, R.; ORNELAS, J. & BRANDÃO, W. 2010. **Situação atual do sisal na Bahia e suas novas possibilidades de utilização e aproveitamento**. Disponível em <http://www.seagri.ba.gov.br/pdf/3_comunicacao01v9n1.pdf> Acesso em 15 de janeiro de 2012.

BARRETO, A.F.; ARAÚJO, E.; BELTRÃO, N.E.M.; CARDOSO, G.D. & SILVA, C.I.R.E.E. 2003. **Efeito de extrato de agave sobre ácaros rajados *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) em plantas de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L. r *latifolium* Hutch). Parte da dissertação do 1º autor**. Disponível em <www.cnpa.embrapa.br/produtos/algodao/publicacoes/.../061.pdf> Acesso em 16 de junho de 2010.

BOGORNÍ, P.C. & 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**, v. 34, n. 2, p.311-317

BURTON, R.L. & PERKINS, W.D. 1972. WSB, a new laboratory diet for the corn earworm and the fall armyworm. **Journal of Economic Entomology**, Baltimore, v.65, n.2, p.385-386.

CARVALHO, R.P.L. 1987. Pragas do milho. In: PATERNIANI, E. & VIÉGAS, G.P., ed. **Melhoramento e produção do milho**. Campinas, cap. 15, p. 637-712.

CARVALHO, R.P.L. 1970. **Danos, flutuação da população, controle e comportamento de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) e susceptibilidade de diferentes genótipos de milho, em condições de campo.** Tese de Doutorado, ESALQ-USP, Piracicaba, SP. 170p.

COSTA, E.L.N.; SILVA, R.F.P.; FIUZA, L.M. 2004. Efeitos, aplicações e limitações de extratos de plantas inseticidas. **Acta Biologica Leopoldensia**, vol. 26, n. 2, p. 173-185.

CRUZ, I.; WAQUIL, J.M.; VIANA, P.A. & VALICENTE, F.H. 1995. **Pragas: diagnóstico e controle.** ARQUIVO DO AGRÔNOMO Nº 2. 2ª ed – ampliada e totalmente modificada.

FERRAZ, MARIA CLARICE VASCONCELOS DIAS. 1982. **Determinação das exigências térmicas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera, Noctuidae) em cultura de milho.** Dissertação de Mestrado em Entomologia, Escola Superior de agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP. 81p.

FORNASIERI FILHO, D. 1992. **A cultura do milho.** 1ªed., Jaboticabal, FCAV/UNESP, FUNEP, 150 p.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BAPTISTA, G.C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIM, J.D.; MARCHINI, L.C.; LOPES, J.R.S. e OMOTO, C. 2002. **Entomologia agrícola.** Piracicaba, FEALQ, 920p.

GONÇALVES JUNIOR. 2002. **Avaliação de extratos de Agave no controle de galhas radiculares do tomateiro.** Dissertação de mestrado em agronomia, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba, Areia (PB). 31 f.

GULLAN, P.J. & CRANSTON, P.S. 2007. **Os insetos: um resumo de entomologia.** São Paulo: Roca, 440p. 3ª Ed.

HERNÁNDEZ, C.R. & VENDRAMIM, J.D. 1996. Toxicidad de extractos acuosos de Meliaceae en *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Manejo Integr. Plagas**, p. 14-22.

LIMA, J.F.M; GRÜTZMACHER, A.D.; CUNHA, U.S.; PORTO, M.P.; MARTINS, J.F.S. & DALMAZOI, G.O. 2008. Ação de inseticidas naturais no controle de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho cultivado em agroecossistema de várzea. **Ciência Rural**, v.38, n.3, p. 607-613

LIMA, R. K.; CARDOSO, M. G.; MORAES, J. C.; MELO, B. A.; RODRIGUES, V. G. & GUIMARÃES, P. L. 2009. Atividade inseticida do óleo essencial de pimenta longa (*Piper hispidinervum* C. DC.) sobre lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Acta amazônica**, v. 39, n. 2, p. 377 – 382.

MARTIN, A.R.; MARTINS, M.A.; MATTOSO, L.H.C. & SILVA, O.R.R.F. 2009. Caracterização Química e Estrutural de Fibra de Sisal da Variedade *Agave sisalana*. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 19, nº 1, p. 40-46.

MELO, R.S. 2010. **Efeito inseticida das frações hexânica, etérea e etanólica de *Piper tuberculatum* Jacq. (Piperaceae), sobre *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)**. Dissertação de mestrado em agronomia da Universidade Federal do Piauí, Teresina, Piauí. 92p.

MILANI, M. 1996. **Seleção de famílias de meios-irmãos de milho (*Zea mays* L.) com arquitetura modificada para alta densidade populacional**. Trabalho de Conclusão de Curso em Engenharia Agrônoma, Universidade Estadual Paulista: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal (SP). 85p.

MORDUE (LUNTZ), A.J. & NISBET, A.J. 2000. Azadirachtin from the neem tree *Azadirachta indica*: its action against insects. **An. Soc. Entomol. Brasil**, v. 29, n. 4, p.615-632.

NICOLAI, M.; CARVALHO, S.J.P.; LÓPEZ-OVEJERO, R.F.; CHRISTOFFOLETI, P.J. 2006. Aplicação conjunta de herbicidas e inseticidas na cultura do milho. **Bragantia**, Campinas, v.65, n.3, p.413-420

PIZARRO, A.P. B.; FILHO, A.M.O.; PARENTE, J.P.; MELO, M.T.V.; SANTOS, C.E. dos & 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** v. 32, p. 23-29.

RODRIGUES, S.R.; COUTINHO, G.V.; GARCEZ, W.S; GARCEZ, F.R. & ZANELLA, D.P.F. 2008. Atividade inseticida de extratos etanólicos de plantas sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Agrarian**, v.1, n.1, p.133-144.

RODRIGUEZ, H.C. & VENDRAMIM, J.D. 1996. Avaliação da bioatividade de extratos aquosos de Meliaceae sobre *Spodoptera frugiperda* (L.E. Smith). **Revista da Agricultura**, Piracicaba, v.72, p.305-318.

ROEL, A. R.; VENDRAMIM, J. D.; FRIGHETTO, R. T. S. & FRIGHETTO, N. 2000. Efeito do extrato acetato de etila de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) no desenvolvimento e sobrevivência da Lagarta-do-Cartucho. **Bragantia**, Campinas, v. 59, n. 1, p. 53-58.

SAS INSTITUTE. 2006. SAS Technical Report. **SAS/ STAT software: Changes and Enhancement**, Release 9.1.1.3, Cary, NC: SAS Institute.

SILVA, O.R.R.F.; SUINAGA, F.A. & COUTINHO, W.M. 2006. Cadeia produtiva. In: ANDRADE, W (Org.). **O sisal do Brasil**. Salvador: SINDIFIBRAS-Sindicato das Indústrias de Fibras Vegetais da Bahia, 156 p.

SOUZA, M.F. 2009. **Atividade inseticida de extratos obtidos a partir do resíduo líquido de *Agave sisalana* Perrine no controle da praga *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho**. Dissertação de mestrado em Biotecnologia da Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, BA. 64p.

SUINAGA, F.A.; SILVA, O.R.R.F. & COUTINHO, W.M. 2006. **Cultivo de sisal na região semi-árida do nordeste brasileiro**. Campina Grande: EMBRAPA Algodão, v.5, 42p.

TANZUBIL, P.B. & McCAFERRY, A.R. 1990. Effects of azadirachtin and aqueous neem seed extracts on survival, growth and development of the african armyworm, *Spodoptera exempta*. **Crop Protection**, v. 9, p. 383-386.

VASCONCELOS, G. J. N.; JUNIOR, M. G. C. G & BARROS, R. 2006. Extratos aquosos de *Leucaena leucocephala* e *Sterculiafoetida* no controle de *Bemisia tabaci* biotipo B Hemiptera: Aleyrodidae). **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.5, p.1353-1359.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os extratos do resíduo líquido de *Agave sisalana* se equipararam aos controles com inseticida sintético e natural, no que concerne aos efeitos de fitotoxicidade e ao controle da infestação da *Spodoptera frugiperda* em campo, sem afetar a produção da cultura de milho.

O aumento no número de pulverizações aumenta os efeitos fitotóxicos para o milho; no entanto, possibilita maior controle da infestação da lagarta.

Para os ensaios biológicos, foi verificado que os inseticidas vegetais atuam principalmente na alimentação do inseto, com as maiores mortalidades observadas nos testes por ingestão. Os extratos acetato de etila a 2% e etanólico a 10% foram os que se destacaram nesses ensaios, pela maior mortalidade (100%) e rápida ação, com os tempos médios de morte de 3,5 e 2,5 dias. Já o extrato etanólico a 2,5%, embora tenha causado mortalidade de apenas 50%, obteve os menores tempos médios de morte, alongando a fase de vida pupal da lagarta em teste por contato tópico.

Ainda muitos estudos necessitam ser realizados para comprovação do efeito inseticida de *Agave sisalana*, como o cálculo da CL 50 dos extratos, ensaios biológicos com outros insetos-praga, testes de toxicidade foliar com outras culturas economicamente importantes, além de mais testes de produção e mortalidade da lagarta em campo.

Ainda assim, outros parâmetros podem ser utilizados nos ensaios biológicos para avaliar o efeito inseticida dos extratos de *Agave sisalana* sobre a lagarta-do-cartucho, como o consumo foliar para detectar um possível efeito deterrente, a duração de dias para as ecdises, a fim de detectar duração dos instares larvais, peso das pupas, deformação destas e dos insetos imagos, oviposição, longevidade, etc. e até ensaios moleculares a fim de detectar qual composto presente no inseto está sendo prioritariamente afetado pelo extrato de sisal, podendo iniciar pela avaliação da atividade antitripsina dos extratos.