

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA

ANGÉLICA VIEIRA AGUIAR

**POTENCIAL ENTOMOTÓXICO DE EXTRATO DE *Eragrostis plana* NEES EM
MODELO EXPERIMENTAL DE *Nauphoeta cinerea* Olivier**

**São Gabriel
2018**

ANGÉLICA VIEIRA AGUIAR

**POTENCIAL ENTOMOTÓXICO DE EXTRATO DE *Eragrostis plana* NEES EM
MODELO EXPERIMENTAL DE *Nauphoeta cinerea* OLIVIER**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Curso de Ciências Biológicas da
Universidade Federal do Pampa, como
requisito parcial para obtenção do Título de
Bacharel em Ciências Biológicas

Orientador: Silvane Vestena

**São Gabriel
2018**

ANGÉLICA VIEIRA AGUIAR

**POTENCIAL INSETICIDA DE EXTRATO DE *Eragrostis plana* NEES EM MODELO
EXPERIMENTAL DE *Nauphoeta cinerea* Olivier**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Trabalho de Conclusão de Curso defendido e aprovado em: 13/12/2018.

Banca examinadora



Prof. Dra. Silvane Vestena
Orientador
(UNIPAMPA)

Prof. Dra. Lúcia Helena do Canto Vindé
(UNIPAMPA)

Doutoranda Bruna Trindade Borges
(UNIPAMPA)

Dedico este trabalho aos meus queridos pais.

AGRADECIMENTO

A Prof. Dra Silvane Vestena que de maneira generosa tem dividido conosco seu conhecimento e tempo para a realização desse projeto, sendo sempre atenciosa e acessível, que nesse tempo deixou de ser apenas uma professora mas tornou-se uma valiosa amiga.

Aos colegas de laboratório, Bruna, Maria Eduarda, Julie, Lana, Raquel, Yuri e Ana Paula, que passaram manhãs e tardes fazendo ciência, ajudando um ao outro, com pausas para um café forte e claro também dividindo a angustia de viver e discutir a política do nosso País (ano de eleição não foi fácil).

Aos queridos amigos conquistados durante a graduação, que de maneira generosa ofereceram suporte emocional, dividindo as alegrias e algumas vezes as tristezas, também compartilharam um cantinho na barraca durante o campo e claro uma cerveja gelada. A vocês Caroline, Eduardo e Lana um agradecimento especial pelos anos que passamos juntos.

Aos meus amados pais. Julienis (mãe) meu muito obrigado por desde criança ensinar que o conhecimento e o estudo adquirido são os bens que terei para sempre, que não podem ser tirados, pelo apoio em todos esses anos, por me amar incondicionalmente e por ter demonstrado que mesmo longe seu coração e olhar sempre estarão por mim. Ivaldo (pai) obrigado por todo o apoio e amor que tem me dado em todos esses anos, por ter demonstrado e sido o maior exemplo de honestidade e trabalho. Todo o amor e dedicação à vocês que são meus maiores exemplos.

Aos meus irmãos e cunhadas Eduardo e Carla, Henrique e Vanda, pela torcida e apoio. Aos sobrinhos mais fofos e lindos, Julia, Kauê e Pedro Henrique.

Ao meu namorado Victor, obrigado por ter estado ao meu lado, por ter demonstrado que prioridade e carinho são possíveis mesmo a distância, por não ter se entediado pelas longas horas via vídeo chamada, por se interessar e perguntar sobre o meu trabalho e estudos mesmo às vezes eu não sabendo explicar, estar com você é ter o melhor companheiro. Te amo.

Tenha paciência com tudo que for insolúvel no seu coração e tente amar as perguntas – e a viver as perguntas

Rainer Maria, 1903.

RESUMO

Entre as principais estratégias adotadas por vegetais invasores estão a liberação e propagação de seus metabólitos secundários no ambiente. O *Eragrostis plana* Nees (capim-annoni-2) é um vegetal invasor, oriundo do continente Africano, introduzido no Brasil no início da década de 1950, que tem se propagado com sucesso em território nacional, uma vez que é um forte competidor devido seu potencial alelopático. O objetivo do trabalho foi avaliar a atividade entomotóxica do extrato aquoso do capim-annoni-2 em modelo experimental de baratas (*Nauphoeta cinerea*). Para isso, partes aéreas de *E. plana* foram trituradas para obtenção do extrato bruto, após diluídas em água milli-q em 7 concentrações (0,5; 2,5; 5,0; 12,5; 25,0; 50,0; 100,0 µg/g de animal) foi utilizado solução salina para o tratamento controle. Para determinação dos receptores e vias envolvidas em respostas as doses de extrato hidroalcoólico de capim-annoni-2 (EHCA), foi preparado um tratamento com o fármaco octopamina e seu inibidor a fentolamina. Em todos os experimentos foram usado baratas machos e adultos de forma a haver padronização. No *grooming*, foram utilizados 30 indivíduos para cada dose testada, enquanto que para o teste do coração semi-isolado foram utilizados 10 indivíduos por dose. Para o ensaio da atividade inseticida foi utilizado o EHCA nas doses de 100, 200, 400, 600, 800 µg/g de animal e solução salina para o tratamento controle, a DL50 durou 72 horas, cada dose foi testada 15 animais, a dose onde houve maior índice de mortalidade foi considerada a dose letal. Todos os dados foram expressos como média ± erro (E.P.M), sendo os mesmos analisados pelo teste two-way ANOVA, seguido dos testes Tukey ou Dunnett, sendo considerado significativos quando $p < 0,05$. Depois de realizados os experimentos verificou-se que o EHCA induziu um efeito significativo no *grooming* de perna em todas as concentrações com exceção da concentração de 100 µg/g de animal, enquanto que o mesmo pouco modulou o *grooming* de antena. Sobre os receptores e vias envolvidas, observou-se que a octopamina tanto isolada quanto com o extrato teve um efeito significativo no *grooming* de perna, enquanto que a fentolamina, junto ao extrato teve efeito no *grooming* de antena. Sobre o efeito do extrato no coração semi-isolado, notou-se que as mesmas doses que afetaram o *grooming* afetam o batimento cardíaco diminuindo a frequência cardíaca. Em nenhuma concentração, ao final do tratamento houve recobro da frequência cardíaca. Na atividade inseticida a concentração de 400 µg/g de animal apresentou maior taxa de mortalidade. Sendo assim confirma-se o que o EACA possui um potencial entomotóxico.

Palavras-chave: coração semi-isolado; extrato aquoso; *grooming* ; atividade inseticida.

ABSTRACT

Among the main strategies adopted by invasive plants are the release and propagation of their secondary metabolites in the environment. The *Eragrostis plana* Nees (capim-annoni-2) is an invasive vegetable, originating from the African continent, introduced in Brazil in the early 1950s, which has been successfully propagated in the national territory, since it is a strong competitor due to its allelopathic potential. The objective of this work was to evaluate the entomotoxic activity of the aqueous extract of capim-annoni-2 in an experimental model of cockroaches (*Nauphoeta cinerea*). For this, aerial parts of *E. plana* were ground to obtain the crude extract, after dilution in milli-q water in 7 doses (0.5, 2.5, 5.0, 12.5, 25.0, 50, 0 100.0 μg / g animal) saline solution was used for the control treatment. To determine the receptors and pathways involved in response to the doses of hydroalcoholic extracts of capim-annoni-2 (EHCA), a treatment with the drug octopamine and its inhibitor the phentolamine was prepared. In all experiments male and adult cockroaches were used for standardization. In grooming, 30 subjects were used for each dose tested, whereas for the semi-isolated heart test 10 subjects were used per dose. For the insecticidal activity assay EHCA was used at the doses of 100, 200, 400, 600, 800 μg / g animal and saline for the control treatment, the LD50 lasted 72 hours, each dose was tested 15 animals, dose where the highest mortality rate was considered the lethal dose. All data were expressed as mean \pm error (E.P.M), being analyzed by the ANOVA two-way test, followed by the Tukey or Dunnett tests, being considered significant when $p < 0.05$. After the experiments were carried out it was found that the EHCA induced a significant effect on leg grooming at all concentrations except for the concentration of 100 μg /g animal, whereas the same did little modulate antenna *grooming*. Concerning the receptors and pathways involved, it was observed that the octopamine both isolated and with the extract had a significant effect on leg grooming, while the phentolamine, together with the extract had an effect on antenna *grooming*. Regarding the effect of the extract on the semi-isolated heart, it was noted that the same doses that affected *grooming* affect the heart rate by lowering the heart rate. At no concentration, at the end of the treatment there was heart rate recovery. In the insecticidal activity, the concentration of 400 μg /g of animal had a higher mortality rate. This confirms that the EACA has an entomotoxic potential.

Keywords: semi-isolated heart; aqueous extract; *grooming*; insecticidal activity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Formas de liberação de metabólitos secundários no ambiente.....	12
Figura 2 – Ilustração da rota metabólica secundária.....	13
Figura 3 – Aspecto geral da predominância de capim-annoni-2 (<i>Eragrostis plana</i> Ness).....	14
Figura 4 – Estrutura química da quercetina à esquerda e estrutura química do ácido clorogênico à direita.....	15
Figura 5 – Barata da espécie <i>Nauphoeta cinerea</i> . Detalhe da porção dorsal do inseto com a cor acinzentada característica e porção ventral marrom.....	17
Figura 6 – Sistema nervoso de barata.....	18
Figura 7 – Representação do comportamento de <i>grooming</i>	21
Figura 8 – Ilustração da aplicação de drogas, dos extratos aquosos de capim-annoni-2 (<i>Eragrostis plana</i> Nees) ou solução salina no terceiro segmento abdominal de <i>Nauphoeta cinerea</i> Olivier.....	22
Figura 9 – Barata (<i>Nauphoeta cinerea</i> Olivier) fixada em cama de isopor com auxílio de alfinete entomológicos e coração exposto.....	23
Figura 10 – Ilustração do ensaio da atividade inseticida por dose experimental.....	24
Figura 11 – Atividade de <i>grooming</i> em <i>Nauphoeta cinerea</i> submetidas a diferentes concentrações de extrato de capim-annoni-2 (<i>Eragrostis plana</i> Nees).....	25
Figura 12 – Atividade de <i>grooming</i> em <i>Nauphoeta cinerea</i> com ação de octopamina e fentolamina isolada e junto ao extrato de capim-annoni-2 (<i>Eragrostis plana</i> Nees).....	27
Figura 13 – Resposta cronotrópica de diferentes tratamentos do extrato aquoso de capim-annoni-2 (<i>Eragrostis plana</i> Nees) sobre a frequência cardíaca de baratas <i>Nauphoeta cinerea</i> Olivier.....	28
Figura 14 – Resposta cronotrópica do coração semi-isolado em diferentes tratamentos (solução salina, 5,0 µg/g do EACA, do fármaco octopamina e inibidor fentolamina).....	29
Figura 15 – Taxa de mortalidade de baratas da espécie <i>Nauphoeta cinérea</i> em diferentes tratamentos do extrato aquoso de capim-annoni-2 (<i>Eragrostis plana</i> Nees).....	31

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

EACA - Extrato Aquoso de Capim-annoni-2

ANOVA – Analysis of variance

SUMÁRIO

1	Introdução.....	12
1.2	Metabolismo secundário.....	12
1.2	Capim-annoni-2 (<i>Eragrostis plana</i> Nees)	14
1.3	Bioinseticidas.....	15
1.4	Baratas como modelo experimental.....	16
1.5	Sistema nervoso em inseto	17
2	Objetivo	19
2.1	Objetivo geral.....	19
2.2	Objetivos específicos.....	19
3.1	Material e Métodos.....	20
3.1	Extrato vegetal	20
3.2	Modelo animal	20
3.3	Solução salina para insetos	20
3.4	Atividade de <i>grooming</i>	20
3.5	Coração semi-isolado	22
3.6	Atividade inseticida.....	23
4	Resultados e Discussão.....	24
4.1	Extrato hidroalcoólico na atividade de <i>grooming</i>	24
4.2	Extrato hidroalcoólico no coração semi-isolado.....	28
4.3	Extrato hidroalcoólico de capim-annoni-2 sobre a taxa de mortalidade de <i>Nauphoeta cinerea</i> Olivier.....	30
5	Considerações finais.....	33
6	Referencias Bibliográficas.....	34

1. INTRODUÇÃO

1.1 Metabolismo secundário vegetal

Metabolismo é a denominação de um grupo de reações químicas que ocorrem constantemente em cada célula, seja animal ou vegetal. Os compostos químicos produzidos durante esse processo são chamados de metabólitos, sendo estes resultados de uma série de transformações enzimáticas que, diferenciam-se em duas classes: metabólitos primários e secundários (SIMÕES, 2001; WAKSMUNDZKA-HAJNOS et al., 2008). O conjunto de produtos metabólicos com funções essenciais, são conhecidos como metabólitos primários, entre esses estão os produtos responsáveis pela a fotossíntese, transporte de solutos e respiração, tais metabólitos estão distribuídos universalmente no reino vegetal.

Espécies vegetais produzem diversos aleloquímicos e os liberam no ambiente por meio de suas folhas, raízes e lixiviação de serrapilheira (Figura 1). Essas substâncias são denominadas metabólitos secundários e atuam não só na defesa do organismo contra herbivoria e agentes patogênicos, como também na atração de polinizadores e competição por recursos em interações planta-planta (TAIZ & ZEIGER, 2017).

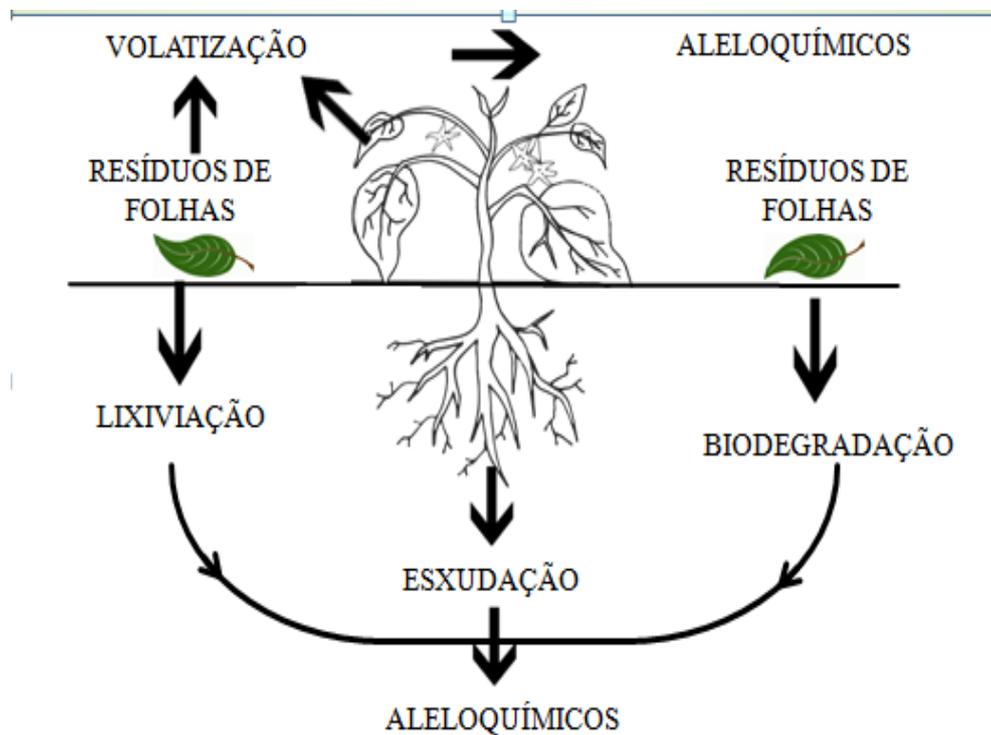


Figura 1: Formas de liberação de metabólitos secundários no ambiente. Fonte: Google, com pequenas alterações.

Esses metabólitos também atuam na expressão de genes dominantes, garantindo a resistência a compostos químicos, nas alterações dos sítios de ligações nas mitocôndrias, na ineficiência enzimática, na conjugação de aminoácidos e proteínas, inativando suas funções (SILVA et al., 2016). A atividade dessas biomoléculas pode ser danosa ou benéfica a vegetação adjacente (RICE, 1984), interferindo em processos como respiração celular, fotossíntese, ação de fitormônios, alongamento e divisão celular, síntese proteica, permeabilidade das membranas e metabolismo de compostos orgânicos como os lipídios (FERREIRA et al., 2008). A síntese e disponibilidade de um metabólito secundário nas plantas podem ser afetadas por fatores como sazonalidade, temperatura, radiação ultravioleta, poluição e altitude. Visto que esses fatores são distintos em cada região do planeta, as plantas podem apresentar um metabolismo único, o qual está adaptado às condições nas quais a planta está exposta (GOBBO-NETO & LOPES, 2007). As três principais classes de metabólitos secundários são: terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados (TAIZ & ZEIGER, 2017) (Figura 2).

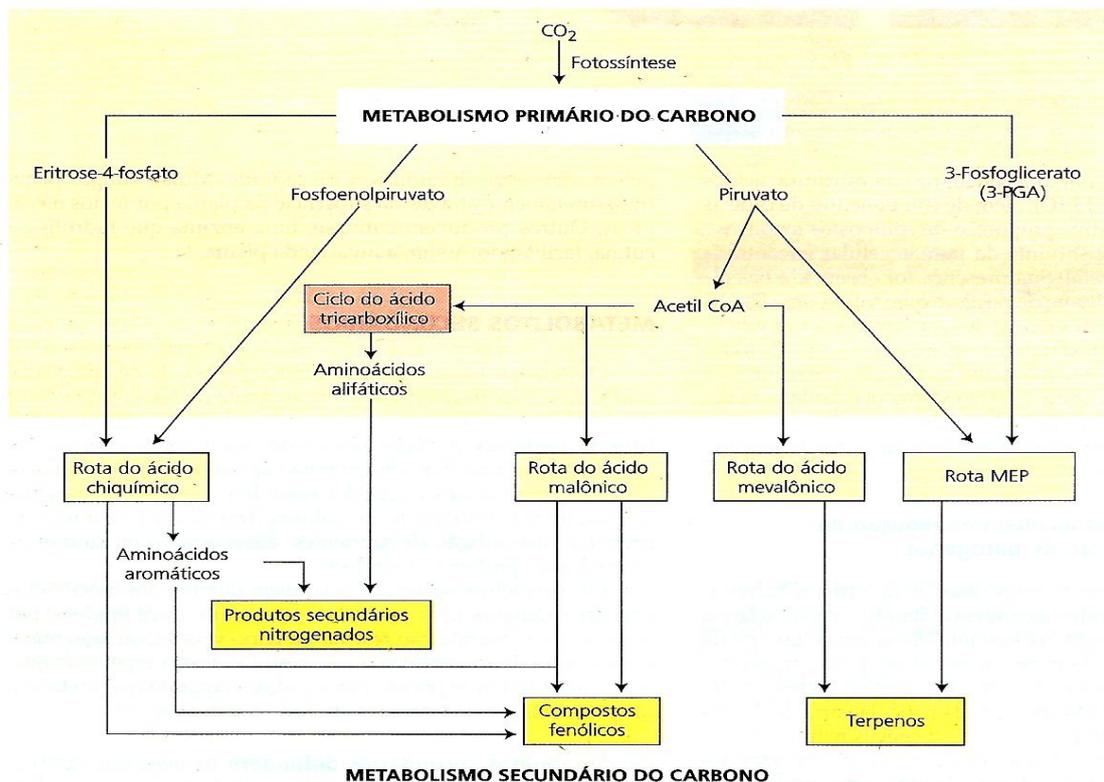


Figura 2: Ilustração da rota metabólica secundária. Fonte: Taiz & Zeiger (2017).

A abrangente atuação dos metabólitos secundários dos vegetais mostra a necessidade e a importância do conhecimento sobre esses compostos. Entender a sua atuação pode levar a

inúmeras possibilidades de estudos que direcionem a busca pela solução de importantes problemas enfrentados atualmente, como a resistência microbiana às drogas sintéticas ou o prejuízo causado pelo uso desordenado de pesticidas (TAIZ & ZEIGER, 2017).

1.2 Capim-annoni-2 (*Eragrostis plana* Nees)

O capim-annoni-2 (*Eragrostis plana* Nees) é uma Poacea de origem sul africana introduzida acidentalmente no Brasil na década de 1950 (Figura 3).



Figura 3: Aspecto geral da predominância de capim-annoni-2 (*Eragrostis plana* Nees). Fonte: Google

Devido sua grande tolerância a variação de temperatura, passou a ser usada como planta forrageira. A comercialização de sementes na década de 1970 pelo Grupo Rural Annoni (Sarandi, RS) contribuiu para o processo invasor. Com isso, houve decréscimo na frequência e riqueza de espécies nativas (devido seu potencial alelopático), redução da produtividade pecuária e aumento da degradação do solo (MEDEIROS et al., 2004; FERREIRA et al., 2008).

No sul do Brasil, está entre as invasoras mais difíceis e agressivas quanto ao controle em pastagens naturais (REIS, 1993). Como toda planta invasora suas características são: rápido crescimento, longa fase reprodutiva, presença de alelopatia e banco de sementes no solo (MEDEIROS et al., 2004). Segundo FIORENZA et al., (2016) no extrato metanólico de folhas secas de capim-annoni-2 são encontradas entre os fenóis: ácido gálico, ácido elágico, ácido cafeico, ácido clorogênico; flavonóides: quercetina e a rutina; e os taninos: epicatequina e catequina (Figura 4).

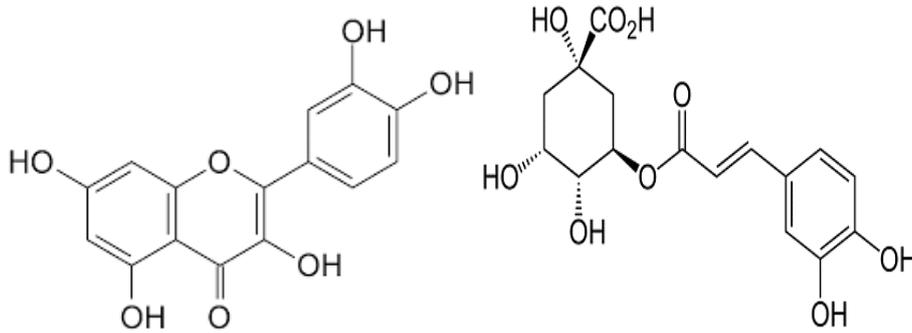


Figura 4: Estrutura química da quercetina à esquerda e estrutura química do ácido clorogênico à direita. Fonte: Google

Os flavonóides tem recebido atenção uma vez que atuam como sequestradores de radicais livres e, como ligantes quelatos para íons metálicos; a quercetina está presente na dieta humana, encontrada em chás, frutas e verduras, em sua forma glicosilada (BEHLING et al., 2004). Estudos com extrato metanólico de pinheiro-do-paraná (*Araucaria angustifolia* (Bertoloni) Otto Kuntze) demonstraram a presença de quercetina e sua ação como inseticida natural em modelo de *Phoetalia pallida* (CARRAZONI, 2017).

Fenóis possuem capacidade antioxidante, uma vez que reagem a radicais livres e restringem seus efeitos maléficos. Eles também apresentam atividades antiinflamatórias, antialérgicas, antimicrobiana, antitrombótica e antineoplásica. São essenciais para crescimento e reprodução dos vegetais, contribuem para adstringência, pigmentação e estabilidade (CARMO et al., (2007).

A *E. plana* tem sido modelo de estudos em trabalhos sobre identificação na mudança de nicho bioclimático durante sua invasão na América do Sul (BARBOSA, 2013). Vários trabalhos enfatizam o potencial que essa espécie apresenta na prevenção, controle e utilização de capim-anoni-2 no Rio Grande do Sul, Brasil (MEDEIROS & FOCHT, 2007) e potencial alelopático na germinação e crescimento inicial de outras espécies vegetais (FERREIRA et al., 2008, FIORENZA et al., 2016). Porém estudos sobre seu potencial entomotóxico, têm sido pouco explorado.

1.3 Bioinseticidas

Os agrotóxicos são substâncias químicas utilizadas na agricultura para combater e controlar agentes nocivos ao cultivo, de forma a não haver perdas no processo agrícola. Eles podem ser divididos em muitas categorias entre elas estão os fungicidas, herbicidas, inseticidas, acaricidas, rodenticidas, entre outras. Porém esses compostos atingem não apenas

os seres nocivos às plantações, mas também, abelhas, minhocas, plantas e seres humanos, principalmente quando são utilizados de forma indiscriminada. A primeira escolha para o controle biológico geralmente é a de inseticidas químicos, porém seu uso indiscriminado gera efeitos econômicos e ambientais negativos, também por vezes, seleciona indivíduos resistentes a esses compostos, causando desequilíbrio biológico e impulsionando a busca por substituintes (COUTINHO et al., 2009).

Não raramente encontramos na cultura popular preparações caseiras com o intuito de exercer atividade inseticida, fazendo uso de um organismo vegetal. Entre essas preparações estão as folhas de pinheiro-do-paraná, feita popularmente como inseticida natural em comunidades rurais do interior do Brasil, que passou a ser estudada como potencial inseticida (CARRAZONI et al., 2017). Outro exemplo a ser destacado é a pitangueira (*Eugenia uniflora* L.), planta que exerce um controle de insetos sendo usado em diversos estudos (JUNG et al., 2013).

A busca por atividade inseticida por meio de plantas acontece por preparações de extratos com diferentes partes vegetais ou substâncias produzidas por esses. Entre suas vantagens estão o baixo impacto ambiental, fácil obtenção do produto e rápida degradação do composto no ambiente (SANTOS, 2016).

1.4 Baratas como modelos experimentais

Muitos aspectos da biologia são compartilhados entre a maioria dos organismos vivos ou em todos. Frequentemente percebe-se uma facilidade em estudar um aspecto individual em um organismo específico, dessa forma surgiram os organismos modelos, que possuem características que os permitem serem estudados em laboratório. Entre esses organismos estão zebrafish (*Danio rerio*), camudongo (*Mus musculus*), mosca-da-fruta (*Drosophila melanogaster*) e não tão popular a barata (*Nauphoeta cinerea* Olivier) (Figura 5).

Existem mais de 4000 mil espécies de baratas espalhadas pelo globo terrestre, no Brasil são conhecidas cerca de 1000 espécies. Esse grupo surgiu a cerca de 300 milhões de anos. Podem ser hospedeiras de protozoários, vermes, bactérias e fungos, transmitindo assim doenças para os seres humanos. Seu corpo é dividido em cabeça, tórax e abdômen, três pares de perna e um par de antena. Seu corpo é ovalado e achatado dorsoventralmente (OSBORNE, 1996).

A espécie *Nauphoeta cinerea* é oriunda do leste da África, porém tem sido difundida via comércio. Sua coloração é acinzentada com desenhos característicos e apresentam dimensões

que variam de 25 a 29 mm quando adultas (OSBORNE, 1996) (Figura 5). Esse grupo tem sido utilizado em bioensaios pela facilidade de manutenção, baixo custo, rápida reprodução e falta de questões éticas que as envolva (RODRIGUES et al., 2012).

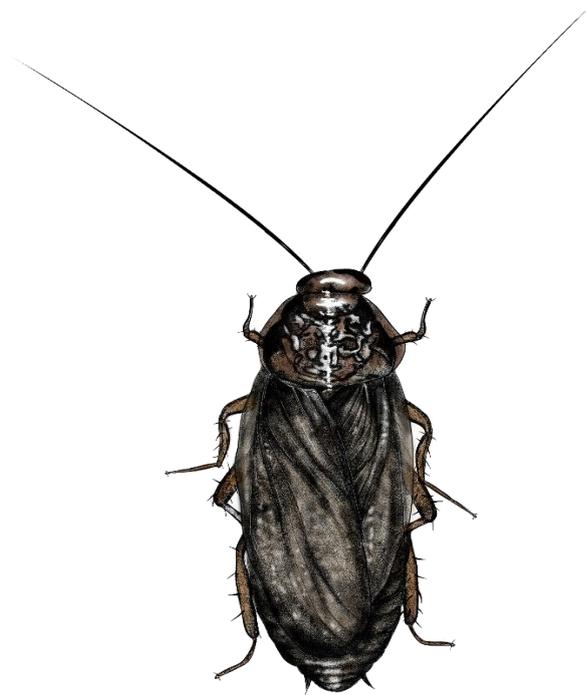


Figura 5: Barata da espécie *Nauphoeta cinerea*. Detalhe da porção dorsal do inseto com a cor acinzentada característica e porção ventral marrom. Fonte: Borges (2018).

1.5 Sistema nervoso em insetos

Organismos vivos respondem a estímulos internos e externos por causa do seu sistema nervoso. Tal sistema é integrado pelo sistema sensorial externo e informações fisiológicas internas. O sistema nervoso em insetos é localizado ventralmente; o cérebro fica localizado na região da cabeça, que é conectado por um par de nervos ao redor do estomodeu e uma série de gânglios da corda nervosa ventral (GALLO et al., 2002).

O cérebro dos insetos é composto por protocérebro (olhos compostos e ocelos), deutero cérebro (recebe os sinais dos receptores de antenas) e tritocérebro que está ligado aos gânglios ventrais e ao sistema nervoso estomatogástrico (OSBORNE, 1996). O sistema nervoso periférico consiste dos nervos que deixam ou chegam ao sistema nervoso central para inervar os músculos ou órgãos do sentido (GALLO et al., 2002).

O sistema nervoso central é formado por pares de gânglios, um subesofágico ligado ao cérebro, três gânglios metatorácicos e seis gânglios abdominais disposto ventralmente (Figura

6). Cada segmento do inseto possui um par de gânglios interligados por comissuras e conectivos e nenhum gânglio possui um centro vital (BORGES, 2018).

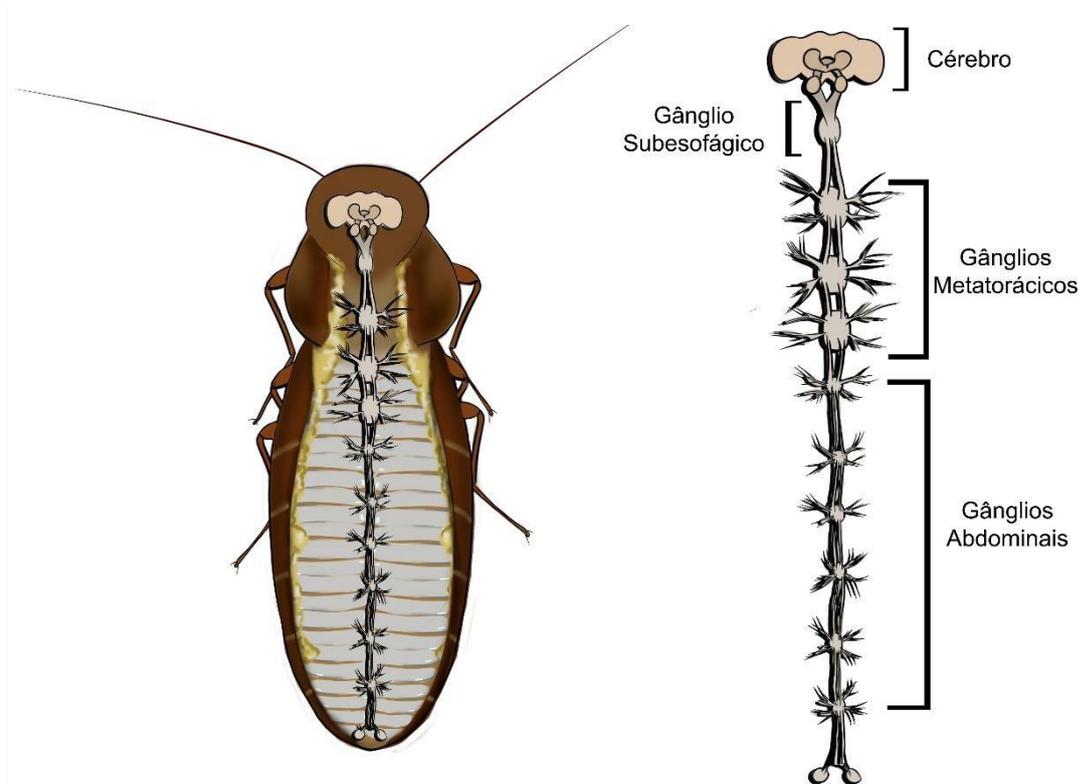


Figura 6: Sistema nervoso de barata. O sistema nervoso é localizado ventralmente no inseto, sendo composto por um cérebro, um gânglio subesofágico, três gânglios torácicos e seis gânglios abdominais. Fonte: Borges (2018)

2. OBJETIVO

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a atividade entomotóxica do extrato aquoso de capim-annoni-2 (*Eragrostis plana* Nees) em diferentes concentrações sobre o sistema nervoso e cardíaco de *Nauphoeta cinerea* Olivier.

2.2 Objetivos específicos

- ✓ Avaliar o efeito modulador do EHCA sobre o sistema nervoso de *N. cinerea* por meio de técnicas comportamentais como o *grooming*.
- ✓ Avaliar a modulação de EHCA sobre a frequência cardíaca de *N. cinérea*.
- ✓ Avaliar a concentração em que o EHCA torna-se letal para a *N. cinérea*, por teste de DL50.
- ✓ Verificar as vias envolvidas na neurotransmissão e no desencadeamento dos possíveis efeitos entomotóxicos, por meio da utilização de fármacos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos comportamentais, modulação da frequência cardíaca e atividade inseticida, foram conduzidos no Laboratório de Neurobiologia e Toxinologia (Lanetox) na Universidade Federal do Pampa - Campus São Gabriel, São Gabriel, RS.

3.1 Extrato vegetal

Partes aéreas (caule e folha) de capim-annoni-2 foram coletadas no Campus São Gabriel, nas primeiras horas da manhã. Para obtenção do extrato hidroalcoólico, folhas previamente secas foram trituradas em um moinho tipo willey até a obtenção de um pó. O material foi submetido ao processo extrativo por percolação em solução hidroalcoólica 90% utilizando álcool absoluto 99,99% (P.A.).

Depois da filtragem da solução obtida, o mesmo foi submetido ao rotaevaporador com temperatura controlada de até 60°C, a seguir liofilizado a -80 °C até obtenção de resíduo seco (CARRAZONI et al., 2016). O extrato foi obtido da diluição do resíduo seco em água milli-Q, obtendo-se as seguintes doses 5; 2,5; 5,0; 12,5; 25; 50; 100 µg/g de animal, para os testes de *grooming* e coração semi-isolado, para os testes de potencial inseticida (mortalidade) foram utilizadas as doses de 100, 200, 400, 600 e 800 µg/g de animal do EHCA. Todos os controles foram obtidos com a administração de solução salina.

3.2 Modelo animal

Para a padronização dos experimentos foi utilizado machos de baratas da espécie *Nauphoeta cinerea* (3 a 4 meses após a muda); esses animais foram criados no biotério da UNIPAMPA campus São Gabriel-RS, em caixas especiais para insetos, mantidos em temperatura de 20-24 °C, em ciclos de 12 horas claro e 12 horas escuro, alimentados com ração de cachorro e água potável *ad libitum*.

3.3 Solução salina para insetos

Utilizou-se solução salina, composta por NaCl 150 mM, CaCl₂ 2 mM, KCl 10 mM e Tris 10 mM em adição de água ultra pura até o volume de 200 mL, com pH 6,8 corrigido com NaOH. O pH foi ajustado com pHmetro de eletrodo de vidro, previamente calibrado.

3.4 Atividade de *grooming*

A atividade de *grooming* (Figura 7) segundo a metodologia descrita por Carrazoni et al. (2017) e Borges (2018). O extrato e as drogas testadas foram injetadas na terceira porção abdominal com auxílio de uma seringa de Hamilton, sendo injetados 10 μL de volume do extrato e/ou droga que estava sendo testada (Figura 8). O animal foi colocado em arena circular (*Open Field*, Insight), usado em testes comportamentais (recipiente circular com 30 cm de altura e 20 cm de raio). As baratas nunca haviam estado no open Field anteriormente. Para essa atividade foi utilizado um “n” amostral de 30 baratas, para cada dose do EHCA, cada tratamento foi monitorado durante 30 minutos segundo a metodologia recomendada por Borges (2018). Ainda, para determinação dos receptores e vias envolvidas em respostas ao EHCA, foram preparados soluções de dois fármacos a octopamina e fentolamina nas concentrações de 1,0 $\mu\text{g/g}$ de animal e 0,01 $\mu\text{g/g}$ de animal respectivamente . Os testes foram realizados em período diurno.



Figura 7: Representação do comportamento de *grooming*. Em (A) o *grooming* de antena e em (B) o *grooming* de pernas. Fonte: Borges (2018).

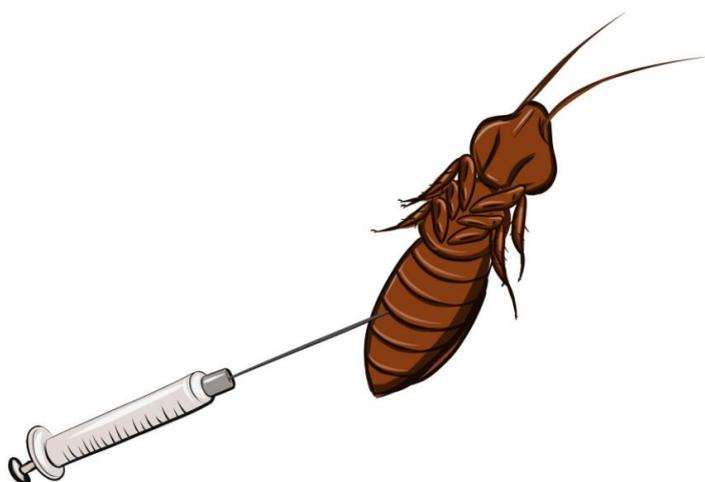


Figura 8: Ilustração da aplicação de drogas, dos extratos aquosos de capim-annoni-2 (*Eragrostis plana* Nees) ou solução salina no terceiro segmento abdominal de *Nauphoeta cinerea* Olivier. Fonte: Borges (2018).

3.5 Coração semi-isolado

A preparação do coração semi-isolado (Figura 9) em baratas seguiu a metodologia recomendada por Rodrigues et al. (2012), onde as baratas foram anestesiadas durante 5 a 8 minutos em resfriamento e para cada dose testada foram utilizados 10 baratas machos adultos. As baratas foram fixadas em placas de isopor com o auxílio de alfinetes entomológicos. A parte ventral do animal estava direcionada para cima, onde houve o corte e retirada da cutícula abdominal, com auxílio de uma tesoura cirúrgica e uma pinça, ambas esterilizadas. As vísceras foram afastadas para o lado, de forma ao coração ficar exposto.

O coração foi banhado com 200 $\mu\text{l/g}$ de animal, solução salina a 37°C por 5 minutos para que ocorra a estabilização da frequência cardíaca. Após os diferentes tratamentos serem adicionados sobre o coração (sendo 190 $\mu\text{l/g}$ de animal de solução salina e 10 $\mu\text{l/g}$ de animal de tratamento) a frequência cardíaca foi contada e monitorada por 30 minutos. O coração foi banhado novamente por 200 $\mu\text{l/g}$ de animal de solução salina, onde há monitoramento e contagem da frequência cardíaca durante 5 minutos, de forma a observar se há recobro da frequência cardíaca. Todo o procedimento ocorre em 40 minutos, com o auxílio de uma câmera e o programa VLouge.

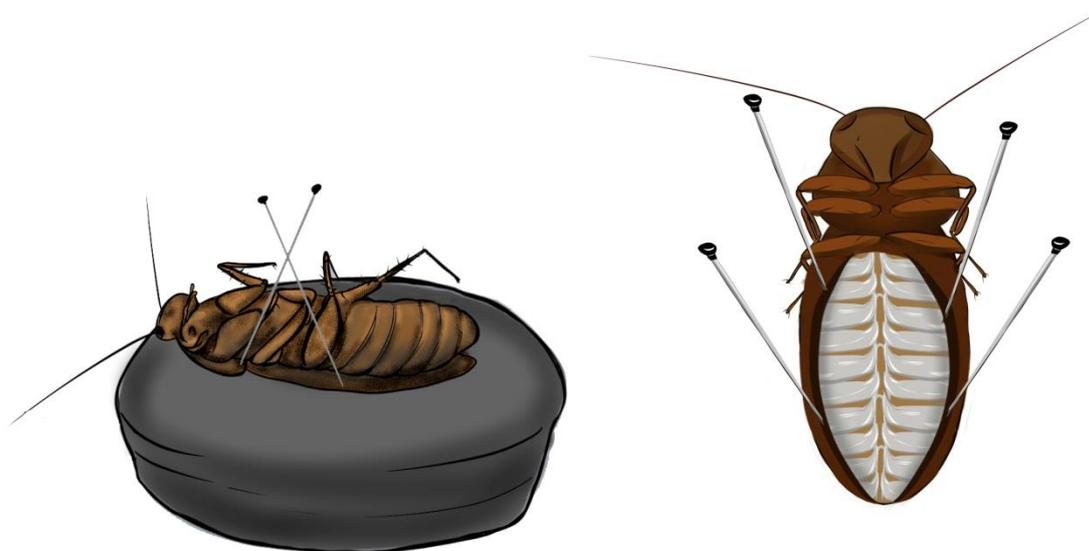


Figura 9: Barata (*Nauphoeta cinerea* Olivier) fixada em cama de isopor com auxílio de alfinete entomológicos e coração exposto. Fonte: Borges (2018).

3.6 Atividade inseticida

O ensaio inseticida com as baratas adultas seguiu a metodologia recomendada por Herzig & Hodgson (2008) e Carrazoni et al. (2017), com algumas modificações. Utilizou-se as seguintes doses do EHCA 100, 200, 400, 600, 800 $\mu\text{g/g}$ de animal e solução salina como controle. As concentrações foram administradas com auxílio de uma seringa de Hamilton 10 μL e injetadas no terceiro segmento abdominal de *N. cinerea*. A atividade inseticida foi realizada em triplicada com 5 baratas para cada concentração, todas baratas do experimento eram machos e adultos (Figura 10). As baratas foram mantidas em temperatura de 24 a 25 °C e analisados em cinco períodos 1, 6, 12, 24, 48 e 72 h, após a injeção. Depois desse período, a dose mínima que três ou mais insetos foram considerados mortos foi considerada como dose letal mínima. Aspectos como letargia ou outros sinais não foram monitorados.



Figura 10: Ilustração do ensaio da atividade inseticida por dose experimentalada. Fonte: Borges (2018).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Extrato hidroalcoólico de capim-annoni-2 na atividade de *grooming*

A aplicação das diferentes doses do EHCA em baratas da espécie *N. cinerea*, afetou a atividade de *grooming* de perna, quando comparado ao tratamento controle, exceto para a concentração mais elevada, ou seja, 100 $\mu\text{g/g}$ de animal (Figura 11).

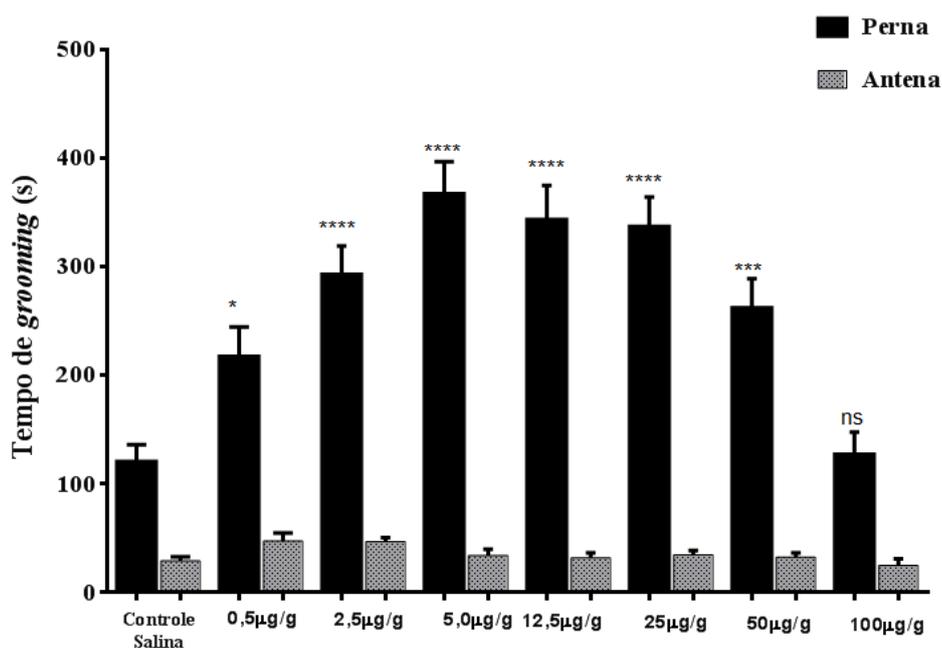


Figura 11: Atividade de *grooming* em *Nauphoeta cinerea* Olivier submetidas a diferentes concentrações de extrato de capim-annoni-2 (*Eragrostis plana* Nees). Fonte: A autora.

Em baratas que foram submetidas à solução salina (controle) o tempo médio de limpeza contínua foi de $110 \pm 5/30$ min para pernas e $20 \pm 1/30$ min de antena ($n=30$), não diferindo estatisticamente do tratamento com $100 \mu\text{g/g}$ de animal EHCA, com tempo médio de $133 \pm 5/30$ min para pernas e $18 \pm 1/30$ min para antena ($n=30$). Adicionalmente, o EHCA induziu a atividade de *grooming* de perna nas concentrações de 0,5 a $50 \mu\text{g/g}$ de animal, quando comparado ao tratamento controle, sendo verificado aumento crescente até a concentração de $5 \mu\text{g/g}$ de animal. Entretanto, não foi verificada diferenças significativas entre as concentrações de 2,5 a $25 \mu\text{g/g}$ de animal (Figura 11).

Carrazoni et al. (2017) testando extrato metanólico de pinheiro-do-paraná na atividade de *grooming* de perna em *N. cinerea* nas concentrações de 200 e $400 \mu\text{g/g}$ de animal, além do controle salina, verificaram que a presença dos extratos aumentaram a atividade de *grooming* de perna, sendo intensificada com o aumento das concentrações utilizadas; ainda, os mesmos pesquisadores encontraram o mesmo comportamento quando utilizaram $40 \mu\text{g/g}$ de animal de quercetina, demonstrando resultado semelhante a concentração de $400 \mu\text{g/g}$ de animal.

A quercetina encontra-se no grupo dos flavonóides que estão presentes nas plantas em diversas formas e com variadas funções. Além das funções de pigmentação, atrativos ou repelentes de herbívoros, proteção contra radiação UV (TAIZ & ZEIGER, 2017), estas

substâncias apresentam efeitos alelopáticos como demonstrado no trabalho de Fiorenza et al. (2016) e sendo detectado uma concentração majoritária de quercetina nos extratos aquoso e metanólico de *E. plana*.

Para a atividade de *grooming* de antena não foi verificada diferenças estatísticas nas diferentes doses do EHCA quando comparado ao tratamento controle (Figura 11). Este comportamento de atividade de *grooming* de perna evidencia uma possível modulação de vias octopaminérgicas (LIBERSAT, 1999)

As aminas biogênicas, octopamina e dopamina, modulam a atividade de limpeza em insetos, essa atividade também está relacionada ao comportamento de corte, sinalização social e excitação (LIBERSAT & PLUEGER, 2004). A octopamina também está relacionada a neurohormônios, neuromoduladores e neurotransmissores (PAPAEFTHIMIOU & THEOPHILIDIS, 2011). Adicionalmente, a octopamina desempenha papel na reação luta e fuga; sendo assim, relacionada a excitação em insetos com aumento do seu nível durante estresse (LIBERSAT & PLUEGER, 2004).

Neste estudo foi utilizada octopamina e fentolamina um bloqueador seletivo para receptores octopaminérgicos (BORGES, 2018). No trabalho desenvolvido por Borges (2018), extratos de *Manilkara rufula*, espécie da Caatinga, (controle, 25, 50 e 100 µg/g de animal) também demonstraram efeito significativo na atividade de *grooming* de perna, principalmente nas maiores doses, enquanto que o *grooming* de antena não foi afetado pela presença dos extratos desta espécie; evidenciando um efeito modulatório de extratos de *M. rufula* em vias octopaminérgicas.

Quando octopamina (1µg/g de animal) foi testada nas baratas (n=30) foi verificado aumento da atividade de *grooming* de perna, com valor médio de 210±10/30 min, quando comparado ao tratamento controle; da mesma forma foi administrado octopamina (1µg/g de animal) 15 min antes da aplicação do EHCA (5µg/g de animal). Foi verificado que o EHCA reforçou o efeito obtido por octopamina no *grooming* de perna, resultando em um tempo médio de 300±10/30 min; embora esse resultado ainda tenha apresentado atividade de *grooming* menor quando comparado ao tratamento com EHCA 5µg/g de animal (Figura 12).

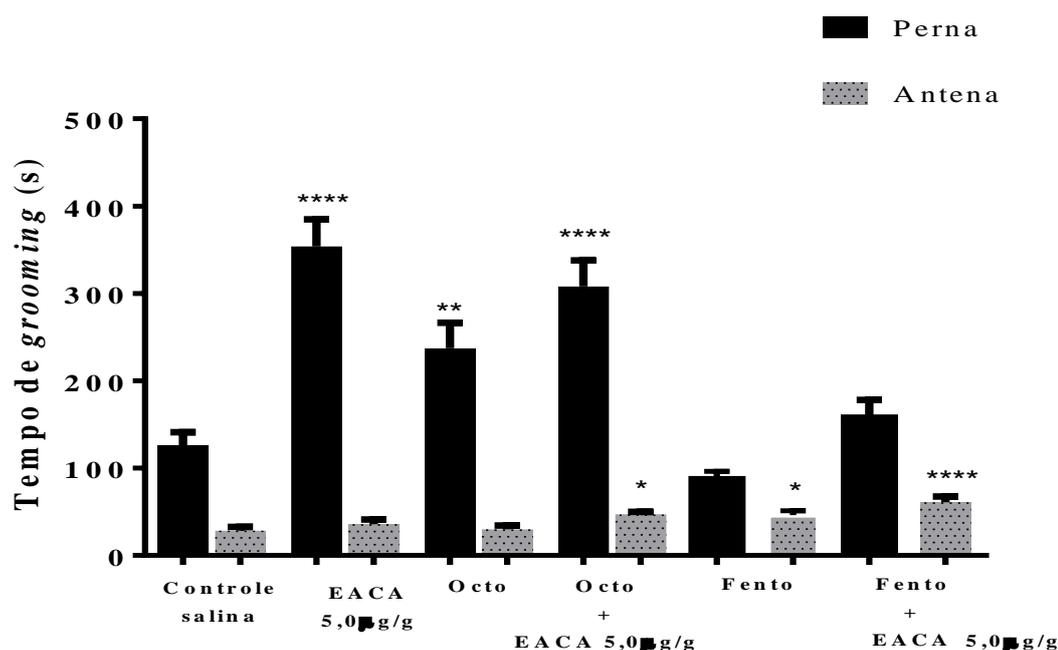


Figura 12: Atividade de *grooming* em *Nauphoeta cinerea* Olivier com ação de octopamina e fentolamina junto ao extrato de EHCA. Fonte: A autora.

A presença de octopamina na atividade de *grooming* de antena não foi diferente significativamente ao controle; entretanto, quando este fármaco foi aplicado associado ao EHCA, foi observada uma diferença estatística (Figura 12).

Teste semelhante foi realizado com o inibidor do receptor para octopamina, a fentolamina. A aplicação deste fármaco na concentração de 0,01 µg/g de animal nas baratas (n=30), induziu diminuição na atividade de *grooming* de perna, com valores médios de $80 \pm 1/30$ min. A administração de fentolamina, na mesma concentração já mencionada, 15 minutos após a aplicação do EHCA resultou em atividade de *grooming* de perna de $120 \pm 5/30$ min. Possivelmente, a presença do EHCA reverteu o potencial inibitório da fentolamina demonstrando um efeito tipo agonista octopaminérgico. (Figura 12).

Adicionalmente, os tratamento utilizando fentolamina de forma isolada ou associada ao EHCA demonstraram um aumento na atividade de *grooming* antena quando comparado ao controle (Figura 12).

Libersat (1999) enfatiza que em alguns trabalhos, o neurotransmissor dopamina está relacionado ao *grooming* de antena e octopamina ao *grooming* de perna. Por sua vez, é confirmado que o *grooming* é um comportamento que traduz atividade do sistema nervoso central (HEBERLE, 2015) e o presente estudo demonstra que o efeito induzido pelo EHCA

desencadeia atividade sobre o *grooming* de perna apresentando ação contrária quando tratado com fentolamina, reforçando assim a octopamina como neurotransmissor modulador dessa atividade e mencionado em trabalhos de Carrazoni et al. (2016).

Trabalhos de Weisel-Eichler et al. (1999), Libersat e Pflueger (2004), Carrazoni et al. (2017) e Borges (2018) testando diferentes concentrações de extratos vegetais (metanólicos e/ou aquosos), octopamina e fentolamina na atividade de *grooming* também encontraram comportamento semelhante ao presente estudo, com efeito da fentolamina induzindo diminuição da atividade de *grooming* de perna e, quando aplicado octopamina sozinha ou combinada com os extratos, foi observado aumento da atividade de *grooming* de perna; assim, verificando a atuação da fentolamina como sendo um bloqueador do receptor octopaminérgico.

4.2 Extrato hidroalcoólico na atividade no coração semi-isolado

Em ensaios do coração semi-isolado de *N. cinerea* obteve-se uma resposta tempo-dependente induzida pelas diferentes doses do EHCA (Figura 13).

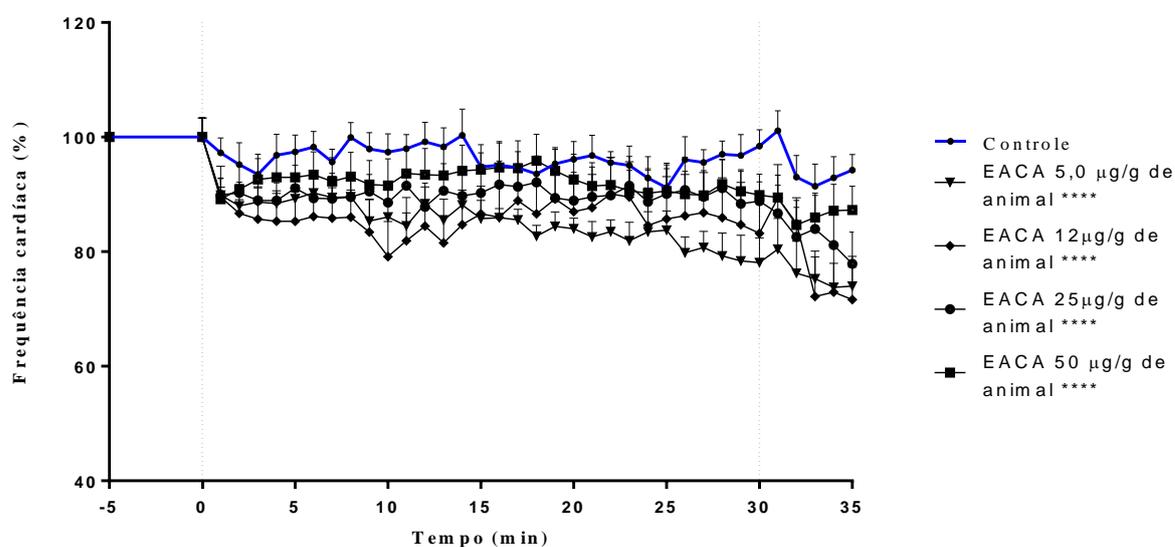


Figura 13: Resposta cronotrópica de diferentes tratamentos do extrato aquoso de capim-annoni-2 (*Eragrostis plana* Nees), sobre a frequência cardíaca de baratas *Nauphoeta cinerea* Olivier. Fonte: A autora.

Em preparações controle, a resposta cronotrópica foi de 100 ± 5 batimentos/min. As concentrações de 5,0; 12,5; 25; 50 $\mu\text{g/g}$ de animal, causaram uma diminuição na frequência cardíaca das baratas ($n=10$) cerca de 90 ± 10 batimentos/min, significativamente diferente ao

controle, porém não diferentes entre si. Adicionalmente, depois da lavagem do coração com salina, não houve recobro da frequência cardíaca nas diferentes concentrações de EHCA; sendo assim, as concentrações de EHCA com 5; 12,5; 25 e 50 $\mu\text{g/g}$ de animal, não ocasionaram efeito significativo sobre a frequência cardíaca das baratas desta espécie, não sendo demonstrado na figura 13. Entretanto, como observado para a atividade de *grooming* (Figura 12), nas mais baixas concentrações de EHCA, especialmente para a concentração de 5,0 $\mu\text{g/g}$ de animal foi observado maiores efeitos na frequência cardíaca.

Quando administrados os fármacos octopamina e a fentolamina foi observado redução na frequência cardíaca em relação ao controle, mantendo-se ambas em 95 ± 5 batimentos/min e não houve recobro da frequência cardíaca após a lavagem (Figura 14).

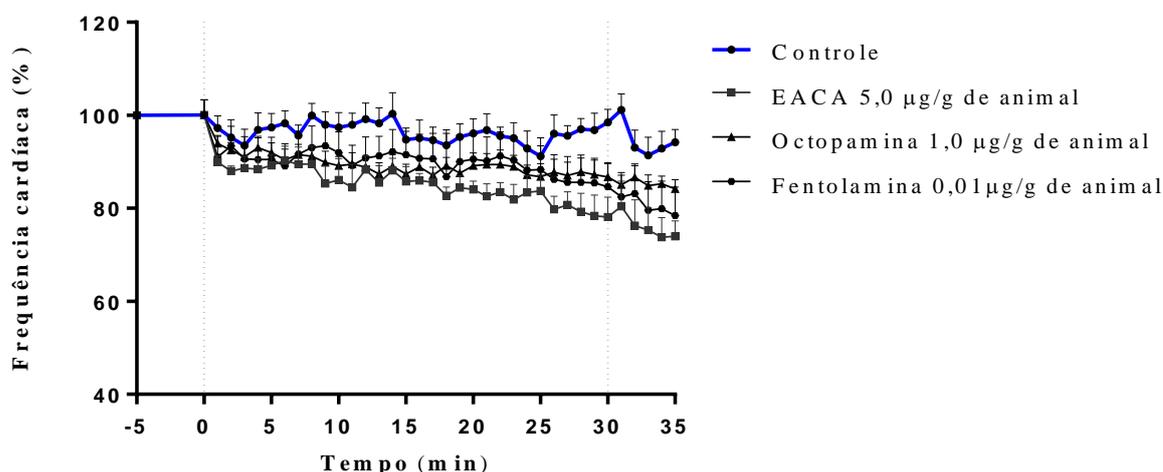


Figura 14: Resposta cronotrópica do coração semi-isolado em diferentes tratamentos (solução salina, 5,0 $\mu\text{g/g}$ do EACA, do fármaco octopamina e inibidor fentolamina). Fonte: A autora.

Em insetos o coração representa um dos principais locais de ação octopaminérgica. Papaefthimiou e Theophilidis (2011) demonstraram em seus estudos que a concentração de octopamina influencia a frequência cardíaca em insetos, podendo acelerar os batimentos cardíacos quando em altas concentrações ou diminuir em baixas concentrações. No presente estudo foram testados octopamina e fentolamina (bloqueador seletivo de receptores octopaminérgicos), de forma a se testar qual receptor está envolvido no ritmo cardíaco de *N. cinérea* e foi verificado que o efeito na frequência cardíaca induzido pelo EHCA é modulado pelas vias octopaminérgicas, devido a similaridade do EHCA com o agonista (Figura 14). Além disso, foi demonstrado que os níveis de octopamina aumentam durante o estresse,

elevando a contração cardíaca em insetos (PAPAEFTHIMIOU & THEOPHILIDIS, 2011), sendo verificado este comportamento no tratamento com EHCA, mas não sendo observado em relação ao tratamento controle (Figura 14). Estes resultados estão de acordo com Borges (2018) que também encontrou resultados semelhantes; entretanto, depois da lavagem do coração com salina, houve recobro da frequência cardíaca nas diferentes concentrações dos extratos e/ou com octopamina e fentolamina.

Machado et al. (2010) com o intuito de investigar os efeitos tóxicos do extrato etanólico de *Prasiola crispa*, uma alga da Antártica, por meio da determinação dos efeitos sobre a frequência cardíaca de baratas *Nauphoeta cinerea* e identificar possíveis mecanismos de ação do extrato vegetal observaram uma diminuição significativa na frequência cardíaca dos animais após a administração do extrato etanólico de *Prasiola crispa* (200 µg/g de animal) quando comparado ao tratamento controle salina com indicação de potencial bioinseticida do extrato de *P. crispa*. Ainda, Duarte et al. (2015) testaram a influência de diferentes compostos (dexametasona, octopamina e atropina) sobre a modulação da frequência cardíaca de *Nauphoeta cinerea* usando-se a preparação in vivo coração semi-isolado durante 30 minutos e verificaram que octopamina (5 µM) não afetou a frequência cardíaca dessa espécie.

4.3 Extrato hidroalcolico de capim-annoni-2 sobre a taxa de mortalidade de *Nauphoeta cinerea* Olivier

Depois de 72 horas de administração das diferentes concentrações de EHCA e tratamento controle, a concentração de 400 µg/g de animal apresentou 80 % da mortalidade dos indivíduos, sendo a maior taxa de mortalidade entre as doses testadas (Figura 15).

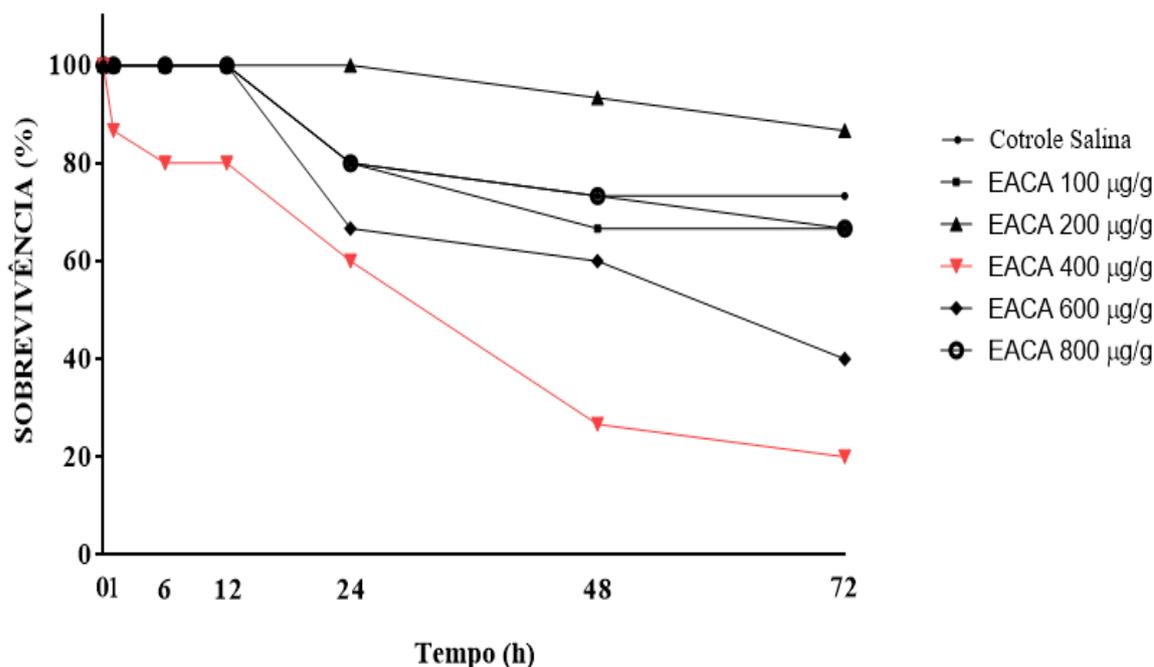


Figura 15: Taxa de sobrevivência de baratas da espécie *Nauphoeta cinérea* em diferentes tratamentos do EHCA. Fonte: A autora.

Neste estudo, foi demonstrada a atividade inseticida do EHCA com efeito letal na concentração de 400 µg/g de animal, resultando de taxa 80% de mortalidade após 72 horas da administração desta concentração de EHCA. Segundo Silva (2010), foi estimado a DL50 de extrato aquoso de amêndoas de nim em *Anastrepha fraterculus* e *Ceratitis capitata* também nesta concentração (400 µg/g de animal) sendo observado que foi necessário pouco volume de extrato para causar mortalidade em ambas as espécies. Altas concentrações de extrato para causar maior porcentagem de mortalidade o inviabiliza, uma vez que o extrato pode estar associado a efeito fagodeterrente e não tóxico. Também Herzing e Hodgson (2008) testando diferentes concentrações (1, 5, 10, 15 e 25 µg/g de animal) de veneno da aranha australiana (*Selenotholus foelschei*) em grilos (*Acheta domesticus*) por um período de 72 horas, observaram efeito de mortalidade em 60 % na dose de 10 µg/g de animal e, nos demais tratamentos, foram observados paralisia muscular e/ou letargia.

Adicionalmente, Carrazoni et al. (2017) em seu trabalho com esta espécie de barata, também relataram que diferentes doses (200, 400, 800 e 1600 µg/g de animal) do extrato metanólico de pinheiro-do-parana e de quercetina (40, 80, 160 e 320 µg/g de animal) principalmente em suas maiores doses, foram letais para *N. cinérea* após 72 h, isto confirma a

presença de quercetina nos extratos metanólicos e, possivelmente, pela presença desse flavonóide em EHCA, ocorre a modulação do extrato com potencial atividade inseticida.

A composição fitoquímica de capim-annoni-2 mostra a presença de uma série de compostos dos grupos dos compostos fenólicos, flavonóides e taninos (FIORENZA et al., 2016), sendo relatado a atividade inseticida destes metabólitos secundário e, em capim-annoni-2 já foi verificado o efeito alelopático com várias espécies cultivadas (olerícolas e agrícolas).

Os flavonóides são considerados potentes moléculas que interferem em vários sistemas biológicos e, dentre eles, a quercetina com potente ação inibitória sobre atividades enzimáticas em vertebrados (mamíferos) e invertebrados e, especialmente, em insetos (PONTUAL et al., 2012). Assim, a presença deste metabólito secundário em *E. plana*, possivelmente, com o comportamento demonstrado nos experimentos apresentados, indica possível potencial biotecnológico atuando em mecanismos de neurotoxicidade e cardiotoxicidade junto com octopamina e, irá colaborar com futuros trabalhos com esta espécie invasora além de outros grupos de invertebrados e vertebrados.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho demonstrou a potencial atividade inseticida induzida pelo extrato aquoso de capim-annoni-2 usando como modelo experimental baratas da espécie *Nauphoeta cinerea*.

O presente trabalho contribui para novas informações de capim-annoni-2 como um provável inseticida natural devido seus efeito entomotóxicos.

A alteração no comportamento dos insetos é alterada por vias octopaminérgicas no sistema nervoso dos insetos.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARBOSA, F. G.; PILLAR, V. D.; PALMER, A. R.; MELO, A. S. Predicting the current distribution and potential spread of the exotic grass *Eragrostis plana* Nees in South America and identifying a bioclimatic niche shift during invasion. **Austral Ecology**, v. 38, p. 260–267, 2013.

BEHLING, E.B., SENDÃO, M.C., FRANCESCATO, H.D.C., ANTUNES, L.M.G., BIANCHI, M.L.P., flavonoide quercetina: aspectos gerias e ações biológicas. *Alimentos & Nutrição*, v. 15, n. 3, p. 285-292, 2004.

BORGES, B.T. **Neurotoxicidade central e periférica induzida por extratos e frações de *Manilkara rufula* em baratas da espécie *Nauphoeta cinerea***. 2018. 68 f. Dissertação de Mestrado (Ciências Biológicas), Universidade Federal do Pampa, São Gabriel, 2018.

CARMO, F. M. S.; BORGES, E. E. L.; TAKAKI, M. Allelopathy of Brazilian sassafras (*Ocotea odorifera* (Vell.)) Rohwer aqueous extracts. **Acta Botanica Brasilica**, v. 21, n. 1, p. 697-705, 2007.

CARRAZONI, T.; HEBERLE, M.A. de; PERIN, A.P.M.; ZANATTA, A.P.; RODRIGUES, P.V.; SANTOS, F.D. dos; ALMEIRA, C.G. de; VAZ, B.R.; SANTOS, D.S. dos; PINTO, M.P.; COSTA, J.C. da; CARLINI, C.R.; DAL BELO, C.A. Central and peripheral neurotoxicity induced by the Jack Bean Urease (JBU) in *Nauphoeta cinerea* cockroaches. **Toxicology**, v. 368-369, p. 162-171, 2016.

CARRAZONI, T.; VIEIRA, P. de B.; SILVA, P. G. da; HEBERLE, M. de A.; STURMER, G. D.; CORREA, M. S.; PEREIRA, A. B.; MOURA, S.; MENDEZ, A. S.; BELO, C. A. D. Mechanism of the entomotoxic activity induced by *Araucaria angustifolia* methanolic extract in *Nauphoeta Cinerea* Lobster Cockroaches. **Journal of Botany Research**, v. 1, n. 1, p. 38-49, 2017.

COUTINHO, I. D.; KATAOKA, V. M. F.; HONDA, N. K.; COELHO, R. G.; VIEIRA, M.C.; CARDOSO, C. A. L. Influência da variação sazonal nos teores de flavonóides e atividade antioxidante das folhas de *Campomanesia adamantium* (Cambess.) O. Berg, Myrtaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20 n.3, p.322-327, 2009.

DUARTE, F.; DAL BELO, C. A.; RODRIGUES, P. V.; VINADÉ, L. do C.; SANTOS, D. S. **Avaliação da influência de neuromoduladores sobre a frequência cardíaca de baratas da espécie *Nauphoeta cinerea***. In. 15º Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão, 15., 2015, Bagé. Anais...Bagé: Unipampa, 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.

FIORINZA, M.; DOTTO, D. B.; BOLIGON, A. A.; BOLIGON, A. A.; ATHAYDE, M. L.; VESTENA, S. Análise fitoquímica e atividade alelopática de extratos de *Eragrostis plana* Nees (capim-annoni). **Iheringia** (Série Botânica), v. 71, n. 2, p. 193-200, 2016.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BAPTISTA, G. C. **Entomologia agrícola**. Fundacao de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, 2002.

GOBBO-NETO L.; LOPES N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, p. 374-381, 2007.

HEBERLE, M de A. **Avaliação da atividade induzida pela Jack bean uréase (JBU) sobre o sistema nervoso de baratas da espécie *Nauphoeta cinerea***, 2015. Dissertação de Mestrado (Ciências Biológicas), Universidade Federal do Pampa, São Gabriel, 2018.

HERZIG, V.; HODGSON, W. C. Neurotoxic and insecticidal properties of venom from the australian theraphosid spider *Selenotholus foelschei*. **NeuroToxicology**, v. 29, p. 471-475, 2008.

JUNG, P. H.; SILVEIRA, A. C. da; NIERI, E. M.; POTRICH, M.; SILVA, E. R. L. da; REFATTI, M. Atividade inseticida de *Eugenia uniflora* L. e *Melia azedarach* L. sobre *Atta laevigata* Smith. *Floresta e Ambiente*, v. 20, n. 2, p. 191-196, 2013.

LIBERSAT F., WEISEL-EICHLERA., HASPEL G. Venom of a parasitoid wasp induces prolonged grooming in the cockroach. **The Journal of Experimental Biology**. v. 202, p. 957-964, 1999.

LIBERSAT, F.; PFLUEGER, H. J. Monoamines and the Orchestration of Behavior. **Journal Bioscience**, v. 54, p. 17-25, 2004.

MACHADO, P. B.; LACHMANN, M. da S.; PAIM, R. A.; PEREIRA, B. K.; PEREIRA, A. B.; DAL BELO, C. A.; POSSER, T.; FRANCO, J. L. **Estudo do potencial biocida do extrato de uma alga da Antártica (*Prasiola crispa*) em modelo de baratas da espécie *Nauphoeta cinerea***. In 2º Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e extensão, 2., 2010, Bagé. Anais...Bagé: Unipampa, 2010.

MEDEIROS, R. B.; PILLAR, V. P.; REIS, J. C. L. Expansão de *Eragrostis plana* Nees (capim-annoni-2) no Rio Grande do Sul. In: Reunión Del Grupo Técnico Regional Del Cono Sur En Mejoramiento y Utilización de Los Recursos Forrajeros Del Área Tropical y Subtropical – Grupo Campos, 20., 2004, Salto, Uruguai. Memorias... Salto: UDELAR–Regional Norte; INIA, p. 211-21, 2004.

MEDEIROS, R.B.; FOCHT, T. Invasão, prevenção, controle e utilização do capim-annoni-2 (*Eragrostis plana* Ness) no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, v. 13, n. 1-2, p.105-114, 2007

OSBORNE, R.H. Insect neurotransmission: neurotransmitters and their receptors. **Pharmacology and Therapeutics**, v. 69, n. 2, p. 117-142, 1996.

PAPAEFTHIMIOU, C.; THEOPHILIDIS, G. Octopamine-a single modulator with double action on the heart of two insect species (*Apis mellifera macedonica* and *Bactrocera oleae*): Acceleration vs. inhibition. **Journal of Insect Physiology**, v. 57, n. 2, p. 316-25, 2011.

PEREIRA, B.F.; SBRISSIA, A.F.; SERRAT, B.M. Alelopatia intra-específica de extratos aquosos de folhas e raízes de alfafa na germinação e no crescimento inicial de plântulas de dois materiais de alfafa: crioulo e melhorado. **Ciência Rural**, v. 38, n.2, p. 561-564, 2008.

PONTUAL, E. V.; NAPOLEÃO, T. H.; ASSIS, D. C. R. Effect of *Moringa oleifera* flower extract on larval trypsin and acetylcholinesterase activities in *Aedes aegypti*. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v. 79, p. 135-152, 2012.

RICE, E. L. **Allelopathy**. London: AcademicPress, 1984, p 422.

RODRIGUES, V.; MORI, M. B.; DORR, F.A.; BELO, C.A.D.; COLEPICOLO, P.; PINTO, E. Effects of a cyanobacterial extract containing-anatoxin-a(s) um the cardiac rhythm of *Leurolestes circumvagans*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 22, n. 4, p. 775-781, 2012.

SANTOS, D. S.; CARVALHO, E. L.; LIMA, J. C.; BREDAS, R. V.; OLIVEIRA, R. S.; FREITAS, T. C.; SALAMONI, S. D.; DOMINGUES, M. F.; PIOVESAN, A. R.; BOLDO, J. T.; ASSIS, D. R.; COSTA, J. C.; DAL BELO, C. A.; PINTO, P. M. *Bothriurus bonariensis* scorpion venom activates voltage-dependent sodium channels in insect and mammalian nervous systems. **Chem Biol Interact**, v. 258, p. 1-9, 2016.

SILVA, M.A. **Efeito de derivados do nim compondo uma isca e como regulador de crescimento de moscas-das-frutas**, 2010. Dissertação De mestrado, apresentado para a escola superior de agricultura “Luiz de Quieroz”. Universidade de São Paulo.

SILVA, P.C; RABAIOLI, V. Prospecção de diferentes espécies de plantas com ação de bioinseticidas na agricultura de Mato Grosso do Sul. **Ensaio de Ciências, Ciências Biológicas-Agrárias e Saúde**, v. 20, n. 3, p. 188-195, 2016.

SIMÕES, C. M. O. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. UFRGS; Florianópolis: UFSC, 2001.

SPRUIJT, B.M., HOL, T., ROUSSEAU, J. Approach, avoidance, and contact behavior of individually recognized animals automatically quantified with an imaging technique. **Physiology & Behavior**, v. 51, p. 747-752, 1992.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia do desenvolvimento vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

VOLKER, H.; HODGSON, W.C. Neurotoxic and insecticidal properties of venom from the *Australian theraphosid* spider *Selenotholus foelschei*. **NeuroToxicology**, v. 29, p. 471-475, 2008.

WAKSMUNDZKA-HAJNOS, M.; SHERMA, J.; KOWALSKA, T. **Thin layer chromatography in phytochemistry**. CRC Press, 2008.

WEISEL-EICHLER, A.; HASPEL, G.; LIBERSAT, F. (1999) Venom of a parasitoid wasp induces prolonged grooming in the cockroach. **Journal Experimental Biology**, v. 202, p. 957-964, 1999.

ZENKER, S. G. **Avaliação do potencial toxicológico da QUERCETINA EM teleóginas de *Rhipicephalus (Boophilus) Microplus***. 2015. 35 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Biotecnologia), Universidade Federal do Pampa, São Gabriel, 2015.