

PREPARAÇÕES DE CLADÓDIOS DE *Opuntia ficus-indica* MILL. (CACTACEAE): EFEITO
SOBRE PARÂMETROS BIOLÓGICOS, FISIOLÓGICOS E REPRODUTIVOS DE *Spodoptera*
frugiperda (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

por

FRANCIELI MARCELINO DOS SANTOS

(Sob Orientação do Professor Reginaldo Barros - UFRPE)

RESUMO

A lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) é uma praga cosmopolita, que apesar de apresentar preferência por plantas da família Poaceae, também provoca injúrias em diversas outras culturas. O controle populacional utilizando inseticidas sintéticos é ainda o método mais empregado, contudo, cada vez mais estudos com produtos naturais vêm sendo realizados. Nesse sentido, esta pesquisa teve como objetivos: 1. Avaliar a composição química do extrato de cladódios de *Opuntia ficus-indica*; 2. Avaliar o efeito do extrato de cladódios e do cloreto de sódio (NaCl) sobre parâmetros biológicos e reprodutivos de *S. frugiperda*; 3. Determinar se a lectina de cladódios (*OfiL*) é princípio ativo do extrato; 4. Investigar o efeito do extrato de cladódios e de *OfiL* sobre a atividade de enzimas presentes no intestino de larvas de *S. frugiperda*. Adicionalmente, também foi avaliado o efeito do extrato de cladódios na histologia e histoquímica do intestino médio das lagartas. Com base nos resultados foi possível perceber que o NaCl quando atuando sozinho ou adicionado ao extrato de cladódios alterou significativamente o desenvolvimento de *S. frugiperda*, afetando algumas vezes em seus parâmetros reprodutivos. O extrato de cladódios mostrou ainda ser um promissor agente fagoestimulante alimentar ao longo do tempo de exposição de 48 h. O extrato de cladódios também interferiu na histologia do tecido

epitelial, nos teores de polissacarídeos neutros e proteínas dos intestinos médio de *S. frugiperda*. Quando os experimentos foram conduzidos com *OfiL*, não foi possível apontar a sua participação como princípio ativo na atividade inseticida do extrato. Esse trabalho contribui, portanto com o painel de compostos inseticidas naturais por apresentar um novo bioproduto com efeito tóxico sobre uma importante praga agrícola. Experimentos futuros são necessários para mostrar o efeito do extrato em condições de campo e indicar seu(s) princípio(s) ativo(s).

PALAVRAS-CHAVE: Lagarta-do-cartucho, produtos naturais, desenvolvimento, enzimas digestivas, histologia.

PREPARATIONS OF CLADODES FROM *Opuntia ficus-indica* MILL. (CACTACEAE):
EFFECT ON BIOLOGICAL, PHYSIOLOGICAL AND REPRODUCTIVE PARAMETERS OF
Spodoptera frugiperda (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

by

FRANCIELI MARCELINO DOS SANTOS

(Under the Direction of Professor Reginaldo Barros - UFRPE)

ABSTRACT

The fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) is a cosmopolitan pest, which despite having a preference for plants of the family Poaceae, also causes harms in several other cultures. Population control using synthetic insecticides is still the most used method, however, more and more studies with natural products have been made. Considering that fact, this research had the following aims: 1. To evaluate the chemical composition of the cladodes extract of *Opuntia ficus-indica*; 2. To evaluate the effect of cladodes extract and sodium chloride (NaCl) on biological and reproductive parameters of *S. frugiperda*; 3. To determine whether cladodes lectin (*OfiL*) is the active ingredient of the extract; 4. To investigate the effect of cladodes extract and *OfiL* on the activity of enzymes present in the intestine of *S. frugiperda* larvae. In addition, the effect of cladode extract on the histology and histochemistry of the midgut of larvae was also evaluated. Based on the results, it was possible to observe that NaCl when acting alone or added to the cladodes extract altered significantly the development of *S. frugiperda*, sometimes affecting its reproductive parameters. The cladodes extract showed to be a promising food phagostimulatory agent over the exposure time of 48 h. The cladodes extract also interfered in the histology of the epithelial tissue, in the neutral polysaccharide and proteins of midgut of *S. frugiperda*. When the experiments were conducted with *OfiL*, it was not possible to indicate its participation as an active principle in the

insecticidal activity of the extract. This work contributes, therefore, to the panel of natural insecticides compounds for presenting a new bio-product with toxic effect on an important agricultural pest. Future experiments are needed to show the effect of the extract under field conditions and indicate its active(s) principle(s).

KEY WORDS: Fall armyworm, natural products, development, digestive enzymes, histology.

PREPARAÇÕES DE CLADÓDIOS DE *Opuntia ficus-indica* MILL. (CACTACEAE): EFEITO
SOBRE PARÂMETROS BIOLÓGICOS, FISIOLÓGICOS E REPRODUTIVOS DE *Spodoptera*
frugiperda (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

por

FRANCIELI MARCELINO DOS SANTOS

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, da Universidade
Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Doutor em
Entomologia Agrícola.

RECIFE - PE

Fevereiro – 2018

PREPARAÇÕES DE CLADÓDIOS DE *Opuntia ficus-indica* MILL. (CACTACEAE): EFEITO
SOBRE PARÂMETROS BIOLÓGICOS, FISIOLÓGICOS E REPRODUTIVOS DE *Spodoptera*
frugiperda (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

por

FRANCIELI MARCELINO DOS SANTOS

Comitê de Orientação:

Reginaldo Barros – UFRPE

Emmanuel Viana Pontual – UFRPE

PREPARAÇÕES DE CLADÓDIOS DE *Opuntia ficus-indica* MILL. (CACTACEAE): EFEITO
SOBRE PARÂMETROS BIOLÓGICOS, FISIOLÓGICOS E REPRODUTIVOS DE *Spodoptera*
frugiperda (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

por

FRANCIELI MARCELINO DOS SANTOS

Orientador: _____
Reginaldo Barros – UFRPE

Examinadores: _____
Emmanuel Viana Pontual – UFRPE

Edmilson Jacinto Marques – UFRPE

Thiago Henrique Napoleão – UFPE

Glaucilane dos Santos Cruz – PNP/DCAPES

Aos meus pais, Francisco Marcelino dos Santos e Francisca Luzinete de Sousa Santos; e as minhas irmãs Mayara Marcelino de Sousa e Juliana Marcelino de Sousa, pelo apoio, incentivo e por diversas vezes terem acreditado em mim quando eu mesma desacreditava.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por me dar força, coragem, fé e determinação para concluir mais uma etapa na minha vida.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), pela oportunidade de realização deste curso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de estudo.

Aos meus pais Francisco Marcelino dos Santos e Francisca Luzinete de Sousa Santos pelo amor e incentivo para que eu sempre me dedicasse aos estudos.

Às minhas irmãs Mayara Marcelino de Sousa e Juliana Marcelino de Sousa por estarem sempre ao meu lado.

Ao meu companheiro Edigilson Albuquerque, por todo amor e compreensão nos momentos que eu tive que me fazer ausente, obrigada por existir.

Ao meu orientador Reginaldo Barros, pela aprendizagem e conhecimento transmitidos.

Ao meu co-orientador Emmanuel Viana Pontual, por toda ajuda, orientação, amizade, palavras de conforto e incentivo e por acreditar que eu era capaz de muito mais do que eu imaginava.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Entomologia Agrícola da UFRPE, que direta ou indiretamente contribuíram para minha formação.

Ao Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA) por disponibilizar as plantas de Palma-forrageira para que esse trabalho pudesse ser realizado.

Ao professor Thiago Henrique Napoleão, por disponibilizar o laboratório e pela orientação quando solicitada.

À professora Valéria Teixeira, a Glaucilane dos Santos Cruz, Hilton Nobre da Costa, Cristiane Thalita dos Santos Silva e a Kamila Dutra por disponibilizar o laboratório e ajuda concedida.

Às minhas amigas Wigna Narjara Rodrigues Felício, Wannubya Caroline de Almeida Nobre Ramalho, Mariana Lima, Mauricéa Fidelis, Amanda Carlos Túler, Priscila Stinguel, Luziani Rezende Bestete e Cynara Moura, pela amizade e apoio nos momentos de tristeza.

Aos amigos dos Laboratórios da Rural e da Federal, Elaine Cristina Ferreira, Isabella Coimbra, Welton Aaron de Almeida, Deividy de Nascimento e Thamara Vasconcelos pelo carinho, atenção e ajuda nos experimentos.

Aos colegas de turma pelo companheirismo e momentos alegres que me proporcionaram.

Aos meus familiares que sempre me apoiaram e me incentivaram.

Enfim, a todas as pessoas que de alguma forma contribuíram no desenvolvimento deste estudo me apoiando e confiando em sua conclusão.

SUMÁRIO

	Página
AGRADECIMENTOS	ix
CAPÍTULOS	
1 INTRODUÇÃO	1
Descrição e aspectos biológicos de <i>Spodoptera frugiperda</i> (J. E. Smith)	1
Plantas produtoras de compostos inseticidas	3
Lectinas	7
Enzimas digestivas de insetos: alvos promissores de agentes inseticidas.....	8
Palma forrageira (<i>Opuntia ficus-indica</i> Mill).....	10
LITERATURA CITADA.....	12
2 EFEITO DO EXTRATO DE CLADÓDIOS DE <i>Opuntia ficus-indica</i> MILL. (CACTACEAE) E DO CLORETO DE SÓDIO (NaCl) NO DESENVOLVIMENTO DE <i>Spodoptera frugiperda</i> (J.E.SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE).....	21
RESUMO	22
ABSTRACT	23
INTRODUÇÃO	24
MATERIAL E MÉTODOS	25
RESULTADOS.....	30
DISCUSSÃO.....	38
AGRADECIMENTOS.....	41
LITERATURA CITADA.....	42

3	EFEITOS DELETÉRIOS DO EXTRATO E DA LECTINA DE CLADÓDIOS DE <i>Opuntia ficus-indica</i> MILL. (CACTACEAE) SOBRE <i>Spodoptera frugiperda</i> (J.E.SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE).....	58
	RESUMO	59
	ABSTRACT	60
	INTRODUÇÃO	61
	MATERIAL E MÉTODOS	63
	RESULTADOS.....	69
	DISCUSSÃO.....	71
	AGRADECIMENTOS.....	78
	LITERATURA CITADA.....	79
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	95

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

Descrição e aspectos biológicos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith)

Spodoptera frugiperda, conhecida popularmente como lagarta-do-cartucho, lagarta militar ou lagarta-dos-milharais, é um lepidóptero pertencente à família Noctuidae e amplamente distribuído nas Américas e em algumas ilhas a oeste da Índia. No Brasil, essa praga encontra-se em todas as regiões, devido à grande oferta de hospedeiros ao longo do ano, o que tem favorecido a movimentação dessa espécie entre os cultivos (Miranda & Suassuna 2004, Barros *et al.* 2010, Silva *et al.* 2017).

Os adultos de *S. frugiperda* medem aproximadamente 35 mm de envergadura de asas e 15 mm de comprimento do corpo. As asas posteriores são de coloração clara, circundada por linhas marrons; nos machos as asas anteriores possuem manchas mais claras, diferenciando-os das fêmeas (Cruz *et al.* 1999). De acordo com Cruz (1995), a longevidade dos adultos varia com a temperatura e disponibilidade de alimento. Essa praga tem hábito noturno, permanecendo em repouso durante o dia.

As fêmeas ovipositam preferencialmente na face abaxial das folhas. Após a oviposição, os ovos possuem coloração verde-clara e quando próximo à eclosão tornam-se escurecidos. Os ovos são colocados geralmente em duas ou mais camadas sobrepostas e em massa, cobertos por uma camada de “escamas”, as quais se desprendem do abdome das fêmeas por ocasião da postura. O número de posturas colocadas por fêmea varia, tendo sido descritas até 13 posturas por mariposa. Cada fêmea pode depositar entre 100 a 200 ovos por postura. O período de incubação varia com a temperatura, sendo em média de 2 a 4 dias (Bianco 1991, Cruz 1995, Gallo *et al.* 2002).

As lagartas de *S. frugiperda* se apresentam em cinco instares, podendo atingir até 25 mm de comprimento, com duração de 12 a 30 dias, dependendo da temperatura e disponibilidade de alimento. As larvas de primeiro instar possuem uma coloração esbranquiçada, a qual muda até atingir o último instar larval, quando apresentam coloração pardo-escuro a quase preta, com estrias longitudinais e pontuações negras no corpo; a cabeça é preta com uma linha clara em forma de “y” invertido (Bianco 1991, Cruz 1995).

As lagartas neonatas alimentam-se do cório e logo após esse primeiro alimento, elas permanecem em repouso durante 2 a 10 horas, antes de sair em busca de outras fontes de alimento. Após completar o desenvolvimento, normalmente as lagartas dirigem-se ao solo e passam por um período de pré-pupa, fase essa que pode durar de um a cinco dias, após os quais as lagartas penetram no solo, onde se transformam em pupas. Estas últimas possuem coloração verde-clara, tornando-se marrom avermelhas próximo à emergência dos adultos. Estes, por sua vez, possuem uma duração média de 8 a 25 dias (Cruz 1995, Gallo *et al.* 2002).

O ciclo biológico dessa praga é de aproximadamente 30 dias dependendo das condições de umidade relativa, luminosidade e temperatura, sendo esta última a de maior influência (Gallo *et al.* 2002, Sarmiento *et al.* 2002). Ferraz (1982) concluiu que a temperatura de 25°C é a mais favorável para o desenvolvimento de *S. frugiperda*, possibilitando a essa espécie a produção de várias gerações durante o ano.

Um dos fatores que contribuem para o estabelecimento de *S. frugiperda* é a gama de hospedeiros que possibilita a disponibilidade contínua de alimentos. Apesar de apresentar preferência por plantas da família Poaceae, seu hábito alimentar polífago provoca injúrias em outras culturas. Ao todo, são mais de 80 espécies de plantas distribuídas em mais de 20 famílias botânicas, tais como: abóbora (*Cucurbita pepo* L.), algodão (*Gossypium hirsutum* L.), amendoim (*Arachis hypogaea* L.), arroz (*Oryza sativa* L.), cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.), feijão

(*Phaseolus vulgaris* L.), sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) e soja (*Glycine max* L.) (Capinera 2008, Sá *et al.* 2009a, Barros *et al.* 2010). Segundo Fernandes (2012), os danos variam de acordo com o estágio fenológico da planta, espécie, época do ataque e intensidade de infestação.

O uso de produtos sintéticos ainda é o método mais utilizado no controle desta praga. Os inseticidas Ciflutrina, Cipermetrina 200 CE, Esfenvalerato 250 CE, Fenitrotiom 500 CE, Fenvalerato 200CE, Lambdacialotrina 50 CE, Malathion metil 600 CE, Permetrina 384 CE e Triclorfon 500 CE têm sido os mais empregados (Cruz 2016). Esses inseticidas nem sempre são eficientes, além de acarretarem diversos problemas, incluindo a intoxicação dos produtores e consumidores em decorrência de seu uso indiscriminado. Ainda, causam à contaminação do ambiente, a redução das populações de inimigos naturais, a seleção de populações resistentes a inseticidas e o alto custo de produção das culturas (Sarmiento *et al.* 2002). No Brasil os gastos com inseticidas na cultura do milho chegam a US\$ 60 milhões anualmente, sendo 40% deste valor destinado ao controle de *S. frugiperda* (Rosa & Martins 2011).

Assim, o desenvolvimento de alternativas eficientes e de baixo impacto ambiental é fundamental para o controle dessa praga (Basedow 2002). Entre essas alternativas, o controle biológico com predadores, parasitoides e entomopatógenos, bem como a eficiência de reguladores de crescimento ou inseticidas biológicos e botânicos, têm sido avaliados (Roel 2001, Parra 2006, Desneux & Delpuech 2007, Batista Neto *et al.* 2011, Bullangpoti *et al.* 2012).

Plantas produtoras de compostos inseticidas

As plantas e os insetos há milhares de anos vêm co-evoluindo, e durante todo esse processo conseguiram se estabelecer aqueles insetos que apresentavam estratégias para se alimentarem das plantas. Por outro lado, estas últimas também foram selecionadas quando desenvolveram maneiras

de reduzir ou até mesmo impedir o ataque dos herbívoros (Panizzi & Parra 2009). Esses mecanismos de defesa das plantas se manifestam através de barreiras físicas ou químicas.

Segundo Raven *et al.* (2014) as plantas sintetizam metabólitos que constituem barreiras químicas, os quais se dividem em primários e secundários. Os metabólitos primários são presentes em todas as células como moléculas essenciais à vida, tais como os aminoácidos, os carboidratos, os ácidos nucleicos, os lipídeos e as proteínas. Diferentemente, os metabólitos secundários não possuem envolvimento direto nos processos de crescimento, desenvolvimento e reprodução dos organismos, sendo produzidos em resposta a condições ambientais, incluindo alta salinidade e condições adversas de temperatura e umidade, ou em resposta ao ataque de insetos ou microorganismos (Herbert 1989, Menezes 2005). Nesse contexto, os metabólitos secundários são responsáveis pela defesa e proteção das plantas diante de microorganismos patogênicos, predadores e herbívoros, devido à restrição à palatabilidade, além de estarem envolvidos em alelopatia ou exercerem papel importante no ciclo do vegetal, atraindo polinizadores e dispersores (Raven *et al.* 2014, Biermann 2009).

Tanto os metabólitos primários quanto os secundários podem ser potenciais agentes inseticidas, apresentando vantagens quando comparados aos inseticidas sintéticos, pois são renováveis, biodegradáveis, não persistem no ambiente, minimizando a seleção de populações de insetos resistentes (Roel & Vandramim 2006, Oliveira *et al.* 2007). Os inseticidas botânicos podem ser extraídos de sementes, folhas, caules e raízes das plantas, podendo ser alcaloides, amins, glicosídeos cianogênicos, glicosinolatos, monoterpênicos, lactonas, sesquiterpênicos, diterpenóides, saponinas, limonóides, cucurbitacinas, fenóis e flavonoides, ou mesmo proteínas (Saito & Lucchini 1998, Lacher 2000, Adeyemi 2010). Dentre as proteínas, estão incluídas enzimas, as lectinas e os inibidores de enzimas digestivas.

Em geral, a presença de metabólitos secundários na dieta pode causar a rejeição pelos insetos ou inibir o processo da digestão, reduzir a motilidade intestinal, interferir na síntese do hormônio ecdisona, inibir a biossíntese da quitina, ou causar deformações em pupas e adultos. Adicionalmente, redução na fecundidade e longevidade, esterilização, inibição da oviposição e mortalidade de formas imaturas e adultas são também efeitos que tem sido descritos (Schmutterer 1990, Menezes 2005, Adeyemi 2010).

Segundo Vendramim (1997) as plantas inseticidas podem ser utilizadas de diversas formas, sendo a mais comum o emprego na forma de óleos, extratos (não aquosos e aquosos) ou pó seco. De acordo com o autor, esses últimos são as melhores opções, já que são de fácil obtenção e aplicação.

Diversos estudos têm evidenciado o efeito de extratos botânicos sobre parâmetros biológicos e comportamentais de *S. frugiperda*. Hernández & Vendramim (1996) analisando diferentes concentrações de extratos de caules de *Cabralea canjerana* (Vell.), *Trichilia pallida* (Swartz), de sementes de *Cedrella fissilis* (Vell.) e de folhas e caules de *Mellia azedarach* (L.), observaram que houve 100% de mortalidade das larvas de *S. frugiperda*, quando estas foram alimentadas com dietas artificiais misturadas aos extratos.

Hernández & Vendramim (1997) também observaram que quando as lagartas de *S. frugiperda* foram criadas em dieta artificial com extrato de sementes de *Azadirachta indica* (A. Juss), popularmente conhecida como neem, a 5% (g/mL), houve mortalidade de 100% no início do seu desenvolvimento. Bogorni & Vendramim (2003) constataram 100% de mortalidade de *S. frugiperda* quando estas foram alimentadas com folhas de milho imersas em extrato aquoso de sementes de *A. indica* a 5% (g/mL) no 5º dia após a instalação do bioensaio. Haas *et al.* (2012) também verificaram mortalidade de 100% das lagartas de *S. frugiperda* quando estas foram criadas em dieta artificial contendo 10% (g/mL) de extrato de *M. azedarach*.

Vendramim & Scampini (1997) observaram também a diminuição no peso de pupas quando essas foram criadas em dieta artificial com extrato de sementes de *A. indica*. Autores relatam que o menor peso das pupas pode ser consequência da rejeição da dieta pelos insetos ou da menor eficiência de conversão do alimento ingerido pelas lagartas (Rodriguez & Vendramim 1997, Martinez & Van Emden 2001). O extrato aquoso da oiticica, *Licania rigida* (Benth) a 10% inserido na dieta artificial de *S. frugiperda*, causou deformações nas fases de pupa, incluindo a interrupção da ecdise, e apresamento da exúvia na parte posterior do abdômen nos últimos estágios larvais (Santiago 2005).

Oliveira *et al.* (2007) avaliaram a utilização do extrato aquoso de folhas e ramos de *A. indica*, *M. azedarach*, *Quassia amara* (L.) e *T. pallida*, no controle de *S. frugiperda* em milho em condições de campo. Foram realizadas avaliações aos três, sete e dez dias após a pulverização dos extratos; os autores concluíram que os produtos começaram a afetar o desenvolvimento da lagarta, em geral, após sete dias da aplicação dos extratos.

Santiago *et al.* (2008) avaliaram a atividade inseticida de extratos aquosos de folhas de *Lippia sidoides* (Cham.), folhas e ramos de *Ruta graveolenses* (L.), *Mormodica charantia* (L.) e frutos verdes de *Ricinus communis* (L.) na concentração de 10%. Os autores observaram que os extratos de *R. graveolens* e *M. charantia* inibiram totalmente a postura e reduziram a longevidade de *S. frugiperda*, respectivamente. Eles também verificaram que o tratamento contendo extrato aquoso de frutos verdes de *R. communis* provocou atraso no desenvolvimento por causar significativo alongamento na duração das fases larval e pupal, além de reduzir a viabilidade das lagartas e exercer efeito deterrente alimentar.

Tavares (2015) reportou que o extrato de folhas de *Terminalia catappa* (L.) a 1% foi tóxico para *S. frugiperda* até o terceiro dia de exposição, por reduzir a largura da cápsula cefálica e o peso

e comprimento do corpo das lagartas sobreviventes, mostrando que o extrato dessa planta possui um grande potencial para ser utilizado no controle dessa praga.

Lectinas

Segundo Kennedy *et al.* (1995), o primeiro relato de lectinas ocorreu em 1888, quando Stillmark, ao estudar a toxicidade de extratos de *R. communis* observou sua capacidade para aglutinar eritrócitos, o que estava relacionado à presença de uma proteína, a ricina. Essa descoberta despertou o interesse nas possíveis aplicações destas proteínas, as quais foram, inicialmente, denominadas de fitohemaglutininas (Gabor *et al.* 2004). Boyd & Shapleigh (1954) ao demonstrarem a presença nos mais diversos grupos de organismos vegetais e animais, passaram a denominá-las de lectinas.

As lectinas são conhecidas como proteínas de origem não imunológica que interagem com carboidratos através de dois ou mais sítios de ligação, aglutinando células e precipitando polissacarídeos, glicoproteínas ou glicolípídeos, sem ocasionar modificações em suas estruturas (Sá *et al.* 2008, Napoleão *et al.* 2012). O termo lectina é derivado do latim *lectus* (escolher/selecionar) e reflete a especificidade com que ocorre a ligação reversível entre uma lectina e o seu carboidrato (Sharon & Lis 2002).

As lectinas apresentam ampla distribuição na natureza. Elas podem ser encontradas em vírus, bactérias, protozoários, algas, fungos, peixes, líquens, invertebrados e vertebrados, incluindo os mamíferos (Cavada *et al.* 1998, Singh *et al.* 1999, Sato *et al.* 2000, Kawagishi *et al.* 2001, Ewart *et al.* 2001, Kilpatrick 2002, Silva *et al.* 2009, Wang *et al.* 2009). Além destas, as lectinas também podem ser isoladas de diversas partes das plantas, como das sementes (Santos *et al.* 2009), entrecascas (Nascimento *et al.* 2008), rizomas (Lin *et al.* 2008), cerne (Sá *et al.* 2009b), raízes (Wang & Ng 2006), folhas (Ghosh 2008), flores (Ito 1986) e frutos (Thakur *et al.* 2007).

Essas proteínas presentes nas plantas parecem ter relação com os estádios de maturação e germinação das sementes e com os mecanismos de defesa da planta atuando como proteínas de reserva ou contra o ataque de vírus, fungos e insetos (Van Damme *et al.* 1997, Ratanapo *et al.* 2001, Sacchetti *et al.* 2001). De acordo com Vandenborre *et al.* (2011), a maioria das lectinas de plantas são sintetizada como precursores inativos que se tornam ativas somente após o sequestro em organelas especializadas.

As lectinas têm sido descritas como agentes antibacteriano, antifúngico, antitumoral e inseticida (Paiva *et al.* 2011). Nesse último caso vem sendo avaliadas como agente para controle de insetos de diferentes ordens incluindo Coleoptera, Diptera, Hemiptera, Isoptera e Lepidoptera. Estudos têm demonstrado que essas proteínas interferem na alimentação, desenvolvimento, reprodução e sobrevivência de insetos em diferentes estágios de vida (Sá *et al.* 2008, Sá *et al.* 2009b, Lam & Ng 2011, Paiva *et al.* 2011, Napoleão *et al.* 2012).

A ação inseticida das lectinas pode ter como alvo as vilosidades do epitélio intestinal dos insetos, sendo este um provável sitio de ligação para algumas lectinas, promovendo uma disfunção das células epiteliais, as quais são responsáveis pela absorção de nutrientes e substâncias potencialmente perigosas. As lectinas ligadoras de quitina se ligam à membrana peritrófica da região intestinal, aumentando ou reduzindo os movimentos entre o espaço da região endo e exoperitrófica. Além disso, outro efeito tóxico que as lectinas podem apresentar se dá através da sua ligação a enzimas digestivas glicosiladas presentes no intestino dos insetos (Zhu-Salzman & Salzman 2001, Macedo *et al.* 2003, Trigueiros *et al.* 2003, Napoleão *et al.* 2012).

Enzimas digestivas de insetos: alvos promissores de agentes inseticidas

O sucesso evolutivo e a grande diversidade dos insetos devem-se principalmente a capacidade das espécies se adaptarem a quase todos os tipos de habitat e de hábitos alimentares,

sendo o intestino um dos órgãos que contribui fortemente para esse sucesso adaptativo, uma vez que representa a maior interface entre o organismo e o ambiente (Terra & Ferreira 1994, Amorim 2007, Chapman 2013).

Muitas espécies de insetos apresentam no intestino médio a matriz peritrófica (MP), que é uma película fina, não celular, que envolve o alimento dentro do ventrículo e é formada por quitina, proteínas e carboidratos. A presença da MP separa o conteúdo luminal em dois compartimentos: espaço endoperitrófico e ectoperitrófico (Terra 1988, Terra & Ferreira 2012), que tem papel importante na digestão, proteção das células epiteliais e compartimentalização de eventos digestivos agindo como uma barreira permeável para enzimas digestivas; ainda, a membrana peritrófica atua na defesa do inseto contra infecção por vírus e parasitas (Tellam *et al.* 1999) e prevenção de danos ou obstrução das microvilosidades do intestino médio pelo conteúdo do lúmen (Berner *et al.* 1983, Secundino *et al.* 2005).

Em geral, a digestão nos insetos pode ocorrer no intestino anterior e médio, sendo o intestino médio o principal sítio de digestão do alimento, absorção de nutrientes e secreção de enzimas digestivas (Reis 2009, Terra & Ferreira 2012). Assim como a maioria dos organismos vivos, os insetos também produzem enzimas digestivas para a obtenção dos nutrientes essenciais às suas atividades metabólicas. Pesquisadores da ESALQ-USP, já caracterizaram 12 classes de enzimas digestivas utilizadas pelos insetos, dentre essas, as mais importantes e que têm sido mais estudadas são as proteinases e α -amilases (Medeiros 2000).

A ocorrência de diferentes enzimas no tubo digestivo dos insetos deve-se, principalmente, à variação na composição química da dieta ingerida. É provável que todos os insetos tenham enzimas digestivas em quantidades relativas que mudam em resposta à composição da dieta (Terra & Ferreira 1994, Patankar *et al.* 2001). Segundo Medeiros (2000), pesquisadores observaram que alguns insetos, como *S. frugiperda* e a lagarta-da-maçã-do-algodoeiro, *Heliothis virescens*

(Fabricius), conseguem ser polípagas porque são capazes de alterar a produção de enzimas digestivas em resposta ao tipo de alimento que ingerem.

A caracterização de enzimas dos insetos pode contribuir para o desenvolvimento de novos inseticidas. De acordo com Napoleão *et al.* (2012) e Lima *et al.* (2014) sabe-se que os metabólitos secundários, inibidores enzimáticos e lectinas podem interferir nas atividades enzimáticas digestivas. Outros dados reportados na literatura corroboram com essa informação. Albuquerque *et al.* (2012) estudando os efeitos da lectina do rizoma (MvRL) de *Microgramma vacciniifolia* (Langsd. & Fisch.) contra operários de *Nasutitermes corniger* (Motschulsky) observaram a inibição da atividade de enzimas tripsina-símile. As atividades de tripsina-símile do intestino de lagartas de *Ephestia kuehniella* (Zeller) (Coelho *et al.* 2007) e larvas de *Aedes aegypti* (L.) (Napoleão *et al.* 2012) foram inibidas por lectinas de sementes de *Annona coriacea* (Mart.) e folhas de *Myracrodruon urundeuva* (Fr. All.), respectivamente.

Resultado encontrados por Agra-Neto *et al.* (2014) descrevem que a lectina de sementes de *Moringa oleifera* (Lam.) (WSMoL) mostrou exercer efeito estimulador sobre as atividades de protease, tripsina-símile e α -amilase do intestino de larvas de *A. aegypti*. Oliveira *et al.* (2017) analisando essa mesma lectina sobre larvas de *Anagasta Kuehniella* (Zeller) encontraram uma inibição média de 45% na atividade da α -amilase em larvas alimentadas e uma redução de 31,3% e 61,2% após tratamentos com WSMoL a 1e 2 %, respectivamente, na atividade de α -glicosidase.

Palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill)

Opuntia ficus indica Mill, conhecida popularmente como palma forrageira, é uma espécie nativa do México, país que a explora desde o período pré-hispânico, detendo a maior riqueza de cultivares (Reyes-Aguero *et al.* 2005, Feugang *et al.* 2006). Essa planta pertence à Classe Magnoliopsida, Subclasse Charyophyllidae, Ordem Caryophyllales e Família Cactaceae (Sáenz *et*

al. 2006, Martins 2011). São conhecidos cerca de 180 gêneros nessa família, totalizando cerca de 2.000 espécies (Silva & Santos 2006).

No Brasil, foi introduzida por volta de 1880, no Estado de Pernambuco e sua chegada foi realizada através de sementes oriundas do Texas, nos Estados Unidos. Seus mecanismos fisiológicos comuns às plantas xerófilas a tornam uma das espécies mais adaptadas às condições áridas e semiáridas do Nordeste Brasileiro (Teixeira *et al.* 1999, Silva & Santos 2006, Oliveira *et al.* 2010).

As espécies de palma mais utilizadas como forrageira estão presentes nos gêneros *Opuntia* e *Nopalea* (Silva & Santos 2006). No Nordeste brasileiro e, principalmente no Estado de Pernambuco, são cultivadas duas espécies de palma, a *O. ficus indica*, com as cultivares gigante e redonda, e a *Nopalea cochenilifera* (Salm Dyck), cuja cultivar é a palma miúda ou doce. (Santos *et al.* 2001, Ferreira *et al.* 2003). Segundo Coelho (2017) a Região Nordeste possui um total de 600 mil hectares de palma forrageira, sendo 150 mil hectares em Pernambuco.

O. ficus-indica possui porte arbustivo, podendo ser rasteira ou vertical e atinge cerca de 3-5 m de altura. Seus ramos são clorofilados e achatados, de coloração verde-acinzentada e comprimento (30-60 cm) maior do que a largura (6-15 cm). O sistema radicular é extenso, ramificado e rico em raízes, uma das características que compreende sua adaptação a solos áridos (Feugang *et al.* 2006).

Semelhante a outras plantas do gênero, *O. ficus-indica* constitui um importante recurso forrageiro contribuindo para suprir a falta de alimento aos animais no período de estiagem. Essa espécie constitui uma máxima eficiência de adaptação e aproveitamento de água e energia em ambientes de seca, além de servir como reservatórios de água nos períodos de escassez hídrica (Hills 1982, Sales 2006).

A palma forrageira também serve de alimento para humanos (Nunes 2011), além da sua utilização na medicina popular devido a suas atividades cicatrizantes (Ammar *et al.* 2015), antioxidante (Madrigal-Santillán *et al.* 2013), antiinflamatória (Arauz 2009) e antitumoral (Poejo 2011). Estudos têm descrito também que os cladódios de *O. ficus-indica* contêm uma lectina (*OfiL*), a qual apresenta atividade inseticida contra cupins da espécie *N. corniger* (Paiva *et al.* 2011).

Literatura Citada

- Adeyemi, M.M.H. 2010.** The potential of secondary metabolites in plant material as deterrents against insect pests: A review. *Afr. J. Pure Appl. Chem.* 4: 243-246.
- Agra-Neto, A.C.A., T.H. Napoleão, E.V. Pontual, N.D.L. Santos, L.A. Luz, C.M.F. Oliveira, M.A.V.M. Santos, D.M.A.F. Navarro, L.C.B.B. Coelho & P.M.G. Paiva. 2014.** Effect of *Moringa oleifera* lectins on survival and activity of enzymes from *Aedes aegypti* organophosphate-susceptible and resistant larvae. *Parasitol. Res.* 113: 175-184.
- Albuquerque, L.P., G.M.S. Santana, E.V. Pontual, T.H. Napoleão, L.C.B.B. Coelho & P.M.G. Paiva. 2012.** Effect of *Microgramma vacciniifolia* rhizome lectin on survival and digestive enzymes of *Nasutitermes corniger* (Isoptera, Termitidae). *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 75: 158-166.
- Ammar, I., S. Bardaa, M. Mzid, Z. Sahnoun, T. Rebai, H. Attia & M. Ennouri. 2015.** Antioxidant antibacterial and *in vivo* dermal wound healing effects of *Opuntia* flower extracts. *Int. J. Biol. Macromol.* 81: 483-490.
- Amorim, T.M.L. 2007.** Avaliação da ação bioinseticida de SBTI e vicilina de *Erythrina velutina* em enzimas digestivas e membrana peritrófica de larvas de *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). Dissertação de Mestrado. UFRN, Natal, 81p.
- Arauz, J.C.G. 2009.** Efectos biofuncionales Del Nopal y la Tuna. *Horticul. Rev.* 71: 1-9.
- Barros, E.M., J.B. Torres & A.F. Bueno. 2010.** Oviposição, Desenvolvimento e Reprodução de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em Diferentes Hospedeiros de Importância Econômica. *Neotrop. Entomol.* 39: 996-100.
- Basedow, T. 2002.** Uso de inseticidas en agricultura de algunos países del mundo, métodos para reducir su uso y realizar una protección del cultivos mas favorable para el ambiente. *Natura* 10: 50-58.
- Batista Neto, O.A., M.B. Silva, M.S. Garcia & A. Silva. 2011.** Efeito de inseticidas reguladores de crescimento sobre ovos, lagartas e adultos de *Grapholita molesta* (Busck) (Lep.: Tortricidae) *Rev. Bras. Frutic.* 33: 420-428.

- Berner, R., W. Rudin & H. Hecker. 1983.** Peritrophic membranes and protease activity in the midgut of the malaria mosquito, *Anopheles stephensi* (Liston) (Insecta, Diptera) under normal and experimental conditions. J. Ultrast. Res. 83: 195-204.
- Bianco, R. 1991.** Pragas e seu controle. In: A cultura do milho no Paraná. Londrina, IAPAR, 184-221p. (IAPAR. Circular técnica, 68).
- Biermann, A.C.S. 2009.** Bioatividade de inseticidas botânicos sobre *Ascia monuste orseis* (Lepidoptera: Pieridae). Dissertação de Mestrado, UFSM, Santa Maria, 73p.
- Boyd, W.C. & Shapleigh, E. 1954.** Specific Precipitating Activity of Plant Agglutinins (Lectins). Science 119: 419.
- Bogorni, P.C. & J.D. Vendramim, J. D. 2003.** Bioatividade de extratos aquosos de *Trichilia* ssp. Sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho. Neotrop. Entomol. 32: 665-669.
- Bullangpoti, V., E. Wajnberg, P. Audant & R. Feyereisen. 2012.** Antifeedant activity of *Jatropha gossypifolia* and *Melia azedarach* senescent leaf extracts on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and their potential use as synergists. Pest. Manag. Sci. 68: 1255-1264.
- Capinera, J.L. 2008.** Encyclopedia of entomology. 2nd ed Dordrecht, Springer, 4346p.
- Cavada, B.S., C.F. Santos, T.B. Grangeiro, E.P. Nunes, P.V.P. Sales, R.L. Ramos, F.A.M. Sousa, C.V. Crisostomo & J.J. Calvete. 1998.** Purification and characterization of a lectin from seeds of *Vatairea macrocarpa* Duke. Phytochemistry 49: 675-680.
- Chapman, R.F. 2013.** The insects: structure and function. Cambridge, Cambridge University Press, 929p.
- Coelho, J.** Palma mais resistente a praga. 2017. Disponível em: <<http://www.ceasepe.org.br/verNoticia.php?id=442>>. Acesso em 10 de março 2017.
- Coelho, M.B., S. Marangoni & M.L.R. Macedo. 2007.** Insecticidal action of *Annona coriacea* lectin against the flour moth *Anagasta kuehniella* and the rice moth *Corcyra cephalonica* (Lepidoptera: Pyralidae). Comp. Biochem. Physiol. Part C. 146: 406-414.
- Cruz, I. 1995.** A lagarta do cartucho na cultura do milho. Sete Lagoas, EMBRAPA, 45p. (EMBRAPA CNPMS. Circular Técnica, 21).
- Cruz, I., M.L.C. Figueiredo & M.J. Matoso. 1999.** Controle biológico de *Spodoptera frugiperda* utilizando o parasitóide de ovos *Trichogramma*. Sete Lagoas, EMBRAPA CNPMS, 40p. (EMBRAPA CNPMS. Circular Técnica, 30).

- Cruz, G. dos S. 2016.** Efeito dos óleos essenciais e de seus compostos majoritários sobre parâmetros biológicos, nutricionais e celulares de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Tese de Doutorado, UFRPE, Recife, 115p.
- Desneux, N., A. Decourtye & J.M. Delpuech. 2007.** The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annu. Rev. Entomol.* 52: 81-106.
- Ewart, K.V., S.C. Johnson & N.W. Ross. 2001.** Lectins of the innate immune system and their relevance to fish health. *J. Marine Sci.* 58: 380-385.
- Fernandes, T.S. 2012.** Bioatividade de Extratos Aquosos de Pinhão Roxo *Jatropha gossypifolia* L. sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). Dissertação de mestrado. UFP, Teresina, 56p.
- Ferraz, M.C.V.D. 1982.** Determinação das exigências térmicas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em cultura de milho. Dissertação de Mestrado, ESALq, São Paulo, 81p.
- Ferreira, C.A., R.L.C. Ferreira, D.C. Santos, M.V.F. Santos, J.A.A. Silva, M.A. Lira & S.G. Molica. 2003.** Utilização de técnicas multivariadas na avaliação da divergência genética entre clones de palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill.). *Rev. Bras. Zoot.* 32: 1560-1568.
- Feugang, J., P. Konarski, D. Zou, F.C. Stintzing & C. Zou. 2006.** Nutritional and medicinal use of Cactus pear (*Opuntia* spp.) cladodes and fruits. *Frontier Biosc.* 11: 2574-2589.
- Gabor, F., E. Bogner, A. Weissenboeck & M. Wirth. 2004.** The lectin-cell interaction and its implications to intestinal lectin-mediated drug delivery. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* 56: 459-480.
- Gallo, D., O. Nakano, S. Silveira neto, R.P.L. Carvalho, G.C. Batista, E. Berti filho, J.R.P. Parra, R.A. Zucchi, S.B. Alves, J.D. Vendramin, L.C. Marchini, J.R.S. Lopes & C. Omoto. 2002.** *Entomologia Agrícola*. Piracicaba: FEALQ, 940p.
- Ghosh, M. 2008.** Purification of a lectin-like antifungal protein from the medicinal herb, *Withania somnifera*. *Fitoterapia* 80: 91-95.
- Haas, J., A. Fontanela, K.S. Haida & L.F.A. Alves. 2012.** Avaliação de extratos vegetais sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). *RAMA* 5: 353-362.
- Herbert, R.B. 1989.** *The Biosynthesis of secondary metabolites*. 2, ed London: Chapman & Hall, 231p.
- Hernández, C.R. & J.D. Vendramim. 1996.** Toxicidad de extractos acuosos de Meliaceae em *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Man. Integ. Plagas* 42: 14-22.
- Hernández, C.R. & J.D. Vendramim. 1997.** Avaliação da bioatividade de extratos aquosos de Meliaceae sobre *Spodoptera frugiperda*. *Rev. Agric.* 72: 305-318.

- Hills, F.S. 1982.** Resistencia a seca e eficiência no uso de agua. In: Simpósio Brasileiro sobre Algaroba, 1., Natal, Anais. EMPARN, 55-89p.
- Ito, Y. 1986.** Occurrence of lectins in leaves and flowers of *Sophora japonica*. Pl. Sci. 47: 77-82.
- Kawagishi, H., J. Takagi, T. Taira, T. Murata & T. Usui. 2001.** Purification and characterization of a lectin from the mushroom *Mycoleptodonoides aitchisonii*. Phytochemistry 56: 53-58.
- Kennedy, J.F., P.M.G. Paiva, M.T.S. Correia, M.S.N. Cavalcanti & L.C.B.B. Coelho. 1995.** Lectins, versatile proteins of recognition: a review. Carbohydr. Polym. 26: 219-230.
- Kilpatrick, D.C. 2002.** Review Animal lectins: a historical introduction and overview. Biochim Biophys. Acta 1572: 187-197.
- Lacher, W. 2000.** Ecofisiologia vegetal. São Carlos: Rima, 519p.
- Lam, S.K. & T.B. Ng. 2011.** Lectins: production and practical applications. Appl. Microbiol. Biotechnol. 89: 45-55.
- Lima, T.A., E.V. Pontual, L.P. Dornelles, P.K. Amorim, R.A. Sá, L.C.B.B. Coelho, T.H. Napoleão & P.M.G. Paiva. 2014.** Digestive enzymes from workers and soldiers of termite *Nasutitermes corniger*. Comp. Biochem. Physiol. Part B. 176: 1-8.
- Lin, L., J. Lu, H. Zeng, Z. Liang, Y. Zhou, J. Lin, X. Sun & K. Tang. 2008.** Molecular cloning and characterization of a mannose-binding lectin gene from *Pinellia cordata*. Mol. Biol. Reports 35: 641-647.
- Macedo, M.L.R., D.C.S. Damico, M.G.M. Freire, M.H. Toyama, S. Marangoni & J.C. Novello. 2003.** Purification and characterization of an N-acetylglucosamine binding lectin from *Koelreuteria paniculata* seeds and its effect on the larval development of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) and *Anagasta kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae). J. Agric. Food. Chem. 51: 2980-2986.
- Madrigal-Santillán, E., F.G. Melo, J.A.M. González, P.V. Alvarado, S.M. Juárez, C.Z. Pérez, M.T.S. Martínez, E.M. Bujaidar & A.H. Ceruelos. 2013.** Antioxidant and Anticlastogenic Capacity of Prickly Pear Juice. Nutr. 5: 4145-4158.
- Martins, S.C.C. 2011.** Avaliação do potencial biológico de *Opuntia ficus-indica* (Figueira da índia). Dissertação de Mestrado, UFP, Porto, 67p.
- Martinez, S.S. & H.F. Van Emden. 2001.** Growth disruption, abnormalities and mortality of *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). Neotrop. Entomol. 30: 113-125.
- Medeiros, M.A. 2000.** As pragas também morrem pela boca. Pesquisa FAPESP, São Paulo, 20-27p.

- Menezes, E.L.A. 2005.** Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. Seropédica, Rio de Janeiro: Embrapa Agrobiologia, 58p.
- Miranda, J.E. & N.D. Suassuna. 2004.** Guia de identificação e controle das principais pragas e doenças do algodoeiro. Embrapa CNPA, Campina Grande, 48p.
- Napoleão, T.H., E.V. Pontual, T.A. Lima, N.D.L. Santos, R.A. Sá, L.C.B.B. Coelho, D.M.A.F. Navarro & P.M.G. Paiva. 2012.** Effect of *Myracrodruon urundeuva* leaf lectin on survival and digestive enzymes of *Aedes aegypti* larvae. Parasitol. Res. 110: 609-616.
- Nascimento, C.O., R.M.P.B. Costa, R.M.S. Araújo, M.E.C. Chaves, L.C.B.B. Coelho, P.M.G. Paiva, J.A. Teixeira, M.T.S. Correia & M.G. Carneiro-da-Cunha. 2008.** Optimized extraction of a lectin from *Crataeva tapia* bark using AOT in isoctane reversed micelles. Process. Biochem. 43: 779-782.
- Nunes, C.S. 2011.** Uso e aplicações da palma forrageira como uma grande fonte de economia para o semiárido nordestino. RVADS. 6: 58-66.
- Oliveira, M.S.S., A.R. Roel, E.J. Arruda & A.S. Marques. 2007.** Eficiência de produtos vegetais no controle da lagarta-do-cartucho-do-milho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). Ciênc. Agrotec. 31: 326-331.
- Oliveira, F.T., J.S. Souto, R.P. DA. Silva, F.C. Andrade Filho & E.B.P. Júnior. 2010.** Palma forrageira: adaptação e importância para os ecossistemas áridos e semiáridos. Rev. Verde Agroecol. Desenvol. Sust. 5: 27-77.
- Oliveira, C.F.R., M.C. Moura, T.H. Napoleão, P.M.G. Paiva, L.C.B.B. Coelho & M.L.R. Macedo. 2017.** A chitin-binding lectin from *Moringa oleifera* seeds (WSMoL) impairs the digestive physiology of the Mediterranean flour larvae, *Anagasta kuehniella*. Pestic. Biochem. Physiol. 142: 67-76.
- Paiva, P.M.G., G.M.S. Santana, I.F.A.C. Souza, L.P. Albuquerque, A.C. Agra-Neto, A.C. Albuquerque, L.A. Luz, T.H. Napoleão & L.C.B.B. Coelho. 2011.** Effect of lectins from *Opuntia ficus indica* cladodes and *Moringa oleifera* seeds on survival of *Nasutitermes corniger*. Int. Biodeterior. Biodegrad. 65: 982-989.
- Panizzi, A.R. & J.R.P. Parra. 2009.** A bioecologia e a nutrição de insetos como base para o manejo integrado de pragas, p. 1107-1139. In A.R. Panizzi & J.R.P. Parra (eds.), Bioecologia e nutrição de insetos: Base para o manejo integrado de pragas. Embrapa Informação Tecnológica. Brasília, 1164p.
- Parra, J.R.P. 2006.** A prática do controle biológico de pragas no Brasil, p.11-24. In A.S. Pinto, D.E. Nava, M.M. Rossi. & D.T. Malerbo-Souza (eds.), Controle biológico de pragas na prática. Piracicaba, ESALQ/USP, 287p.
- Patankar, A.G., A.P. Giri, A.M. Harsulkar, M.N. Sainani, V.V. Deshpande, P.K. Ranjekar & V.S. Gupta. 2001.** Complexity in specificities and expression of *Helicoverpa armigera* gut

proteinases explains polyphagous nature of the insect pest. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 31: 453-464.

Poejo, J.M.A. 2011. Evaluation of *Opuntia* spp. bioactive products as promising natural chemotherapeutical agents - an in vitro approach. Dissertação de Mestrado, UNL, Lisboa, 64p.

Ratanapo, S., W. Ngamjunyaporn & M. Chulavatnatol. 2001. Interaction of a mulberry leaf lectin with a phytopathogenic bacterium, *P. syringae pv mori*. *Pl. Sci.* 160: 739-744.

Raven, P.H., S.E. Eichhorn & R.F. Evert. 2014. *Biologia vegetal*. 8 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 876p.

Reis, D.T.C. 2009. Purificação e caracterização de proteases digestivas *Tripsina-like* do intestino da lagarta da soja envolvidas no mecanismo de interação planta-inseto. Tese de Doutorado, UFV, Viçosa, 123p.

Reyes-Aguero, J.A., J.R.R. Aguirre & J.R. Hernandez. 2005. Notas sistemáticas y descripción detallada de *Opuntia ficus-indica* (L) Mill. (Cactaceae). *Agrociência* 39: 395-408.

Rodriguez, H.C. & J.D. Vendramim. 1997. Avaliação da bioatividade de extratos aquosos de meliaceae sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). *Rev. Agric.* 72: 305-317.

Roel, A.R. 2001. Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o desenvolvimento rural sustentável. *Rev. Int. Desenv. Local* 1: 43-50.

Roel, A.R. & J.D. Vendramim. 2006. Efeito residual do extrato acetato de etila de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) para lagartas de diferentes idades de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). *Ciên. Rural* 36: 1049-1054.

Rosa, A.P.S.A. & J.F.S. Martins. 2011. Manejo da resistência de *Spodoptera frugiperda* a inseticidas na cultura do milho: situação atual. Brasília: Embrapa Clima Temperado, 18p.

Sá, R.A., T.H. Napoleão, N.D.L. Santos, F.S. Gomes, A.C. Albuquerque, H.S. Xavier, L.C.B.B. Coelho, L.W. Bieber & P.M.G. Paiva. 2008. Induction of mortality on *Nasutitermes corniger* (Isoptera, Termitidae) by *Myracrodruon urundeuva* heartwood lectin. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 62: 460-464.

Sá, V.G.M., B.V.C. Fonseca, K.G.B. Boregas & J.M. Waquil. 2009a. Sobrevivência e desenvolvimento larval de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em hospedeiros alternativos. *Neotrop. Entomol.* 38: 108-115.

Sá, R.A., A.C.C. Argolo, T.H. Napoleão, F.S. Gomes, N.D.L. Santos, C.M.L. Melo, A.C. Albuquerque, H.S. Xavier, L.C.B.B. Coelho, L.W. Bieber & P.M.G. Paiva. 2009b. Antioxidant, *Fusarium* growth inhibition and *Nasutitermes corniger* repellent activities of secondary metabolites from *Myracrodruon urundeuva* heartwood. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 63: 470-477.

- Sacchettini, J.C., L.G. Baum & C.F. Brewer. 2001.** Multivalent protein-carbohydrate interactions. A new paradigm for supermolecular assembly and signal transduction. *Biochemistry* 40: 3009-3015.
- Sáenz, C., H. Berger, J.C. Garcia, L. Galletti, V.G. Cortázar & I. Higuera. 2006.** Utilización agroindustrial del nopal. *Boletín de Servicios Agrícolas de la FAO*, 162p.
- Saito, M.L. & F. Lucchini. 1998.** Substâncias obtidas de plantas e a procura por praguicidas eficientes e seguros ao meio ambiente. EMBRAPACNPMA: Jaguariúna, 46p.
- Sales, A.T., A.P. Andrade, D.S. Silva, M.L.V. Leite, B.L. Viana, E.G. Santos & H.N. Parente. 2006.** Potencial de adaptação de variedades de palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* e *Nopalea cochenillifera*) no Cariri paraibano. In: Congresso nordestino de produção animal 4., Petrolina-PE, 434-438p.
- Santiago, G.P. 2005.** Avaliação dos efeitos de extratos aquosos de plantas sobre a biologia da lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) mantida em dieta artificial. Dissertação de Mestrado, UFP, Teresina, 110p.
- Santiago, G.P., L.E. de M. Pádua, P.R.R. Silva, E.M.S. Carvalho & C.B. Maia. 2008.** Efeitos de extratos de plantas na biologia de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) mantida em dieta artificial. *Ciênc. Agrotec.* 32: 792-796.
- Santos, D.C., M.V.F. Santos, I. Farias, F.M. Dias & M.A. Lira. 2001.** Desempenho Produtivo de Vacas 5/8 Holando/Zebu Alimentadas com Diferentes Cultivares de Palma Forrageira (*Opuntia* e *Nopalea*). *Rev. Bras. Zootec.* 30: 12-17.
- Santos, A.F.S., L.A. Luz, A.C.C. Argolo, J.A. Teixeira, P.M.G. Paiva & L.C.B.B. Coelho. 2009.** Isolation of a seed coagulant *Moringa oleifera* lectin. *Process. Biochem.* 44: 504-508.
- Sarmento, R.A., R.W.S. Aguiar, R.A.S.S. Aguiar, S.M.J. Vieira, H.G. Oliveira & A.M. Holtz. 2002.** Biology review, occurrence and control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in corn in Brasil. *Biosc. J.* 18: 41-48.
- Sato, Y., M. Murakami, K. Miyazawa & K. Hori. 2000.** Purification and characterization of a novel lectin from a freshwater cyanobacterium, *Oscillatoria agardhii*. *Comp. Biochem. Physiol. Part B: Biochem. Mol. Biol.* 125: 169-177.
- Secundino, N.F.C., I. Eger-Mangrich, E.M. Braga, M.M. Santoro & P.F.P. Pimenta. 2005.** *Lutzomyia longipalpis* peritrophic matrix: Formation, structure, and chemical composition. *J. Med. Entomol.* 42: 928-938.
- Schmutterer, H. 1990.** Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. *Annu. Rev. Entomol.* 35: 217-297.
- Sharon, N. & H. Lis. 2002.** How proteins bind carbohydrates: lessons from legume lectins. *J. Agric. Food Chem.* 50: 6586-6591.

- Silva, C.C.F. & L.C. Santos. 2006.** Palma Forrageira (*Opuntia ficus indica* Mill) como alternative na alimentação de ruminantes. *Rev. Electrón Vet.* 7: 1-13.
- Silva, M.D.C., R.A. Sá, T.H. Napoleão, F.S. Gomes, N.D.L. Santos, A.C. Albuquerque, H.S. Xavier, P.M.G. Paiva, M.T.S. Correia & L.C.B.B. Coelho. 2009.** Purified *Cladonia verticillaris* lichen lectin: Insecticidal activity on *Nasutitermes corniger* (Isoptera: Termitidae). *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 63: 334-340.
- Silva, D.M., A.F. Bueno, K. Andrade, C.S. Stecca, P.M.O.J. Neves & M.C.N. Oliveira. 2017.** Biology and nutrition of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) fed on different food sources. *Sci. Agric.* 74: 18-31.
- Singh, R.S., A.K. Tiwari & J.F. Kennedy. 1999.** Lectins: Sources, and applications. *Crit. Rev. Biotechnol.* 19: 145-178.
- Tavares, W.S. 2015.** Extratos botânicos como alternativa ecológica de controle de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) E *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Tese de Doutorado, UFV, Viçosa, 87p.
- Teixeira, J.C., A.R. Evangelista, J.R. Perez, I.A.C.M. Trindade & I.R. Moron. 1999.** Cinética da digestão ruminal da palma forrageira. *Ciênc. Agrotec.* 23: 179-183.
- Tellam, R.L., G. Wijffels & P. Willadsen. 1999.** Peritrophic matrix proteins. *Insect. Biochem. Mol. Biol.* 29: 87-101.
- Terra, W.R. & C. Ferreira. 1994.** Insect digestive enzymes: properties, compartmentalization and function. *Comp. Biochem. Physiol. Part B* 109: 1-62.
- Terra, W.R. 1988.** Physiology and biochemistry of insect digestion: an evolutionary perspective. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 21: 675-734.
- Terra, W.R. & C. Ferreira. 2012.** Biochemistry and Molecular Biology of Digestion. In L.I. Gilbert (ed.), *Insect Molecular Biology and Biochemistry*. San Diego: Academic Press, 365-418p.
- Thakur, A., M. Rana, T.N. Lakhanpal, A. Ahmad & M.I. Khan. 2007.** Purification and characterization of lectin from fruiting body of *Ganoderma lucidum*. *Biochim. Biophys. Acta* 1770: 1404-1412.
- Trigueiros, V., A. Lougarrea, D. Ali-Ahmeda, Y. Rahbé, J. Guillot, L. Chavant, D. Fournier & L. Paquereau. 2003.** *Xerocomus chrysenteron* lectin: identification of a new pesticidal protein. *Biochim. Biophys. Acta* 1621: 292-298.
- Van Damme, E.J.M., A. Barre, P. Rougé & W.J. Peumans. 1997.** Molecular cloning of the bark and seed lectins from the Japanese pagoda tree (*Sophora japonica*). *Pl. Mol. Biol.* 33: 523-536.

- Vandenborre, G., G. Smagghe & E.J.M. Van Damme. 2011.** Plant lectins as defense proteins against phytophagous insects. *Phytochemistry* 72: 1538-1550.
- Vendramim, J.D. 1997.** Uso de plantas inseticidas no controle de pragas. In: Ciclo de palestras sobre agricultura orgânica, 2, Campinas. Anais... Campinas: Fundação Cargill, 64-69.
- Vendramim, J.D. & P.J. Scampini. 1997.** Efeito do extrato aquoso de *Melia azedarach* sobre o desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) em dois genótipos de milho. *Rev. Agric.* 72: 159-170.
- Wang, H.X. & T.B. Ng. 2006.** Concurrent isolation of a Kunitz-type trypsin inhibitor with antifungal activity and a novel lectin from *Pseudostellaria heterophylla* roots. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 342: 349-353.
- Wang, X.W., X.W. Zhang, W.T. Xu, X.F. Zhao & J.X. Wang. 2009.** A novel C-type lectin (FcLec4) facilitates the clearance of *Vibrio anguillarum* in vivo in Chinese white shrimp. *Dev. Comp. Immunol.* 33: 1039-1047.
- Zhu-Salzman, K. & R.A. Salzman. 2001.** Functional mechanics of the plant defensive *Griffonia simplicifolia* lectin II: resistance to proteolysis is independent of glycoconjugate binding in the insect gut. *J. Econ. Entomol.* 94: 1280-1284.

CAPÍTULO 2

EFEITO DO EXTRATO DE CLADÓDIOS DE *Opuntia ficus-indica* MILL. (CACTACEAE)
E DO CLORETO DE SÓDIO (NaCl) NO DESENVOLVIMENTO DE *Spodoptera frugiperda*
(J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)¹

FRANCIELI M. SANTOS², REGINALDO BARROS², EMMANUEL V. PONTUAL³, DEIVIDY V.
NASCIMENTO², ELAINE C.B. FERREIRA² E WELTON ALMEIDA⁴

²Departamento de Agronomia – Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua
Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE, Brasil.

³Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Rua Dom Manoel de Medeiros s/n, 52171-900 Recife, PE, Brasil.

⁴Departamento de Bioquímica-CCB, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Prof. Moraes
Rego, s/n - Cidade Universitária, 50670-901 Recife, Pernambuco, Brasil.

¹Santos, F.M., R. Barros., E.V. Pontual., D.V. Nascimento., E.C.B. Ferreira & W. Almeida. Efeito do extrato de cladódios de *Opuntia ficus-indica* Mill. (Cactaceae) e do cloreto de sódio (NaCl) no desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). A ser submetido.

RESUMO - *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) é uma praga polífaga e o emprego de inseticidas sintéticos é o método mais utilizado para seu controle. Contudo, técnicas alternativas vêm sendo

estudadas visando minimizar a seleção de populações de insetos resistentes e reduzir o impacto sobre espécies não alvo. Esse trabalho avaliou a composição química do extrato de cladódios de *Opuntia ficus-indica*, o efeito desse extrato e do cloreto de sódio (NaCl) na sobrevivência e desenvolvimento de lagartas, e na viabilidade de ovos de *S. frugiperda*. Analisando a presença de metabolitos secundários, foram detectados flavonoides, derivados cinâmicos, açúcares redutores, terpenos e esteroides. Com relação ao período de incubação de ovos, os resultados mostraram um período médio de 3,0 dias em todos os tratamentos. A menor viabilidade foi constatada sobre ovos expostos ao NaCl a 0,15 M (35,3%). Para as lagartas expostas em meios artificiais tratadas por 24 e 48 h com extrato de cladódios, o maior consumo foi observado no extrato não dialisado a 12,8 mg/g com um consumo de 0,4 e 0,7 g, respectivamente, sugerindo um efeito fagoestimulante; para os insetos expostos por 24 e 48 h com NaCl, o maior consumo foi obtido na solução a 3,12 mg/g. Para os fatores em conjunto observou-se uma aumento do consumo ao longo do tempo de exposição de 48 h. Com base nos resultados foi possível perceber que o NaCl quando atuando sozinho ou adicionado ao extrato de cladódios alterou significativamente o desenvolvimento de *S. frugiperda*, afetando algumas vezes em seus parâmetros reprodutivos.

PALAVRAS-CHAVE: Lagarta-do-cartucho, palma forrageira, produtos naturais, sal, sobrevivência

EFFECT OF THE CLADODES EXTRACT OF *Opuntia ficus-indica* MILL. (CACTACEAE)
AND SODIUM CHLORIDE (NaCl) IN THE DEVELOPMENT OF *Spodoptera frugiperda*
(J.E.SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

ABSTRACT – *Spodoptera frugiperda* is a polyphagous pest and the use of synthetic insecticides is still the most used method for their control. However, alternative techniques have been studied in order to minimize the selection of resistant insect populations and reduce the impact on non-target species. This research evaluated the chemical composition of cladodes extract of *Opuntia ficus-indica*, the effect of this extract and sodium chloride (NaCl) on the survival and development of larvae, and the viability of *S. frugiperda* eggs. Analyzing the presence of secondary metabolites, flavonoids, cinnamic derivatives, reducing sugars, terpenes and steroids were detected. Regarding the egg incubation period, the results showed an average period of 3.0 days in all treatments. The lowest viability was found on eggs exposed to 0.15 M NaCl (35.3%). For larvae exposed in artificial media treated with cladodes extract for 24 and 48 h, the highest consumption was observed in the non-dialyzed extract at 12.8 mg/g with a consumption of 0.4 and 0.7 g, respectively, suggesting a phagostimulating effect; for insects exposed for 24 and 48 h with NaCl, the highest consumption was obtained in the solution at 3.12 mg/g. For the factors together, an increase in consumption over the exposure time of 48 h was observed. Based on the results, it was possible to observe that NaCl when acting alone, or added to the cladodes extract, altered significantly the development of *S. frugiperda*, sometimes affecting its reproductive parameters.

KEY WORDS: Fall armyworm, forage palm, natural products, salt, survival

Introdução

Spodoptera frugiperda (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), popularmente conhecida como lagarta-do-cartucho, é uma espécie polífaga que se alimenta de diversas culturas econômica e mundialmente importantes, incluindo milho (*Zea mays* L.), sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench), algodão (*Gossypium hirsutum* L.), amendoim (*Arachis hypogaea* L.), arroz (*Oryza sativa* L.), soja

(*Glycine max* L.) e hortaliças (Casmuz *et al.* 2010). No Brasil, as primeiras ocorrências foram relatadas nos estados de Pernambuco, Distrito Federal, Rio de Janeiro, Minas Gerais, São Paulo, Rio Grande do Sul e Santa Catarina. No entanto, devido às condições abióticas favoráveis, diversidade e disponibilidade de alimentos, atualmente ela ocorre em todas as regiões (Casmuz *et al.* 2010, Cruz *et al.* 2013).

De acordo com Barros *et al.* (2010) um dos fatores que tem dificultado o manejo de *S. frugiperda* é a grande oferta de hospedeiros ao longo do ano, o que tem favorecido a movimentação dessa espécie entre os cultivos. A ocorrência mais frequente da praga em culturas onde anteriormente era considerada praga esporádica ou secundária pode ser devido ao plantio de diferentes culturas em áreas próximas com fenologias distintas, como é o caso da soja, do milho e do algodão que são cultivados no verão, além de plantas de cobertura na entressafra, como o milheto (*Pennisetum glaucum* L.) (Nagoshi 2009).

O emprego de inseticidas sintéticos tem sido o método mais utilizado no controle dessa praga (Cruz 2002, Tavares *et al.* 2017). Contudo, devido às aplicações contínuas e não planejadas, tem contribuído para a redução de inimigos naturais e seleção de populações de insetos resistentes. Nesse sentido, a busca por métodos alternativos para o seu manejo, incluindo a prospecção de inseticidas naturais, tem despertado interesse. O uso de substâncias extraídas de plantas com atividade inseticida representa uma importante alternativa em substituição aos compostos sintéticos por serem renováveis e apresentarem maior grau de biodegradabilidade e baixa persistência no ambiente (Oliveira *et al.* 2007, Vianna *et al.* 2009). Adicionalmente, a indicação de novos agentes com diferentes mecanismos de ação inseticida aumenta as possibilidades para o planejamento de um programa de rotação de compostos, o que pode minimizar o estabelecimento de resistência.

Opuntia ficus-indica Mill. (Cactaceae), conhecida popularmente como palma forrageira ou *Cactus pear* é bastante utilizada na medicina popular por apresentar efeito antiulceroso, cicatrizante

e diurético (Loro *et al.* 1999, Galati *et al.* 2002). Além disso, estudos prévios têm relatado que os cladódios de *O. ficus-indica* contém uma lectina tóxica para cupins da espécie *Nasutitermes corniger* (Motschulsky) (Paiva *et al.* 2011).

Esse trabalho relata o efeito do extrato de cladódios de *O. ficus-indica* na sobrevivência e desenvolvimento de lagartas e na viabilidade de ovos de *S. frugiperda*. Em adição, a composição química do extrato de cladódios é também reportada.

Material e Métodos

Os experimentos foram desenvolvidos no Laboratório de Biologia e Resistência de Plantas a Insetos, no Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife, PE, Brasil.

Obtenção do Extrato de Cladódios de *Opuntia ficus-indica*. Os cladódios de *O. ficus-indica* foram coletados no Instituto Agrônômico de Pernambuco (IPA, Recife, Pernambuco), secos ao ar e triturados em liquidificador industrial (1,5 L). A farinha obtida (10 g) foi homogeneizada em um agitador magnético a 4°C por 16 h em 0,15 M de NaCl (50 mL). Em seguida, a mistura foi filtrada em gaze e após centrifugação (4.000g/15min) o sobrenadante correspondeu ao extrato bruto. A concentração de proteínas no extrato foi determinada de acordo com a metodologia descrita por Lowry *et al.* (1951), utilizando uma curva de albumina de soro bovino (31,25 a 500 µg/mL) como padrão.

Análise Fitoquímica do Extrato de Cladódios de *Opuntia ficus-indica* por Cromatografia em Camada Delgada (CCD). Na preparação da amostra, o extrato de cladódios foi diluído em 2 mL de metanol e levado ao ultrassom durante 10 min para completa solubilização. Os padrões utilizados estão mostrados na Tabela 1. O extrato de cladódios e os padrões (1 mg/mL) foram aplicados de forma manual em placas cromatográficas de sílica gel (60F254 Macherey-Nagel®, Germany). As

placas foram desenvolvidas em cubas com a fase móvel durante 15 min em temperatura ambiente. As bandas foram aplicadas com largura de 5 mm e com uma distância entre elas e das bordas das placas de 5 mm. O tamanho da largura e do comprimento das placas cromatográficas foi de 5 cm. Após a eluição das placas as mesmas foram secas em temperatura ambiente, e observadas sob luz ultravioleta de comprimento de onda igual a 254 e 365 nm e luz visível e em seguida foram digitalizadas. Em seguida, as placas foram reveladas com reagentes específicos para cada classe de metabólito (Tabela 1). As bandas obtidas foram comparadas às dos padrões correspondentes. Foram investigadas a presença de polifenóis, taninos condensados, flavonoides, derivados cinâmicos, terpenos e esteroides, cumarinas, saponinas, açúcares redutores, alcaloides e antraquinonas.

Criação dos Insetos. A criação de *Spodoptera frugiperda* foi mantida em sala climatizada ($27 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ de UR e 12 h de fotofase). As lagartas recém-eclodidas foram transferidas para potes de plástico transparentes (25 x 25 cm), forrados com papel toalha. Sobre cada pote, foi adicionada uma tira de dieta artificial, preparada de acordo com o protocolo descrito por Greene *et al.* (1976). As lagartas permaneceram nos potes até que atingissem a fase de pupa. Em seguida, as pupas foram coletadas e transferidas para potes plásticos (16 x 10 cm) cobertos com papel toalha umedecidos durante aproximadamente 12 dias. Os adultos recém-emergidos foram colocados para acasalar (aproximadamente 30 casais) em gaiolas de tubos de PVC (20 x 25 cm) revestidos com papel sulfite, dispostas sobre pratos plásticos (25 x 25 cm), forrados com papel toalha para servir como substrato para oviposição. A parte superior de cada gaiola foi fechada com filme plástico de PVC. Os adultos foram alimentados com solução de mel a 10% (v/v) ofertada em tubos de plástico com capacidade para 10 mL, contendo chumaço de algodão hidrofílico embebido. As posturas foram coletadas diariamente por meio da troca do papel que revestia a gaiola e acondicionadas em potes de plástico transparentes (16 x 10 cm), forrados com papel toalha, por aproximadamente três dias e mantidas até a eclosão das lagartas, quando então foram distribuídas sobre a dieta.

Efeito do Extrato de Cladódios de *Opuntia ficus-indica* e do Cloreto de Sódio (NaCl) sobre Ovos de *Spodoptera frugiperda*. Para a determinação do potencial ovicida do extrato de cladódios e do cloreto de sódio, os ovos foram coletados das gaiolas de oviposição conforme descrito acima. Com o objetivo de determinar se a presença de NaCl estava interferindo na atividade do extrato de cladódios, foram realizados tratamentos com o extrato após diálise exaustiva. Os tratamentos constaram primeiramente de extrato dialisado e não dialisado a 3,6% (m/v) e solução controle (NaCl a 0,15 M). E para determinar o efeito do cloreto de sódio, os tratamentos foram NaCl a 0,03 e 0,15 M e como solução controle foi utilizado água destilada. O papel contendo os ovos foi cortado cuidadosamente em fragmentos medindo 10 cm², contendo 50 ± 5 ovos, que foram observados em microscópio (Bel Photonics WF 10) para seleção de ovos intactos. Em seguida, os pedaços de papel contendo os ovos selecionados foram imersos em solução contendo cada um dos tratamentos durante 30 segundos e colocados em placas de Petri (9,5 x 1,5 cm) forradas com papel filtro umedecido com água destilada. As placas foram mantidas sob condições controladas (27 ± 1°C, 70 ± 10% de UR e 12 h de fotofase), sendo registrado diariamente o tempo requerido para eclosão e a viabilidade dos ovos, até a completa eclosão dos ovos do grupo controle (3 dias). Os dados foram submetidos a análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Tukey (P ≤ 0,05). A dialise foi obtida através de quatro trocas de água destilada, utilizando-se membrana de dialise com corte limite de massa molecular (3,5 kDa). Foram realizados seis experimentos em triplicatas.

Efeito do Extrato de Cladódios de *Opuntia ficus-indica* e do Cloreto de Sódio (NaCl) na Sobrevivência de Lagartas de Primeiro e Terceiro Instar de *Spodoptera frugiperda*. Nestes ensaios, uma dieta artificial foi preparada segundo metodologia previamente publicada por Greene *et al.* (1976), com adaptações. Cada amostra (50 mL) foi incorporada à dieta (250 mL) quando esta atingiu a temperatura de aproximadamente 50° C, a fim de se evitar a degradação de possíveis moléculas termo sensíveis. As amostras utilizadas inicialmente foram: extrato de cladódios (12,8

mg/g, miligramas de amostra por gramas de dieta), extrato de cladódios (12,8 mg/g) após diálise exaustiva e NaCl (3,12 mg/g) como tratamento controle. Para determinar o efeito do cloreto de sódio, as amostras foram compostas de NaCl (0,62 e 3,12 mg/g) e água destilada (tratamento controle). Após solidificada, a dieta foi cortada em cubos de aproximadamente 1 cm de aresta, que foram dispostos em placas de Petri (9,5 x 1,5 cm) forradas com papel filtro. Cada placa recebeu uma única lagarta. Após esse procedimento as placas foram vedadas com filme de PVC transparente para prevenir a fuga das lagartas. Com o objetivo de possibilitar as trocas gasosas, foram feitos três pequenos furos no filme de PVC com o auxílio de um estilete pontiagudo.

As placas foram mantidas à temperatura de $27 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 h. O bioensaio foi realizado com lagartas de primeiro e terceiro instar. Foram realizados 6 experimentos cada um com 50 repetições. Após cada 24 horas, a dieta foi substituída por outra de igual tamanho e sem tratamento, até que as lagartas atingissem a fase de pré-pupa. As avaliações foram realizadas diariamente registrando-se o número total de larvas mortas, a duração e viabilidade das fases de larva, pré-pupa e pupa, o peso de pupas e a presença de deformações nos adultos. Após a emergência dos adultos, em virtude da disponibilidade, foram formados até cinco casais provenientes de cada tratamento, os quais foram individualizados e mantidos em gaiolas (16 x 10 cm) revestidas com papel sulfite e fechada com filme plástico de PVC, sendo alimentados com solução de mel a 10% (v/v). A longevidade dos adultos foi observada diariamente e as posturas foram recolhidas a cada 24 h para quantificação e determinação da viabilidade. Também foram registrados os períodos de pré-oviposição, oviposição e pós-oviposição de cada casal. Os dados foram submetidos aos testes de normalidade e homogeneidade de variância, e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Alguns parâmetros foram transformados em $\sqrt{x+0.5}$ e arcoseno raiz ($x/100$) e aqueles que não assumiram os pré-requisitos para a análise de variância mesmo após transformação foram submetidos ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis ($P \leq 0,05$).

Efeito Deterrente Alimentar do Extrato de Cladódios de *Opuntia fícus-indica* e do Cloreto de Sódio (NaCl) sobre Lagartas de Terceiro Instar de *Spodoptera frugiperda*. Para avaliar o efeito deterrente de alimentação, foi realizado o experimento sem chance de escolha com 6 tratamentos. Inicialmente foram realizados experimentos com extrato de cladódios (12,8 mg/g, miligramas de amostra por gramas de dieta), extrato de cladódios (12,8 mg/g) após diálise exaustiva e NaCl (3,12 mg/g) como tratamento controle. Para a obtenção do efeito deterrente do cloreto de sódio foram utilizados NaCl (0,62 e 3,12 mg/g) e água destilada (tratamento controle). A dieta artificial foi preparada, tratada e cortada conforme descrito acima. Os blocos da dieta foram pesados e colocados no centro de placas de Petri (9,5 x 1,5 cm) forradas com papel filtro. No centro de cada placa, foi colocada uma lagarta de *S. frugiperda* de terceiro instar, sendo realizadas 40 repetições para cada tratamento. Após 24 e 48 h do bioensaio do início do bioensaio, foram registrados os pesos das sobras dos blocos de dieta e o consumo alimentar foi calculado pela diferença entre o peso dos blocos antes e após estes serem oferecidos as lagartas. Para determinar a perda de água sofrida pelo meio, foi mantida uma alíquota correspondente a vinte pedaços inteiros, que foram pesados no início e ao final de cada tempo de exposição. A perda média de umidade (em %) dos vinte pedaços coletados em cada tempo foi descontada do peso final de cada pedaço de meio oferecido às lagartas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, dispostos em esquema fatorial 3 x 2 (tratamentos x tempos) em duas fases. Os dados foram transformados em $\sqrt{x+0.5}$, e em seguida submetidos a análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

Procedimentos Estatísticos. Todas as análises foram realizadas pelo Programa Estatístico SAS (SAS Institute 2002).

Resultados

Análise Fitoquímica do Extrato de Cladódios de *Opuntia ficus-indica* por Cromatografia em Camada Delgada (CCD). Foi obtida uma solução estoque do extrato de cladódios na concentração de 7,2% (m/v), a qual foi analisada quanto à presença de metabólitos secundários, sendo detectados flavonoides, derivados cinâmicos, terpenos e esteroides. Foi também revelada a presença de açúcares redutores com fator de retenção correspondente ao da D-frutose, utilizada como padrão. Não foram detectados polifenóis, taninos hidrolisáveis e condensados, cumarinas, saponinas, alcaloides e antraquinonas (Tabela 1).

Efeito do Extrato de Cladódios de *Opuntia ficus-indica* e do Cloreto de Sódio (NaCl) sobre Ovos de *Spodoptera frugiperda*. O ensaio utilizando ovos de *S. frugiperda* mostrou que os tratamentos com o extrato de cladódios a 3,6% dialisado e não dialisado não obtiveram diferença significativa, o mesmo foi encontrado no tratamento controle (Tabela 2) ($F_{2, 8} = 2,34$; $P = 0,1774$). Quando os ovos foram tratados com NaCl a 0,15 M, foi detectada uma redução significativa na viabilidade destes em relação ao controle, revelando uma taxa de inibição da eclosão (64,6%) que, embora menor, não diferiu estatisticamente daquela (68%) obtida para o NaCl a 0,03 M, o tratamento controle foi o que obteve a maior viabilidade (100%) (Tabela 3) ($F_{2, 8} = 9,83$; $P = 0,0128$). Este ensaio revelou ainda que a eclosão de larvas em todos os tratamentos não foi capaz de causar alteração significativa no tempo requerido para eclosão em relação ao grupo controle, a qual aconteceu três dias após a oviposição (Tabelas 2 e 3).

Efeito do Extrato de Cladódios de *Opuntia ficus-indica* e do Cloreto de Sódio (NaCl) na Sobrevivência de Lagartas de Primeiro Instar de *Spodoptera frugiperda*. A investigação do efeito do extrato de cladódios sobre o desenvolvimento de lagartas de primeiro instar com relação à fase larval, revelou diferenças estatísticas em relação ao controle no qual foi detectado um atraso significativo com duração média de 15,9 dias para este estágio ($F_{2, 109} = 9,05$; $P = 0,0002$) em relação aos tratamentos com extrato de cladódios a 12,8 mg/g dialisado e não dialisado (Tabela 4). Quanto

ao cloreto de sódio, esse efeito foi o oposto, sendo encontrado uma menor duração larval de 13,8 dias no tratamento controle em comparação com os tratamentos de NaCl a 0,62 e 3,12 mg/g que alcançaram um maior alongamento dessa fase ($F_{2, 99} = 19,31$; $P < 0,0001$) (Tabela 5).

Em seguida, foi registrado um atraso significativo ($F_{2, 106} = 15,63$; $P < 0,0001$) no desenvolvimento das pré-pupas provenientes de lagartas tratadas com o extrato de cladódios a 12,8 mg/g dialisado com uma duração média de 1,8 dias em relação ao extrato não dialisado e o tratamento controle (Tabela 4). As pré-pupas provenientes de lagartas tratadas com NaCl a 0,62 e 3,12 mg/g obtiveram a maior duração com 2,7 e 2,5 dias, respectivamente, contra uma duração média de 1,6 dias no tratamento controle. Embora diferentes do controle, esses tratamentos não foram diferentes entre si ($F_{2, 98} = 25,24$; $P < 0,0001$) (Tabela 5).

Quando a fase de pupa foi analisada, diferença significativa novamente foi encontrada para o tratamento controle no qual foi registrado um alongamento da fase pupal de 11,2 dias, diferindo dos extratos de cladódios dialisado e não dialisado a 12,8 mg/g com 10,2 e 10,3 dias, respectivamente ($F_{2, 83} = 4,41$; $P = 0,0153$) (Tabela 4). Para as pupas provenientes de lagartas tratadas com cloreto de sódio foi encontrado o efeito inverso, no qual foi registrado um alongamento dessa fase nos tratamentos de NaCl a 0,62 e 3,12 mg/g com duração de 11,3 e 11,2 dias, respectivamente, contra uma duração média de 10,5 dias no tratamento controle ($\chi^2 = 8,23$; $P = 0,0163$) (Tabela 5).

O peso das pupas foi também registrado, e a análise estatística revelou uma significativa redução, o grupo tratado com o extrato a 12,8 mg/g não dialisado (217,8 mg) e o grupo controle (228,2 mg) obtiveram os menores pesos em relação ao grupo tratado com extrato dialisado a 12,8 mg/g (271,8 mg) ($F_{2, 107} = 24,25$; $P < 0,0001$) (Tabela 4). Também foram encontradas diferenças significativas nos experimentos realizados com cloreto de sódio, nos quais foram registrados os

menores pesos que variaram de 228,2 a 236,4 mg, em relação ao controle (274,1 mg) ($F_{2, 98} = 14,81$; $P < 0,0001$) (Tabela 5).

Ao estudar os insetos adultos provenientes de lagartas tratadas no primeiro instar com extrato de cladódios, foi verificado que a maior longevidade ocorreu para o grupo tratado com o extrato não dialisado a 12,8 mg/g, onde os adultos viveram por cerca de 8,3 dias, este foi o único tratamento que diferiu significativamente do tratamento controle na qual os insetos viveram aproximadamente 5,5 dias ($F_{2, 83} = 4,04$; $P = 0,0213$) (Tabela 4). Para os insetos adultos provenientes de lagartas tratadas no primeiro instar com cloreto de sódio, foi observado que não houve diferença significativa entre os tratamentos ($F_{2, 82} = 0,75$; $P = 0,4736$) (Tabela 5).

Com relação à porcentagem de adultos defeituosos, não houve diferença significativa nem para os tratamentos com extrato de cladódios ($F_{2, 86} = 0,13$; $P = 0,8809$) (Tabela 4) tão pouco para aqueles realizados com NaCl ($F_{2, 85} = 0,45$; $P = 0,6420$) (Tabela 5).

Quando analisada a viabilidade das larvas ($F_{2, 149} = 6,35$; $P = 0,0023$), pré-pupas ($F_{2, 149} = 5,05$; $P = 0,0075$) e pupas ($F_{2, 149} = 5,20$; $P = 0,0066$) tratadas com extrato de cladódios, o maior percentual de viáveis foi registrado para o grupo de extrato dialisado a 12,8 mg/g, com 90,0 e 74% respectivamente (Tabela 4). Para aqueles insetos que foram tratados com dieta contendo cloreto de sódio, ocorreu o oposto, a maior viabilidade foi encontrada no tratamento controle para todas as fases de larva (96%) ($F_{2, 149} = 19,87$; $P < 0,0001$), pré-pupas (96%) ($F_{2, 149} = 20,14$; $P < 0,0001$) e pupas (86%) ($F_{2, 149} = 18,37$; $P < 0,0001$) e as menores foram encontradas no tratamento de NaCl a 0,62 mg/g (Tabela 5).

Em virtude do número reduzido de adultos emergidos em alguns tratamentos, para avaliar o efeito do extrato de cladódios e do cloreto de sódio na fertilidade dos insetos, foram formados de 1 a 5 casais por tratamento, sendo este resultado corrigido pela razão entre o número de ovos depositados e o número de casais formados. Em relação aos parâmetros número de posturas ($F_{2, 36}$

= 2,23; $P = 0,1228$), número de ovos ($F_{2, 36} = 1,43$; $P = 0,2530$) e de ovos por postura ($F_{2, 36} = 0,61$; $P = 0,5466$), obtidos através dos insetos tratados com extrato de cladódios não foi verificada nenhuma diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 6). No parâmetro fertilidade também não foi registrado diferença significativa ($F_{2, 36} = 2,54$; $P = 0,0938$) (Tabela 6). Para os tratamentos realizados com cloreto de sódio, os parâmetros número de posturas ($F_{2, 35} = 0,42$; $P = 0,6591$), número de ovos ($F_{2, 35} = 0,42$; $P = 0,6585$) e de ovos por postura ($F_{2, 35} = 0,28$; $P = 0,7577$), também não obtiveram diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 7). No parâmetro fertilidade também não foi registrado diferença significativa ($F_{2, 35} = 2,31$; $P = 0,1156$) (Tabela 7).

Para o período de pré-oviposição ($F_{2, 7} = 3,24$; $P = 0,1251$), oviposição ($F_{2, 7} = 0,91$; $P = 0,4588$) e pós-oviposição ($F_{2, 7} = 0,49$; $P = 0,6384$) também não foi encontrada diferença entre os tratamentos para os insetos provenientes de lagartas alimentadas com extrato de cladódios (Tabela 6). Para aqueles insetos provenientes de lagartas alimentadas com cloreto de sódio o mesmo foi evidenciado, tanto para o período de pré-oviposição ($F_{2, 8} = 1,37$; $P = 0,3240$), oviposição ($F_{2, 8} = 0,66$; $P = 0,5488$) e pós-oviposição ($F_{2, 8} = 2,10$; $P = 0,2037$) não foi detectada diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 7).

Efeito do Extrato de Cladódios de *Opuntia ficus-indica* e do Cloreto de Sódio (NaCl) na Sobrevivência de Lagartas de Terceiro Instar de *Spodoptera frugiperda*. Quanto à investigação do efeito do extrato de cladódios sobre o desenvolvimento de lagartas de terceiro instar foi verificado que o período de desenvolvimento larval foi menor no extrato dialisado a 12,8 mg/g com uma média de 4,5 dias, diferindo dos tratamentos controle e extrato não dialisado a 12,8 mg/g ($F_{2, 146} = 6,26$; $P = 0,0025$) (Tabela 8). Com relação à fase larval dos insetos tratados com cloreto de sódio, o mesmo revelou diferenças estatísticas em relação ao tratamento de NaCl a 3,12 mg/g no qual foi detectado um atraso significativo com duração média de 5,1 dias para este estágio em relação aos tratamentos com NaCl a 0,62 mg/g e o controle ($F_{2, 147} = 4,26$; $P = 0,0159$) (Tabela 9).

Para as pré-pupas provenientes de lagartas tratadas com extrato de cladódios não houve diferença significativa para nenhum dos tratamentos ($F_{2, 146} = 2,52$; $P = 0,0842$) (Tabela 8). Já para as pré-pupas provenientes de lagartas que foram tratadas com cloreto de sódio houve um alongamento da fase de pré-pupa no tratamento com NaCl a 3,12 mg/g com uma duração média de 2,1 dias, diferindo do tratamento com NaCl a 0,62 mg/g e o controle ($F_{2, 147} = 6,93$; $P = 0,0013$) (Tabela 9).

Quando analisada a fase de pupa, diferença significativa novamente foi encontrada para o tratamento com extrato dialisado a 12,8 mg/g no qual foi registrado um alongamento da fase pupal de 10,6 dias, diferindo dos extratos de cladódios não dialisado a 12,8 mg/g e do controle com 9,5 e 8,9 dias, respectivamente ($F_{2, 101} = 28,56$; $P < 0,0001$) (Tabela 8). Para as pupas provenientes de lagartas tratadas com cloreto de sódio foi encontrado o efeito inverso, no qual foi registrado um atraso no tratamento com NaCl a 3,12 mg/g com duração de 8,9 dias, contra uma duração média de 9,5 e 9,7 dias, respectivamente para os tratamentos com NaCl a 0,62 mg/g e o tratamento controle ($F_{2, 109} = 7,10$; $P = 0,0013$) (Tabela 9).

O peso médio das pupas foi também registrado, e a análise estatística revelou que ele foi maior no tratamento controle com uma média de 245,1 mg diferindo apenas no extrato dialisado a 12,8 mg/g (230,2 mg) ($F_{2, 146} = 3,41$; $P = 0,0359$) (Tabela 8). Também foram encontradas diferenças significativas nos experimentos realizados com cloreto de sódio, nos quais foram registrados os menores pesos que variaram de 213,5 a 219,5 mg, em relação ao tratamento com NaCl a 3,12 mg/g (245,1 mg) ($F_{2, 145} = 16,68$; $P < 0,0001$) (Tabela 9).

Com relação aos insetos adultos provenientes de lagartas tratadas no terceiro instar com extrato de cladódios, foi verificado que a maior longevidade ocorreu para o grupo tratado com o extrato dialisado a 12,8 mg/g, onde os adultos viveram por cerca de 6,8 dias, diferindo significativamente do tratamento com extrato não dialisado a 12,8 mg/g e do controle ($F_{2, 101} = 8,06$;

$P = 0,0006$) (Tabela 8). Para os insetos adultos provenientes de lagartas tratadas no terceiro instar com cloreto de sódio, foi observado que não houve diferença significativa entre os tratamentos ($F_{2, 109} = 2,29$; $P = 0,1065$) (Tabela 9).

Para o percentual de adultos defeituosos oriundos de lagartas tratadas com extrato de cladódios, a maior média foi encontrada no extrato não dialisado a 12,8 mg/g com 66,7% diferindo apenas do tratamento controle com 34,3% ($F_{2, 101} = 3,65$; $P = 0,0297$) (Tabela 8). Para os adultos defeituosos oriundos de lagartas tratadas com cloreto de sódio, a maior média foi obtida no tratamento com NaCl a 0,62 mg/g com 62,2% diferindo apenas do NaCl a 3,12 mg/g com 34,3% ($F_{2, 109} = 3,67$; $P = 0,0289$) (Tabela 9).

Em relação à viabilidade das fases de larva ($F_{2, 149} = 0,00$; $P = 1,0000$), pré-pupa ($F_{2, 149} = 0,00$; $P = 1,0000$) e pupa ($F_{2, 149} = 1,19$; $P = 0,3072$) tratadas com extrato de cladódios, não houve diferença significativa para nenhum dos tratamentos (Tabela 8). O mesmo ocorreu para aqueles insetos que foram tratados com dieta contendo cloreto de sódio, para todas as fases de larva ($F_{2, 149} = 0,50$; $P = 0,6076$), pré-pupa ($F_{2, 149} = 0,50$; $P = 0,6076$) e pupa ($F_{2, 149} = 0,23$; $P = 0,7912$) (Tabela 9).

Devido ao número reduzido de adultos emergidos em alguns tratamentos, para avaliar o efeito do extrato de cladódios e do cloreto de sódio na fertilidade dos insetos, foram formados de 1 a 5 casais por tratamento, sendo este resultado corrigido pela razão entre o número de ovos depositados e o número de casais formados. Em relação aos parâmetros obtidos através dos insetos tratados com extrato de cladódios, o maior número de posturas foi observado no tratamento controle com 3,4 diferindo apenas do extrato dialisado a 12,8 mg/g com 1,3 ($F_{2, 70} = 7,28$; $P = 0,0014$). Para o parâmetro número de ovos não houve diferença significativa para nenhum dos tratamentos ($F_{2, 70} = 0,66$; $P = 0,5224$). O número ovos por postura foi maior no tratamento com extrato dialisado a 12,8 mg/g com 195,9 ovos, diferindo apenas do controle com 98,3 ovos. ($F_{2, 70} = 4,66$; $P = 0,0127$).

Quanto a fertilidade, o tratamento com extrato dialisado a 12,8 mg/g foi o que obteve a maior média (62,5%) ($F_{2, 70} = 14,62$; $P < 0,0001$) (Tabela 10). Em relação aos tratamentos realizados com cloreto de sódio, para os parâmetros número de posturas ($F_{2, 74} = 2,12$; $P = 0,1276$) e número de ovos ($F_{2, 74} = 2,40$; $P = 0,0979$) não foi observada nenhuma diferença estatística. Já os parâmetros ovos por postura ($\chi^2 = 8,74$; $P = 0,01$) e fertilidade ($F_{2, 74} = 11,94$; $P < 0,0001$) seguiram o mesmo padrão, onde a menor média foi verificada para os tratamentos com NaCl a 3,12 mg/g com 98,3 e 21,9% respectivamente em relação aos demais (Tabela 11).

O período de pré-oviposição ($F_{2, 12} = 6,98$; $P = 0,0127$) para os insetos provenientes de lagartas alimentadas com extrato de cladódios foi superior no tratamento não dialisado a 12,8 mg/g com 3,3 dias, diferindo do controle e do extrato dialisado a 12,8 mg/g. Para o parâmetro oviposição ($F_{2, 12} = 0,28$; $P = 0,7639$) não foi encontrada diferença significativa entre os tratamentos. Já a duração da pós-oviposição ($F_{2, 12} = 5,71$; $P = 0,0221$) foi maior no extrato não dialisado a 12,8 mg/g com uma média de 2,7 dias, diferindo apenas do extrato dialisado a 12,8 mg/g (Tabela 10). Para aqueles insetos provenientes de lagartas alimentadas com cloreto de sódio, não foi observado diferença significativa para nenhum dos parâmetros de pré-oviposição ($F_{2, 14} = 2,42$; $P = 0,1331$), oviposição ($F_{2, 14} = 0,39$; $P = 0,6881$) e pós-oviposição ($F_{2, 14} = 0,30$; $P = 0,7489$) (Tabela 11).

Efeito Deterrente Alimentar do Extrato de Cladódios de *Opuntia ficus-indica* e do Cloreto de Sódio (NaCl) sobre Lagartas de Terceiro Instar de *Spodoptera frugiperda*. O consumo (g) pelas lagartas de terceiro instar de *S. frugiperda* diferiu significativamente entre os tratamentos. Para as lagartas expostas em meios artificiais tratados por 24 h com extrato de cladódios ($F_{2, 119} = 17,08$; $P < 0,0001$), o menor consumo ocorreu para os tratamentos com extrato dialisado a 12,8 mg/g e o controle (0,3 g), o extrato não dialisado a 12,8 mg/g foi o que obteve o maior consumo (0,4 g) (Tabela 12). Em relação às lagartas expostas em meios artificiais tratados por 24 h com cloreto de

sódio ($F_{2, 119} = 35,34$; $P < 0,0001$), o maior consumo foi obtido no tratamento com NaCl a 3,12 mg/g (0,3 g) diferindo dos demais (Tabela 13).

Para os insetos expostos por 48 h com extrato de cladódios ($F_{2, 119} = 55,30$; $P < 0,0001$), o maior consumo (0,7 g) foi observado no grupo tratado com extrato não dialisado a 12,8 mg/g, sugerindo um efeito fagoestimulante, diferindo do extrato dialisado a 12,8 mg/g e do controle (0,4 g) (Tabela 12). Para os insetos expostos por 48 h com cloreto de sódio, o maior consumo foi verificado no tratamento com NaCl a 3,12 mg/g com 0,4 g, diferindo dos demais ($F_{2, 119} = 14,63$; $P < 0,0001$) (Tabela 13).

Para os fatores em conjunto observou-se uma interação significativa entre os tratamentos e tempos de exposição apenas para os insetos expostos ao extrato de cladódios ($F_{5, 239} = 5,21$; $P = 0,0061$), no qual houve um aumento significativo do consumo larval ao longo do tempo de exposição de 48 h para todos os tratamentos (Tabelas 12 e 13).

Discussão

Nesse estudo, avaliando a análise fitoquímica do extrato de cladódios, foi observada a presença de alguns desses compostos (derivados cinâmicos, açúcares redutores, flavonoides, terpenos e esteroides).

A presença de flavonoides, terpenos e esteroides em cladódios de *O. ficus-indica* já foi previamente descrita. Brás (2011), analisando os constituintes flavonoides, saponinas, terpenos, alcaloides e taninos nesse mesmo extrato em Juazeirinho na Bahia, também encontrou resultado positivo para flavonoides e terpenos. Segundo Vieira & Agostin-Costa (2007) os flavonoides formam uma das maiores classes de compostos fenólicos, apresentando funções de pigmentação e defesa. Já os terpenos possuem atividade repelente, antialimentar, ovicida e larvicida, além de causarem inibição neural nos insetos causando sua morte (Priestley *et al.* 2003, Sellamuthu *et al.* 2013). Soares (2012) também caracterizou os compostos de *O. ficus-indica*, e observou a presença

de flavonoides, triterpenos e esteroides, aos quais ele atribuiu ação fotoprotetora. Oliveira *et al.* (2011) verificaram uma concentração de 7,2% de açúcares redutores em frutos de palma forrageira.

A produção dos metabólitos secundários por uma mesma planta pode variar devido à idade e diferentes condições ambientais em que a mesma for submetida (Gobbo Neto & Lopes 2007), justificando ainda que a resposta negativa para alguns compostos não significa necessariamente sua ausência, mas sim que esses podem estar em quantidades pequenas, sendo insuficiente para uma identificação positiva (Souza 2012).

O período de incubação de ovos de *S. frugiperda* para todos os tratamentos foi de 3 dias. Resultados semelhantes a este trabalho foram descritos por Maroneze & Gallegos (2009) ao avaliar o potencial ovicida do extrato aquoso de *Melia azedarach* (L.) sobre ovos de *S. frugiperda*, eles observaram um período médio de incubação de 3,19 dias nas concentrações testadas de 0,1; 1,0 e 5,0%.

Os valores observados para a viabilidade de ovos tratados com extrato de cladódios refletiram um efeito tóxico do extrato de palma que apesar de não diferir estatisticamente entre os tratamentos foi maior no extrato não dialisado a 3,6% indicando um efeito embriocida. Maroneze & Gallegos (2009) ao estudar o extrato aquoso de *M. azedarach* sobre *S. frugiperda* diferente do presente estudo observado em 3,6% registraram uma viabilidade superior a 82,5% para as concentrações de 0,1; 1,0 e 5,0%. Thomazini *et al.* (2000) também ao avaliar o potencial ovicida de extrato aquoso de folhas de *Trichillia pallida* (Swartz) sobre *Tuta absoluta* (Meyrick) nas concentrações de 1,0 e 5,0%, encontraram uma viabilidade de ovos de 94,6 e 97,2%, respectivamente. O fato dos ovos de insetos possuírem duas camadas (córion e membrana vitelínica) revestindo seus ovos e entre elas frequentemente ocorrer uma camada lipídica ou cerosa, cuja função é impedir a perda de água pelo embrião (Margaritis & Mazzini 1998), dificulta a penetração de compostos tóxicos até o interior do ovo.

Os resultados obtidos mostram que além da influência significativa no desenvolvimento embrionário, também houve uma interferência no comportamento alimentar da espécie. Para as lagartas expostas em meios artificiais tratados por 24 e 48 h com extrato de cladódios, o maior consumo entre todos os tratamentos ocorreu para aquelas dietas tratadas com extratos não dialisados a 12,8 mg/g, sugerindo um efeito fagoestimulante. Corso & Gazzoni (1998), concluíram que a adição de NaCl à 50% da dose recomendada do inseticida melhorava a eficiência daqueles que mesmo na sua ausência, apresentavam efeito positivo sobre os percevejos (Hemíptera: Pentatomidae), essas informações evidenciam que isso tenha acontecido nesse estudo. Quando o extrato continha NaCl, ou quando ele foi exposto a uma concentração de NaCl a 3,12 mg/g, houve um maior efeito em relação aos extratos dialisados e diferentes concentrações de NaCl.

Os resultados observados para a duração larval a partir do primeiro e terceiro instar não seguiram o mesmo modelo. Houve tratamentos que alongaram e outros que inibiram o desenvolvimento de *S. frugiperda*. Segundo Martinez & Emden (2001) o alongamento da duração da fase larval geralmente é devido à reduzida ingestão de alimentos que contenha um inibidor ou vários inibidores, ou ainda, uma inadequação nutricional do substrato alimentar, já o retardamento é devido à reduzida ingestão de alimentos e pouca habilidade da conversão de nutrientes em crescimento.

As pupas obtidas a partir do primeiro instar seguiram o mesmo padrão da duração da fase larval, já para as pupas obtidas a partir do terceiro instar, o resultado observado foi o contrário, para aqueles insetos em que foram tratados com extrato de cladódios e que apresentaram um maior alongamento na fase larval, houve um retardamento na fase de pupa. Maroneze & Gallegos (2009) verificaram nos seus estudos que as pupas provenientes de lagartas intoxicadas pelo extrato aquoso de *M. azedarach* a 0,1%, não apresentaram diferenças em relação ao tratamento controle quanto à duração. Já Santiago *et al.* (2008) constataram que extrato aquoso de frutos verdes de *Ricinus*

communis (L.) a 10% promoveu aumento na duração da fase pupal de *S. frugiperda*, diferindo significativamente da testemunha.

Lima *et al.* (2006) descrevem que o peso das pupas está diretamente relacionado ao desempenho do inseto na fase larval, pois à medida que as lagartas consomem o alimento, as pupas também aumentam de peso. O resultado desse trabalho diferiu um pouco desse conceito, o peso pupal para alguns tratamentos de primeiro e terceiro instar foi inversamente proporcional ao período de duração larval.

Analisando os dados da Tabela 4, pode-se observar que o extrato não dialisado de *O. ficus-indica* a 12,8 mg/g, exerceu forte efeito sobre a fase adulta do inseto, na qual foi observado uma alongamento na sua longevidade, que pode ser considerado algo negativo para o seu controle, pois a praga permanecerá mais tempo na natureza.

Também foi verificada uma porcentagem considerável de adultos defeituosos. O principal defeito constatado nos adultos foi a má formação de asas e antenas, observado em todos os indivíduos deformados. Bogorni & Vendramim (2005) trabalhando com extrato de *T. pallida* aplicados às folhas de milho e oferecidos a *S. frugiperda*, observaram que esses extratos além de afetarem os períodos de larva e pupa, também causaram deformação nos adultos.

Com base nos resultados obtidos, foi possível perceber que os efeitos naqueles insetos expostos a partir do primeiro instar, foram encontrados nos parâmetros de viabilidade de ovos, duração e viabilidade larval, pré-pupal e pupal, longevidade, além do peso pupal e do consumo alimentar. Já em relação aos insetos que foram tratados a partir do terceiro instar também foi observado efeitos sobre sua pré-oviposição e pós-oviposição, e também no seu consumo alimentar. Diante dessa perspectiva, pode se concluir que o NaCl quando atuando sozinho ou adicionado ao extrato de cladódios de *O. ficus-indica* alterou significativamente o desenvolvimento de *S. frugiperda*, afetando algumas vezes em seus parâmetros reprodutivos.

Agradecimentos

Ao Programa de Pós-graduação em Entomologia Agrícola da Universidade Federal Rural de Pernambuco (PPGEA/UFRPE) por permitirem o desenvolvimento dessa pesquisa e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de doutorado ao primeiro autor.

Literatura Citada

- Barros, E.M., J.B. Torres & A.F. Bueno. 2010.** Oviposição, Desenvolvimento e Reprodução de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em Diferentes Hospedeiros de Importância Econômica. Neotrop. Entomol. 39: 996-100.
- Bogorni, P.C. & J.D. Vendramim. 2005.** Efeito subletal de extratos aquosos de *Trichilia* spp. sobre o desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) em milho. Neo. Entomol. 34: 311-317.
- Brás, A.A.Q. 2011.** Caracterização do extrato de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill e avaliação de sua atividade fotoprotetora. Trabalho de conclusão de curso, UEPB, Campina Grande, 20p.
- Casmuz, A., M.L. Juárez, M.G. Socías, M.G. Murúa, S. Prieto, S. Medina, E. Willink & G. Gastaminza. 2010.** Revisión de los hospederos del gusano cogollero del maíz, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Rev. Soc. Entomol. Argent 69: 209-231.
- Corso, I.C. & D.L. Gazzoni. 1998.** Sodium chloride: an insecticide enhancer for controlling pentatomids on soybeans. Pesqu. Agropec. Bras. 33: 1563-1571.
- Cruz, I. 2002.** Manejo da resistência de insetos-praga a inseticidas, com ênfase em *Spodoptera frugiperda* (Smith). Sete Lagoas, Embrapa Milho e Sorgo, 15p. (Embrapa Milho e Sorgo. Documentos, 21).
- Cruz, I., F.H. Valicente, P.A. Viana & S.M. Mendes. 2013.** Risco potencial das pragas de milho e de sorgo no Brasil. Sete Lagoas, Embrapa Milho e Sorgo, 40p. (Embrapa Milho e Sorgo. Documentos, 150).
- Galati, E.M., M.N. Tripodo, A. Trovato, N. Miceli & M.T. Monforte. 2002.** Biological effect of *Opuntia ficus indica* (L) Mill. (Cactaceae) waste matter. Note I: diuretic activity. J. Ethnopharmacol. 79: 17-21.
- Gobbo Neto, G.L. & N. Lopes. 2007.** Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. Quím. Nova 30: 374-381.

- Greene, G.L., N.C. Leppla & W.A. Dickerson. 1976.** Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. *J. Econ. Entomol.* 69: 487-488.
- Loro, J.F., I. Del Rio & L. Pérez-Santana. 1999.** Preliminary studies of analgesis and anti-inflammatory properties of *Opuntia dillenii* aqueous extract. *J. Ethnopharmacol.* 67: 213-218.
- Lowry, O.H., N.J. Rosebrough, A.L. Farr & R.J. Randall. 1951.** Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275.
- Lima, F.W.N., O.S. Ohashi, F.R.S. Souza & F.S. Gomes. 2006.** Avaliação de acessos de milho para resistência a *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em laboratório. *Acta Amaz.* 36: 147-150.
- Margaritis, L.H. & M. Mazzini. 1998.** Structure of the egg. In: Harrison, F.W.; Locke, M. *Microscopic anatomy of invertebrates*. New York: Wiley-Liss. 39: 995-1037.
- Maroneze, D.M. & D.M.N. Gallegos. 2009.** Efeito de extrato aquoso de *Melia azedarach* no desenvolvimento das fases imatura e reprodutiva de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). *Ciê. Agrár.* 30: 537-550.
- Martinez, S.S. & H.F.V. Emden. 2001.** Redução do crescimento, deformidades e mortalidade *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae) causadas por Azadiractina. *Neotrop. Entomol.* 30: 113-125.
- Nagoshi, R.N. 2009.** Can the amount of corn acreage predict fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) infestation levels in nearby cotton. *J. Econ. Entomol.* 102: 210-218.
- Oliveira, M.S.S., A.R. Roel, E.J. Arruda & A.S. Marques. 2007.** Eficiência de produtos vegetais no controle da lagarta-do-cartucho-do-milho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). *Agrotécnica* 31: 326-331.
- Oliveira, E.A., S.F. Junqueira & R.J. Mascarenhas. 2011.** Caracterização físico-química e nutricional do fruto da palma (*Opuntia ficus-indica* L. Mill) cultivada no sertão do sub-médio São Francisco. *Holos* 3: 113-119.
- Paiva, P.M.G., G.M.S. Santana, I.F.A.C. Souza, L.P. Albuquerque, A.C. Agra-Neto, A.C. Albuquerque, L.A. Luz, T.H. Napoleão & L.C.B.B. Coelho. 2011.** Effect of lectins from *Opuntia ficus-indica* cladodes and *Moringa oleifera* seeds on survival of *Nasutitermes corniger*. *Internat. Biodeteriorat. Biodegrad.* 65: 982-989.
- Priestley, C.M., E.M. Williamson, K.A. Wafford & D.B. Satelle. 2003.** Thymol, a constituent of thyme essential oil, is a positive allosteric modulator of human GABAA receptors and a homo-oligomeric GABA receptor from *Drosophila melanogaster*. *Br. J. Pharmacol.* 140: 1363-1372.
- Santiago, G.P., L.E.M. Pádua, P.R.R. Silva, E.M.S. Carvalho & C.B. Maias. 2008.** Efeitos de extratos de plantas na biologia de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) mantida em dieta artificial. *Ciênc. Agrotec.* 32: 792-796.

- SAS Institute. 2002.** SAS/STAT User's guide, version 8.02, TS level 2MO. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Sellamuthu, P.S., D. Sivakumar & P. Soundy. 2013.** Antifungal activity and chemical composition of thyme, peppermint and citronella oils in vapor phase against avocado and peach postharvest pathogens. *J. Food Saf.* 33: 86-93.
- Soares, B.S.A. 2012.** Obtenção e caracterização do extrato nebulizado da *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill e avaliação da atividade antimicrobiana e fotoprotetora. Trabalho de conclusão de curso. UEPB, Campina Grande, 24p.
- Souza, C.M.P. 2012.** *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.: caracterização físico-química e avaliação do efeito antioxidante, antibacteriano, fotoprotetor e inibidor da tirosinase. Dissertação de Mestrado. UFPE, Recife, 107p.
- Tavares, R.M., J.E.R. Silva, G.S. Alves, T.C. Alves, S.M. Silva & J.P.A.R. Cunha. 2017.** Tecnologia de aplicação de inseticidas no controle da lagarta-do-cartucho na cultura do milho. *Rev. Bras. Milho Sorgo* 16: 30-42.
- Thomazini, A.P.B.W., J.D. Vendramim & M.T.R. Lopes. 2000.** Extratos aquosos de *Trichilia pallida* e a traça-do-tomateiro. *Sci. agric.* 57: 13-17.
- Vianna, U.R., D. Pratissoli, J.C. Zanuncio, E.R. Lima, J. Brunner, F.F. Pereira & J.E. Serrão. 2009.** Insecticide toxicity to *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) females and effect on descendant generation. *Ecotoxicology* 18: 180-186.
- Vieira, R.F. & T.S. Agostin-Costa. 2007.** Caracterização química de metabólitos secundários em germoplasma vegetal, p. 343-376. In L.L. Nass (ed.), *Recursos Genéticos Vegetais*. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 858p.

Tabela 1. Sistemas de desenvolvimento e reveladores utilizados para análise de metabólitos secundários no extrato de cladódios de *Opuntia ficus-indica* por cromatografia em camada delgada.

Classe de metabólito	Sistema ¹	Revelador	Padrão
Polifenóis (Taninos Hidrolisáveis)	90:5:5	NEU + PEG	Ácido gálico
Taninos condensados	90:5:5	Vanilina clorídrica	Catequina
Flavonoides	90:5:5	NEU + PEG	Quercetina e Rutina
Derivados Cinâmicos	90:5:5	NEU + PEG	Ácido Cafeico e Clorogênico
Terpenos e Esteroides	70:30	Lieberman-Burchard + Δ	β-Sitosterol
Cumarinas	50:50:50	KOH + Δ	Cumarina
Saponinas	100:11:11:26	Lieberman-Burchard + Δ	Escina
Açúcares redutores	50:20:10:10	Timol + H ₂ SO ₄ 10% + Δ	D-frutose
Alcaloides	50:6,75:5	Dragendorf	Nitrato de pilocarpina
Antraquinonas	50:6,75:5	HNO ₃ + KOH10%	Senosídeo A

¹Sistema: 90:5:5 – Acetato de etila: ácido fórmico: água; 70:30 – Tolueno: acetato; 50:50:50 – Éter etílico: acetato de etila: ácido acético 10% (saturação); 100:11:11:26 - Acetato de etila: ácido acético: ácido fórmico: água; 50:20:10:10 - Acetato de etila: ácido acético: ácido fórmico: água; 50:6,75:5 - Acetato de etila: metanol: água.

Tabela 2. Efeito do extrato de cladódios de *Opuntia ficus-indica* sobre a viabilidade média (%) de ovos de *Spodoptera frugiperda* e o tempo requerido para eclosão (dias). Temp.: $27 \pm 1^\circ\text{C}$, UR $70 \pm 10\%$ e 12h de fotofase.

Tratamento	Extrato de cladódios		
	Controle ¹	Não dialisado ¹	Dialisado ¹
Viabilidade (%)	$35,3 \pm 17,13$ a	$18,7 \pm 18,67$ a	$65,3 \pm 8,66$ a
Tempo requerido para eclosão (Dias)	$3,0 \pm 0,00$ a	$3,0 \pm 0,00$ a	$3,0 \pm 0,00$ a

Controle: NaCl a 0,15 M. Concentração do extrato de cladódios dialisado ou não: 3,6% (m/v). As concentrações do extrato refletem a massa (g) presente em cada 100 mL de solução. Os resultados são expressos em médias entre três replicatas \pm o desvio padrão. ¹Médias (\pm EP) seguidas pela mesma letra na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 3. Efeito do cloreto de sódio (NaCl) sobre a viabilidade média (%) de ovos de *Spodoptera frugiperda* e o tempo requerido para eclosão (dias). Temp.: $27 \pm 1^\circ\text{C}$, UR $70 \pm 10\%$ e 12h de fotofase.

Cloreto de sódio-NaCl			
Tratamento	Controle ¹	0,03 M ¹	0,15 M ¹
Viabilidade (%)	100,0 \pm 0,00 a	68,0 \pm 5,03 ab	35,3 \pm 17,13 b
Tempo requerido para eclosão (Dias)	3,0 \pm 0,00 a	3,0 \pm 0,00 a	3,0 \pm 0,00 a

Controle: água destilada. Concentração de cloreto de sódio (NaCl) a 0,03 e 0,15 M. As concentrações do extrato refletem a massa (g) presente em cada 100 mL de solução. Os resultados são expressos em médias entre três replicatas \pm o desvio padrão. ¹Médias (\pm EP) seguidas pela mesma letra na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 4. Efeito do extrato de cladódios de *Opuntia ficus-indica* sobre os parâmetros biológicos de *Spodoptera frugiperda* tratadas a partir do 1º instar larval. Temp.: $27 \pm 1^\circ\text{C}$, UR $70 \pm 10\%$ e 12h de fotofase.

Parâmetros	Extrato de cladódios		
	Controle ¹	Não dialisado ¹	Dialisado ¹
Duração larval (Dias)	$15,9 \pm 0,42$ a	$14,1 \pm 0,28$ b	$14,3 \pm 0,26$ b
Duração pré-pupal (Dias)	$2,5 \pm 0,10$ a	$2,5 \pm 0,13$ a	$1,8 \pm 0,08$ b
Duração pupal (Dias)	$11,2 \pm 0,25$ a	$10,2 \pm 0,34$ b	$10,3 \pm 0,18$ b
Peso pupal (mg)	$228,2 \pm 6,63$ b	$217,8 \pm 6,21$ b	$271,8 \pm 5,60$ a
Viabilidade larval (%)	$60,0 \pm 6,99$ b	$70,0 \pm 6,54$ ab	$90,0 \pm 4,28$ a
Viabilidade pré-pupal (%)	$58,0 \pm 7,05$ b	$70,0 \pm 6,54$ ab	$86,0 \pm 4,95$ a
Viabilidade pupal (%)	$46,0 \pm 7,11$ b	$48,0 \pm 7,13$ b	$74,0 \pm 6,26$ a
Longevidade (Dias)	$5,5 \pm 0,79$ b	$8,3 \pm 0,72$ a	$7,2 \pm 0,49$ ab
Adultos defeituosos (%)	$69,2 \pm 9,23$ a	$62,5 \pm 10,09$ a	$64,9 \pm 7,95$ a

Controle: NaCl a 3,12 mg/g. Concentração do extrato de cladódios dialisado ou não: 12,8 mg/g.

¹Médias (\pm EP) seguidas pela mesma letra na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 5. Efeito do cloreto de sódio (NaCl) sobre os parâmetros biológicos de *Spodoptera frugiperda* tratadas a partir do 1º instar larval. Temp.: $27 \pm 1^\circ\text{C}$, UR $70 \pm 10\%$ e 12h de fotofase.

Parâmetros	Cloreto de sódio-NaCl		
	Controle ^{1,2}	0,62 (mg/g) ^{1,2}	3,12 (mg/g) ^{1,2}
Duração larval (Dias)	$13,8 \pm 0,15$ b	$15,5 \pm 0,26$ a	$15,9 \pm 0,42$ a
Duração pré-pupal (Dias)	$1,6 \pm 0,08$ b	$2,7 \pm 0,19$ a	$2,5 \pm 0,10$ a
Duração pupal (Dias)	$10,5 \pm 0,19$ b	$11,3 \pm 0,34$ a	$11,2 \pm 0,25$ a
Peso pupal (mg)	$274,1 \pm 5,80$ a	$236,4 \pm 8,73$ b	$228,2 \pm 6,63$ b
Viabilidade larval (%)	$96,0 \pm 2,79$ a	$44,0 \pm 7,09$ b	$60,0 \pm 6,99$ b
Viabilidade pré-pupal (%)	$96,0 \pm 2,79$ a	$44,0 \pm 7,09$ b	$58,0 \pm 7,05$ b
Viabilidade pupal (%)	$86,0 \pm 4,95$ a	$34,0 \pm 6,76$ b	$46,0 \pm 7,11$ b
Longevidade (Dias)	$6,1 \pm 0,50$ a	$6,9 \pm 0,99$ a	$5,5 \pm 0,79$ a
Adultos defeituosos (%)	$58,1 \pm 7,61$ a	$58,8 \pm 12,30$ a	$69,2 \pm 9,23$ a

Controle: água destilada. Concentração de cloreto de sódio (NaCl) a 0,62 e 3,12 mg/g. ¹Médias (\pm EP) seguidas pela mesma letra na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ²Médias (\pm EP) seguidas pela mesma letra na linha, não diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 6. Parâmetros reprodutivos de *Spodoptera frugiperda* provenientes de lagartas alimentadas durante o 1º instar com meio artificial contendo extrato de cladódios de *Opuntia ficus-indica*. Temp.: $27 \pm 1^\circ\text{C}$, UR $70 \pm 10\%$ e 12h de fotofase.

Extrato de cladódios			
Parâmetros	Controle (n=1) ¹	Não dialisado (n=3) ¹	Dialisado (n=4) ¹
No. Posturas	1,4 ± 0,29 a	1,2 ± 0,15 a	1,9 ± 0,30 a
No. Ovos	183,9 ± 52,38 a	181,9 ± 37,28 a	275,2 ± 48,18 a
Ovos/Postura	133,2 ± 35,64 a	149,0 ± 22,15 a	189,7 ± 41,80 a
Fertilidade (%)	34,6 ± 14,28 a	64,2 ± 10,07 a	70,6 ± 8,22 a
Pré-oviposição	3,0 ± 0,00 a	4,0 ± 1,00 a	1,8 ± 0,25 a
Oviposição	8,0 ± 0,00 a	6,0 ± 0,00 a	5,3 ± 1,18 a
Pós-oviposição	0,0 ± 0,00 a	0,7 ± 0,33 a	1,3 ± 0,75 a

Controle: NaCl a 3,12 mg/g. Concentração do extrato de cladódios dialisado ou não: 12,8 mg/g.

¹Médias (± EP) seguidas pela mesma letra na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. n= Número de casais formados para cada tratamento.

Tabela 7. Parâmetros reprodutivos de *Spodoptera frugiperda* provenientes de lagartas alimentadas durante o 1º instar com meio artificial contendo cloreto de sódio (NaCl). Temp.: 27 ± 1°C, UR 70 ± 10% e 12h de fotofase.

Cloreto de sódio-NaCl			
Parâmetros	Controle (n=5) ¹	0,62 (mg/g) (n=3) ¹	3,12 (mg/g) (n=1) ¹
No. Posturas	2,1 ± 0,37 a	2,1 ± 0,77 a	1,4 ± 0,29 a
No. Ovos	254,1 ± 32,50 a	251,6 ± 87,06 a	183,9 ± 52,38 a
Ovos/Postura	158,6 ± 29,19 a	127,8 ± 26,58 a	133,2 ± 35,64 a
Fertilidade (%)	66,1 ± 7,33 a	50,5 ± 12,01 a	34,6 ± 14,28 a
Pré-oviposição	1,4 ± 0,40 a	4,3 ± 2,33 a	3,0 ± 0,00 a
Oviposição	4,6 ± 1,80 a	3,3 ± 1,20 a	8,0 ± 0,00 a
Pós-oviposição	0,2 ± 0,20 a	2,3 ± 1,45 a	0,0 ± 0,00 a

Controle: água destilada. Concentração de cloreto de sódio (NaCl) a 0,62 e 3,12 mg/g. ¹Médias (± EP) seguidas pela mesma letra na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. n= Número de casais formados para cada tratamento.

Tabela 8. Efeito do extrato de cladódios de *Opuntia ficus-indica* sobre os parâmetros biológicos de *Spodoptera frugiperda* tratadas a partir do 3º instar larval. Temp.: $27 \pm 1^\circ\text{C}$, UR $70 \pm 10\%$ e 12h de fotofase.

Parâmetros	Extrato de cladódios		
	Controle ¹	Não dialisado ¹	Dialisado ¹
Duração larval (Dias)	$5,1 \pm 0,11$ a	$5,0 \pm 0,09$ a	$4,5 \pm 0,15$ b
Duração pré-pupal (Dias)	$2,1 \pm 0,05$ a	$1,9 \pm 0,06$ a	$1,9 \pm 0,10$ a
Duração pupal (Dias)	$8,9 \pm 0,17$ b	$9,5 \pm 0,18$ b	$10,6 \pm 0,14$ a
Peso pupal (mg)	$245,1 \pm 4,86$ a	$234,2 \pm 3,59$ ab	$230,2 \pm 3,97$ b
Viabilidade larval (%)	$98,0 \pm 2,00$ a	$98,0 \pm 2,00$ a	$98,0 \pm 2,00$ a
Viabilidade pré-pupal (%)	$98,0 \pm 2,00$ a	$98,0 \pm 2,00$ a	$98,0 \pm 2,00$ a
Viabilidade pupal (%)	$70,0 \pm 6,54$ a	$60,0 \pm 6,99$ a	$74,0 \pm 6,26$ a
Longevidade (Dias)	$4,4 \pm 0,64$	$3,4 \pm 0,68$ b	$6,8 \pm 0,53$ a
Adultos defeituosos (%)	$34,3 \pm 8,14$ b	$66,7 \pm 8,75$ a	$54,1 \pm 8,30$ ab

Controle: NaCl a 3,12 mg/g. Concentração do extrato de cladódios dialisado ou não: 12,8 mg/g.

¹Médias (\pm EP) seguidas pela mesma letra na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 9. Efeito do cloreto de sódio (NaCl) sobre os parâmetros biológicos de *Spodoptera frugiperda* tratadas a partir do 3º instar larval. Temp.: $27 \pm 1^\circ\text{C}$, UR $70 \pm 10\%$ e 12h de fotofase.

Parâmetros	Cloreto de sódio-NaCl		
	Controle ¹	0,62 (mg/g) ¹	3,12 (mg/g) ¹
Duração larval (Dias)	$5,4 \pm 0,08$ a	$5,4 \pm 0,07$ a	$5,1 \pm 0,11$ b
Duração pré-pupal (Dias)	$1,7 \pm 0,08$ b	$1,8 \pm 0,11$ b	$2,1 \pm 0,05$ a
Duração pupal (Dias)	$9,7 \pm 0,12$ a	$9,5 \pm 0,13$ a	$8,9 \pm 0,17$ b
Peso pupal (mg)	$213,5 \pm 3,80$ b	$219,5 \pm 3,54$ b	$245,1 \pm 4,86$ a
Viabilidade larval (%)	$100,0 \pm 0,00$ a	$98,0 \pm 2,00$ a	$98,0 \pm 2,00$ a
Viabilidade pré-pupal (%)	$100,0 \pm 0,00$ a	$98,0 \pm 2,00$ a	$98,0 \pm 2,00$ a
Viabilidade pupal (%)	$76,0 \pm 6,10$ a	$74,0 \pm 6,26$ a	$70,0 \pm 6,54$ a
Longevidade (Dias)	$6,2 \pm 0,61$ a	$5,4 \pm 0,52$ a	$4,4 \pm 0,64$ a
Adultos defeituosos (%)	$36,8 \pm 7,93$ ab	$62,2 \pm 8,08$ a	$34,3 \pm 8,14$ b

Controle: água destilada. Concentração de cloreto de sódio (NaCl) a 0,62 e 3,12 mg/g. ¹Médias (\pm EP) seguidas pela mesma letra na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 10. Parâmetros reprodutivos de *Spodoptera frugiperda* provenientes de lagartas alimentadas durante o 3º instar com meio artificial contendo extrato de cladódios de *Opuntia ficus-indica*. Temp.: $27 \pm 1^\circ\text{C}$, UR $70 \pm 10\%$ e 12h de fotofase.

Extrato de cladódios			
Parâmetros	Controle (n=5) ¹	Não dialisado (n=3) ¹	Dialisado (n=5) ¹
No. Posturas	$3,4 \pm 0,56$ a	$2,1 \pm 0,30$ ab	$1,3 \pm 0,10$ b
No. Ovos	$189,8 \pm 24,73$ a	$241,7 \pm 54,74$ a	$226,4 \pm 28,53$ a
Ovos/Postura	$98,3 \pm 19,21$ b	$115,7 \pm 23,23$ ab	$195,9 \pm 29,34$ a
Fertilidade (%)	$21,9 \pm 6,34$ b	$13,2 \pm 5,73$ b	$62,5 \pm 6,89$ a
Pré-oviposição	$2,0 \pm 0,31$ b	$3,3 \pm 0,33$ a	$1,8 \pm 0,20$ b
Oviposição	$6,4 \pm 1,63$ a	$5,0 \pm 3,05$ a	$6,8 \pm 0,48$ a
Pós-oviposição	$0,8 \pm 0,20$ ab	$2,7 \pm 1,20$ a	$0,2 \pm 0,20$ b

Controle: NaCl a 3,12 mg/g. Concentração do extrato de cladódios dialisado ou não: 12,8 mg/g.

¹Médias (\pm EP) seguidas pela mesma letra na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. n= Número de casais formados para cada tratamento.

Tabela 11. Parâmetros reprodutivos de *Spodoptera frugiperda* provenientes de lagartas alimentadas durante o 3º instar com meio artificial contendo cloreto de sódio (NaCl). Temp.: 27 ± 1°C, UR 70 ± 10% e 12h de fotofase.

Parâmetros	Cloreto de sódio-NaCl		
	Controle (n=5) ^{1,2}	0,62 (mg/g) (n=5) ^{1,2}	3,12 (mg/g) (n=5) ^{1,2}
No. Posturas	2,7 ± 0,61 a	1,9 ± 0,21 a	3,4 ± 0,56 a
No. Ovos	271,8 ± 37,97 a	281,5 ± 39,49 a	189,9 ± 24,73 a
Ovos/Postura	163,1 ± 28,42 a	185,5 ± 30,79 a	98,3 ± 19,21 b
Fertilidade (%)	45,8 ± 7,86 a	67,5 ± 5,13 a	21,9 ± 6,34 b
Pré-oviposição	3,8 ± 1,11 a	2,0 ± 0,00 a	2,0 ± 0,31 a
Oviposição	6,6 ± 0,50 a	5,2 ± 1,24 a	6,4 ± 1,63 a
Pós-oviposição	0,4 ± 0,40 a	0,8 ± 0,58 a	0,8 ± 0,20 a

Controle: água destilada. Concentração de cloreto de sódio (NaCl) a 0,62 e 3,12 mg/g. ¹Médias (± EP) seguidas pela mesma letra na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. ²Médias (± EP) seguidas pela mesma letra na linha, não diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis ao nível de 5% de probabilidade. n= Número de casais formados para cada tratamento.

Tabela 12. Consumo alimentar (g) de lagartas de 3^o instar de *Spodoptera frugiperda* em meio artificial contendo extrato de cladódios de *Opuntia ficus-indica*, após 24 e 48 h de exposição em teste sem chance de escolha. Temp.: $27 \pm 1^{\circ}\text{C}$, UR $70 \pm 10\%$ e 12h de fotofase.

Extrato de cladódios			
Tratamento	Controle ¹	Não dialisado ¹	Dialisado ¹
Consumo 24h	$0,3 \pm 0,01$ Bb	$0,4 \pm 0,02$ Ba	$0,3 \pm 0,02$ Bb
Consumo 48h	$0,4 \pm 0,01$ Ab	$0,7 \pm 0,02$ Aa	$0,4 \pm 0,02$ Ab

Controle: NaCl a 3,12 mg/g. Concentração do extrato de cladódios dialisado ou não: 12,8 mg/g.

¹Médias (\pm EP) seguidas de letras distintas, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, indicam diferenças significativas entre os tratamentos pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 13. Consumo alimentar (g) de lagartas de 3^o instar de *Spodoptera frugiperda* em meio artificial contendo cloreto de sódio (NaCl), após 24 e 48h de exposição em teste sem chance de escolha. Temp.: 27 ± 1°C, UR 70 ± 10% e 12h de fotofase.

Tratamento	Cloreto de sódio-NaCl		
	Controle ¹	0,62 (mg/g) ¹	3,12 (mg/g) ¹
Consumo 24h	0,2 ± 0,01 Ab	0,2 ± 0,01 Ab	0,3 ± 0,01 Aa
Consumo 48h	0,3 ± 0,02 Ab	0,3 ± 0,01 Ab	0,4 ± 0,01 Aa

Controle: água destilada. Concentração de cloreto de sódio (NaCl) a 0,62 e 3,12 mg/g. ¹Médias (± EP) seguidas de letras distintas, maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas, indicam diferenças significativas entre os tratamentos pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

CAPÍTULO 3

EFEITOS DELETÉRIOS DO EXTRATO E DA LECTINA DE CLADÓDIOS DE *Opuntia ficus-indica* MILL. (CACTACEAE) SOBRE *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH)
(LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)¹

FRANCIELI M. SANTOS², REGINALDO BARROS², EMMANUEL V. PONTUAL³, ISABELLA C.V. NOVA³, ELAINE C.B. FERREIRA², THIAGO H. NAPOLEÃO⁴, THAMARA F.P. VASCONCELOS⁴,
GLAUCILANE S. CRUZ³ E VALÉRIA W. TEIXEIRA³

²Departamento de Agronomia – Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE, Brasil.

³Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros s/n, 52171-900 Recife, PE, Brasil.

⁴Departamento de Bioquímica-CCB, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, s/n - Cidade Universitária, 50670-901 Recife, Pernambuco, Brasil.

¹Santos, F.M., R. Barros., E.V. Pontual., I.C. Vila Nova., E.C.B. Ferreira., T.H. Napoleão, T.F.P. Vasconcelos., G.S. Cruz & V.W. Teixeira. Efeitos deletérios do extrato e da lectina de cladódios de *Opuntia ficus-indica* Mill. (Cactaceae) sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). A ser submetido.

RESUMO - Este trabalho avaliou o efeito da lectina (*OfiL*) de cladódios de *Opuntia ficus-indica* na sobrevivência de lagartas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) e investigou o extrato de cladódios e *OfiL* quanto ao efeito sobre enzimas digestivas das lagartas. Adicionalmente, são relatados também os efeitos do extrato de cladódios na histologia e histoquímica do intestino médio das lagartas. *OfiL* não causou mortalidade das lagartas, entretanto, houve uma redução na duração das fases de larva e pupa, e um aumento na viabilidade pupal e na longevidade dos adultos. Atividades tripsina símile, celulase do tipo exoglucanase e α -amilase foram detectadas nos extratos de intestino das lagartas. A presença do extrato de cladódios e de *OfiL* não interferiu na atividade de tripsina símile, contudo causou redução e aumento, respectivamente, das atividades de exoglucanase, e α -amilase. O tratamento com o extrato de cladódios resultou na desorganização do epitélio intestinal, desaparecimento da matriz peritrófica, vacuolização no citoplasma de células colunares e aumento no tamanho das células caliciformes. A análise histoquímica revelou uma redução na quantidade de polissacarídeos neutros e no teor de proteínas para lagartas tratadas com o extrato de cladódios. Em conclusão, a toxicidade do extrato de cladódios envolve o desbalanço da atividade de enzimas digestivas e danos à morfologia e fisiologia do intestino médio de lagartas de *S. frugiperda*. Em adição, ensaios futuros ainda são necessários para determinar a participação de *OfiL* no efeito inseticida do extrato.

PALAVRAS-CHAVE: Lagarta-do-cartucho, enzimas digestivas, toxicidade, histologia, histoquímica

DELETERIOUS EFFECTS OF THE EXTRACT AND LECTIN OF CLADODES *Opuntia ficus-indica* MILL. (CACTACEAE) ON *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

ABSTRACT – This study evaluated the effect of *Opuntia ficus-indica* cladodes (*OfiL*) on the survival of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) larvae and investigated the cladodes and *OfiL* extract for the effect on larvae digestive enzymes. In addition, the effects of the cladodes extract on the histology and histochemistry of the midgut of the larvae are also reported. *OfiL* did not cause the death of larvae, however, there was a reduction in larvae and pupa stages duration, and an increase in pupal viability and longevity of adults. Trypsin simile, exoglucanase cellulase and α -amylase activities were detected in the intestinal extracts from larvae. The presence of the cladodes and *OfiL* extract did not interfere with simian trypsin activity, however, it caused a reduction and an increase, respectively, in the activities of exoglucanase and α -amylase. Treatment with the cladodes extract resulted in disorganization of the intestinal epithelium, disappearance of the peritrophic matrix, vacuolization in the cytoplasm of columnar cells and increasing in the size of goblet cells. Histochemical analysis revealed a reduction in the amount of neutral polysaccharides and protein content for larvae treated with cladodes extract. In conclusion, the toxicity of the cladodes extract involves the imbalance of the digestive enzymes activity and damages to the morphology and physiology of the midgut of *S. frugiperda* larvae. In addition, future trials are still required to determine the participation of *OfiL* in the insecticidal effect of the extract.

KEY WORDS: Fall armyworm, digestive enzymes, toxicity, histology, histochemistry

Introdução

No Brasil, a lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) destaca-se por ser um inseto polífago e se alimentar de mais de 80 espécies de plantas. Essa lagarta é considerada praga-chave na cultura do milho, que representa um dos principais cereais de importância socioeconômica (Pogue 2002, Oliveira *et al.* 2007, Silva *et al.* 2017). O uso de inseticidas sintéticos ainda é o método mais utilizado no seu controle, o que além da persistência e toxicidade ao meio ambiente, vem favorecendo a seleção de populações de insetos resistentes, fato esse que tem dificultado o seu manejo (Diez-Rodríguez & Omoto 2001, Yu & McCord Jr 2007). Para minimizar os danos ocasionados pelo uso indiscriminado de inseticidas, o uso de substâncias extraídas de plantas com o poder inseticida tem sido cada vez mais estudado por serem eficientes e menos prejudiciais ao meio ambiente (Oliveira *et al.* 2007).

A espécie *Opuntia ficus-indica* Mill. (Cactaceae) conhecida mais popularmente como palma forrageira, é bastante utilizada tanto na alimentação animal quanto na fabricação de sucos, bebidas alcoólicas, compotas e na medicina popular por apresentar efeitos antiulceroso, cicatrizante e diurético (Sawaya *et al.* 1983, Galati *et al.* 2002, Lee *et al.* 2002, Andrade *et al.* 2006). Santana *et al.* (2009), analisando cladódios de *O. ficus-indica*, comprovaram a presença de lectinas (*OfiL*) com potencial fungicida. As lectinas são proteínas que se ligam a carboidratos e estão envolvidas em mecanismos de defesa de animais e plantas (Paiva *et al.* 2011).

Essas proteínas têm sido descritas como agente antibacteriano, antifúngico, antitumoral e inseticida (Paiva *et al.* 2011). Nesse último caso, vem sendo avaliadas como agente para controle de insetos de diferentes ordens incluindo Coleoptera, Diptera, Isoptera e Lepidoptera, interferindo no seu desenvolvimento, alimentação, reprodução e sobrevivência em diferentes estágios de vida (Sá *et al.* 2008, Paiva *et al.* 2011, Lam & Ng 2011).

A região interna dos insetos de maior exposição com o meio ambiente é o sistema digestório. Dessa forma, o conhecimento do intestino e sua função são extremamente importantes para o

desenvolvimento de estratégias que visem interferir na fisiologia e bioquímica desta região (Amorim 2007). Nos insetos, o trato digestivo é compartimentalizado em três regiões principais: intestino anterior ou estomodeu, intestino médio ou mesêntero, e intestino posterior ou proctodeu, sendo o mesêntero o principal sítio de digestão e absorção de nutrientes (Chapman 1998, Gullan & Cranston 2012). Grande parte dos insetos apresenta uma delicada película que separa o alimento do epitélio, denominada de membrana peritrófica que é composta de quitina, proteínas e carboidratos; essa membrana forma uma estrutura semipermeável que permite a passagem de nutrientes, moléculas de defesas e enzimas, protegendo a camada epitelial da exposição direta a microrganismos e toxinas e subdividindo o mesêntero em espaço endoperitrófico (local onde se encontra o alimento) e espaço ectoperitrófico (espaço entre a membrana peritrófica e o epitélio do intestino médio) (Terra & Ferreira 2012, Gullan & Cranston 2012).

As lectinas inseticidas podem agir ligando-se a quitina e resíduos de N-acetilglicosamina da membrana peritrófica, causando danos morfológicos no trato digestivo e afetando a digestão e absorção de nutrientes, ligando-se também a glicoconjugados da membrana celular ao longo do canal alimentar afetando as vias de sinalização e os processos de transporte, além de desestabilizar o metabolismo dos insetos interferindo nas funções enzimáticas, estimulando ou inibindo essas atividades (Carlini & Grossi-de-Sá 2002, Macedo *et al.* 2007, Fitches *et al.* 2008, Paiva *et al.* 2012, Napoleão *et al.* 2012).

Diante desse cenário, esse trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do extrato de cladódios de *O. ficus-indica* e da lectina (*OfiL*) sobre atividade de enzimas digestivas (protease total, tripsina, endo e exoglucanase e α -amilase) de lagartas de *S. frugiperda*. Além disso, também foi avaliado o efeito da lectina na sobrevivência desse inseto quando incorporados a uma dieta artificial e o efeito do extrato na histologia e histoquímica do intestino médio.

Material e Métodos

Os experimentos foram desenvolvidos em dois laboratórios do Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) (Laboratório de Biologia e Resistência de Plantas a Insetos e Fisiologia de Insetos) e no Laboratório de Bioquímica de Proteínas da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brasil.

Criação dos Insetos. A criação de *Spodoptera frugiperda* foi mantida em sala climatizada ($27 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ de UR e 12 h de fotofase). As lagartas recém-eclodidas foram transferidas para potes de plástico transparentes (25 x 25 cm), forradas com papel toalha. Sobre cada pote, foi adicionada uma tira de dieta artificial, preparada de acordo com o protocolo descrito por Greene *et al.* (1976). As lagartas permaneceram nos potes até que atingissem a fase de pupa. Em seguida, as pupas foram coletadas e transferidas para potes plásticos (16 x 10 cm) cobertos com papel toalha umedecidos durante aproximadamente 12 dias. Os adultos recém-emergidos foram colocados para acasalar (aproximadamente 30 casais) em gaiolas de tubos de PVC (20 x 25 cm) revestidos com papel sulfite, disposto sobre pratos plásticos (25 x 25 cm), forrados com papel toalha para servir como substrato para oviposição. A parte superior de cada gaiola foi fechada com filme plástico de PVC. Os adultos foram alimentados com solução de mel a 10% (v/v) ofertada em tubos de plástico com capacidade para 10 mL, contendo chumaço de algodão hidrofílico embebido. As posturas foram coletadas diariamente por meio da troca do papel que revestia a gaiola e acondicionadas em potes de plástico transparentes (16 x 10 cm), forrados com papel toalha, por aproximadamente três dias e mantidas até a eclosão das lagartas, quando então foram distribuídas sobre a dieta.

Obtenção do Extrato de Cladódios de *Opuntia ficus-indica*. Os cladódios de *O. ficus-indica* foram coletados no Instituto Agrônômico de Pernambuco (IPA, Recife, Pernambuco), secos ao ar e triturados em liquidificador industrial (1,5 L). A farinha obtida (10 g) foi homogeneizada em um agitador magnético a 4°C por 16 h em NaCl a 0,15 M (50 mL). Em seguida, a mistura foi filtrada

em gaze e centrifugada (4.000g/15min) e o sobrenadante correspondeu ao extrato bruto. A concentração de proteínas no extrato foi determinada de acordo com a metodologia descrita por Lowry *et al.* (1951), utilizando uma curva de albumina de soro bovino (31,25 a 500 µg/mL) como padrão.

Isolamento da Lectina de *Opuntia ficus-indica* (OfiL). O isolamento de *OfiL* foi realizado de acordo com o protocolo descrito por Santana *et al.* (2009). Uma alíquota de 2 mL (0,906 mg de proteína) do extrato de cladódios foi submetida à cromatografia em coluna de quitina (6,5 x 1,5 cm) equilibrada com NaCl a 0,15 M. A etapa de lavagem foi realizada utilizando NaCl a 0,15 M e frações de 2 mL foram coletadas a cada 5 min sendo a presença de proteínas monitorada pela medida da absorbância a 280 nm. Ao se atingir valores de absorbância menores que 0,020, as proteínas que adsorveram a matriz foram eluídas com ácido acético a 1,0 M, em seguida, as frações coletadas foram dialisadas com água destilada utilizando uma membrana porosa com tamanho de corte de 3,5 kDa para a eliminação do eluente.

Efeito da Lectina (*OfiL*) na Sobrevivência de Lagartas de Terceiro Instar de *Spodoptera frugiperda*. Os tratamentos consistiram em 4,4 µg (µg de lectina/ g de dieta) de *OfiL* e 0,15 M de NaCl como tratamento controle. As soluções de cada tratamento foram incorporadas à dieta de acordo com o experimento de sobrevivência descrito no capítulo 2. Foram realizados 2 tratamentos e 50 repetições (sendo cada repetição representada por uma lagarta de terceiro instar). Após 24 h, a dieta foi substituída por outra de igual tamanho e sem tratamento, que foi trocada diariamente até que as lagartas atingissem a fase de pupa. As avaliações foram realizadas diariamente registrando-se o número total de larvas vivas, duração e viabilidade das fases de larva, pré-pupa e pupa, peso de pupas, longevidade e adultos defeituosos.

Efeito do Extrato de Cladódios de *Opuntia ficus-indica* e da Lectina (*OfiL*) sobre as Atividades Enzimáticas do Intestino de *Spodoptera frugiperda*. Grupos de 15 larvas de terceiro instar de *S.*

frugiperda, criadas em dieta artificial adaptada de Greene *et al.* (1976), foram coletadas e imobilizadas colocando-as no congelador a -20°C durante 15 min. O intestino médio de cada inseto foi removido utilizando uma agulha de 0,3 mm (BD Ultra-Fine II II de Becton, Dickinson e Company, NJ, EUA) de 8 mm de comprimento, sendo imediatamente armazenados em tampão Tris (Tris-HCl 0,1 M, pH 8,0) ou tampão acetato (acetato de sódio 0,1 M, pH 5,5), ambos contendo CaCl₂ a 0,02 M e NaCl a 0,15 M. Em seguida, os intestinos foram colocados em um macerador de tecido de vidro de 2 mL e homogeneizados manualmente com 1 mL da solução tampão usada na dissecação. Os homogeneizados foram então centrifugados (13000 rpm/4°C) durante 10 min. Os sobrenadantes (extratos de intestino) foram utilizados para a avaliação das atividades enzimáticas. Os extratos em tampão Tris foram utilizados em ensaios para atividade de protease total e serino protease (tripsina), enquanto os extratos em tampão acetato foram usados nos ensaios de celulase (endoglucanase e exoglucanase) e α -amilase. Os bioensaios foram realizados em triplicata e o efeito do extrato de cladódios e *OfiL* foi avaliado pela incubação de três concentrações mais testemunha de cada preparação.

Atividade proteolítica total: A atividade de proteases foi determinada de acordo com Azeez *et al.* (2007), utilizando azocaseína como substrato. O extrato do intestino do inseto (50 μ L; 45 μ g de proteína) foi incubado com 50 μ L de água destilada (controle a 100%) ou 50 μ L da lectina (12-48 μ g) ou extrato de cladódios (75-185 μ g). Em seguida, foi adicionado 300 μ L de tampão fosfato de sódio a 0,1 M (pH 7,5), 50 μ L de azocaseína a 0,6% (p/v) e 100 μ L de Triton X-100 (1% - v/v) e as amostras foram incubadas a 37°C por 3 h. A reação foi interrompida pela adição de 200 μ L de ácido tricloroacético (TCA) a 10% (v/v). O branco foi feito nas mesmas condições do teste, no entanto a adição de 200 μ L de TCA foi realizada antes da adição do substrato. Após 30 min na geladeira as amostras foram centrifugadas (13000 rpm por 10 min) e a absorbância a 366 nm foi determinada.

Atividade de tripsina s milde: O extrato de intestino do inseto obtido em tampão Tris-HCl 0,1 M pH 8,0 contendo NaCl 0,15 M (30  L; 282  g de proteína) foi incubado por 15 min com 30  L de água destilada (controle a 100%) ou 30  L da lectina (8-32  g) ou extrato de cladódios (45-110  g). Em seguida, foram adicionados 15  L do substrato N- -benzoil-DL-arginil-p-nitroanilida (BApNA) a 8 mM e o volume foi completado para 200  L com tampão Tris. Também foram preparados brancos das amostras, nos quais 15  L do tampão Tris foram adicionados no lugar do substrato. Após 1 h, foi realizada a leitura da absorv ncia a 405 nm em leitor de microplacas.

Atividade de celulase (endoglucanase e exoglucanase): Os ensaios para endo e exoglucanase foram realizados de acordo com as adapta es dos métodos descritos por Li *et al.* (2009) e Wood & Bhat (1988), respectivamente. O extrato de intestino do inseto (50  L; 197  g de proteína) foi incubado com 50  L de água destilada (controle a 100%) ou 50  L da lectina (16-64  g) ou extrato de cladódios (75-185  g) com 400  L de uma suspensão em tampão acetato de carboximetilcelulose a 1% (p/v) (para atividade de endoglucanase) e soluço de Avicel a 1% (p/v) (para atividade de exoglucanase). O branco foi feito na mesma condi o do teste, no entanto, a suspensão do substrato foi substituída por 400  L de tampão acetato. Em seguida, foram aquecidos a 50 C por 10 min. Após esse período foi adicionado 500  L de ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) e o ensaio foi aquecido por 10 min a 100 C, sendo imediatamente resfriado em gelo por 15 min. A absorv ncia a 540 nm foi determinada em leitor de microplacas, utilizando 200  L de cada tubo. A quantidade de a c res redutores foi determinada utilizando uma curva de glicose como padrão ($Y = 0,0885x + 0,1452$), em que Y é a absorv ncia a 540 nm, e x é a concentra o de glicose em mg/mL).

Atividade de  -amilase: O ensaio foi realizado com base no método descrito por Bernfeld (1955). O extrato de intestino do inseto (50  L; 200  g de proteína) foram adicionados 50  L de água destilada (controle a 100%) ou 50  L da lectina (12-48  g) ou extrato de cladódios (90-360  g). Em seguida, acrescentou-se 400  L de uma suspensão de amido a 1% (p/v) preparada em tampão

acetato. O branco foi feito na mesma condição do teste, no entanto a suspensão de amido foi substituída por 400 µL de tampão acetato. Os tubos foram incubados a 50°C por 10 min. Em seguida, adicionou-se 500 µL de ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) e o ensaio foi aquecido a 100°C por 10 min e imediatamente resfriado em gelo por 15 min. O valor de absorbância a 540 nm foi determinado em leitor de microplacas, utilizando 200 µL de cada tubo. A quantidade de açúcares redutores foi determinada utilizando uma curva padrão da reação de diferentes concentrações de glicose com DNS ($Y = 0,0885x + 0,1452$, em que Y é a absorbância a 540 nm, e x é a concentração de glicose em mg/mL).

Análise Histológica e Histoquímica do Intestino Médio de Lagartas de *Spodoptera frugiperda* Submetida ao Extrato de Cladódios de *Opuntia ficus-indica*. Foram coletados dez intestinos médios de lagartas de terceiro ínstar de cada grupo: extrato de cladódios (12,8 e 25,6 mg/g, miligramas de amostra por gramas de dieta) e 3,12 mg/g de NaCl (tratamento controle) nos tempos de 24 e 48 h após o tratamento. As soluções de cada tratamento foram incorporadas a dieta de acordo com o experimento de sobrevivência descrito no capítulo 2. Para a coleta do material, os insetos foram imobilizados a baixa temperatura (4°C) e dissecados com o auxílio de uma agulha de 0,3 mm (BD Ultra-Fine II II de Becton, Dickinson e Company, NJ, EUA) de 8 mm de comprimento. Em seguida, foram fixados em formol tamponado a 10% de acordo com cada tempo e conservados em álcool a 70%. O intestino médio foi seccionado, desidratado em banhos crescentes de álcool etílico (70-100%) por 10 min cada, embebido em álcool+historesina (1:1) por 24 h, depois em mais 24 h em historesina pura e finalmente incluído em historesina Leica©. Cortes com 5 µm de espessura foram obtidos em micrótomo Leica© RM 2035. Os cortes foram submetidos às técnicas de coloração pelo Azul de Toluidina para análise morfológica do tecido. Para análises histoquímicas, foram utilizados o Ácido Periódico de Schiff (P.A.S.) para detecção de polissacarídeos neutros (Junqueira & Junqueira 1983) e Xylidine Ponceau para proteínas totais (Pearse 1960). As análises

histológicas e histoquímicas foram realizadas utilizando-se um microscópio de luz da marca OLYMPUS BX-49, e fotografado em fotomicroscópio Leica© DM500 e câmera OLYMPUS BX-51. As imagens foram capturadas e digitalizadas pelo software LAS Leica Image.

Quantificação Média de Polissacarídeos Neutros e Proteínas Totais. Foram utilizadas quatro secções da região mediana do intestino médio de lagartas para cada tratamento, através do programa editor de imagens GIMP 2.8 (GNU Image Manipulation Program, UNIX platforms). O programa converte imagens digitais para uma escala de cinza, o que permite a mensuração dos valores de pixels referentes à marcação selecionada no tecido (Solomon 2009). Para cada tratamento utilizou-se 3 lâminas de indivíduos diferentes, sendo mensurados 4 campos de cada lâmina, totalizando 12 campos por grupo.

Procedimentos Estatísticos. Os dados referentes ao efeito da lectina sobre a sobrevivência de *S. frugiperda* foram submetidos ao Teste-t ($P \leq 0,05$), os demais experimentos foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$), com correções de Bonferroni para nível de significância de 0,05 ($\alpha = 0,05/n$, onde n representa o número de médias em comparação, para manter o nível de erro igual ou inferior a 0,05) (Abdi 2007). Todas as análises foram realizadas pelo Programa Estatístico SAS (SAS Institute 2002).

Resultados

Efeito da Lectina (*OfiL*) na Sobrevivência de Lagartas de Terceiro Instar de *Spodoptera frugiperda*. O tratamento com *OfiL* não foi capaz de causar mortalidade, contudo, as lagartas que ingeriram a lectina apresentaram um encurtamento do período larval, que durou cerca de 3,3 dias, contra 3,6 dias no grupo controle ($G1 = 86,8$; $t = -2,00$; $P = 0,0481$). Para a fase de pré-pupa ($G1 = 98$; $t = 0,25$; $P = 0,8056$) não foi verificada diferença significativa entre os tratamentos. Por outro lado, no grupo controle a fase de pupa apresentou maior duração (8,8) quando comparado ao grupo

tratado com *OfiL* (8,5 dias) (GI = 66,2; t = -1,60; P = 0,1146). O tratamento com *OfiL* também não causou alteração significativa (GI = 98; t = 0,14; P = 0,8897) no peso médio de pupas, mas resultou em um aumento no percentual de pupas (90%) que emergiram como adultos em relação ao grupo controle (75%) (GI = 89,3; t = 1,64; P = 0,1040). A longevidade de adultos de *S. frugiperda* foi maior para aqueles oriundos das larvas tratadas com a dieta contendo lectina (GI = 68,4; t = 0,16; P = 0,8766). Para o percentual de adultos defeituosos não houve diferença entre nenhum dos tratamentos (GI = 82; t = -1,33; P = 0,1883) (Tabela 1).

Efeito do Extrato de Cladódios de *Opuntia ficus-indica* e da Lectina (*OfiL*) sobre as Atividades Enzimáticas do Intestino de *Spodoptera frugiperda*. Foi confirmada a presença de atividade proteolítica total e de tripsina nos extratos de intestino das lagartas, porém, não foi observada diferença significativa ($F_{6, 20} = 0,68$; $P = 0,6685$ para proteases; $F_{6, 20} = 2,30$; $P = 0,0939$ para tripsina) quando em presença do extrato de cladódios ou de *OfiL* (Figs. 1 e 2). Nos bioensaios de atividade de celulase, a enzima endoglucanase não foi detectada nos intestinos de *S. frugiperda* em nenhum dos tratamentos. Já para a enzima exoglucanase foi detectada a sua presença, com diferença significativa apenas para as duas maiores concentrações do extrato de cladódios em relação à *OfiL* ($F_{6, 20} = 20,48$; $P < 0,0001$) (Fig. 3). Os extratos de intestino também apresentaram atividade de α -amilase, a qual foi aumentada em presença do extrato de cladódios e de *OfiL* em relação ao controle ($F_{6, 20} = 92,66$; $P < 0,0001$) (Fig. 4).

Análise Histológica e Histoquímica do Intestino Médio de Lagartas de *Spodoptera frugiperda* Submetida ao Extrato de Cladódios de *Opuntia ficus-indica*. O intestino médio de lagartas de terceiro ínstar de *S. frugiperda* do tratamento controle, para ambos os tempos de 24 e 48 h, apresentaram histologia típica, sendo revestido externamente por duas camadas musculares: uma camada mais externa, formada por feixes espaçados, dispostos longitudinalmente, e uma camada mais interna, disposta circularmente. Internamente, o intestino médio foi constituído por tecido

epitelial simples, apresentando três tipos celulares: células colunares, caracterizadas pela presença de microvilosidades em seu ápice e núcleos esféricos centrais; caliciformes, as quais possuem uma invaginação de sua membrana formando a câmara globosa, com núcleo basal e achatado; e células regenerativas, que foram observadas em menor número, as quais encontraram-se na região basal do epitélio, com núcleo esférico e central. A matriz peritrófica foi encontrada revestindo internamente o órgão, envolvendo o material digerido, o qual encontrava-se disposto no lúmen do órgão (Figs. 5A-B, 6A-B).

O intestino médio das lagartas de *S. frugiperda* tratadas com extrato de cladódios a 12,8 mg/g, apresentou alterações histológicas que variaram de intensidade de acordo com o tempo de exposição. Para os intestinos analisados com 24 h, verificou-se que houve uma desorganização de partes do epitélio e membrana peritrófica, além de uma vacuolização no citoplasma de células colunares e de um aumento de tamanho das células caliciformes (Figs. 5C-D). Já para os intestinos examinados com 48 h, foi observado um epitélio completamente desorganizado, além do desaparecimento da membrana peritrófica (Figs. 6C-D).

Para as lagartas tratadas com extrato de cladódios a 25,6 mg/g, analisadas com 24 e 48 h, verificou-se que as alterações no intestino médio foram menos expressivas, sendo observada uma regeneração ou reorganização do epitélio com a presença da membrana peritrófica, células caliciformes e regenerativas para ambos os tempos e células colunares apenas para os intestinos observados com 48 h (Figs. 5E-F, 6E-F).

As análises estatísticas realizadas para avaliar os efeitos do extrato de cladódios de *Opuntia* sobre a histoquímica de *S. frugiperda* demonstraram reação positiva tanto para os teores de carboidratos P.A.S., quanto para os teores de proteínas totais (Xylidine Ponceau) em todos os tratamentos realizados com 24 e 48 h. Para o teste de P.A.S., as lagartas de terceiro ínstar tratadas com extrato de cladódios a 12,8 e 25,6 mg/g, apresentaram uma redução na quantidade de

polissacarídeos neutros quando comparados à testemunha para os dois tempos de avaliação analisados. Com 48 h, ambos os tratamentos também causaram redução na quantidade de polissacarídeos neutros, sendo a redução significativa somente maior no tratamento com o extrato a 12,8 mg/g (Fig. 7). Para o teste com Xylidine Ponceau não houve diferença para as lagartas tratadas com 24 h, já para as avaliações realizadas com 48 h, verificou-se que houve uma redução no teor de proteínas em relação à testemunha, sendo que novamente as lagartas tratadas com extrato a 12,8 mg/g, foram as que obtiveram maior redução (Fig. 8).

Discussão

A ingestão de *OfiL* não foi capaz de promover mortalidade das lagartas de *S. frugiperda*. A literatura, no entanto, mostra que essa mesma lectina sobre outros insetos apresentaram resultados diferentes. Paiva *et al.* (2011) testando *OfiL* sobre operários de *Nasutitermes corniger* (Motschulsky), constataram uma mortalidade de 100% após 4 dias utilizando uma concentração de 1,5 mg/mL. Napoleão *et al.* (2012) analisando o efeito da lectina (MuLL) de *Myracrodruon urundeuva* (Fr. All.) contra larvas de quarto estágio de *A. aegypti*, mostraram que a lectina (MuLL) promoveu mortalidade de 16, 5 e 84% de larvas de 24 horas com as concentrações de 0,140; 0,202 e 0,264 mg/mL de proteína, respectivamente. Em outro estudo Napoleão *et al.* (2013) observaram que lectina de *M. urundeuva* (MuLL) não afetou significativamente a mortalidade de *Sitophilus zeamais* (Mots.), porém, insetos que tiveram contato com um maior teor de MuLL (150 mg/g) ingeriram uma quantidade menor da dieta refletindo um forte efeito deterrente alimentar.

Apesar de não afetar a mortalidade, a dieta contendo lectina diminuiu o período de desenvolvimento larval e a fase de pupa e aumentou a viabilidade pupal e a longevidade de *S. frugiperda* em relação ao controle. Oliveira *et al.* (2011) e (2017) analisando a lectina (cMoL) e (WSMoL) de *Moringa oleifera* (Lam.) incorporada a dieta artificial mostrou que a mesma exerceu

atividade inseticida em *Anagasta kuehniella* (Zeller) resultando em diminuição na utilização da dieta, atraso no desenvolvimento de larvas, bem como sobrevivência das pupas e redução do peso.

O fato do experimento ter sido realizado com dieta artificial de alta qualidade, contendo a presença de agentes gelificantes, fungistáticos, antibacterianos, antioxidante e anticontaminantes, além de fontes de proteínas, vitaminas, carboidratos e sais, juntamente com a concentração de lectina utilizada e o modelo de inseto, podem ter dificultado a visualização dos efeitos inseticidas ou demais consequências que pudessem interferir no desenvolvimento do inseto ou até mesmo levá-los a morte.

Assim como na maioria dos organismos, os insetos também produzem enzimas digestivas para a obtenção dos nutrientes essenciais às atividades metabólicas (Medeiros 2000). A necessidade dessas enzimas nos diferentes organismos, incluindo os insetos está relacionada especialmente à complexa composição química das dietas ingeridas por eles (Terra & Ferreira 2012). Os estudos dessas enzimas constituem uma importante base para a compreensão da fisiologia digestiva (Asadi *et al.* 2010).

Macedo *et al.* (2007) e Napoleão *et al.* (2012) relataram que as lectinas podem afetar o metabolismo dos insetos, inibindo (bloqueando a atividade enzimática por ligação a porções de proteína ou açúcar) ou estimulando (aumentando a afinidade da enzima em seu substrato) a atividade das enzimas digestivas no intestino médio dos insetos.

As proteases digestivas são uma dessas importantes enzimas, localizadas na região do intestino médio dos insetos, catalisando a clivagem de ligações peptídicas, liberando peptídeos e aminoácidos (Moreira *et al.* 2007). Em lepidópteros as serino-proteases são as mais comuns, entre elas, as quimiotripsinas e tripsinas (Oliveira *et al.* 2005). As tripsinas clivam preferencialmente cadeias polipeptídicas na porção C-terminal de resíduos de aminoácidos básicos com arginina e lisina. Essas serino-proteases participam de uma grande diversidade de processos fisiológicos que

incluem desenvolvimento e produção de peptídeos biologicamente ativos, digestão e ativação de proteínas específicas (Gill *et al.* 1996, Wilson *et al.* 1997).

No presente estudo foi verificada a presença de atividade nos testes de protease e tripsina, porém, não foi observada diferença significativa quando em presença do extrato de *O. ficus-indica* ou de *OfiL*. Agra-Neto *et al.* (2014) e Oliveira *et al.* (2016) relataram que as lectinas WSMoL e WSMoL_C de sementes de *M. oleifera* apresentaram efeito estimulador sobre a atividade de protease total do intestino de larvas de *Aedes aegypti* (L.). Napoleão *et al.* (2013), entretanto, estudando os efeitos deletérios do extrato de folhas de aroeira, *M. urundeuva* e sua respectiva lectina (MuLL) sobre o gorgulho do milho, *S. zeamais* constataram que as atividades de protease total e tripsina nos insetos criados em dietas contendo extrato de folhas e a lectina foram significativamente inferiores às dos insetos controle.

De acordo com Coelho *et al.* (2007) e Napoleão *et al.* (2012) a atividade do tipo tripsina do intestino de *Ephestia kuehniella* (Zeller) e de larvas de *A. aegypti* foi inibida por lectinas (ACLEC) de sementes de fruta-do-conde, *Annona coriacea* (Mart.) e folhas de *M. urundeuva*, respectivamente. Albuquerque *et al.* (2012) também verificaram que a lectina (MvRL) do rizoma de samambaia, *Microgramma vacciniifolia* (Langsd. & Fisch.) inibiu a atividade de tripsina de operários de *N. corniger* e pode ter levado a deterioração da digestão e absorção de aminoácidos essenciais.

Os carboidratos são nutrientes essenciais que fornecem a energia necessária tanto para o crescimento larval quanto para a manutenção da longevidade dos adultos na maioria dos insetos, porém, o seu valor nutritivo depende de enzimas capazes de digeri-los a monômeros apropriados para sua posterior absorção (Dadd 1985, Terra *et al.* 1996). As celulasas são enzimas responsáveis pela degradação da celulose ou outros celo-oligossacarídeos até glicose. São conhecidos três tipos: β -glucosidases, endoglucanases e exoglucanases. As endoglucanases clivam a cadeia de celulose

no interior da molécula de celulose, já a exoglucanase atua nas extremidades da cadeia de celulose (Lima *et al.* 2014).

Nos bioensaios de atividade de celulase, a enzima endoglucanase não foi detectada nos intestinos de *S. frugiperda* em nenhum dos tratamentos. Já para a enzima exoglucanase, todos os grupos apresentaram atividade, porém, o grupo da lectina inibiu expressivamente essa atividade. Lima *et al.* (2018) avaliando as atividades enzimáticas de operários de *N. corniger* após incubação com lectinas isoladas da casca (MuBL) e de folhas (MuLL) de *M. urundeuva*, constataram que as atividades de endoglucanase dos operários não foram significativamente afetadas, diferentemente da atividade de exoglucanase que foi neutralizada por MuBL enquanto, a lectina isolada de folhas (MuLL) promoveu um aumento em cerca de duas vezes nesta atividade.

Outra importante enzima é a α -amilase, que é formada por um grupo de enzimas monoméricas com a função de catalisar a hidrólise de ligações glicosídicas presentes no amido, glicogênio e outros carboidratos, a presença dessa enzima tem sido demonstrada no sistema digestivo de diversos insetos, incluindo membros da ordem Lepidoptera, sendo essenciais no crescimento e desenvolvimento, especialmente em insetos-praga que vivem em estoques de sementes e grãos ricos em amido (Dojnov 2008, Terra & Ferreira 1994, Lima 2012).

Diferentemente da atividade de exoglucanase, a atividade de α -amilase aumentou significativamente no grupo incubado com lectina e extrato em relação ao controle. Resultados similares foram encontrados por Napoleão *et al.* (2012) e Agra-Neto *et al.* (2014), na qual foi constatada que as lectinas de folhas de *M. urundeuva* (MuLL) e de sementes de *M. oleifera* (WSMoL) demonstraram exercer efeito estimulador sobre a atividade da α -amilase de *A. aegypti*. Napoleão *et al.* (2013), no entanto, estudando os efeitos do extrato de folhas de *M. urundeuva* e sua lectina (MuLL) sobre o gorgulho do milho, verificaram que o grupo controle apresentou maior

atividade α -amilase em relação ao extrato de folhas, já para os insetos criados em dietas contendo a lectina, os mesmos reduziram significativamente as suas atividades.

Segundo Paiva *et al.* (2013) os insetos em seu aparelho enzimático podem se adaptar fisiologicamente a um desequilíbrio causado por proteínas tóxicas de plantas, aumentando a expressão de uma enzima ou expressando outras diferentes daquela afetada pelo agente inseticida.

Resultados relacionados à histologia de *S. frugiperda*, demonstraram que o intestino do grupo controle seguiu o mesmo padrão morfológico descrito por outros autores como: Correia *et al.* (2009), Roel *et al.* (2010), Silva (2014) e Guedes (2017) para a mesma espécie em estudo. Segundo Cavalcante & Cruz-Landim (1999) e Pinheiro *et al.* (2003), o epitélio do intestino médio de lepidópteros é composto por quatro tipos celulares: colunares, caliciformes, regenerativas e endócrinas, com exceção das células endócrinas, por não serem facilmente identificadas por microscopia de luz (Scudeler & Santos 2014), todas as outras foram encontradas no intestino médio de lagartas de *S. frugiperda* no presente estudo.

O intestino médio das lagartas de *S. frugiperda* tratadas com extrato de *O. ficus-indica* a 12,8 mg/g, apresentou alterações histológicas que variaram de intensidade de acordo com o tempo de exposição. Dentre as alterações, a degradação das microvilosidades e/ou da matriz peritrófica e a vacuolização do citoplasma encontradas nesse trabalho corroboram com os resultados encontrados por Correia *et al.* (2009), Knaak *et al.* (2010), Roel *et al.* (2010) e Scudeler & Santos (2013) pela administração de outros compostos derivados de plantas, tais como, *Azadirachta indica* (A. Juss), *Cymbopogon citratus* (DC.), *Malva sylvestris* (L.), *Petiveria alliacea* (L) e *Zingiber officinale* (Roscoe).

Os resultados observados no intestino médio de lagartas tratadas com extrato de *O. ficus-indica* a 25,6 mg/g, para ambos os tempos, verificaram que as alterações foram menos expressivas, sendo observada uma regeneração ou reorganização do epitélio com a presença da membrana

peritrófica, células caliciformes e regenerativas. De acordo com Spies & Spence (1985), a renovação epitelial pela proliferação e diferenciação das células regenerativas é estimulada pela liberação de fatores que podem estar ligados a alterações nas células colunares.

Alteração no metabolismo dos insetos é um dos efeitos ocasionados por inseticidas, sintéticos ou naturais. Os lipídeos, bem como os carboidratos e proteínas servem como precursores para o metabolismo de diversas substâncias, e sua redução ocasiona efeitos indesejáveis em diversos processos fisiológicos (Oliveira & Cruz-Ladim 2003). Como consequência da redução no quantitativo nutricional, vários parâmetros biológicos são afetados, esses parâmetros variam desde a redução no peso, alterações nos tempos dos ínstaes até o decréscimo da capacidade reprodutiva. A aquisição desses recursos nutricionais é de extrema importância, visto que em muitos insetos, os nutrientes acumulados durante a fase imatura são imprescindíveis na reprodução, como no caso de *S. frugiperda* (Jervis & Ferns 2004, Milano *et al.* 2010, Cruz *et al.* 2016).

Dentre os recursos nutricionais, os polissacarídeos são macromoléculas complexas de carboidratos formados por milhares de monossacarídeos unidos entre si por ligações glicosídicas. Esses polissacarídeos são requeridos em vários processos metabólicos, atuando como principal fonte energética; na formação da quitina; são responsáveis por inúmeras funções metabólicas e estruturais; podem ser convertidos em lipídeos, além de participarem da síntese de aminoácidos (Arrese *et al.* 2010, Chapman 2013). Segundo Parra (1999) o aumento no teor de carboidratos propicia um alongamento na longevidade dos insetos, e conseqüentemente sua diminuição, reduz a sobrevivência desses organismos.

Assim, como os carboidratos, as proteínas também são de fundamental importância para os insetos, pois apresentam funções estruturais, enzimáticas, no transporte e armazenamento de moléculas e como receptores. Alterações nesses níveis proteicos afetam diretamente a vitelogênese, já que proteínas como vitelogenina, carboxipeptidase vitelogênica, catepsina B e lipoforina são

produzidas e secretadas pelo corpo gorduroso e incorporadas aos ovócitos em desenvolvimento, sendo assim a redução na quantidade de proteínas pode acarretar em efeitos negativos na reprodução (Panizzi & Parra 2009, Guizzo *et al.* 2012). Senthilkumar *et al.* (2009) afirmam que a redução de proteínas deve-se provavelmente a interferência acarretada por compostos presentes nos inseticidas botânicos que atuam nos hormônios que regulam a síntese proteica.

O extrato de cladódios de *Opuntia* a 12,8 e 25,6 mg/g, ocasionaram alterações no intestino médio de lagartas de *S. frugiperda*, reduzindo os teores de polissacarídeos neutros e proteínas nos diferentes períodos de tempo estudados. Uma provável hipótese para que esse extrato tenha apresentado essa redução, pode ser devido ao fato de conter terpenoides e flavonoides que atuam como um antinutriente (Priestley *et al.* 2003, Sellamuthu *et al.* 2013).

Estudos realizados por Alves *et al.* (2014) com lagartas de 3º ínstar de *S. frugiperda* submetidas ao óleo de pimenta longa (*Piper hispidinervum* C.DC.) nas concentrações 30 e 50 mg/mL, demonstraram que a ingestão dessa substância ocasionou uma redução no quantitativo de lipídeos, proteínas e carboidratos neutros nas gônadas dos insetos, afetando, por consequência, a reprodução. Cruz *et al.* (2015) também observaram que os ovariolos de *S. frugiperda* apresentaram menor quantidade de proteínas no vitelo dos ovócitos, cujas larvas foram tratadas com os óleos essenciais, principalmente na concentração de 50 mg/L de pimenta longa, e redução de carboidratos neutros em todas as concentrações testadas.

Silva *et al.* (2016) submeteram esta mesma praga ao óleo de *C. winterianus* e resultados semelhantes foram encontrados, onde o decréscimo no quantitativo de nutrientes foi diretamente proporcional a uma redução no potencial reprodutivo. Guedes (2017) também realizando testes histoquímicos, observou que o composto trans-anethole, quando utilizado de forma isolada ou associada com o limoneno, apresentou maior eficiência na redução do teor de polissacarídeos

neutros e proteínas no intestino médio de lagartas de *S. frugiperda* quando comparados à testemunha.

Em conclusão, os dados obtidos na presente pesquisa demonstraram que a toxicidade do extrato de cladódios para *S. frugiperda* pode envolver o desbalanço na atividade de enzimas digestivas e alterações na morfologia e fisiologia do intestino médio. Em adição, ensaios futuros ainda são necessários para determinar a participação de *OfiL* no efeito inseticida do extrato.

Agradecimentos

Ao Programa de Pós-graduação em Entomologia Agrícola da Universidade Federal Rural de Pernambuco (PPGEA/UFRPE) por permitirem o desenvolvimento dessa pesquisa e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de doutorado ao primeiro autor.

Literatura Citada

- Abdi, H. 2007.** The Bonferroni and Sidák corrections for multiple comparisons, p. 540-542. In S. Neil (ed.), Encyclopedia of measurement and statistics. 2^a ed. Thousand Oaks, Sage Publications, 1416p.
- Agra-Neto, A.C.A., T.H. Napoleão, E.V. Pontual, N.D.L. Santos, L.A. Luz, C.M.F. Oliveira, M.A.V.M. Santos, D.M.A.F. Navarro, L.C.B.B. Coelho & P.M.G. Paiva. 2014.** Effect of *Moringa oleifera* lectins on survival and activity of enzymes from *Aedes aegypti* organophosphate-susceptible and resistant larvae. Parasitol. Res. 113: 175-184.
- Albuquerque, L.P., G.M.S. Santana, E.V. Pontual, T.H. Napoleão, L.C.B.B. Coelho & P.M.G. Paiva. 2012.** Effect of *Microgramma vacciniifolia* rhizome lectin on survival and digestive enzymes of *Nasutitermes corniger* (Isoptera, Termitidae). Int. Biodeterior. Biodegrad. 75: 158-166.
- Alves, T.J., G.S. Cruz, V. Wanderley-Teixeira, A.A. Teixeira, J.V. Oliveira, A.A. Correia, C.A. Câmara & F.M. Cunha. 2014.** Effects of *Piper hispidinervum* on spermatogenesis and histochemistry of ovarioles of *Spodoptera frugiperda*. Biotech. Histochem. 89: 245-55.

- Amorim, T.M.L. 2007.** Avaliação da ação bioinseticida de SBTI e vicilina de *Erythrina velutina* em enzimas digestivas e membrana peritrófica de larvas de *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). Dissertação de Mestrado, UFRN, Natal, 81p.
- Andrade, C.T.S., J.G.W. Marques & D.C. Zappi. 2006.** Utilização medicinal de cactáceas por sertanejos baianos. Rev. Bras. Pl. Med. 8: 36-42.
- Arrese, E.L., A.D. Howard, R.T. Patel, O.J. Rimoldi & J.L. Soulages. 2010.** Mobilization of lipid stores in *Manduca sexta*: cDNA cloning and developmental expression of fat body triglyceride lipase, TGL. Insect Biochem. Mol. Biol 40: 91-99.
- Asadi, A., M. Ghadamyari, R.H. Sajedi, J.J. Sendi & M. Tabari. 2010.** Biochemical characterization of midgut, salivary glands and haemolymph α -amylases of *Naranga aenescens*. Bull. Insectology 63: 175-181.
- Azeez, A., A.P. Sane, D. Bhatnagar & P. Nath. 2007.** Enhanced expression of serine proteases during floral senescence in *Gladiolus*. Phytochemistry 68: 1352-1357.
- Bernfeld, P. 1955.** Amylases, α and β . Methods Enzymol. 1: 149-158p.
- Carlini, C.R. & M.F. Grossi-de-Sá. 2002.** Plant toxic proteins with insecticidal properties. A review on their potentialities as bioinsecticides. Toxicon 40: 1515-1539.
- Cavalcante, V.M. & C. Cruz-Landim. 1999.** Types of cells presente in the midgut of the insects: a review. Naturalia 24: 19-40.
- Chapman, R.F. 1998.** The insects: Structure and Function. Cambridge University Press, Cambridge, 770p.
- Chapman, R.F. 2013.** The insects: structure and function. Cambridge, Cambridge University Press, 929p.
- Coelho, M.B., S. Marangoni & M.L.R. Macedo. 2007.** Insecticidal action of *Annona coriacea* lectin against the flour moth *Anagasta kuehniella* and the rice moth *Corcyra cephalonica* (Lepidoptera: Pyralidae). Comp. Biochem. Physiol. Part C 146: 406-414.
- Correia, A.A., V. Wanderley-Teixeira, A.A.C. Teixeira, J.V. Oliveira & J.B. Torres. 2009.** Morfologia do canal alimentar de lagartas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) alimentadas com folhas tratadas com nim. Neotrop. Entomol. 38: 83-91.
- Cruz, G.S., V. Wanderley-Teixeira, J.V. Oliveira, F.S.C. Lopes, D.R.S. Barbosa, M. O. Breda, K.A. Dutra, C.A. Guedes, D.M.A.F. Navarro & A.A.C. Teixeira. 2016.** Sublethal effects of essential oils from *Eucalyptus staigeriana* (Myrtales: Myrtaceae), *Ocimum gratissimum* (Lamiales: Laminaceae), and *Foeniculum vulgare* (Apiales: Apiaceae) on the biology of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). J. Econ. Entomol. 109: 660-666.

- Cruz, G.S., V. Wanderley-Teixeira, J.V. Oliveira, A.A.C. Teixeira, A.C. Araújo, T.J.S. Alves, F.M. Cunha & M.O. Breda. 2015.** Histological and Histochemical Changes by Clove Essential Oil Upon the Gonads of *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). *Int. J. Morphol.* 33: 1393-1400.
- Dadd, R.H. 1985.** Nutrition: organisms. In: Kerkut, G.A. & L.I. Gilbert. (eds.), *Comprehensive Insect Physiology Biochemistry and Pharmacology* 8. Oxford: Pergamon Press, 338-341p.
- Diez-Rodríguez, G.I. & C. Omoto. 2001.** Herança da Resistência de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a Lambda-Cialotrina. *Neotrop. Entomol.* 3: 311-316.
- Dojnov, B., B. Natasa, V. Nenadovic, J. Ivanovic & Z. Vujcic. 2008.** Purification and properties of midgut α -amylase isolated from *Morimus funereus* (Coleoptera: Cerambycidae) larvae. *Comp. Biochem. Physiol. Part B* 149: 153-160.
- Fitches, E., J. Philip, G. Hinchliffe, L. Vercruyse, N. Chougule & J.A. Gatehouse. 2008.** An evaluation of garlic lectin as an alternative carrier domain for insecticidal fusion proteins. *Insect Sci.* 15: 483-495.
- Galati, E.M., M.M. Tripodo, A. Trovato, N. Miceli & M.T. Monforte. 2002.** Biological effect of *Opuntia ficus indica* (L) Mill (Cactaceae) waste matter. *J. Ethnopharmacol.* 79: 17-21.
- Gill, I., R. López-Fandiño, X. Jorba & E.N. Vulfson. 1996.** Biologically active peptides and enzymatic approaches to their production. *Enzyme Microb. Technol.* 18: 162-183.
- Greene, G.L., N.C. Leppla & W.A. Dickerson. 1976.** Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. *J. Econ. Entomol.* 69: 487-488.
- Guedes, C.A. 2017.** Efeitos de óleo essencial e compostos isolados sobre parâmetros histofisiológicos, histoquímicos, imunohistoquímico, nutricionais e embriológicos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Tese de Doutorado, UFRPE, Recife, 104p.
- Guizzo, M.G., L. Abreu, A. Masuda, C. Logullo & I.S.V. Junior. 2012.** Metabolism of Biomolecules in the Embryogenesis of the Tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Acta Sci. Vet.* 40: 1010-1022.
- Gullan, P.J. & P.S. Cranston. 2012.** Os insetos: um resumo de entomologia. 3ª ed. São Paulo, Roca, 494p.
- Jervis, M.A. & P.N. Ferns. 2004.** The timing of egg maturation in insects: ovigeny index and initial egg load as measures of fitness and of resource allocation. *Oikos* 107: 499-460.
- Junqueira, L.C.U. & L.M.M.S. Junqueira, 1983.** Técnicas básicas de citologia e histologia. São Paulo, Guanabara Koogan, 123p.

- Knaak, N., M.S. Tagliari & L.M. Fiuza, 2010.** Histopatologia da interação de *Bacillus thuringiensis* e extratos vegetais no intestino médio de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). Arq. Inst. Biol. 77: 83-89.
- Lam, S.K. & T.B. Ng. 2011.** Lectins: production and practical applications. Appl. Microbiol. Biotechnol. 89: 45-55.
- Lee, E.B., J.E. Hyun, D.W. Li & Y.I. Moon. 2002.** Effects of *Opuntia ficus indica* var. *saboten* stem on gastric damages in rats. Arch. Pharm. Res. 25: 67-70.
- Li, Y., Q. Yin, M. Ding & F. Zhao. 2009.** Purification, characterization and molecular cloning of a novel endo- β -1,4-glucanase AC-EG65 from the mollusc *Ampullaria crosseana*. Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol. 153: 149-156.
- Lima, T.A. 2012.** Atividades enzimáticas presentes em intestino de *Nasutitermes corniger*: detecção, caracterização e modulação por lectinas termitocidas. Dissertação de Mestrado, UFPE, Recife, 106p.
- Lima, T.A., E.V. Pontual, L.P. Dornelles, P.K. Amorim, R.A. Sá, L.C.B.B. Coelho, T.H. Napoleão & P.M.G. Paiva. 2014.** Digestive enzymes from workers and soldiers of termite *Nasutitermes corniger*. Comp. Biochem. Physiol. Part B 176: 1-8.
- Lima, T.A., L.P. Dornelles, A.P.S. Oliveira, C.C.S. Guedes, S.O. Souza, R.A. Sá, R.B. Zingali, T.H. Napoleão & P.M.G. Paiva. 2018.** Binding targets of termiticidal lectins from the bark and leaf of *Myracrodruon urundeuva* in the gut of *Nasutitermes corniger* workers. Pest Manag. Sci. 74: 1593-1599.
- Lowry, O.H., N.J. Rosebrough, A.L. Farr & R.J. Randall. 1951.** Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193: 265-275.
- Macedo, M.L.R., M.G.M. Freire, M.B.R. Silva & L.C.B.B. Coelho. 2007.** Insecticidal action of Bauhinia monandra leaf lectin (BmoLL) against *Anagasta kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae), *Zabrotes subfasciatus* and *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). Comp. Biochem. Physiol. 146: 486-498.
- Medeiros, M.A. 2000.** As pragas também morrem pela boca. Pesquisa FAPESP, São Paulo-SP. 20-27p.
- Milano, P., E. Berti-Filho, J.R.P. Parra, M.L. Oda & F.L. Cônsoli. 2010.** Efeito da alimentação da fase adulta na reprodução e longevidade de espécies de Noctuidae, Crambidae, Tortricidae e Elasmobranchidae. Neotrop. Entomol. 39: 172-180.
- Moreira, L.F. 2007.** Efeito do inibidor de serino-proteases, berenil, sobre a eficiência alimentar, atividade proteolítica e desenvolvimento pós-embrionário de *Anticarsia gemmatilis* (Lepidoptera: Noctuidae). Dissertação de Mestrado, UFV, Viçosa, 104p.

- Napoleão, T.H., E.V. Pontual, T.A. Lima, N.D.L. Santos, R.A. Sá, L.C.B.B. Coelho, D.M.A.F. Navarro & P.M.G. Paiva. 2012.** Effect of *Myracrodruon urundeuva* leaf lectin on survival and digestive enzymes of *Aedes aegypti* larvae. *Parasitol. Res.* 110: 609-616.
- Napoleão, T.H., B.R. Belmonte, E.V. Pontual, L.P. Albuquerque, R.A. Sá, L.M. Paiva, L.C.B.B. Coelho & P.M.G. Paiva. 2013.** Deleterious effects of *Myracrodruon urundeuva* leaf extract and lectin on the maize weevil, *Sitophilus zeamais* (Coleoptera, Curculionidae). *J. Stored Prod. Res.* 54: 26-33.
- Oliveira, V.T.P. & C. Cruz-Landim. 2003.** Morphology and function of insect fat body cells: a review. *Biociência* 11: 195-205.
- Oliveira, M.G.A., S.G. Simone, L.P. Xavier & R.N.C. Guedes. 2005.** Partial purification and characterization of trypsin-like proteases from the velvet bean caterpillar, *Anticarsia gemmatalis*. *Comp. Biochem. Physiol. Part B* 140: 369-380.
- Oliveira, M.S.S., A.R. Roel, E.J. Arruda & A.S. Marques. 2007.** Eficiência de produtos vegetais no controle da lagarta-do-cartucho-do-milho *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). *Ciênc. Agrotec.* 31: 326-331.
- Oliveira, C.F.R., L.A. Luz, P.M.G. Paiva, L.C.B.B. Coelho, S. Marangoni & M.L.R. Macedo. 2011.** Evaluation of seed coagulant *Moringa oleifera* lectin (cMoL) as a bio-insecticidal tool with potential for the control of insects. *Process Biochem.* 46: 498-504.
- Oliveira, A.P.S., L.L.S. Silva, T.A. Lima, E.V. Pontual, N.D.L. Santos, L.C.B.B. Coelho, D.M.A.F. Navarro, R.B. Zingali, T.H. Napoleão & P.M.G. Paiva. 2016.** Biotechnological value of *Moringa oleifera* seed cake as source of insecticidal lectin against *Aedes aegypti*. *Process Biochem.* 51: 1683-1690.
- Oliveira, C.F.R., M.C. Moura, T.H. Napoleão, P.M.G. Paiva, L.C.B.B. Coelho & M.L.R. Macedo. 2017.** A chitin-binding lectin from *Moringa oleifera* seeds (WSMoL) impairs the digestive physiology of the Mediterranean flour larvae, *Anagasta kuehniella*. *Pestic. Biochem. Physiol.* 142: 67-76.
- Paiva, P.M.G., G.M.S. Santana, I.F.A.C. Souza, L.P. Albuquerque, A.C. Agra-Neto, A.C. Albuquerque, L.A. Luz, T.H. Napoleão & L.C.B.B. Coelho. 2011.** Effect of lectins from *Opuntia ficus indica* cladodes and *Moringa oleifera* seeds on survival of *Nasutitermes corniger*. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 65: 982-989.
- Paiva, P.M.G., E.V. Pontual, T.H. Napoleão & L.C.B.B. Coelho. 2012.** Effects of plant lectins and trypsin inhibitors on development, morphology and biochemistry of insect larvae, p. 37-55. In K. Pourali & V.N. Raad (Org.), *Larvae: Morphology, Biology and Life Cycle*. 1.ed. New York: Nova Science Publishers, 208p.
- Paiva, P.M.G., E.V. Pontual, T.H. Napoleão & L.C.B.B. Coelho. 2013.** Effects of plant trypsin inhibitors on larval and development, p.17-20. In P.M.G. Paiva, E.V. Pontual, T.H. Napoleão & L.C.B.B. Coelho. *Lectins and trypsin inhibitors from plants: Biochemical characteristics and adverse effects on insect larvae*, 1.ed. New York: Nova Science Publishers, 52p.

- Panizzi, A.R. & J.R.P. Parra, 2009.** Bioecologia e nutrição de insetos: Base para o manejo integrado de pragas. Brasília, Embrapa. 1169p.
- Parra, J.R.P. 1999.** Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico. Piracicaba, FEALQ. 137p.
- Pearse, A.G.E. 1960.** Histochemistry: Theoretical and Applied. London, J & A Churchill LTD. 998p.
- Pinheiro, D.O., R.J. Silva, I. Quagio-Grassiotto & E.A. Gregório. 2003.** Morphometric study of the midgut epithelium in larvae of *Diatraea saccharalis* Fabricius (Lepidoptera: Pyralidae). Neotrop. Entomol. 32: 453-459.
- Pogue, M. G. 2002.** A word revision of the genus *Spodoptera* (Guenée) (Lepidoptera: Noctuidae). Mem. Am. Entomol. Soc. 43: 1-202.
- Priestley, C.M., E.M. Williamson, K.A. Wafford & D.B. Satelle. 2003.** Thymol, a constituent of thyme essential oil, is a positive allosteric modulator of human GABAA receptors and a homooligomeric GABA receptor from *Drosophila melanogaster*. Br. J. Pharmacol. 140: 1363-1372.
- Roel, A.R., D.M. Dourado, R. Matias, K.R.A. Porto, A.V. Bednaskil & R.B. Costa. 2010.** The effect of sub-lethal doses of *Azadirachta indica* (Meliaceae) oil on the midgut of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera, Noctuidae). Rev. Bras. Entomol. 54: 505-510.
- Sá, R.A., T.H. Napoleão, N.D.L. Santos, F.S. Gomes, A.C. Albuquerque, H.S. Xavier, L.C.B.B. Coelho, L.W. Bieber & P.M.G. Paiva. 2008.** Induction of mortality on *Nasutitermes corniger* (Isoptera, Termitidae) by *Myracrodruon urundeuva* heartwood lectin. Int. Biodeterior. Biodegrad. 62: 460-464.
- Santana, G.M.S., L.P. Albuquerque, D.A. Simões, L.C.B.B. Coelho, P.M.G. Paiva & N.B. Gusmão. 2009.** Isolation of lectin from *Opuntia ficus-indica* cladodes. Acta Hort. 811: 281-286.
- SAS Institute. 2002.** SAS/STAT User's guide, version 8.02, TS level 2MO. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Sawaya, W.N., H.A. Khatchadourian, W.M. Safi & H.M. Al-Muhammad. 1983.** Chemical characterization of prickly pear pulp, *Opuntia ficus indica*, and the manufacturing of prickly pear jam. J. Food Technol. 18: 183-193.
- Scudeler, E.L. & D.C. Santos. 2013.** Effects of neem oil (*Azadirachta indica* A. Juss) on midgut cells of predatory larvae *Ceraeochrysa claveri* (Navas, 1911) (Neuroptera: Chrysopidae). Micron 44: 125-132.

- Scudeler E.L. & D.C. Santos. 2014.** Side effects of neem oil on the midgut endocrine cells of the green lacewing *Ceraeochrysa claveri* (Navás) (Neuroptera: Chrysopidae). *Neotrop. Entomol.* 43: 154-160.
- Sellamuthu, P.S., D. Sivakumar & P. Soundy. 2013.** Antifungal activity and chemical composition of thyme, peppermint and citronella oils in vapor phase against avocado and peach postharvest pathogens. *J. Food Saf.* 33: 86-93.
- Senthilkumar, N., P. Varma & G. Gurusubramanian. 2009.** Larvidal and adulticidal activities of some medicinal plants against the Malarial Vector, *Anopheles stephensi* (Liston) *Parasitol. Res.* 104: 237-244.
- Silva, C.T.S. 2014.** Efeito do óleo de citronela (*Cymbopogon winterianus* JOWITT) sobre a histofisiologia digestiva e reprodutiva de *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH) (Lepidoptera: Noctuidae). Dissertação de Mestrado, UFRPE, Recife, 83p.
- Silva, C.T.S., V. Wanderley-Teixeira, F.M. Cunha, J.V. Oliveira, K.A. Dutra, D.M.A.F. Navarro & Á.A.C. Teixeira. 2016.** Biochemical parameters of *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) treated with citronella oil (*Cymbopogon winterianus* Jowitt ex Bor) and its influence on reproduction. *Acta Histochem.* 118: 347-352.
- Silva, D.M., A.F. Bueno, K. Andrade, C.S. Stecca, P.M. Oliveira, J. Neves & M.C.N. Oliveira. 2017.** Biology and nutrition of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) fed on different food sources. *Sci. Agric.* 74: 18-31.
- Solomon, R.W. 2009.** Free and open source software for manipulation of digital images. *AJ. Am. J. Roentgenol.* 192: 330-334.
- Spies, A.G. & K.D. Spence. 1985.** Effect of a sublethal *Bacillus thuringiensis* crystal endotoxin treatment on the larval midgut of a moth, *Manduca sexta*: a SEM study. *Tissue Cell* 17: 379-394.
- Terra, W.R. & C. Ferreira. 1994.** Insect digestive enzymes: properties, compartmentalization and function. *Comp. Biochem. Physiol. Part B* 109: 1-62.
- Terra, W., C. Ferreira & J.E. Baker. 1996.** Digestive enzymes, p. 206-235. In M.J. Lehane & P.F. Billingsley (ed.), *Biology of the Insect Midgut*. Cambridge: Chapman & Hall, The University Press, 486p.
- Terra, W.R. & C. Ferreira. 2012.** Biochemistry and Molecular Biology of Digestion, p. 365-418. In L.I. Gilbert (ed.), *Insect Molecular Biology and Biochemistry*. San Diego: Academic Press, 574p.
- Wilson, I., J. Vogel & S. Somerville. 1997.** Signalling pathways: A common theme in plants and animals? *Curr. Biol.* 7: 175-178.

Wood, T.M. & M.K. Bhat. 1988. Methods for measuring cellulase activities, p.87-112. In W.A. Wood & S.T. Kellogg (eds.), Methods in Enzymology, Academic Press Inc., London, 774p.

Yu, S.J. & E. McCord Jr. 2007. Lack of cross-resistance to indoxacarbe in insecticide-resistant *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae). Pest Manag. Sci. 63: 63-67.

Tabela 1. Parâmetros biológicos de *Spodoptera frugiperda*, a partir de lagartas alimentadas com meio artificial contendo a lectina de *Opuntia ficus-indica* (*OfiL*). Temp.: $27 \pm 1^\circ\text{C}$, UR $70 \pm 10\%$ e 12h de fotofase.

Parâmetros	Controle ¹	Lectina (4,4 $\mu\text{g/g}$ de dieta) ¹
Mortalidade (%)	$0,0 \pm 0,00$ a	$0,0 \pm 0,00$ a
Duração larval (Dias)	$3,6 \pm 0,10$ a	$3,3 \pm 0,07$ b
Duração pré-pupal (Dias)	$1,8 \pm 0,06$ a	$1,8 \pm 0,05$ a
Duração pupal (Dias)	$8,8 \pm 0,16$ a	$8,5 \pm 0,10$ b

Peso pupal (mg)	206,5 ± 3,79 a	207,3 ± 4,51 a
Viabilidade larval (%)	100,0 ± 0,00 a	100,0 ± 0,00 a
Viabilidade pré-pupal (%)	100,0 ± 0,00 a	100,0 ± 0,00 a
Viabilidade pupal (%)	78,0 ± 5,91 b	90,0 ± 4,28 a
Longevidade (Dias)	6,1 ± 0,51 b	6,2 ± 0,35 a
Adultos defeituosos (%)	58,9 ± 7,97 a	44,4 ± 7,49 a

¹Médias (± EP) seguidas pela mesma letra na linha, não diferem entre si pelo Teste-t ao nível de 5% de probabilidade. *Lagartas a partir do terceiro instar.

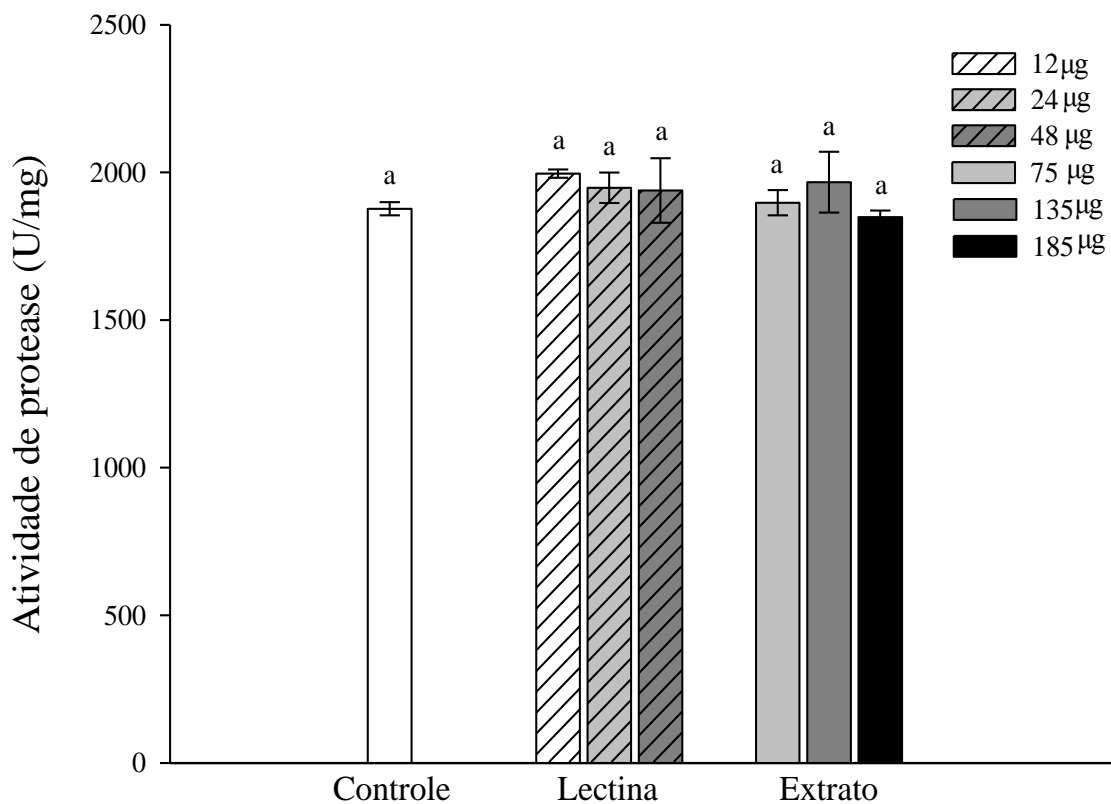


Figura 1. Efeito do extrato de *Opuntia ficus-indica* e da lectina (*OfiL*) sobre a atividade de protease total do intestino de lagartas de terceiro instar de *Spodoptera frugiperda*. Temp.: $27 \pm 1^\circ\text{C}$, UR $70 \pm 10\%$ e 12h de fotofase.

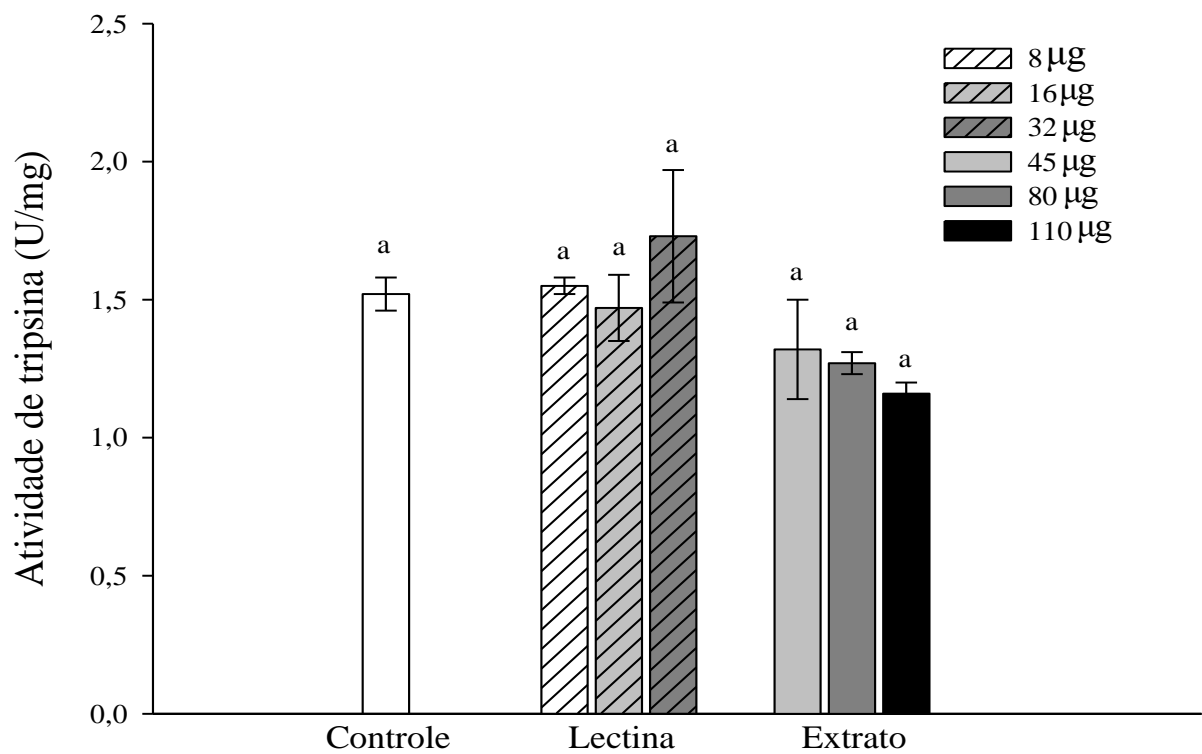


Figura 2. Efeito do extrato de *Opuntia ficus-indica* e da lectina (*OfiL*) sobre a atividade de tripsina do intestino de lagartas de terceiro instar de *Spodoptera frugiperda*. Temp.: $27 \pm 1^\circ\text{C}$, UR $70 \pm 10\%$ e 12h de fotofase.

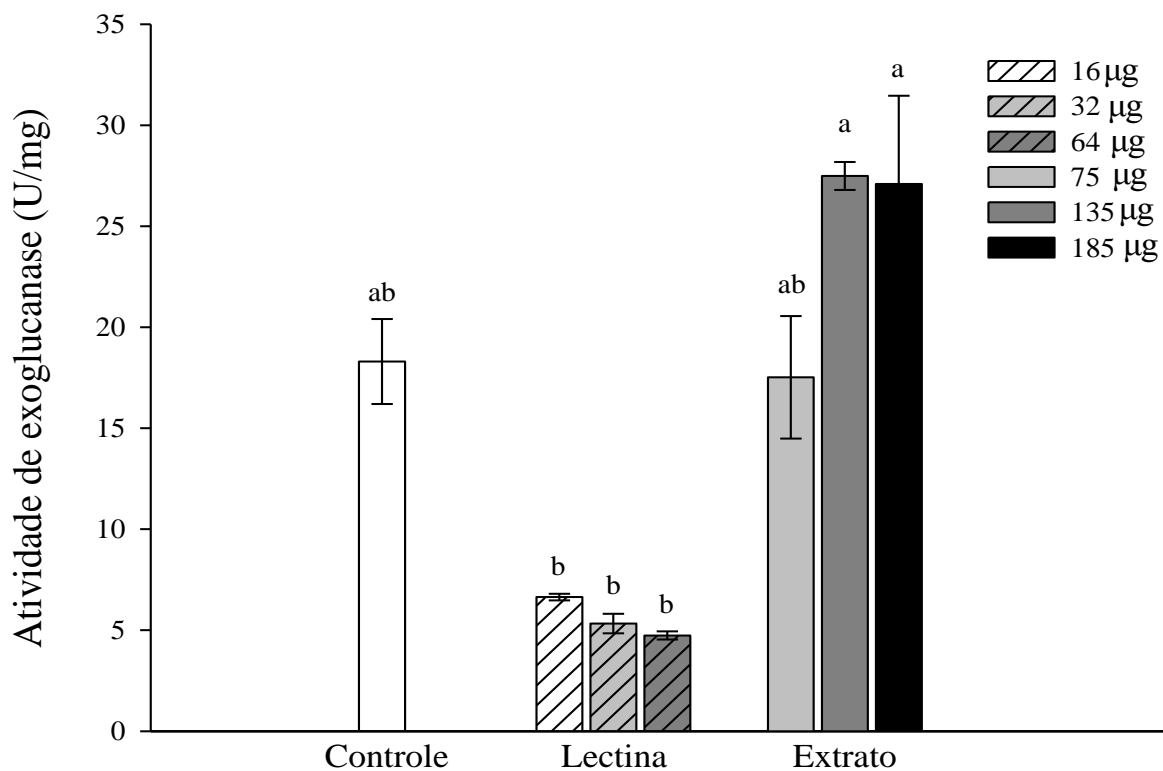


Figura 3. Efeito do extrato de *Opuntia ficus-indica* e da lectina (*OfiL*) sobre a atividade de exoglucanase do intestino de lagartas de terceiro instar de *Spodoptera frugiperda*. Temp.: $27 \pm 1^\circ\text{C}$, UR $70 \pm 10\%$ e 12h de fotofase.

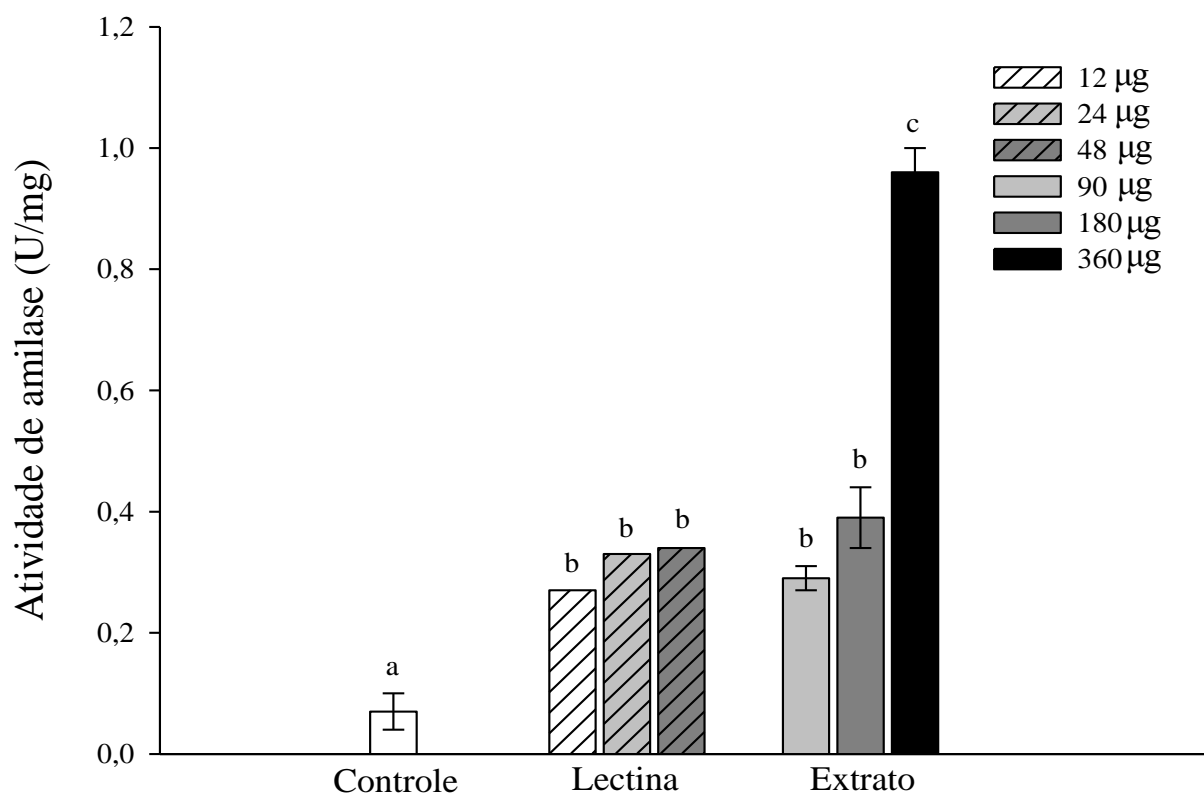


Figura 4. Efeito do extrato de *Opuntia ficus-indica* e da lectina (*OfiL*) sobre a atividade de α -amilase do intestino de lagartas de terceiro instar de *Spodoptera frugiperda*. Temp.: $27 \pm 1^\circ\text{C}$, UR $70 \pm 10\%$ e 12h de fotofase.

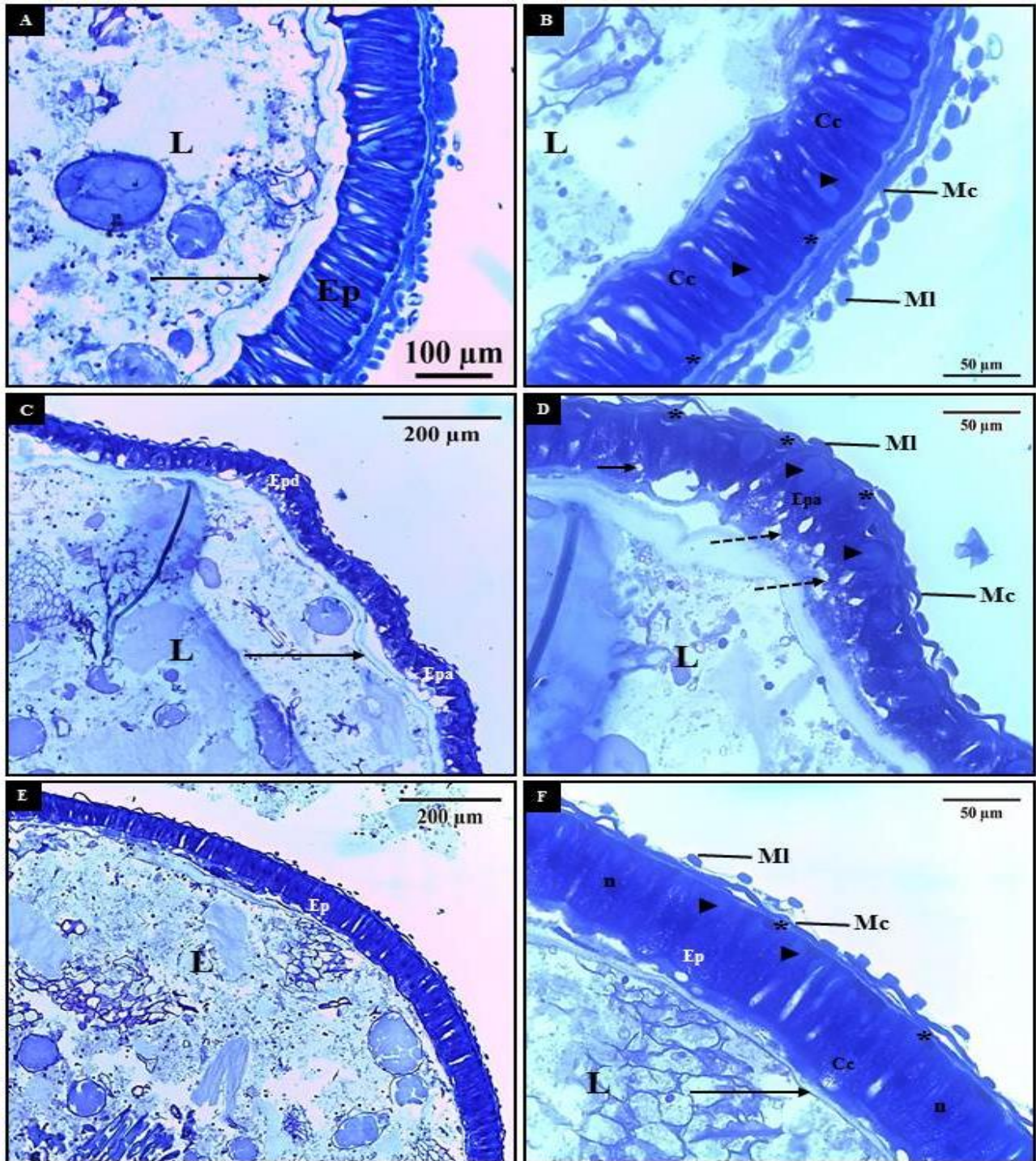


Figura 5. Corte transversal do intestino médio de lagartas de *Spodoptera frugiperda*. (A) e (B) controle 24 horas com 3,12 mg/g de NaCl. (C) e (D) tratamento com 12,8 mg/g de extrato de *Opuntia ficus-indica* 24 horas. (E) e (F) tratamento com 25,6 mg/g de extrato de *Opuntia ficus-indica* 24 horas. (A) observar o epitélio íntegro, bem como a presença de membrana peritrófica (seta longa). (B) evidenciar células colunares (Cc), células caliciformes (pontas de seta) e células regenerativas (Asterisco), externamente notar músculo longitudinal (MI) e circular (Mc). (C) verificar parte do epitélio alterado (Epa) e membrana peritrófica (seta longa). (D) observar vacuolização (seta tracejada), no citoplasma de células colunares (seta pequena) e aumento de tamanho das células caliciformes (pontas de seta). (E) e (F) epitélio íntegro com células caliciformes (pontas de seta), células regenerativas (Asterisco) e com presença de membrana peritrófica (seta longa). Lúmen intestinal (L). Coloração Azul de Toluidina.

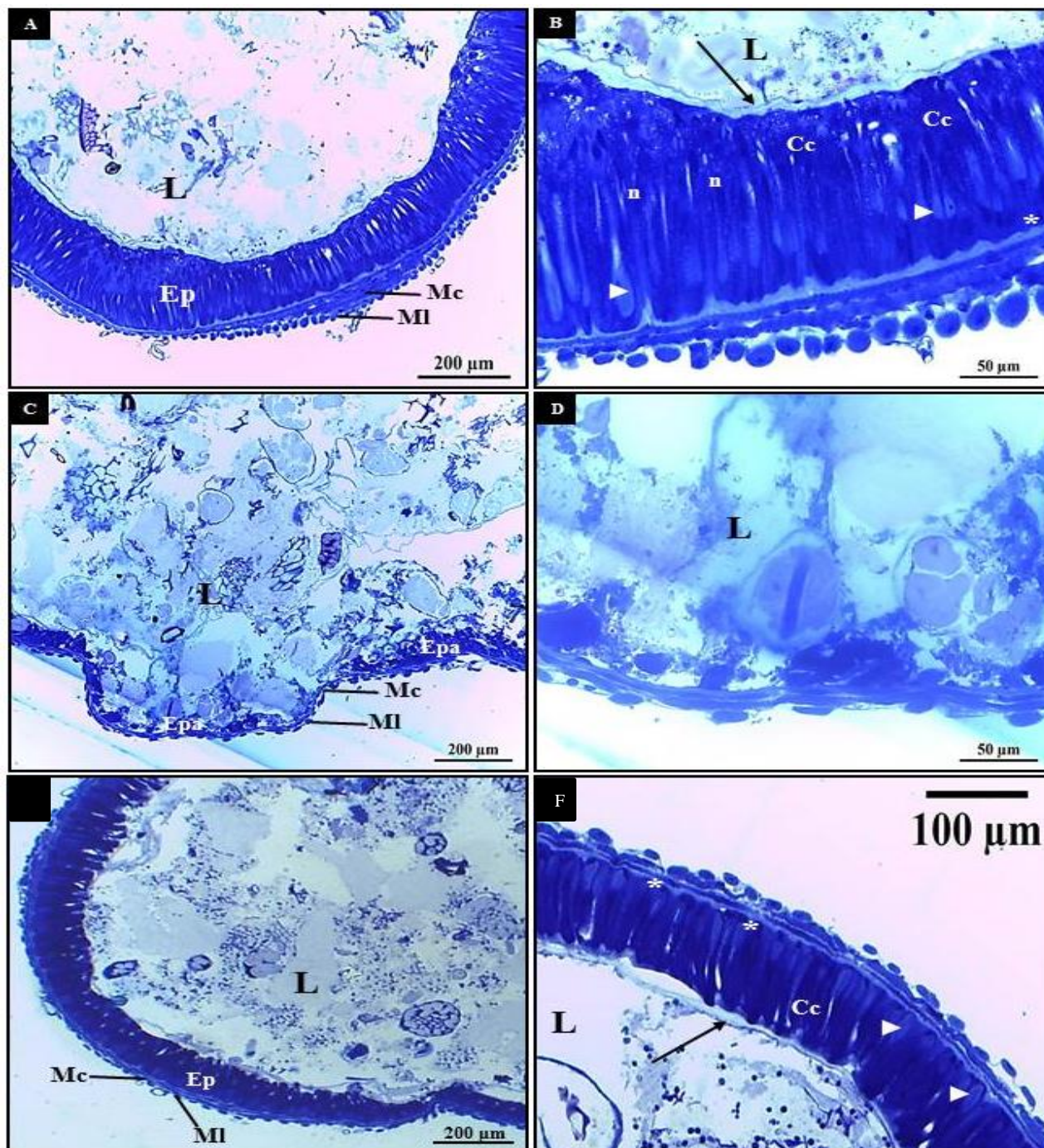


Figura 6. Corte transversal do intestino médio de lagartas de *Spodoptera frugiperda*. (A) e (B) controle 48 horas com 3,12 mg/g de NaCl. (C) e (D) tratamento com 12,8 mg/g de extrato de *Opuntia ficus-indica* 48 horas. (E) e (F) tratamento com 25,6 mg/g de extrato de *Opuntia ficus-indica* 48 horas. (A) e (B) observar o epitélio íntegro formado por células colunares (Cc), células caliciformes (pontas de seta) e células regenerativas (Asterisco), bem como a presença de membrana peritrófica (seta longa) e músculo longitudinal (MI) e circular (Mc), externamente. (C) e (D) verificar o epitélio alterado (Epa) e o desaparecimento da membrana peritrófica. (E) e (F) epitélio íntegro com células colunares (Cc), caliciformes (pontas de seta), células regenerativas (Asterisco) e com presença de membrana peritrófica (seta longa). Lúmen intestinal (L), Membrana peritrófica (seta longa), Epitélio (Ep), Coloração Azul de Toluidina.

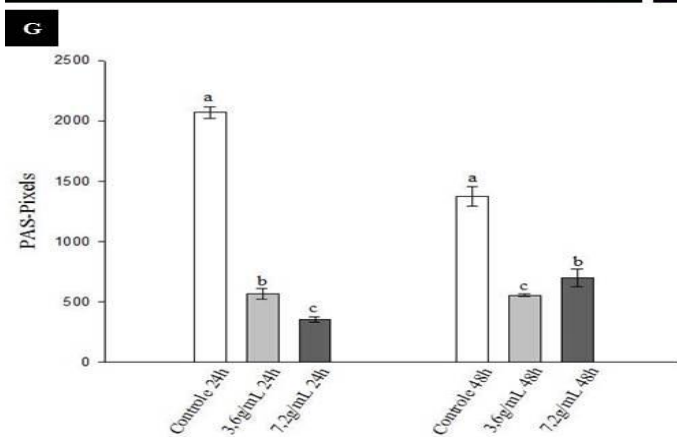
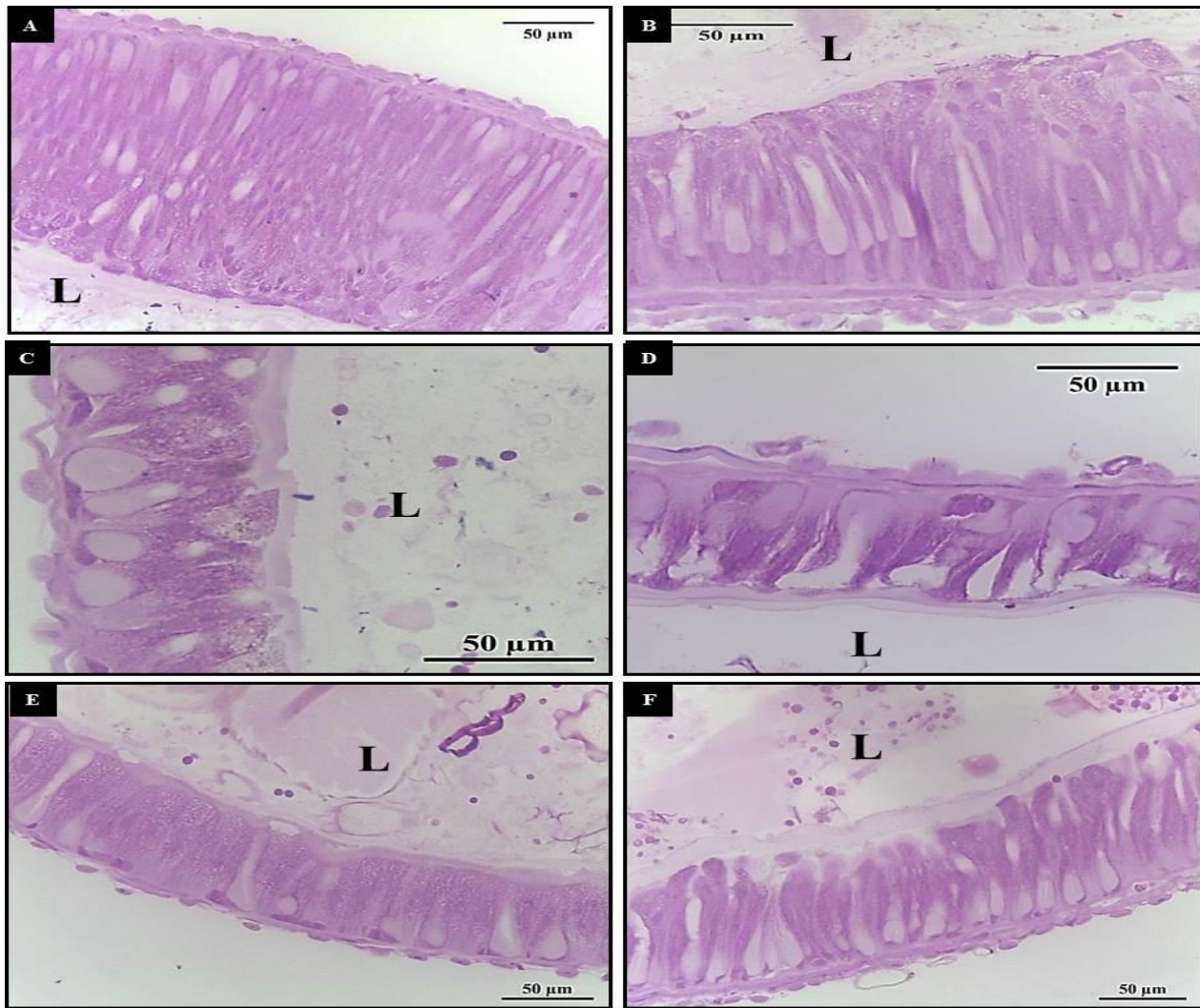


Figura 7. Histoquímica do intestino médio de lagartas de terceiro ínstar de *Spodoptera frugiperda* para carboidratos neutros. (A) Controle com 3,12 mg/g de NaCl 24 horas. (C) e (E) tratamento com 12,8 e 25,6 mg/g 24 horas, respectivamente, de extrato de *Opuntia ficus-indica*. (B) controle com 3,12 mg/g de NaCl 48 horas. (D) e (F) tratamento com 12,8 e 25,6 mg/g 48 horas, respectivamente, de extrato de *Opuntia ficus-indica*. Coloração P.A.S. (G) quantidade média de pixels para carboidratos neutros. Barras seguidas de letras desiguais diferem significativamente pelo teste de Tukey a 0,05 de significância. Lúmen (L).

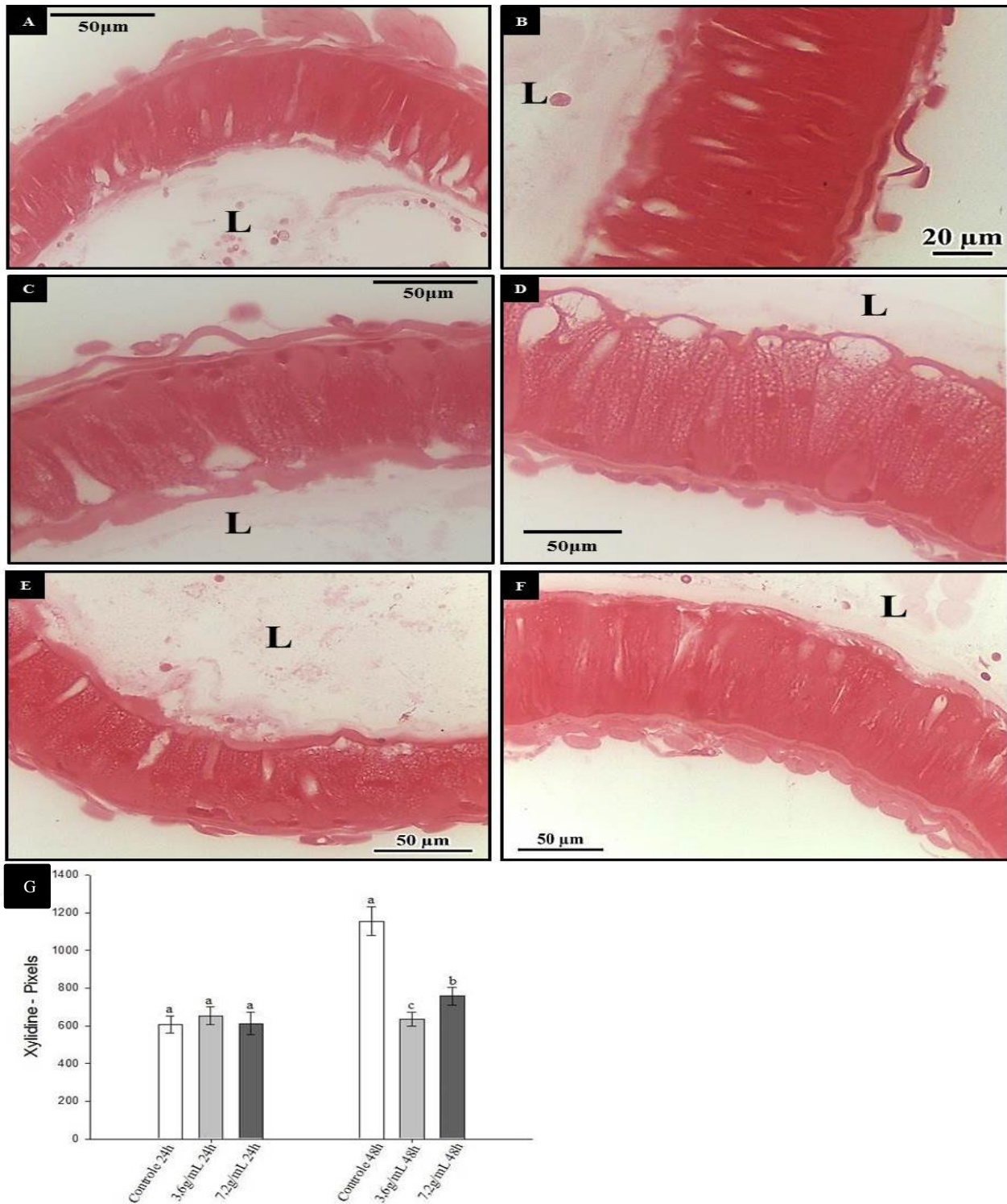


Figura 8. Histoquímica do intestino médio de lagartas de terceiro ínstar de *Spodoptera frugiperda* para proteínas totais. (A) Controle com 3,12 mg/g de NaCl 24 horas. (C) e (E) tratamento com 12,8 e 25,6 mg/g, 24 horas, respectivamente, de extrato de *Opuntia ficus-indica*. (B) controle com 3,12 mg/g de NaCl 48 horas. (D) e (F) tratamento com 12,8 e 25,6 mg/g, 48 horas, respectivamente, de extrato de *Opuntia ficus-indica*. Coloração Xylidine Ponceau. (G) quantidade média de pixels para proteínas totais. Barras seguidas de letras desiguais diferem significativamente pelo teste de Tukey a 0,05 de significância. Lúmen (L).

CAPÍTULO 4

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esta Tese foi motivada pela necessidade de realizar estudos para o controle de *S. frugiperda* de uma forma menos impactante para o ambiente e que venha a contribuir para a redução da seleção de insetos resistentes. Inicialmente foi realizada uma caracterização química do extrato de cladódios de *O. ficus-indica*, onde foram detectados compostos pertencentes a classes de moléculas inseticidas (lectinas e metabólitos secundários). Nesse sentido, foram procedidas investigações que revelaram o potencial inseticida do extrato de cladódios e do cloreto de sódio (NaCl) sobre *S. frugiperda* por afetar a viabilidade de ovos, períodos de duração e viabilidade analisados alterando o seu desenvolvimento e afetando algumas vezes em seus parâmetros reprodutivos. Ainda, o extrato de cladódios e o cloreto de sódio mostrou ser um promissor agente fagoestimulante entre os tratamentos e ao longo do tempo de exposição de 48 h para aqueles tratados com extrato de cladódios. O extrato de cladódios também interferiu na histologia do tecido epitelial, nos teores de polissacarídeos neutros e proteínas dos intestinos de *S. frugiperda*. Quando os experimentos foram conduzidos com *OfiL*, não foi possível apontar a sua participação como princípio ativo na atividade inseticida do extrato. Esta Tese contribui, portanto com o painel de compostos inseticidas naturais por apresentar um novo bioproduto com efeito tóxico sobre uma importante praga agrícola. Adicionalmente, os resultados são importantes, pois estudos abordando mecanismos de ação ainda são escassos em nossa área. Experimentos futuros são necessários para mostrar o efeito do extrato em condições de campo e indicar seu(s) princípio(s) ativo(s).