

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA**

***Campus São Gabriel***

**JULIA DUTRA VARGAS**

**ANÁLISE FITOQUÍMICA E POTENCIAL INSETICIDA DE *Eragrostis plana* NEES  
SOBRE *Drosophila melanogaster***

**São Gabriel**

**2015**

**JULIA DUTRA VARGAS**

**ANÁLISE FITOQUÍMICA E POTENCIAL INSETICIDA DE *Eragrostis plana* NEES  
SOBRE *Drosophila melanogaster***

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação do Curso de Biotecnologia, na Universidade Federal do Pampa, *Campus* São Gabriel, como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Biotecnologia.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup>. Silvane Vestena

**São Gabriel**

**2015**

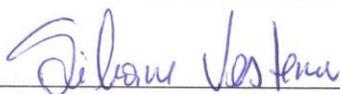
JULIA DUTRA VARGAS

**ANÁLISE FITOQUÍMICA E POTENCIAL INSETICIDA DE *Eragrostis plana* NEES  
SOBRE *Drosophila melanogaster***

Trabalho de Conclusão de Curso de  
Graduação do Curso de Biotecnologia, na  
Universidade Federal do Pampa, *Campus*  
São Gabriel, como requisito parcial para  
obtenção do Título de Bacharel em  
Biotecnologia.

Trabalho de Conclusão de Curso defendido e aprovado em 03 de dezembro de 2015.

Banca Examinadora:



---

Prof.ª Dr.ª. Silvane Vestena

Orientadora

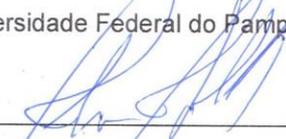
Universidade Federal do Pampa – UNIPAMPA



---

Prof. Dr. Cháriston André Dal Belo

Universidade Federal do Pampa – UNIPAMPA



---

Prof. Dr. Juliano Tomazzoni Boldo

Universidade Federal do Pampa – UNIPAMPA

## **AGRADECIMENTOS**

Gostaria de agradecer à todas as pessoas que de uma forma ou outra contribuíram para a finalização deste trabalho.

À minha orientadora, Silvane Vestena, pela oportunidade, atenção, paciência e dedicação ao meu trabalho, sempre disposta a ouvir e ajudar.

Á minha colega de laboratório, de aula e amiga, Bruna Borges, tornando os dias de trabalho e estudo mais agradáveis.

Á minha mãe, Jussara, pelo carinho, compreensão, incentivo e apoio nesses anos. Mãe, muito obrigada! Obrigada por nunca medir esforços para que eu conseguisse concluir mais essa etapa da minha vida.

Ao meu querido amor, Maiquel, que me acompanha desde o início, sempre compartilhando, ouvindo, incentivando, apoiando e acalmando em todos os momentos de tristeza e angústia. Muito obrigada!

Em especial à minha filha, Maria Clara, pelo amor incondicional, principalmente pela paciência, onde muitas vezes deixei de brincar, passear e dar atenção.

## RESUMO

O capim-annoni-2 (*Eragrostis plana* Nees) é uma espécie exótica, pertencente à família Poaceae, sendo considerada invasora de pastagens com introdução acidental no Rio Grande do Sul na década de 1950. O objetivo do trabalho foi determinar a atividade inseticida de capim-annoni-2 sobre a mosca-da-fruta (*Drosophila melanogaster*), identificar e quantificar compostos químicos presentes em partes aéreas de capim-annoni-2 em três anos de armazenamento. Para a análise fitoquímica foi preparado extrato metanólico na concentração de 2 g. 10 mL<sup>-1</sup> e, por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) quantificados e identificados fenóis (ácido caféico, ácido clorogênico, ácido gálico e ácido elágico), flavonóides (quercetina e rutina) e taninos totais (catequina, epicatequina e apigenina). Para os bioensaios (inseticida) foram preparados extratos metanólico, hidroalcoólico e aquoso na concentração de 2 g. 10 mL<sup>-1</sup> e a aplicação dos extratos ocorreu de duas formas diferentes, onde no primeiro bioensaio, o extrato foi ressuscitado em 3 mL de água destilada aplicado no meio de cultura; no segundo bioensaio, o extrato foi ressuscitado em 3 mL de dimetilssulfóxido (DMSO) aplicado em papel filtro contendo solução sacarose 5%. Após a realização dos bioensaios, detectou-se que no primeiro não ocorreu mortalidade nos diferentes extratos; já no segundo, com a aplicação no papel filtro, houve uma mortalidade de 100% em relação ao controle. Possivelmente, este efeito seja devido a presença de aleloquímicos encontrados no extrato metanólico de capim-annoni-2 especialmente de quercetina, um flavonóide com atividade inseticida. Ainda, pela análise fitoquímica detectou-se como componentes majoritários o ácido caféico e o ácido clorogênico (fenóis) seguidos dos flavonóides quercetina e rutina, sendo que, para todos os compostos secundários, a concentração reduziu com o tempo de armazenamento, exceto para ácido elágico, rutina e catequina no último ano de armazenamento. O perfil fitoquímico desta espécie pode-se relacionar com possíveis atividades biológicas da mesma no Bioma Pampa.

**Palavras chave:** Capim-annoni-2. Aleloquímicos. Controle biológico

## ABSTRACT

The capim-annoni-2 (*Eragrostis plana* Nees) is an exotic species belonging to the Poaceae family and is considered invasive to pastures with accidental introduction in Rio Grande do Sul in the late 1950. The objective was to determine the capim-annoni-2 insecticidal activity against the fruit fly (*Drosophila melanogaster*), identify, and quantify chemical compounds present in the aerial parts capim-annoni-2 in three years of storage. For the phytochemical analysis, it was prepared a methanol extract at a concentration of 2 g.10 mL<sup>-1</sup> and by high-performance liquid chromatography (HPLC) quantified and identified phenolics (caffeic acid, chlorogenic acid, gallic acid and ellagic acid), flavonoids (quercetin and rutin) and total tannins (catechin, epicatechin and apigenin). For bioassays (insecticide) were prepared methanol, hydroalcoholic and aqueous extracts in the concentration of 2 g. 10 mL<sup>-1</sup> and, the extracts application occurred in two different bioassays, where the first bioassay, the extract was resuspended in 3 mL of distilled water used in the culture medium; in the second bioassay, the extract was resuspended in 3 mL of dimethylsulfoxide (DMSO) applied on filter paper containing sucrose solution 5%. After performing the bioassays, it was detected that the first death did not occur in the different extracts; early as the second with the application the filter paper, there was a mortality of 100% compared to control. Possibly this effect is due to the presence of allelochemicals found in the methanol extract of capim-annoni-2 especially quercetin, a flavonoid with insecticidal activity. Still, the phytochemical analysis was detected as major components caffeic acid and chlorogenic acid (phenol) followed by the flavonoids quercetin and rutin, being that, for all secondary compounds, the concentration reduced with storage time except ellagic acid, rutin and catechin in the last year of storage. The phytochemical profile of the species may be related to possible biological activities in the same Bioma Pampa.

**Keywords:** Capim-annoni-2. Allelochemicals. Biological control.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Análise fitoquímica de extrato metanólico de partes aéreas de capim-annoni-2 ( <i>Eragrostis plana</i> Nees) coletadas em 2015, São Gabriel.....	20
---	----

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1:** Compostos presentes em extrato metanólico de partes aéreas de capim-annoni-2 pertencentes a fenóis, flavonóides e taninos, São Gabriel, 2015.....19

**Tabela 2:** Mortalidade (%) de *Drosophila melanogaster*, 96 horas após serem expostas à dieta artificial contaminada com os tratamentos, São Gabriel, 2015.....22

## LISTA DE ABREVIATURAS

**CLAE:** Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

**DMSO:** Dimetilssulfóxido

**mL:** Mililitro

**mg:** Miligrama

**g:** Grama

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	11
1.1 Defensivos químicos .....	11
1.2 Inseticidas naturais .....	11
1.3 Metabolismo secundário.....	12
1.4 <i>Eragrostis plana</i> Nees.....	13
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	15
2.1 Geral .....	15
2.2 Específicos .....	15
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	16
3.1 Teste fitoquímico .....	16
3.1.1 Quantificação de compostos por CLAE (cromatografia líquida de alta eficiência) .....	16
3.1.1.1 Doseamentos .....	17
3.1.1.1.1 Determinação de polifenóis .....	17
3.1.1.1.2 Determinação de flavonóides totais .....	17
3.1.1.1.3 Determinação de taninos condensados .....	17
3.2 Teste bioinseticida .....	17
3.2.1 Avaliação inseticida dos extratos em <i>Drosophila melanogaster</i> .....	17
3.3 Análise estatística .....	18
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	19
<b>5 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	24
<b>6 PERSPECTIVAS</b> .....	25
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	26

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 Defensivos químicos

Os defensivos químicos naturalmente tem ação fisiológica sobre os organismos vivos. A importância de seu uso deve ser equilibrada pela informação dos efeitos que os mesmos podem causar nas pessoas e no meio ambiente e sua classificação pode estar ligada à sua ação ou quanto à sua estrutura química (VIEGAS, 2003).

Normalmente, os inseticidas mais usados no controle de pragas são os organoclorados ou os fosforados, sendo os mesmos eficientes no extermínio indiscriminado dos insetos considerados pragas como também aqueles benéficos ao homem. Além disso, podem causar vários problemas como a resistência dos insetos a estes inseticidas, sendo preciso aplicar maiores quantidades, o que pode causar danos ecológicos e poluição ao meio ambiente.

Além disso, a fitotoxicidade, o efeito sobre outros organismos não alvo, o aumento no custo dos pesticidas e a busca pela sociedade de produtos livres de agrotóxicos (TAVARES et al., 2009) tornou necessário o uso de métodos de controle sustentável, utilizando extratos vegetais como inseticidas naturais.

### 1.2 Inseticidas Naturais

Os inseticidas derivados de produtos naturais já foram muito utilizados até 1940, principalmente o alcalóide nicotina, extraído das folhas de *Nicotiana tabacum* e *N. rustica*, associados à nomicotina e anabasina. O surgimento dos inseticidas sintéticos desenvolvidos a partir da II Guerra Mundial substituiu os agentes naturais por terem uma capacidade maior de efeito (VIEIRA; MAFEZOLI; BIAVATTI, 2001).

A busca de sucessores para esses inseticidas químicos é uma constante, sendo os produtos naturais, provenientes de extratos vegetais, uma alternativa ao controle de pragas. Essa metodologia vem sendo estudada com o intuito de minimizar o uso de inseticidas químicos.

Plantas com propriedades inseticidas, na forma de pós, extratos e óleos, têm sido utilizadas como alternativa de controle do caruncho (*Callosobruchus maculatus*), principalmente por produtores de caupi da América Latina, África e Ásia (OLIVEIRA; VENDRAMIM; HADDAD, 1999), sendo que a utilização de extratos vegetais para esse controle de pragas favorece principalmente pequenas propriedades, já que são de

fácil utilização, por ser um método mais barato e que não afeta o meio ambiente (CHAGAS, 2004).

O uso de extratos vegetais no controle de pragas tem como importância a grande variedade de ativos em uma única composição, refletindo em variados mecanismos de ação, refletindo em rápida biodegradação, o que acaba dificultando o aparecimento de pragas resistentes (QUARLES, 1992). Esses compostos presentes nas plantas inseticidas são denominados metabólitos secundários.

### **1.3 Metabolismo secundário**

Metabolismo é o conjunto de reações químicas que continuamente estão ocorrendo em cada célula. Os compostos químicos formados, degradados ou simplesmente transformados, são chamados de metabólitos. O metabolismo secundário geralmente apresenta estruturas complexas, de baixo peso molecular, marcante atividade biológica e é encontrado em concentrações relativamente baixa e em alguns grupos de plantas. Estes, embora não sejam necessariamente essenciais para o organismo produtor, garantem vantagens para sua sobrevivência e perpetuação de sua espécie, em seu ecossistema. Sabe-se que os produtos do metabolismo secundário permitem adequação do produtor a seu meio. Uma das explicações dadas à importância do metabolismo secundário é o fato dos vegetais estarem enraizados no solo e não podem se deslocar, sendo assim eles não podem responder ao meio ambiente pelas vias possíveis aos animais (TAIZ & ZEIGER, 2013).

O controle de microrganismos e invertebrados vem sendo retomada com o uso de metabólitos secundários presentes em algumas plantas, sendo uma das alternativas no controle de insetos, bactérias, fungos, dentre outros. Alguns estudos retratam a importância deste tipo de pesquisa, com a substituição dos defensivos químicos, que são considerados cancerígenos (WALLER, 1999). Diversas substâncias provenientes dos produtos do metabolismo secundário de plantas inseticidas podem ser encontradas nas raízes, folhas e sementes, sendo eles rotenóides, piretróides, polifenóis, alcalóides e terpenóides e estes podem interferir no metabolismo de outros organismos, como microrganismos, insetos e outros patógenos, causando impactos variáveis como repelência, esterilização, bloqueio de metabolismo, interferência no desenvolvimento e na alimentação, sem necessariamente causar a morte (MACHADO; SILVA; OLIVEIRA, 2007).

Os compostos produzidos pelo metabolismo secundário são classificados de acordo com sua rota biossintética (HARBONE, 1999). Entre eles encontram-se os compostos fenólicos, que tem sua função envolvida com a síntese das ligninas que são comuns em plantas superiores, também na proteção das plantas contra raios UV, insetos, fungos, vírus e bactérias (CROTEAU; KUTCHAN; LEWIS, 2000).

Os compostos fenólicos podem ser classificados em flavonóides e não-flavonóides, dentre o primeiro grupo temos a quercetina (CABRITA; SILVA; LAUREANO, 2003), que apresenta propriedades farmacológicas devido sua ação antioxidante, anti-inflamatória, atuando também como agente antiproliferativo de células tumorais (BEHLING et al., 2004). Em alguns estudos a quercetina foi descrita com um grande potencial inseticida devido à sua presença nos extratos das plantas em questão (VARELLA; SUFFREDINI; BERNARDI, 2008), podendo ser encontrada em frutas, flores, vegetais e alimentos (HAVSTEEN, 1983).

Os metabólitos secundários são produzidos por todas as plantas e, como todas, o capim-annoni-2 apresenta esses metabólitos em sua composição, variando em qualidade e quantidade, assim como por eventualidades a que as mesmas encontram-se expostas.

#### **1.4 *Eragrostis plana* Nees**

*Eragrostis plana* Nees, conhecida como capim-annoni-2, é uma Poaceae tropical, perene, estival, exótica, originada na África e introduzida no Brasil como contaminante de sementes de capim-de-rhodes, na década de 1950. Por ser tolerante às flutuações do clima, especialmente a geada, sugeriu-se ser ótima planta forrageira, sendo multiplicada e suas sementes comercializadas no RS pelo Grupo Rural Annoni, de Sarandi, RS, a partir de 1970, sob o nome de “capim-annoni-2” (REIS, 1993). A espécie se desenvolve em locais abertos, desde campos degradados pelo pastejo e pisoteio excessivos, pelo cultivo intenso do solo, assim como margens de estradas (OLIVEIRA, 1993). Na África é considerada uma planta indesejável e invasora dos locais destinados à agropecuária (KIRKMAN & MORRIS, 2003).

Em 1979, o Ministério da Agricultura proibiu a comercialização de mudas e sementes de capim-annoni-2 no Estado, não suficiente o bastante para conter esta invasora. Hoje, passados mais de 60 anos da sua introdução, é possível encontrá-lo em todas as regiões do Rio Grande do Sul, sendo maior a infestação na Metade Sul,

onde compromete todo Bioma Pampa (EMBRAPA, 2014), sendo que a espécie é considerada a invasora mais agressiva e de mais difícil controle nos campos do RS (REIS, 1993).

Aproximadamente 20% da vegetação campestre do Rio Grande do Sul encontra-se infestada com capim-annoni-2, correspondendo a uma área superior a 3 milhões de hectares. Pelo baixo consumo animal por meio do pastejo, vários fatores contribuem para a característica invasiva da espécie (MEDEIROS; FERREIRA; BRACK, 2004). A produção de sementes de capim-annoni-2 é elevada, podendo um único indivíduo gerar mais de 300.000 sementes (LORENZI, 2000).

A manutenção do capim-annoni-2 no Sul do Brasil ocorre devido ao excesso de carga animal sobre a pastagem nativa, provocando uma redução na frequência das espécies de maior valor nutritivo. Ainda, o aumento de sua infestação ocorre devido à vários fatores, como a grande dormência das sementes, a ação alelopática e por processos que favorecem sua disseminação como contaminante de sementes, presença em margens de rodovias e em áreas de comercialização de animais (FERREIRA; MEDEIROS; SOARES, 2008). Essa infestação em áreas de criação animal acarreta em uma diminuição de peso do gado, por conta do mesmo ser uma planta fibrosa com poucos nutrientes, além de machucar a cavidade bucal do animal.

Na maioria dos agroecossistemas, as plantas invasoras são controladas por métodos culturais e químicos, porém, em ecossistemas naturais, tais métodos convencionais de controle tendem a não ser utilizados. Há uma crescente conscientização mundial sobre os impactos ambientais e efeitos tóxicos advindos do uso indiscriminado dos métodos químicos para o controle de pragas e o Brasil não é exceção. Isto tem, em parte, fortalecido uma corrente global quanto ao interesse em controle biológico de plantas invasoras como um método de controle sustentável, ambientalmente benigno e potencialmente efetivo (NACHTIGAL et al., 2009).

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Geral**

Quantificar e identificar possíveis metabólitos secundários de capim-anonni-2 e determinar a atividade inseticida desta espécie invasora sobre a mosca-da-fruta (*Drosophila melanogaster*).

### **2.2 Específicos**

- Realizar a análise fitoquímica do extrato metanólico de capim-anonni-2 levando em consideração diferentes anos de armazenamento;
- Determinar o percentual de mortes de *D. melanogaster* sob efeito dos extratos de capim-anonni-2 do ano de 2015.

### **3 MATERIAIS E MÉTODOS**

Para a realização do experimento foi coletado no Campus da Universidade Federal do Pampa, São Gabriel, RS no período da manhã partes aéreas (caule e folhas) de capim-annoni-2. A coleta ocorreu no de 2012 e armazenado para análise nos subsequentes anos (2012, 2013 e 2014). Partindo da metodologia anterior, foram coletadas partes aéreas de capim-annoni-2 em março de 2015 e armazenado para os testes fitoquímico e biológico.

O material coletado foi mantido em estufa de ar forçado a 60°C durante 72 horas, para a obtenção da massa parcialmente seca. Após, toda a massa seca foi moída em um moinho tipo Willey (LABOURIAU & VALADARES, 1976).

#### **3.1 Teste fitoquímico**

O material vegetal moído foi enviado para a Universidade Federal de Santa Maria, onde foi realizado o preparo dos extratos, utilizando-se maceração com metanol. Para obtenção do extrato metanólico, 200 g do material vegetal moído foi adicionado a 1 L de metanol, sendo filtrado e evaporado após dois dias, em estufa a 40 °C, obtendo-se assim o extrato utilizado nas análises posteriores.

##### **3.1.1 Quantificação de compostos por CLAE (cromatografia líquida de alta eficiência)**

Para a análise de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE-DAD) foi utilizado um sistema de CLAE (Shimadzu, Kyoto, Japão) e auto injetor Shimadzu (SIL-20A), equipado com bombas alternativas (Shimadzu LC-20AT) ligadas a um degaseificador (20A5 DGU) com um integrador (CBM 20A), detector de arranjo de diodos (SPD-M20A) e software (LC solution SP1 1.22).

As análises cromatográficas foram realizadas em fase reversa, sob condições de gradiente, utilizando coluna C18 (4,6 mmx150 mm) carregada com partículas de diâmetro 5µm. Para fase móvel foi utilizada água contendo 2% de ácido acético(A) e metanol (B) (KAMDEM et al., 2012).

### **3.1.1.1 Doseamentos:**

#### **3.1.1.1.1 Determinação de polifenóis:**

A determinação de polifenóis foi realizada pelo método descrito por (BOLIGON et al. 2009).

#### **3.1.1.1.2 Determinação de flavonóides totais:**

A determinação do teor de flavonóides foi realizada segundo o método descrito por (WOISKY & SALATINO, 1998).

#### **3.1.1.1.3 Determinação de taninos condensados:**

O teor de taninos foi realizada utilizando o método descrito por (MORRISON et al., 1995) com algumas modificações.

## **3.2 Teste bioinseticida**

A partir do material vegetal moído, foi realizado dois bioensaios, sendo que foi utilizado 200 g do material vegetal adicionado à 500 mL do extrator (metanólico, aquoso e hidroalcoólico). A mistura foi deixada em repouso no escuro por 7 dias na geladeira ( $5 \pm 1$  °C), sendo, após, filtrada em funil-de-Büchner, por duas vezes, usando-se papel filtro qualitativo. Depois disso, o solvente foi removido em evaporador rotatório Fisatom e, os resíduos obtidos foram secos por liofilização, para total remoção da umidade e os extratos foram armazenados em freezer a -80°C.

### **3.2.1 Avaliação inseticida dos extratos em *Drosophila melanogaster***

Os ensaios foram conduzidos no Laboratório de Neurobiologia e Toxinologia (LANETOX) da Universidade Federal do Pampa (Unipampa), Campus São Gabriel. Para execução dos bioensaios, foi preparado meio específico para mosca-da-fruta e autoclavado a 120°C por 15 minutos (VILLAR et al., 2010). Após, as moscas foram mantidas nesse meio e repicadas até sua utilização nos bioensaios.

Foram realizados dois bioensaios segundo as metodologias de Torres et al, (2013) com modificações e Villar et al. (2010):

Primeiro bioensaio: 18 mg de cada extrato, proveniente dos três extratores diferentes (metanólico, aquoso e hidroalcoólico) dissolvidos em 10 mL de água destilada (quantidade determinada em ensaios anteriores). O extrato foi diluído em cinco concentrações diferentes (10, 30, 50, 70 e 100%) e utilizado água destilada como tratamento controle, sendo que para a concentração de 100% foi utilizado o “extrato puro”. O extrato dissolvido foi incorporado em dieta artificial, quando a mesma apresentava-se com temperatura inferior a 40°C, para não ocorrer a degradação de substâncias ativas. Foram utilizadas três repetições, sendo cada parcela experimental representada por 10 insetos, totalizando 30 moscas por tratamento e avaliados a taxa de sobrevivência após 7 dias de tratamento.

No segundo bioensaio, 6 mg do extrato metanólico dissolvidos em 3 mL de dimetilssulfóxido (DMSO) e utilizando 10 moscas em três repetições, criadas em meio específico, de 7-10 dias de vida, foram expostas na mesma concentração descrita no primeiro experimento, em pedaço de papel filtro de 2x2cm com solução sacarose 5 %, utilizando como controle apenas DMSO e avaliados a taxa de sobrevivência após 24, 48 e 72 horas de tratamento.

### **3.3 Análise estatística**

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado; os resultados submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias, comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade (BEIGUELMAN, 2002).

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os testes fitoquímicos com o extrato metanólico de capim-annoni-2 revelaram a presença de compostos fenólicos (ácido gálico, ácido caféico, ácido elágico e ácido clorogênico), flavonóides (quercetina e rutina) e taninos (catequina, apigenina e epicatequina) nos três anos de armazenamento (Tabela 1) e no material coletado em 2015 (Figura 1).

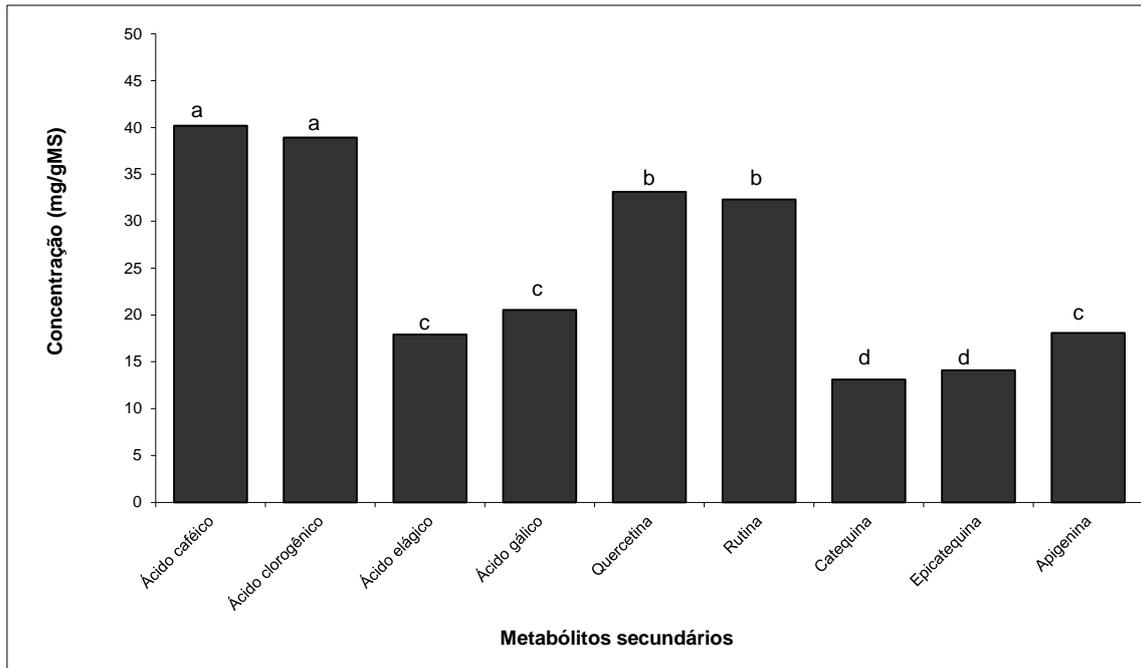
**Tabela 1:** Compostos presentes em extrato metanólico de partes aéreas de capim-annoni-2 pertencentes a fenóis, flavonóides e taninos, São Gabriel, 2015.

Compostos	2012	2013	2014
<b>Fenóis</b>			
Ácido gálico	21,03 ± 0,01 Ab	19,87±0,01 Bc	14,60 ± 0,01 Cc
Ácido elágico	8,41 ± 0,03 Ad	8,01± 0,02 Ad	8,07 ± 0,01 Ad
Ácido caféico	38,60 ± 0,02 Aa	35,62±0,01Ba	27,86 ± 0,02 Ca
Ácido clorogênico	40,19 ± 0,01 Aa	37,84±0,03Ba	28,18 ± 0,03 Ca
<b>Flavonóides</b>			
Quercetina	38,51 ± 0,02 Aa	35,73± 0,01 Ba	26,93 ± 0,03 Ca
Rutina	15,55 ± 0,01 Ac	7,81± 0,01 Bd	7,11 ± 0,02 Bd
<b>Taninos</b>			
Epicatequina	21,35 ± 0,01 Bb	23,50± 0,01 Ab	20,06 ± 0,01 Bb
Catequina	13,24 ± 0,02 Ac	8,05± 0,02 Bd	7,08 ± 0,02 Bd
Apigenina	19,99± 0,01 Ab	10,65± 0,01 Bd	7,16± 0,01 Cd

Médias ± desvio padrão seguidos pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey a 5 % de probabilidade de erro.

**Fonte:** Autor (2015)

Verificou-se que ocorreu uma redução na concentração de todos os compostos secundários detectados com o armazenamento do material vegetal de capim-annoni-2, exceto para o composto fenólico ácido elágico, flavonóide rutina e catequina (tanino) no último ano de armazenamento (Tabela 1). Ainda, independente do ano de armazenamento, os compostos majoritários detectados foram ácido clorogênico e ácido caféico (fenóis) e quercetina (flavonóide) (Tabela 1), sendo este comportamento também verificado no material coletado em 2015, exceto para o flavonóide quercetina (Figura 1).



**Figura 1-** Análise fitoquímica de extrato metanólico de partes aéreas de capim-annoni-2 coletadas em 2015, São Gabriel.

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

**Fonte:** Autor (2015)

Verificou-se que o extrato metanólico de capim-annoni-2 coletado em 2015 e, utilizado nos bioensaios com efeito inseticida, apresentou como compostos majoritários compostos fenólicos e flavonóides, sendo o ácido caféico e ácido clorogênico como compostos majoritários, com 40,19 e 38,92 mg g MS<sup>-1</sup>, respectivamente; seguidos dos flavonóides quercetina (33,13 mg g MS<sup>-1</sup>) e rutina (32,31 mg g MS<sup>-1</sup>) (Figura 1), estes últimos com atividade inseticida.

Os fenóis são altamente distribuídos nos vegetais, apresentando propriedades de sabor, odor e coloração. Adicionalmente, é evidenciado que devido a essas propriedades apresentadas estes compostos fenólicos possuem características de defesa nas plantas, na inter-relação de animais e vegetais, na atividade de inibição da germinação de sementes, demonstrando o processo alelopático e no crescimento de fungos (HARBORNE, 1997).

O ácido gálico é descrito como um importante redutor da germinação de um grande número de plantas (MORAES et al., 2010). Para Oliveira et al. (2012) o ácido elágico e o ácido gálico presentes nos extratos das folhas e cascas de pau-ferro (*Caesalpinia ferrea*), são considerados possíveis componentes alelopáticos sobre o desenvolvimento de plântulas de alface, onde a partir desses compostos foi

evidenciando o aparecimento de plântulas anormais e redução do comprimento da parte aérea e da raiz.

Souza Filho et al. (2006) mostram que o efeito alelopático do ácido gálico sobre a germinação de sementes da planta daninha malícia (*Mimosa pudica*), tem efeito significativo na germinação, com 71% de inibição. Já Lofredo et al. (2005) citam que o ácido caféico tem efeito alelopático e inibe a germinação e crescimento de sementes de tomate. Ainda, Golisz et al. (2007), relatam que a rutina tem uma alta atividade alelopática sobre raízes de alface. Souto et al. (1994) verificaram que restos de *Pinus radiata* D. Don e de *Eucalyptus globulus* Labill. inibiram o crescimento e o desenvolvimento de alface e esse efeito alelopático deu-se principalmente por compostos fenólicos.

Os taninos, apigenina, epicatequina e catequina foram compostos encontrados em baixa concentração, ou seja, 18,09; 14,09 e 13,09 mg g MS<sup>-1</sup>, respectivamente (Figura 1). Os compostos secundários agrupados como taninos são redutores digestivos, com efeito proporcional à concentração (STRONG; LAWTON; SOUTHWOOD, 1984), reduzindo o crescimento e a sobrevivência de insetos, por inativarem enzimas digestivas e criarem um complexo de taninos-proteínas de difícil digestão (MELLO & SILVA-FILHO, 2002), sendo que no presente estudo, pela técnica utilizada, foi detectado em concentrações inferiores aos flavonóides e aos fenóis (Figura 1).

Dentre os metabólitos secundários que apresentam interesse inseticida estão os flavonóides, com a identificação e quantificação de quercetina e rutina, sendo os mesmos detectados em uma concentração elevada. Além disso, apresentam efeitos alelopáticos, sendo capazes de inibir e/ou estimular o processo germinativo e o crescimento inicial de plantas e fungos (FEUCHT; TREUTTER; CHRIST, 1994).

O extrato metanólico de capim-annoni-2, independente do ano de coleta apresentou concentração considerável de flavonóides com interesse biológico e, segundo o método de detecção utilizado no presente estudo, foi verificado, na coleta realizada em 2015, presença dos flavonóides, quercetina (33,13 mg g MS<sup>-1</sup>) e rutina (32,31 mg g MS<sup>-1</sup>) (Figura 1). Adicionalmente, é relatado que o efeito tóxico de quercetina seja decorrência do mesmo ser formado por anéis catecóis que podem sofrer metabolização oxidativa até ser desmetilada, se conjugando com a glutatona e formando o 2'- glutationil-quercetina, podendo exercer efeitos protetores ou tóxicos nas células (PRIOR, 2003).

Verificou-se que, no primeiro bioensaio, dentre os diferentes extratos vegetais oferecidos às moscas-de-fruta por meio de ingestão de dieta contaminada, não ocorreu mortalidade às mesmas (Tabela 2).

**Tabela 2:** Mortalidade (%) de *Drosophila melanogaster*, 7 dias após serem expostas à dieta artificial contaminada com os tratamentos, São Gabriel, 2015.

Tratamento	Concentração do extrato (%)					
	0	10	30	50	70	100
T 1	0 ± 0,00 a	0 ± 0,00 a	0 ± 0,00 a	0 ± 0,00 a	0 ± 0,00 a	0 ± 0,00 a
T 2	0 ± 0,00 a	0 ± 0,00 a	0 ± 0,00 a	0 ± 0,00 a	0 ± 0,00 a	0 ± 0,00 a
T 3	0 ± 0,00 a	0 ± 0,00 a	0 ± 0,00 a	0 ± 0,00 a	0 ± 0,00 a	0 ± 0,00 a
T 4	0 ± 0,00 a	0 ± 0,00 a	0 ± 0,00 a	0 ± 0,00 a	0 ± 0,00 a	0 ± 0,00 a

T1: controle; T2: extrato metanólico aplicado ao meio de cultura; T3: extrato aquoso aplicado ao meio de cultura; T4: extrato hidroalcoólico aplicado ao meio de cultura.

Médias seguidas pelas mesmas letras nas linhas não diferem significativamente pelo teste Tukey a 5 % de probabilidade de erro.

**Fonte:** Autor (2015)

Verificou-se no segundo bioensaio que, quando foi aplicado extrato na concentração de 100% no papel filtro ocorreu 100% de mortalidade após as 24 horas da aplicação, quando comparado ao tratamento controle e verificado eficiência do extrato vegetal.

Também Torres et al. (2013) testaram as atividades de extratos metanólicos de 70 espécies vegetais de Minas Gerais observando a toxicidade dos mesmos para a formiga cortadeira *Atta sexdens rubropilosa* Forel em condições de laboratório e verificando que os extratos de *Eugenia florida* DC. (guamirim-cereja), *E. handroana* D. Legrand (guamirim), *Trichila pallida* (baga-de-morcego) e *Zanthoxylum pohlianum* Engl. (juva) causaram mortalidade das formigas cortadeiras, quando as mesmas ingeriram dieta artificial tratada.

Almeida et al. (1999) avaliando uma série de extratos vegetais sobre o crescimento de *Sitophilus* sp. constatou que extratos de *Piper nigrum*, *Citrus vulgaris*, *Croton tiglium*, e *Crysanthemum* spp. aplicados na forma de pulverizações induziram 100, 99, 98 e 97%, respectivamente de mortalidade. Ainda, Migliorini et al. (2010) verificaram a eficiência de vários extratos vegetais brutos no controle de *Diabrotica speciosa* em cultivo de feijoeiro e constataram que os extratos aquosos mais eficientes para controle de adultos de *D. speciosa* em laboratório foram: o cinamomo (*Melia*

azedarach L.), a noz-moscada (*Myristica fragans* Houtt) e o timbó (*Ateleia glazioveana* Baill), sendo que os extratos de sálvia (*Salvia officinalis* L.), eucalipto (*Eucalyptus citriodora* Hook), alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) e cravo (*Eugenia caryophyllata* Thunb) apresentam-se como promissores para o controle desta praga.

A variação da ação inseticida dos extratos testados pode ter ocorrido em função do teor de princípios ativos dos vegetais coletados, o qual pode variar em função das condições edafoclimáticas sob os quais os mesmos se desenvolvem (COSTA; SILVA; FIUZA, 2004). Outro fator importante, que pode afetar a atividade dos extratos é o tipo de solvente utilizado para a extração dos compostos químicos existentes nas plantas, uma vez que existem trabalhos que demonstram diferenças no efeito sobre os insetos, quando utilizaram diferentes solventes para uma mesma espécie vegetal (ACÁCIO-BIGI, 1998; ROEL et al., 2000), sendo o mesmo verificado no presente estudo.

Os extratos e produtos derivados de vegetais têm sido estudados quanto à eficácia no controle de doenças de plantas, para o uso em sistemas de produção que buscam a redução ou eliminação do uso de agrotóxicos (BERNARDO et al., 2002). Na agricultura orgânica, os preparados à base de vegetais são utilizados para o controle de doenças, quando necessário (DAROLT, 2002). Vendramim e Castiglioni (2000) relatam que existe a necessidade de estudos com inseticidas naturais, pois já são conhecidos compostos que apresentam impacto ambiental reduzido, ausência de resíduos nos alimentos, ausência de efeitos prejudiciais sobre organismos benéficos e o não aparecimento de resistência.

Adicionalmente, os princípios ativos presentes nos extratos de plantas com efeito inseticida podem agir de várias formas, podendo afetar não somente a sobrevivência, mas também a alimentação, desenvolvimento e reprodução dos insetos (COSTA; SILVA; FIUZA, 2004; MENEZES, 2005).

Contudo, para o capim-annoni-2, sugere-se a realização de bioensaios utilizando como referência o segundo bioensaio, bem como outros métodos de aplicação, concentrações e testes de efeitos subletais sobre *D. melanogaster* e outros organismos

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O extrato de capim-annoni-2 não apresentou efeito inseticida sobre a mosca-da-fruta (*D. melanogaster*) quando utilizado em diferentes formas de extração, exceto quando utilizou-se extrato metanólico no papel filtro.

O armazenamento reduziu a concentração dos metabólitos secundários detectados no extrato metanólico de capim-annoni-2.

O capim-annoni-2 apresentou compostos fenólicos e flavonóides como compostos majoritários e os taninos em menor concentração.

## 6 PERSPECTIVAS

Devido à problemas ambientais e à fitotoxicidade causada pelo defensivos químicos, há uma grande procura por inseticidas produzidos a partir de extratos vegetais. Com isso foram gerados os resultados obtidos neste estudo, sugerindo a realização de novos bioensaios utilizando outros métodos de aplicação, concentrações diferentes sobre o organismo modelo *D. melanogaster* e também com outros organismos, podendo assim verificar realmente a eficácia do inseticida utilizando extrato metanólico de *Eragrostis plana* Nees.

## REFERÊNCIAS

- ACÁCIO-BIGI, M.F.M.A. Activity of *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) and ricinine against the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) and the symbiotec fungus *Leucoagaricus gongylophorus*. **Pest Management Science**, v.60, n.10, p.933-938, 2004.
- AERTS, R.J.; SNOEIJER, W.; VAN DER MEIJDEN, E.; VERPOORTE, R. Allelopathic inhibition of seed germination by *Cinchona* alkaloids. **Phytochemistry**, v.30, p.2947-2951, 1991.
- ALMEIDA, F.A.C.; GOLDFARB, A.C.; GOUVEIA, J.P.G. Avaliação de extratos vegetais e métodos de aplicação no controle de *Sitophilus* spp. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.1, n.1, p.13-20, 1999.
- ALMEIDA, G.; REYES, F.; RATH, S. *Drosophila melanogaster* meigen: 3. Sensibilidade ao carbofuran e biomonitoramento de seus resíduos em repolho. **Quim. Nova**, Vol. 24, 768-772, 2001.
- ANDRADE, H.H.R.; GIMMLER- LUZ, M.C.; REGULY, M.L. A *Drosophila melanogaster* como um organismo para testar atividade antimutagênica. In: RESUMOS DO 1º SIMPÓSIO LATINOAMERICANO DE MUTAGÊNESE AMBIENTAL. Caxambú-MG. p.16, 1991.
- BEHLING, E.B.; SENDÃO, M.C.; FRANCESCATO, H.D.C.; ANTUNES, L.M.G.; BIANCHI, M.L.P. Flavonoid quercetin: general aspects and biological actions. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v. 15, n. 3, p. 285-292, 2004.
- BEIGUELMAN, B. **Curso prático de bioestatística**. 5. ed. Ribeirão Preto: Funpec, 274 p. 2002.
- BERNARDO, R.; SCHWAN- ESTRADA, K. R. F.; POVH, F.P.; SALVATORI, R.K., STANGARLIN, J.R. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais. **Summa Phytopathologica**, v. 28, n.1, p. 110,2002.

BOLIGON, A. A.; PIANA, M.; BRUM, T.F.; FROEDER, A.L.F.; BELKE, B.V.; SCHWANZ, T.G.; MARIO, D.N.; ALVES, S.H.; ATHAYDE, M.L. Antioxidant activities of flavonol derivatives from the leaves and stem bark of *Scutia buxifolia* Reiss. **Bioresource Technology**, v.100, p. 6592-6598. 2009.

CABRITA, M. J.; SILVA, R. J.; LAUREANO, O. Os compostos polifenólicos das uvas e dos vinhos. **In: I Seminário Internacional de vitivinicultura. Anais...Ensenada, México, 2003.**

CHAGAS, A.C.S. Controle de parasitas utilizando extratos vegetais. **In: XIII Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária e I Simpósio Latino-Americano de Rickettsioses, 2004, Ouro Preto. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, Ouro Preto: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, v. 13, p. 156 – 160, 2004.**

CROTEAU, R.; KUTCHAN, T.M.; LEWIS, N.G. Natural Products (Secondary Metabolites). **In: Buchanan B., Grissem W., Jones R. (Eds.) Biochemistry & Molecular Biology of Plants, Rockville: American Society of Plant Physiologists, p.1250-1318, 2000.**

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

DAROLT, M.R. **Guia do produtor orgânico: como produzir em harmonia com a natureza.** Londrina: Instituto Agrônomo do Paraná. p.42, 2002.

EMBRAPA<<http://hotsites.sct.embrapa.br/diacampo/programacao/2014/controle-e-combate-ao-capim-annoni>>. Acesso em: 10 de junho de 2015.

FERREIRA, N.R., MEDEIROS, R.B.; SOARES, G.L.G. Potencial alelopático do capim-annoni-2 (*Eragrostis plana* Nees) na germinação de sementes de gramíneas perenes estivais. **Revista Brasileira de Sementes, v.30, n.2, p.43-59, 2008.**

FEUCHT, W.; TREUTTER, D.; CHRIST, E. Accumulation of flavonols in yellowing beech leaves from forest decline sites. **Tree Physiology**, v.14, p.403-412, 1994.

GOLISZ, A., LATA, B.; GAWRONSKI, S.W.; FUJII, Y. Specific and total activities of the allelochemicals identified in buckwheat. **Weed Biology and Management**, v.7, n.1, p.164–171, 2007.

GRAF, U. The Actual Situation of SMART (Somatic Mutation and Recombination Test) in *D. melanogaster*. **Ver. Int. Contam. Ambient.** v.10, suplem. v.1, p.5-7, 1994.

HARBORNE, J.B. Classes and functions of secondary products, In: Walton NJ, Brown DE (Ed.). **Chemicals from plants, perspectives on secondary plant products**. London: Imperial College, p.1-25, 1999.

HARBORNE, J.B. Recent advances in chemical ecology. **Natural Product Reports Articles**, v.4, n.1, p.83-98, 1997.

HAVSTEEN, B. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. **Biochemistry Pharmacology**, v.32, p.1141-1148, 1983.

KAMDEM, J.P.; STEFANELLO, S.T.; BOLIGON, A.A.; WAGNER, C.; KADE, I.J.; PEREIRA, R.P.; PRESTE, A.S.; ROOS, D.H.; WACZUK, E.P.; APPEL, A.S.; ATHAYDE, M.L.; SOUZA, D.O.; ROCHA, J.B.T *In vitro* antioxidant activity of stem bark of *Trichilia catigua* Adr. Juss. **Acta Pharmaceutica**. v.62, p. 371-382. 2012.

KIRKMAN, K.P.; MORRIS, C.D. Ecology and dynamics of *Eragrostis curvula* and *E. plana* with to controlling their spread in natural grassland. **In**. International Rangeland Congress, Durban, South Africa, 2003.

LABOURIAU, L.G.; VALADARES, M.B. On the germination of seeds of *Calotropis procera*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.48, n.2, p.263-184, 1976.

LI, J.; OU-LEE T.M.; RABA, R.; AMUNDSON, R.G.; LAST, R.L. *Arabidopsis* mutants are hypersensitive to UV-B radiation. **Plant Cell** 5: 171-179, 1993.

LOFFREDO, E., MONACI, L.; SENESI, N. Humic substances can modulate the allelopathic potential of caffeic, ferulic, and salicylic acids for seedlings of lettuce (*Lactuca sativa* L.) and tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, n.24, p.9424-9430, 2005.

LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil**. 3. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2000.

MACHADO, L. A.; SILVA, V. B.; OLIVEIRA, M. M. Uso de extratos vegetais no controle de pragas em horticultura. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.69, n.2, p.103-106, 2007.

MEDEIROS, R. B.; FERREIRA, N. R.; BRACK, S.C. F. LONGEVIDADE DE SEMENTES DE ERAGROSTIS PLANA NEES, EM UM SOLO DE CAMPO NATURAL. **In:** reunião del grupo técnico regional del cono suren mejoramiento y utilización de los recursos forrajeros del área tropical y subtropical – Grupo Campos, Salto. Memorias...v.1, p.213-214, 2004.

MELLO, M.O.; SILVA-FILHO, M.C. Plant-insect interactions: an evolutionary arms race between two distinct defense mechanisms. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v.14, p.71-81, 2002.

MENEZES, E.L.A. **Inseticidas botânicas: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola**. Seropédica: Embrapa Agroecologia, 58 p. (Documento, 205), 2005.

MIGLIORINI, P.; JUNIR ANTONIO LUTINSKI, J.A.; GARCIA, F.R.M. Eficiência de extratos vegetais no controle de *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) (Coleoptera: Chrysomelidae), em laboratório. **Biotemas**, v.23, n.1, p.83-89, 2010.

MORAES, P.V.D., PANOZZO, L.E., BRANDOLT, R.R.; SILVA, M.B.V. Potencial alelopático de extratos aquosos de mourisco (*Fogopyrum esculentum* Moench) na germinação e crescimento inicial de plantas daninhas. **Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas**, v.4, n.3, p.10-16, 2010.

MORRISON, I., ASIEDU, E. A., STUCHBURY, T. AND POWELL, A. A. Determination of Lignin and Tannin contents of cowpea seeds coats. **Annals of Botany**. v.76, p. 287-290. 1995.

NACHTIGAL, G. F.; NEUMANN, E. L. F.; COSTA, F. A.; GARLICH, N. Ocorrência de ferrugem associada ao capim-annoni-2 (*Eragrostis plana* Nees) na região de Fronteira da Metade Sul do Rio Grande do Sul. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE AGROECOLOGIA, 6. Agricultura familiar e camponesa: experiências passadas e presentes construindo um futuro sustentável: **Anais...** Curitiba: ABA: SOCLA, Governo do Paraná, 2009.

OLIVEIRA, A.K., COELHO, M.F.B., MAIA, S.S.S.M.; DIÓGENES, F.E.P. 2012. Atividade alelopática de extratos de diferentes órgãos de *Caesalpinia férrea* na germinação de alface. **Ciência Rural**, v.42, n.8, p.1397-1403, 2012.

OLIVEIRA, J. V. de; VENDRAMIM, J. D.; HADDAD, M. L. Bioatividade de pós vegetais sobre o caruncho do feijão em grãos armazenados. **Revista de Agricultura**. Piracicaba, v. 75, 1999.

OLIVEIRA, O. L. P. Considerações sobre o capimannoni-2 (*Eragrostis plana* Nees). Histórico e Evolução no CNPO. In: reunião regional de avaliação de pesquisa comannoni-2, Bagé. **Anais...** Bagé: EMBRAPA-CPPSUL. p. 41-51, 1993.

PRIOR, R.L. **Fruits and vegetables in the prevention of cellular oxidative damage**. Am J Clin Nutr. p.78: 570S-578S, 2003.

QUARLES, W. **Botanical pesticides from Chenopodium**. IMPM Practitioner, 14: 1-11, 1992.

REIS, J. C. L. Capimannoni-2: origem, morfologia, características, disseminação. In: Reunião regional de avaliação de pesquisa comannoni-2, Bagé. **Anais...** EMBRAPACPPSUL. p. 5-23, documentos, 7, 1993.

ROEL, A.R. Atividade tóxica de extratos orgânicos de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.29, n.4, p.799-808, 2000.

SOUTO, X.C., GONZALEZ, L., REIGOSA, M.J. Comparative analysis of allelopathic effects produced by four forestry species during decomposition process in their soils in Galicia (NW. Spain). **Journal of Chemical Ecology**, New York, v.20, n.11, p.3005-3015, 1994.

SOUZA FILHO, A.P.S., SANTOS, R.A., SANTOS, L.S., GUILHON, G.M.P., SANTOS, A.S., ARRUDA, M.S.P., MULLER, A.H.; ARRUDA, A.C. Potencial alelopático de *Myrcia guianensis*. **Planta Daninha**, v.24, n.4, p.649-656, 2006.

STRONG, D.R.; LAWTON, J.H.; SOUTHWOOD, T.R.E. **Insects on plants: community patterns and mechanisms**. London: Blackwell Scientific. p.313, 1984.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed. p.918, 2013.

TAVARES, W.S.; CRUZ, I.; PETACCI, F.; ASSIS JÚNIOR, S.L.; FREITAS, S.S.; ZANUNCIO, J.C.; SERRÃO, J.E. Potential use of asteraceae extracts to control *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and selectivity to their parasitoids *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and *Telenomus remus* (Hymenoptera: Scelionidae). **Industrial Crops and Products**, v. 31, p. 384-388, 2009.

TORRES, A. de F.; LASMAR, O.; CARVALHO, G.A.; SANTA-CECÍLIA, L.V.C.; ZANETTI, R.; OLIVEIRA, D. Atividade inseticida de extratos de plantas no controle de formiga cortadeira, em cafeeiro. **Coffee Science**, Lavras, v. 8, n. 3, p. 371-378, 2013.

VARELLA B. A. H., SUFFREDINI I. B.; BERNARDI M. M. Toxicidade de Neem, *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae), em *Artemias* sp: comparação da preparação comercial e do óleo puro. **Revista Inst. Ciências da Saúde**; vol 26(2); p. 157- 60, 2008.

VENDRAMIM, J. D.; CASTIGLIONI, E. **Aleloquímicos, resistência de plantas e plantas inseticidas**. In: Guedes, J. C.; Costa, I. D. & Castiglioni, E. (Orgs). Bases e técnicas do manejo de insetos. Ed. Pallotti, Santa Maria, Brasil, p.113-128, 2000.

VIEIRA, P. C.; MAFEZOLI J.; BIAVATTI M. W. **Inseticidas de origem vegetal**. In: FERREIRA, J. T. B.; CORRÊA A. G.; VIEIRA, P. C. Produtos naturais no controle de insetos. São Carlos: EdUFSCar. p.176, 2001.

VILLAR, L.; CRUZ, M.C.M.; MOREIRA, R.A.; CURI, P.N. Atrativos alimentares na flutuação populacional de moscas-das-frutas e abelha irapuá. **Scientia Agraria Paranaensis**, v.9, n.3, p.67-73, 2010.

WALLER, G.R. Introduction. In: MACIAS, F.A.; GALINDO, J.C.G.; MOLINILLO, J.M.G. & CUTLER, H.G. (Eds.) **Recent Advances in Allelopathy**. Cadiz, Serv. Pub. Univ. Cadiz. v.1, 1999.

WOISKY, R. G.; SALATINO, A. Analysis of própolis: some parameters and procedures for chemical quality control. **Journal of Apicultural Research**, v.37, p.99-105, 1998.