

Bacillus thuringiensis Berliner e *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Erebidae) sob ação de extratos vegetais

Bacillus thuringiensis Berliner and *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Erebidae) under the action of plant extracts

Alciani da Silva Pessoa¹, Everton Ricardi Lozano^{1*}, Andréia Vilani¹, Michele Potrich¹, Lísia de Lima Matos¹, Thiego Mateus Oliveira¹, Gustavo Marçal Pessoa¹

RESUMO: O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de extratos vegetais aquosos de jambolão, *Syzygium cumini* (L.) Skeels (Myrtaceae), mamona, *Ricinus communis* (L.) (Euphorbiaceae), uva-do-japão, *Hovenia dulcis* (Thunberg) (Rhamnaceae) e urucum (*Bixa orellana* (L.) (Bixaceae), na concentração de 10%, sobre *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* (Btk) e sobre *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae) e a associação destes sobre *A. gemmatalis*, em condições de laboratório. Os tratamentos constaram dos extratos aquosos e Btk isoladamente e a mistura de cada extrato com Btk. Estes foram incubados em agitador horizontal ($30 \pm 2^\circ\text{C}$, 150 rpm por 2 h) e, em seguida, aplicados sobre cubos de dieta artificial para *A. gemmatalis*, em placas de Petri. Como testemunha utilizou-se água destilada esterilizada. Cada tratamento constou de 4 placas de Petri (repetição), com 25 lagartas de segundo ínstar cada. Estas foram acondicionadas em câmara climatizada ($27 \pm 2^\circ\text{C}$, , umidade relativa $70 \pm 10\%$ e fotofase 14 h), avaliando-se a mortalidade após 24, 48 e 72 h. Também foram avaliados o percentual de empupamento e o peso das pupas dos insetos sobreviventes. Nenhum dos extratos apresentou efeito inseticida para *A. gemmatalis* e efeito negativo para os cristais de Btk. A mortalidade acumulada causada pelos extratos de uva-do-japão, jambolão, urucum e mamona foram, respectivamente, de 54,73; 46,09; 47,19 e 65,73%; diferindo significativamente da testemunha (95,74%). O peso médio das pupas não diferiu significativamente entre os tratamentos. A associação dos extratos de uva-do-japão, colorau e mamona com Btk provocou mortalidade acumulada de 100% em *A. gemmatalis*.

PALAVRAS-CHAVE: extratos botânicos; controle alternativo; controle associado.

ABSTRACT: This study aimed to evaluate the effect of aqueous plant extracts of jambolan, *Syzygium cumini* (L.) Skeels (Myrtaceae), castor bean, *Ricinus communis* (L.) (Euphorbiaceae), grape japan, *Hovenia dulcis* (Thunberg) (Rhamnaceae) and urucum, *Bixa orellana* (L.) (Bixaceae) at a concentration of 10% on *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* (Btk) and on *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebidae), and the association of these on *A. gemmatalis*. The treatments consisted of aqueous extracts and Btk alone and the mixture of extract with Btk. These were incubated in a horizontal shaker ($30 \pm 2^\circ\text{C}$, 150 rpm for 2 h) and then applied to artificial diet cubes for *A. gemmatalis* in Petri dishes. As a control it was used sterile distilled water. Each treatment consisted of 4 Petri dishes (repetition) with 25 second instar larvae each. The dishes were placed in a climatic chamber ($27 \pm 2^\circ\text{C}$, relative humidity $70 \pm 10\%$ and 14 h photoperiod), assessing the mortality after 24, 48 and 72 h. The percentage pupal and pupae weight of surviving insect were also assessed. None of the extracts showed insecticidal effects for *A. gemmatalis* and negative effects for crystals Btk. The cumulative mortality caused by extracts of grape japan, jambolan, urucum and castor bean were respectively 54.73; 46.09; 47.19 and 65.73%, differing significantly from the control (95.74%). The average weight of pupae did not differ significantly among treatments. The association of extracts of grape japan, urucum and castor bean with Btk caused 100% cumulative mortality in *A. gemmatalis*.

KEYWORDS: botanical extracts; alternative control; associated control.

¹Laboratório de Controle Biológico; Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) – Dois Vizinhos (PR), Brasil.

*Autor correspondente: evertonlricardi@utfpr.edu.br

Recebido em: 11/09/2012. Aceito em: 03/10/2014.

INTRODUÇÃO

A utilização excessiva de inseticidas químicos sintéticos causa consequências graves ao homem e ao ambiente, devido à alta toxicidade e ao amplo espectro de ação (PRAÇA et al., 2004), além de causar a seleção de populações de pragas resistentes, o surgimento de novas pragas, antes consideradas secundárias, e a morte dos organismos não alvo, como os polinizadores e os inimigos naturais (SCHLÜTER, 2006; BERLITZ; FIUZA, 2005).

Com isso é cada vez mais urgente e necessária a busca pela sustentabilidade agrícola por meio de práticas alternativas, orientadas pelo conhecimento de processos ecológicos em consonância ao contexto social (GLIESSMAN, 2005). Práticas alternativas servem de base aos sistemas alternativos de produção, contribuindo na redução dos impactos ambientais e sociais causados pelo modelo convencional de produção agrícola (DINIZ et al., 2006).

Nos sistemas alternativos, o controle de pragas e doenças é realizado por meio da utilização de extratos vegetais, óleos essenciais, caldas fertiprotetoras, além do uso de agentes de controle biológico (PENTEADO, 2007).

Os agentes de controle biológico representam uma alternativa econômica e ecologicamente viável (PRAÇA et al., 2004) e, entre os agentes de controle, destaca-se *Bacillus thuringiensis* Berliner, bactéria Gram positiva que produz proteínas inseticidas na forma de cristais parasporais durante a esporulação (BRAVO et al., 2007), podendo cada isolado produzir um ou mais tipos de cristais, variando seu espectro inseticida (FIUZA, 2009).

B. thuringiensis subesp. *kurstaki* apresenta efeito inseticida a diversos insetos-praga como *Spodoptera frugiperda* J.E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae), *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Erebididae), *Anthonomus grandis* Boheman (Coleoptera: Curculionidae), *Aedes aegypti* Linnaeus, *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae) (PRAÇA et al., 2004) e *Plutella xylostella* Linnaeus (Lepidoptera: Plutellidae) (MEDEIROS et al. 2005a). SANTOS et al. (2009) consideraram a estirpe *B. thuringiensis* subesp. *kurstaki* (Btk) HD-1 altamente patogênica a *Spodoptera eridania* Cramer, *Spodoptera cosmioides* Walker e *S. frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae).

A utilização de extratos vegetais também representa uma alternativa importante no controle de insetos-praga, visto que muitos apresentam potencial inseticida, baixa toxicidade ao homem, aos animais e ao ambiente. Esses extratos apresentam substâncias bioativas (MEDEIROS et al., 2005b), resultantes do metabolismo secundário das plantas. Essas substâncias podem apresentar efeito tóxico (PRATES et al., 2003), ovicida, repelente (FRANÇA et al., 2009), antialimentar (SAITO et al., 2004), além de agirem como reguladores de crescimento e inseticidas fisiológicos (MAIRESSE, 2005).

Os metabólitos secundários encontrados nos extratos vegetais podem apresentar atividade antibacteriana, como observado para o extrato hidroalcoólico de folhas de jambolão, *S. cumini* (LOGUERCIO et al., 2005; MICHELIN et al., 2005), para tinturas de urucun, *B. orellana* (COELHO et al., 2003),

para os extratos metanólicos e hexânicos de velame do campo, *Croton campestris* (A.), alfavaca, *Ocimum gratissimum* (L.), e erva baleeira, *Cordia verbenacea* DC (MATIAS et al. 2010).

Para a manutenção dos sistemas alternativos de produção, em muitas situações, faz-se necessária a associação de duas ou mais estratégias de controle, visando atingir diferentes espécies de insetos-praga e/ou diferentes fases do desenvolvimento. Desta forma, estudos de compatibilidade entre extratos vegetais e bactérias entomopatogênicas são importantes, pois mesmo os extratos sendo mais seguros do que os produtos fitossanitários sintéticos, podem agir sobre esses agentes alterando seu modo de ação. Além disso, o efeito da associação dos extratos e bactérias entomopatogênicas pode melhorar a eficácia de controle, apresentando efeitos diretos ou subletais.

Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de extratos vegetais aquosos sobre *B. thuringiensis* subesp. *kurstaki* e sobre *A. gemmatalis* e a associação destes sobre a *A. gemmatalis*, em condições de laboratório.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Controle Biológico da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos (UTFPR-DV).

Para a realização dos bioensaios, ovos de *A. gemmatalis* foram fornecidos pela Empresa BSBio – Produtos Biológicos de Cascavel, Paraná, em recipientes contendo dieta artificial para *A. gemmatalis* (HOFFMANN-CAMPO et al., 1985). Os ovos foram mantidos em câmara climatizada à temperatura de $27 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa (UR) de $70 \pm 10\%$ e fotofase 14 h até as lagartas atingirem o segundo ínstar. A bactéria utilizada foi *B. thuringiensis* subesp. *kurstaki* (Btk), obtida do produto comercial Dipel PM®.

Obtenção dos extratos vegetais

As plantas utilizadas foram jambolão, *Syzygium cumini* (L.) Skeels (Myrtaceae), mamona, *Ricinus communis* (L.) (Euphorbiaceae), e uva-do-japão, *Hovenia dulcis* (Thunberg) (Rhamnaceae), obtidas em Dois Vizinhos, Paraná, e urucum, *Bixa orellana* L. (Bixaceae), obtida em Enéas Marques, Paraná. Folhas e ramos das plantas foram coletados no período matutino e transferidos para estufa de secagem (60°C) por 48 h. Uma excisada de cada planta foi enviada ao Herbário da UTFPR-DV para a identificação botânica e o registro do exemplar *voucher*. Posteriormente, as plantas secas foram moídas em moinho de facas do tipo *Willie*, TECNAL®, modelo TE650, até granulometria de 0,45 mm. O pó, obtido pela trituração dos vegetais, foi armazenado em recipientes de vidro fechados, identificados e isolados da exposição à luz até seu uso na elaboração dos extratos. Para obtenção do extrato aquoso foi utilizada água

destilada esterilizada como solvente extrator, sendo adicionados 25 g de pó em 250 mL de água, permanecendo 48 h ao abrigo da luz, em temperatura ambiente. Em seguida, a mistura foi filtrada com dupla camada de papel filtro esterilizado utilizando uma bomba a vácuo, marca FABEN®, com pressão constante de 1,2 kgf/cm² acoplada a um Kitasato. A solução final foi armazenada em frascos esterilizados, identificados, fechados e conservados em geladeira com temperatura de 4°C, sendo denominada então “extrato aquoso a 10%”.

Determinação da concentração de *Bacillus thuringiensis* subesp. *kurstaki* utilizada

A partir do produto comercial Dipel PM®, na concentração recomendada para o controle de *A. gemmatalis* (250 g/ha/100 L H₂O), foram preparadas 6 suspensões equivalentes às concentrações de 250, 225, 200, 175, 150 e 125 g/ha/100 L H₂O, em um volume de 50 mL, em frascos Erlenmeyer. Para tal, foram adicionadas, respectivamente, 0,125; 0,113; 0,100; 0,088; 0,075 e 0,063 g do produto comercial em 50 mL de água destilada esterilizada. Foi preparada a dieta artificial para *A. gemmatalis*, livre de anticontaminante, e após a solidificação foram cortados cubos de aproximadamente 1,5 cm de lado. Para cada tratamento foram preparadas quatro placas de Petri (repetições), com três cubos de dieta cada. Em cada cubo foram adicionados 150 µL das suspensões, com auxílio de um micropipetador automático. A testemunha constou da aplicação de água destilada esterilizada. Após a aplicação dos tratamentos, as placas ficaram abertas em câmara de fluxo laminar, por cinco minutos, para a evaporação do excesso de água, e receberam 25 lagartas de segundo ínstar de *A. gemmatalis* cada. Posteriormente, as placas foram fechadas e acondicionadas em câmara climatizada à temperatura de 27 ± 2°C, UR 70 ± 10% e fotofase 14 h. As avaliações foram realizadas após 24, 48 e 72 h, quantificando o número de lagartas mortas. A confirmação da mortalidade das lagartas foi feita observando os sinais e sintomas, conforme HABIB; ANDRADE (1998).

Foi selecionada a metade da concentração recomendada de 125 g do produto comercial/ha/100 L H₂O (= 0,063 g/50 mL), que causou 80% de mortalidade em *A. gemmatalis*, possibilitando assim a avaliação sobre o modo de ação do patógeno.

Efeito dos extratos vegetais sobre *Anticarsia gemmatalis* e sobre cristais de *Bacillus thuringiensis* subesp. *kurstaki* *in vivo*

Um volume de 25 mL de cada extrato vegetal (jambolão, mamona, uva-do-japão e urucum) na concentração 10% foi colocado separadamente em frascos Erlenmeyer. Em seguida,

foi adicionado em cada frasco 0,03 g do produto comercial, equivalente à metade da concentração recomendada para o controle de *A. gemmatalis*, conforme determinado no item anterior. Como testemunhas, foram preparados frascos com água destilada esterilizada (testemunha absoluta); água destilada esterilizada + Btk e somente extratos vegetais. Em seguida, os frascos foram incubados em agitador horizontal à temperatura de 30 ± 2°C, 150 rpm por 2 h. Os procedimentos para aplicação dos tratamentos, acondicionamento e avaliação de mortalidade foram os mesmos descritos no item anterior. As lagartas sobreviventes foram avaliadas até o empupamento, registrando-se o percentual de formação de pupas e o peso médio delas. Os dados foram submetidos à análise de variância (teste F) e as médias comparadas com as respectivas testemunhas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, com auxílio do programa estatístico Sisvar®.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nenhum dos extratos vegetais, isoladamente, apresentou efeito inseticida sobre *A. gemmatalis*, uma vez que a mortalidade acumulada não diferiu significativamente da testemunha (água destilada esterilizada). Da mesma forma, verificou-se que nenhum extrato vegetal apresentou efeito negativo sobre cristais de Btk, pois na mistura de ambos não houve inibição do modo de ação do patógeno. Contrariamente, os extratos de uva-do-japão, urucum e mamona associados com Btk causaram mortalidade acumulada de 100% para *A. gemmatalis*, diferindo significativamente da testemunha com Btk (80,92%), indicando sinergismo dos modos de ação. A mortalidade acumulada (86,12%) causada pela associação do extrato de jambolão e Btk não diferiu significativamente da testemunha Btk, isoladamente, evidenciando não haver ação sinérgica dos modos de ação sobre *A. gemmatalis* (Tabela 1).

Com referência aos efeitos subletais, verificaram-se que os extratos puros de uva-do-japão, jambolão, urucum e mamona reduziram o percentual de empupamento de *A. gemmatalis*, com respectivas médias de 54,73; 46,09; 47,19 e 65,73%, diferindo significativamente da testemunha (água destilada esterilizada) (95,74%). O extrato de jambolão associado com Btk reduziu significativamente o percentual de empupamento (12,50%), comparando-se ao extrato isoladamente (46,09%) e à testemunha (água destilada esterilizada) (95,74%). Com relação ao peso das pupas, nenhum tratamento apresentou efeito negativo sobre esse parâmetro, uma vez que não houve diferença significativa entre as médias dos tratamentos (Tabela 1).

Na avaliação entre os tempos, o percentual de mortalidade de *A. gemmatalis* causada pelos extratos puros não diferiu entre 24, 48 e 72h. Já na associação dos extratos e Btk, a maior mortalidade de *A. gemmatalis* ocorreu no tempo de 48 h,

Tabela 1. Porcentagem média (\pm erro padrão) da mortalidade nos tempos de 24, 48, 72 horas e acumulada, porcentagem de empupamento e peso médio de pupas de *Anticarsia gemmatalis* tratadas com extratos vegetais aquosos (10%) e *Bacillus thuringiensis* subesp. *kurstaki* após incubação ($30 \pm 2^\circ\text{C}$, 150 rotações por minuto, 2 horas) com e extratos vegetais aquosos (10%). Temperatura $26 \pm 2^\circ\text{C}$, 12 horas de fotofase e umidade relativa de $70 \pm 10\%$.

	Tempo (h)			Mortalidade acumulada (%)	Empupamento (%)	Peso médio de pupas (g)
	24	48	72			
Test ¹ água	4,00 \pm 1,63 Aab	8,00 \pm 1,63 Ab	10,00 \pm 1,15 Aa	22,00 \pm 1,15 c	95,74 \pm 1,50 a	0,13 \pm 0,00 a
Test água + Btk ²	17,04 \pm 8,06 Bab	73,79 \pm 7,33 Aa	7,13 \pm 4,12 Ba	80,92 \pm 7,43 b	*	*
Uva Jap ³	4,88 \pm 2,81 Aab	3,85 \pm 3,75 Ab	4,99 \pm 2,56 Aa	13,72 \pm 5,74 c	54,73 \pm 7,43 b	0,13 \pm 0,00 a
Uva Jap + Btk	9,85 \pm 2,17 Bab	90,15 \pm 2,00 Aa	0,00 \pm 0,00 Ba	100,00 \pm 0,00 a	*	*
Jam ⁴	1,00 \pm 1,00 Ab	8,96 \pm 3,90 Ab	3,00 \pm 1,90 Aa	12,96 \pm 6,73 c	46,09 \pm 5,10 b	0,13 \pm 0,00 a
Jam + Btk	13,00 \pm 1,92 Bab	61,00 \pm 6,80 Aa	12,12 \pm 5,16 Ba	86,12 \pm 8,72 ab	12,50 \pm 12,50 c	0,15 \pm 0,00 a
Uru ⁵	2,92 \pm 1,70 Aab	6,85 \pm 1,85 Ab	2,88 \pm 2,75 Aa	12,65 \pm 8,72 c	47,19 \pm 8,07 b	0,15 \pm 0,00 a
Uru + Btk	10,00 \pm 3,46 Bab	89,00 \pm 2,52 Aa	1,00 \pm 1,00 Ba	100,00 \pm 6,25 a	*	*
Mna ⁶	5,00 \pm 3,00 Aab	10,00 \pm 3,46 Ab	1,00 \pm 1,00 Aa	16,00 \pm 1,63 c	65,73 \pm 6,23 b	0,14 \pm 0,00 a
Mna + Btk	19,63 \pm 6,38 Ba	76,32 \pm 4,42 Aa	4,05 \pm 2,84 Ca	100,00 \pm 0,00 a	*	*
Coefficiente de variação	45,16			15,13	29,01	12,41

Médias (\pm erro padrão) seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$); *não foi possível realizar análise devido à mortalidade total; ¹testemunha: água destilada esterilizada; ²*Bacillus thuringiensis* subesp. *kurstaki*; ³uva-do-japão; ⁴jambolão; ⁵urucum; ⁶mamona.

diferindo significativamente dos demais tempos. Resultado semelhante foi verificado para Btk isoladamente, evidenciando que os cristais da bactéria e, conseqüentemente, o modo de ação não foram afetados negativamente (Tabela 1).

A mortalidade acumulada de *A. gemmatalis* (100%) causada pelo extrato de mamona associado com Btk foi expressivamente maior do que a do extrato isoladamente (16%), evidenciando que o mesmo não afetou a atividade tóxica de Btk.

Em estudo semelhante, SANTIAGO *et al.* (2008) observaram que o extrato aquoso de frutos verdes de mamona a 10% provocou um alongamento do período larval, inibição do crescimento, deterrência alimentar, além de aumentar a duração do período de pupa e reduzir o peso médio das pupas de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae).

A associação positiva entre mamona e Btk também foi verificada por RIZWAN-UL-HAQ *et al.* (2009) contra *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). De acordo com os autores, a combinação da ricinina, obtida a partir do extrato de sementes e folhas de mamona, com Btk resultou no significativo aumento da eficiência dessa substância sobre a mortalidade das lagartas, chegando a 87,82% em comparação ao tratamento individual (82,11%). Também verificaram que a ricinina retardou o crescimento larval quando adicionada na dieta artificial, de modo proporcional ao aumento da concentração utilizada, bem como a diminuição do peso larval e inibição do desenvolvimento.

A capacidade inseticida da mamona se deve à ricina, um alcaloide extremamente tóxico (LIMA *et al.*, 2011). Como esse alcaloide é encontrado no endosperma da semente, possivelmente a baixa mortalidade observada neste estudo, sem a bactéria (16%), se deve à utilização de folhas da planta na obtenção do extrato.

O extrato de jambolão, isoladamente, causou mortalidade de 12,96% das lagartas, enquanto que na associação com Btk a mortalidade foi significativamente maior (86,12%), indicando que o extrato também não interferiu na atividade tóxica da bactéria.

Resultados semelhantes aos obtidos neste estudo foram observados para o extrato aquoso de cascas de jambolão, em avaliação da atividade antibacteriana contra cepas de isolados padrão e resistente de *Vibrio* spp. (bactérias Gram negativas patogênicas ao homem), o qual não apresentou atividade vibriocida (SHARMA *et al.*, 2009).

As folhas de jambolão, matéria prima utilizada no presente trabalho, possuem como principais constituintes taninos e saponinas. De acordo com TSUCHIYA *et al.* (1996), essas substâncias podem agir se ligando a proteínas extracelulares e paredes celulares de bactérias, inativando-as. A bioatividade sobre insetos está atribuída à capacidade dos taninos em se ligar às proteínas, dificultando a digestão (MAIRESSE, 2005). Saponinas são compostos secundários da classe dos triterpenos e desempenham um importante papel de defesa nas plantas contra insetos e micro-organismos (PERES, 2005). Segundo o autor, em situação de ataque de insetos, as plantas podem desenvolver saponinas como análogos de hormônios esteroides de insetos, interferindo no seu desenvolvimento, tornando-os estéreis.

O extrato de jambolão não apresentou efeito inseticida e bactericida no presente estudo. Já o extrato de urucum, isoladamente, causou 12,65% de mortalidade de *A. gemmatalis*, enquanto que na associação do extrato com Btk a mortalidade foi de 100%.

Assim como o jambolão, o extrato de urucum apresenta em sua composição saponinas e taninos, além de flavonoides,

alcaloides e esteroides (COELHO *et al.*, 2003). Não há estudos com extratos aquosos de jambolão sobre bactérias entomopatogênicas e insetos. Porém, sabe-se que os alcaloides são substâncias de defesa da planta, que muitas vezes inibe a digestão de herbívoros, sendo que algumas dessas substâncias só são sintetizadas pela planta ela se for atacada por um inseto ou patógeno (MAIRESSE, 2005).

Com relação à uva-do-japão, o efeito da associação do extrato e Btk para o controle de *A. gemmatalis* também foi positiva, pois a mortalidade acumulada das lagartas foi de 100%, enquanto que para o extrato isoladamente, foi de 13,72%. Essa planta tem sido testada principalmente quanto ao seu poder alelopático, atribuindo-se essa eficiência principalmente à presença de saponinas, flavonoides e alcaloides encontrados em folhas frescas, secas e pseudofrutos da espécie (WANDSCHEER *et al.*, 2011). Não foram encontrados relatos sobre o efeito dessa espécie sobre bactérias.

No presente trabalho, a redução significativa no percentual de empupamento de 95,74% na testemunha para 54,73; 46,09; 47,19 e 65,73%, respectivamente, para os extratos de uva-do-japão, jambolão, urucum e mamona pode ser explicada pela grande variedade de compostos secundários encontrados nos extratos testados. Nesse caso, observaram-se que os extratos apresentaram efeito secundário sobre a formação das pupas, fortalecendo a tese de que aleloquímicos extraídos de plantas, por possuírem características inseticidas, podem não apresentar ação aguda contra insetos-praga, mas poderão, no final de uma geração, reduzir a população da praga para níveis iguais ou inferiores àqueles encontrados com a utilização de produtos com acentuada ação inseticida (TORRES *et al.*, 2001).

Segundo KNAAK *et al.* (2010), os ingredientes ativos tóxicos encontrados nos extratos vegetais podem atuar no intestino médio dos insetos, fato observado em análise histopatológica de lagartas de *S. frugiperda*, após ingestão de extratos de guiné *Petiveria alliacea* (L.) (Phytolaccaceae), gengibre, *Zingiber officinale* (Roscoe) (Zingiberaceae), capim-limão, *Cymbopogon citratus* (Stapf.) (Poaceae), malva, *Malva silvestris* (L.) (Malvaceae), carqueja, *Baccharis genistelloides* (Less)

(Asteraceae), e arruda, *Ruta graveolens* (L.) (Rutaceae), e a associação desses extratos com a bactéria entomopatogênica *Bacillus thuringiensis* subesp. *aizawai*. De acordo com os autores, a toxicidade dos extratos causou danos como: vacuolização do citoplasma, rompimento das microvilosidades, destruição da membrana peritrófica e alterações nas células do intestino médio de *S. frugiperda*. Além disso, a associação dos extratos e *B. thuringiensis* subesp. *aizawai* acelerou o processo de destruição das células intestinais, reduzindo o tempo letal da espécie alvo *S. frugiperda*, quando foram utilizados em conjunto.

O controle de pragas pode ser potencializado com a utilização de extratos de plantas em associação com entomopatógenos. Acredita-se que se o extrato ocasionar um efeito estressor sobre a praga pode levá-la a adquirir ou ativar doenças infecciosas, tornando-a mais suscetível às toxinas de Btk, proporcionando uma ação mais rápida do entomopatógeno ou um maior índice de mortalidade (SAITO; LUCHINI, 1998). Isso foi constatado por SABBOUR (2003) quando utilizou extrato do cipreste *Taxodium distichum* (L. Rich) associado com *B. thuringiensis*, pois tal associação causou um aumento na patogenicidade da bactéria para pragas de produtos armazenados.

No presente estudo, além de nenhum extrato ter inibido a atividade tóxica do cristal proteico de Btk, verificou-se que os extratos apresentaram efeito aditivo quando utilizados em associação com a bactéria. Novos testes podem ser realizados utilizando outras formas de extração na preparação dos extratos em laboratório, buscando maiores concentrações de metabólitos secundários. Além disso, poderão ser testadas outras concentrações além das utilizadas no presente estudo com o objetivo de potencializar a ação desses dois agentes de controle.

Os extratos vegetais aquosos de jambolão, mamona, uva-do-japão e urucum não causaram mortalidade significativa de *A. gemmatalis*, porém, apresentaram efeito sobre a formação de pupas. Nenhum dos extratos apresentou efeito negativo sobre os cristais de *B. thuringiensis* subesp. *kurstaki*, porém, a mistura dos extratos de mamona, uva-do-japão e colorau com Btk ocasionou um aumento na mortalidade de *A. gemmatalis*, indicando que essas estratégias de controle podem ser utilizadas simultaneamente.

REFERÊNCIAS

BERLITZ, D.L.; FIUZA, L.M. *Bacillus thuringiensis* e *Melia azedarach*: aplicações e interações no controle de insetos-praga. *Biotecnologia Ciência @ Desenvolvimento*, n.35, p.66-72, 2005.

BRAVO, A.; GILL, S.S.; SOBERÓN, M. Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cit toxins and their potential for insect control. *Toxicon*, v.49, n.4, p.423-435, 2007.

COELHO, A.M.S.; SILVA, G.A.; VIEIRA, O.M.C.; CHAVASCO, J.K. Atividade antimicrobiana de *Bixa orellana* L. (Urucum). *Revista Lecta*, v.21, n.1-2, p.47-54, 2003.

DINIZ, L.P.; MAFFIA, L.A.; DHINGRA, O.D.; CASALI, V.W.D.; MIZUBUTI, R.H.S.; MIZUBUTI, E.S.G. Avaliação de produtos alternativos para controle da requeima do tomateiro. *Fitopatologia Brasileira*, v.31, n.2, p.171-179, 2006.

FIUZA, L.M. Mecanismo de ação de *Bacillus thuringiensis*. *Biotecnologia Ciência @ Desenvolvimento*, n.38, 2009.

FRANÇA, S.M.; OLIVEIRA, C.M.; PICANÇO, M.C.; LÔBO, A.P. Efeitos ovicida e repelentes de inseticidas botânicos e sintéticos em *Neoleucinoides elegantis* (Guenée) (Lepidoptera: Crambidae). *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas*, n.35, p.649-655, 2009.

- GLIESSMAN, S.R. *Agroecologia: processos ecológicos em agricultura sustentável*. 3ª ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2005.
- HABIB, M.E.M.; ANDRADE, C.F.S. Bactérias entomopatogênicas. In: ALVES S.B.(Ed.), *Controle microbiano de insetos*. 2ª ed. Piracicaba: FEALQ, 1998. p.383-427.
- HOFFMANN-CAMPO, C.B.; OLIVEIRA, E.B.; MOSCARDI, F. Criação massal da lagarta da soja (*Anticarsia gemmatalis*). Documentos 10. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1985.
- KNAAK, N.; TAGLIARI, M.S.; FIUZA, L.M. Histopatologia da interação de *Bacillus thuringiensis* e extratos vegetais no intestino médio de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Arquivos do Instituto Biológico*, v.77, n.1, p.83-89, 2010.
- LIMA, B.M.F.V.; MOREIRA, J.O.T.; PINTO, H.C.S. Avaliação de extratos vegetais no controle de mosca branca em tomate. *Revista Caatinga*, v.24, n.4, p.36-42, 2011.
- LOGUERCIO, A.P.; BATTISTIN, A.; VARGAS, A.C.; HENZEL, A.; WITT, N.M. Atividade antibacteriana de extrato hidro-alcoólico de folhas de jabolão (*Syzygium cumini* (L.) Skells). *Ciência Rural*, v.35, n.2, p.371-376, 2005.
- MAIRESSE, L.A.S. *Avaliação da bioatividade de extratos de espécies vegetais, enquanto excipientes de aleloquímicos*. 2005. 330f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2005.
- MATIAS, E.F.F.; SANTOS, K.K.A.; ALMEIDA, T.S.; COSTA, J.G.M.; COUTINHO, H.D.M. Atividade antibacteriana *in vitro* de *Croton campestris* A., *Ocimum gratissimum* L. e *Cordia verbenacea* DC. *Revista Brasileira de Biociências*, v.8, n.3, p.294-298, 2010.
- MEDEIROS, C.A.M.; BOIÇA JUNIOR, A.L.; TORRES, A.L. Efeito de extratos aquosos de plantas na oviposição da traça-das-crucíferas, em couve. *Bragantia*, v.64, n.2, p.227-232, 2005b.
- MEDEIROS, P.T.; FERREIRA, M.N.; MARTINS, E.S.; GOMES, A.C.M.M.; FALCÃO, R.; DIAS, J.M.C.S.; MONNERAT, R.G. Seleção e caracterização de estirpes de *Bacillus thuringiensis* efetivas no controle da traça-das-crucíferas *Plutella xylostella*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.40, n.11, p.1145-1148, 2005a.
- MICHELIN, D.C.; MORESCHI, P.E.; LIMA, A.C.; NASCIMENTO, G.G.F.; PAGANELLI, M.O.; CHAUD, M.V. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.14, n.4, p.316-320, 2005.
- PENTEADO, S.R. *Defensivos alternativos e naturais*. 3ª ed. Campinas: Ed. Livros Via Orgânica, 2007.
- PERES, L.E.P. Metabolismo secundário: terpenos. In: CASTRO, P.R.C.; KLUGE, R.A.; PERES, L.E.P. *Manual de fisiologia vegetal: teoria e prática*. São Paulo: Livroceres, 2005. 650p.
- PRAÇA, L.B.; BATISTA, A.C.; MARTINS, E.S.; SIQUEIRA, C.B.; DIAS, D.G.S.; GOMES, A.C.M.M.; FALCÃO, R.; MONNERAT, R.G. Estirpes de *Bacillus thuringiensis* efetivas contra insetos das ordens Lepidoptera, Coleoptera e Diptera. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.39, n.1, p.11-16, 2004.
- PRATES, H.T.; VIANA, P.A.; WAQUIL, J.M. Atividade de extrato aquoso de folhas de nim (*Azadirachta indica*) sobre *Spodoptera frugiperda*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.38, n.3, p.437-439, 2003.
- RIZWAN-UL-HAQ, M.; HU, Q.B.; HU, M.Y.; LIN, Q.S.; ZHANG, W.L. Biological impact of harmaline, ricinine and their combined effects with *Bacillus thuringiensis* on *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal Pest Science*, v.82, p.327-334, 2009.
- SABBOUR, M. Combined effects of some microbial control agents mixed with botanical extracts on some stored product insects. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, v.6, n.1, p.51-56, 2003.
- SAITO, M.L.; LUCCHINI, F. *Substâncias obtidas de plantas e a procura por praguicidas eficientes e seguros ao meio ambiente*. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPMA, 1998.
- SAITO, M.L.; POTT, A.; FERRAZ, J.M.G.; NASCIMENTO, R.S. Avaliação de plantas com atividade deterrente alimentar em *Spodoptera frugiperda* (J.E.SMITH) e *Anticarsia gemmatalis* HUBNER. *Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente*, v.14, p.1-10, 2004.
- SANTIAGO, G.P.; PÁDUA, L.E.M.; SILVA, P.R.R.; CARVALHO, E.M.S.; MAIA, C.B. Efeitos de extratos de plantas na biologia de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) mantida em dieta artificial. *Ciência e Agrotecnologia*, v.32, n.3, p.792-796, 2008.
- SANTOS, K.B.; NEVES, P.; MENEGUIN, A.M.; SANTOS, R.B.; SANTOS, W.J.; VILLAS BOAS, G.; DUMAS, V.; MARTINS, E.; PRAÇA, L.B.; QUEIROZ, P.; BERRY, C.; MONNERAT, R. Selection and characterization of the *Bacillus thuringiensis* strains toxic to *Spodoptera eridania* (Cramer), *Spodoptera cosmioides* (Walker) and *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). *Biological Control*, v.50, n.1, p.157-163, 2009.
- SCHLÜTER, M.A. Avaliação de extratos vegetais no controle de *Anticarsia gemmatalis* HÜBNER, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae) sob diferentes pressões populacionais a campo. 2006. 77f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Maria, 2006.
- SHARMA, A.; PATEL, V.K.; RAMTEKE, P. Identification of vibriocidal compounds from medicinal plants using chromatographic fingerprinting. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v.25, n.1, p.19-25, 2009.
- TORRES, A.L.; BARROS, R.; OLIVEIRA, J.V. Efeito de extratos aquosos de plantas no desenvolvimento de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). *Neotropical Entomology*, v.30, n.1, p.151-156, 2001.
- TSUCHIYA, H.; SATO, M.; MIYAZAKI, T.; FUJIWARA, S.; TANIGAKI, S.; OHYAMA, M.; TANAKA, T.; IINUMA, M. Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Ethnopharmacology*, v.50, n.1, p.27-34, 1996.
- WANDSCHEER, A.C.D.; BORELLA, J.; BONATTI, L.C.; PASTORINI, L.H. Atividade alelopática de folhas e pseudofrutos de *Hovenia dulcis* Thunb. (Rhamnaceae) sobre a germinação de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae). *Acta Botanica Brasílica*, v.25, n.1, p.25-30, 2011.