

## Interferência do extrato aquoso de folhas de *Tradescantia spathacea* na fisiologia nutricional do gorgulho do milho, *Sitophilus zeamais*

Thamara Figueiredo Procópio<sup>1</sup>, Bernardo do Rego Belmonte<sup>1</sup>, Patrícia Maria Guedes Paiva<sup>1</sup>, Afonso Cordeiro Agra-Neto<sup>2</sup>, Emmanuel Viana Pontual<sup>3</sup>, Thiago Henrique Napoleão<sup>1</sup>

**Resumo** (Interferência do extrato aquoso de folhas de *Tradescantia spathacea* na fisiologia nutricional do gorgulho do milho, *Sitophilus zeamais*) Esse trabalho avaliou os efeitos de um extrato aquoso de folhas de *T. spathacea* na sobrevivência e fisiologia de *S. zeamais*. O extrato foi obtido por maceração das folhas em água destilada. Cada bioensaio consistiu em uma placa de petri contendo vinte insetos adultos e cinco discos compostos por uma mistura de farinha de trigo com o extrato em concentrações de 28,8, 43,2, 57,6 e 72,0 mg/g (mg de extrato/g de farinha de trigo). Água destilada foi usada no controle. Após incubação (7 dias a 28°C), a taxa de sobrevivência, a biomassa adquirida e a quantidade de alimento ingerido foram determinadas. O índice de deterrência alimentar (IDA), a taxa de consumo relativo (TCR), a taxa de ganho relativo de biomassa (TGB) e a eficiência na conversão do alimento ingerido (ECAI) foram calculados. O extrato promoveu mortalidade (18,2±1,7%) significativa (p<0.05) somente na concentração de 72,0 mg/g. Os valores de IDA não indicaram rejeição do alimento e os valores de TCR não foram diferente (p>0.05) do controle. Entretanto, o extrato promoveu dano fisiológico aos insetos. No tratamento a 72,0 mg/g, a TGB e a ECAI foram -0,016±0,004 mg/mg/dia e -21,8±6,0%, respectivamente, indicando que os insetos perderam peso e não incorporaram a dieta como biomassa. Em conclusão, folhas de *T. spathacea* são fonte de compostos capazes de prejudicar a fisiologia nutricional de *S. zeamais*.

Palavras-chave: *Tradescantia spathacea*, milho, *Sitophilus zeamais*

**Abstract** (Interference of aqueous extract from *Tradescantia spathacea* leaves with the nutritional physiology of maize weevil, *Sitophilus zeamais*) This work evaluated the effects of aqueous extract from *T. spathacea* leaves on *S. zeamais* survival and physiology. The extract was obtained by maceration of leaves in distilled water and centrifugation. Each bioassay consisted in a petri plate containing twenty adult insects and five disks composed by a mixture of wheat flour and the extract at concentrations of 28.8, 43.2, 57.6 and 72.0 mg/g (mg of extract/g of wheat flour). Distilled water was used in control. After incubation (7 days, 28°C), the survival rate, acquired biomass and amount of ingested food were recorded. Feeding-deterrence index (FDI), relative consumption rate (RCR), relative biomass gain rate (BGR) and efficiency in conversion of ingested food (ECI) were calculated. The extract promoted significant (p<0.05) mortality (18.2±1.7%) only at 72.0 mg/g. FDI values did not indicate rejection of food and RCR values were not different (p>0.05) from control. However, the extract promoted physiological damage to insects. In treatment at 72.0 mg/g, RGR and ECI were -0.016±0.004 mg/mg/day and -21.8±6.0%, respectively, indicating that insects lose weight and did not incorporate diet into biomass. In conclusion *T. spathacea* leaves are source of compounds able to damage *S. zeamais* nutritional physiology.

Keywords: *Tradescantia spathacea*, maize, *Sitophilus zeamais*

### Introdução

Insetos-praga são aqueles que ocasionam grandes avarias e prejuízos a produtos e recursos agrícolas, podendo causar danos cujos impactos superam o gasto que seria necessário para evitá-los (Buzzi 2005, Salvadori 2009). O controle do ataque de grãos armazenados por insetos envolve uma série de estratégias integradas para assegurar que a qualidade e segurança dos grãos não sejam afetadas em longo prazo. Essas medidas incluem limpeza e secagem dos grãos, manutenção da aeração, regulação da temperatura e, sobretudo, aplicação de inseticidas, os quais

podem apresentar propriedades letal, repelente, deterrente, inibidora de crescimento ou da reprodução e/ou qualquer outra ação que resulte em efeito deletério sobre insetos (Addor 1994, Viegas Júnior 2003). Esses agentes incluem inseticidas de contato, os quais podem ser aplicados na superfície dos silos de armazenamento, ou inseticidas voláteis, que atuam por fumigação (Lazzari *et al.* 2006, Menezes 2005, Pereira *et al.* 2009).

Os principais inseticidas sintéticos utilizados atualmente são malathion, deltametrina e fosfina, sendo a

<sup>1</sup>Depart. de Bioquímica, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, s/n, Cid. Univ., CEP: 50670-420, Recife, PE, Brasil.

<sup>2</sup>Prefeitura da Cidade do Recife, Jardim Botânico do Recife, Km 7,5 da BR 232, s/n, Curado, 50000-230, Recife, PE, Brasil.

<sup>3</sup>Depart. de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, CEP: 52171-300, Recife, PE, Brasil.

fumigação o método mais usado (Vinha *et al.* 2011). Dentre estes, a fosfina é uma das mais utilizadas e age afetando o sistema nervoso simpático e o metabolismo dos insetos (Nath *et al.* 2011). Contudo, a fosfina é tóxica para humanos, causando diversos efeitos nocivos que vão desde tosse e dores de cabeça até necrose, fraturas e distúrbios motores (Assem e Takamiya 2007).

O crescimento da população mundial e, conseqüentemente, conseqüentemente, da demanda por alimentos tem levado ao aumento no uso de grandes quantidades desses pesticidas para proteção de culturas de importância econômica. Entretanto, essa prática aliada à ausência de planejamento adequado para aplicação dos inseticidas, tem resultado em diversos problemas que incluem: morte de insetos polinizadores e outras espécies não-alvo, eliminação de inimigos naturais, seleção e multiplicação de indivíduos resistentes, contaminação residual em alimentos e diferentes formas de poluição ambiental (Abrol e Shankar 2014, Fishel 2014).

Inseticidas naturais extraídos de plantas têm sido considerados como alternativas mais seguras, devido à baixa persistência e ação residual, bem como ao menor nível de toxicidade para espécies não-alvo. Nesse contexto, extratos vegetais são considerados elementos promissores para utilização em estratégias de manejo integrado de pragas.

As espécies do gênero *Sitophilus*, pertencente à Família Curculionidae (Ordem Coleoptera), são cosmopolitas de regiões tropicais que atacam diferentes tipos de grãos, como arroz, trigo, milho, aveia, cevada e sorgo (Gallo *et al.* 2002, Loeck *et al.* 2002, Lorini *et al.* 2008, Fazolin *et al.* 2010). O gorgulho do milho (*Sitophilus zeamais*) é ainda capaz de se alimentar de outros produtos como pêssegos, maçã, uva, marmelo e ameixa, além de produtos processados como macarrão e biscoitos (Botton 2005, Fazolin *et al.* 2010). *S. zeamais* é uma praga do tipo primária interna, cuja mandíbula rompe as películas protetoras dos grãos. Os adultos possuem de 3 a 4 mm de comprimento e conseguem acessar grãos em localizações profundas, até mesmo aqueles fortemente comprimidos. A fêmea deposita os ovos dentro dos grãos, onde uma larva se desenvolve e ocorre a pupação e desenvolvimento do novo inseto adulto (Gallo *et al.* 2002).

*Tradescantia spathacea*, popularmente conhecida como “abacaxi-roxo” ou “moisés-no-berço”, é uma planta herbácea perene de caule muito curto nativa do México. É uma planta de grande valor ornamental e pode se multiplicar por meio de suas sementes ou por propagação vegetativa como, por exemplo, enraizamento de estacas. Nesse trabalho nós avaliamos o efeito da ingestão de um extrato aquoso obtido a partir de folhas de *T. spathacea* na sobrevivência e fisiologia nutricional de *S. zeamais* adultos.

## Materiais e métodos

### Material vegetal e preparação do extrato

Folhas de *T. spathacea* foram coletadas no Jardim Didático do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco. As folhas foram lavadas com água da torneira seguida de água destilada e secas a 28°C durante 7 dias. Em seguida, as folhas (3 g) foram recortadas em peças de aproximadamente 4 cm<sup>2</sup> e submetidas à maceração manual em água destilada (30 mL). O homogenato foi então filtrado em gaze e papel de filtro e centrifugado (9.000 g, 15 min, 4 °C). O sobrenadante obtido correspondeu ao extrato.

### Insetos

Colônias de *S. zeamais* foram mantidas no Laboratório de Bioquímica de Proteínas do Departamento de Bioquímica da Universidade Federal de Pernambuco (Recife, Brasil). As colônias foram mantidas em recipientes de vidro (capacidade de 1 L) cobertos com voal, à temperatura de 28 ± 2°C, 70% de umidade relativa e fotoperíodo de 12:12 claro:escuro. A dieta consistiu em grãos de milho selecionados de acordo com a integridade, condições sanitárias, tamanho, e ausência de contaminação por insetos. Insetos adultos (30 a 60 dias de idade) foram utilizados nos bioensaios.

### Bioensaios

Os bioensaios foram realizados segundo uma adaptação do método de Xie *et al.* (1996) descrita por Napoleão *et al.* (2013). Cada bioensaio consistiu em uma placa de petri (90 x 15 mm) contendo cinco discos de uma mistura de farinha de trigo com o extrato de folhas. Para preparação dos discos, 5 mL de uma solução do extrato em determinada concentração foram adicionados a 2 g de farinha de trigo autoclavada. Após homogeneização por 5 min, cada disco foi preparado retirando-se uma alíquota de 200 µL da mistura. As placas foram postas em estufa a 56 °C por 24 h e, em seguida, a massa dos discos foi registrada. Foram avaliadas concentrações de 28,8, 43,2, 57,6 e 72,0 mg/g (mg de extrato/g de farinha de trigo). Ao final, grupos de 20 insetos com peso conhecido foram transferidos para cada placa. Os bioensaios foram realizados em quadruplicata e mantidos a 28 ± 2 °C. No controle negativo foi utilizado água destilada. Após 7 dias de experimento, a taxa de mortalidade e o peso dos discos e dos insetos foram determinados.

O índice de deterrência alimentar (IDA) foi calculado segundo a fórmula:  $IDA = [100 \times (C - T)] / C$ , onde *C* corresponde à massa ingerida no controle e *T* à massa

ingerida no teste. De acordo com os valores de IDA, o efeito da amostra foi classificado como: não-deterrente (IDA < 20%), deterrente fraco ( $50\% > \text{IDA} \geq 20\%$ ), deterrente moderado ( $70\% > \text{IDA} \geq 50\%$ ) ou deterrente forte ( $\text{IDA} \geq 70\%$ ) (Liu *et al.* 2007).

Os seguintes índices nutricionais foram também calculados: Taxa de ganho relativo de biomassa (TGB): (biomassa adquirida)/(biomassa inicial dos insetos x dias); Taxa de consumo relativo (TCR): (massa ingerida)/(biomassa inicial dos insetos x dias). Eficiência de conversão do alimento ingerido (ECAI): (biomassa adquirida/massa ingerida) x 100.

#### Análise estatística

Diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos foram calculadas através do Teste de Tukey. Os dados foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão.

### Resultados e discussão

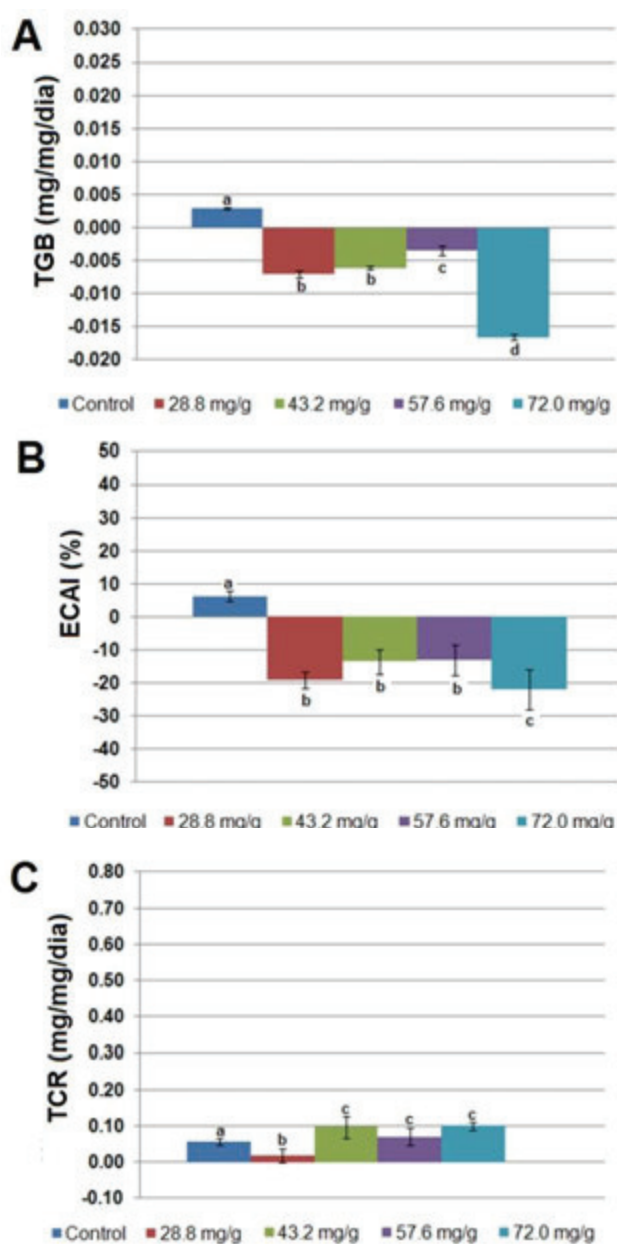
A ingestão do extrato de folhas de *T. spathacea* não resultou na morte dos adultos de *S. zeamais* nas concentrações de 28,8, 43,2, 57,6 mg/g. Já no tratamento com o extrato na concentração de 72,0 mg/g, a taxa de mortalidade ( $18,2 \pm 1,7\%$ ) dos insetos foi significativamente ( $p < 0,05$ ) diferente daquela observada no tratamento controle ( $5,0 \pm 0,0\%$ ). O extrato de *T. spathacea* foi menos eficiente que o extrato de folhas de *Myracrodruon urundeuva*, o qual matou adultos de *S. zeamais* com  $\text{LC}_{50}$  de 72,4 mg/g (Napoleão *et al.* 2013). Toxicidade por ingestão foi também encontrada para os óleos essenciais de *Eucalyptus saligna*, *Cupressus sempervirens*, *Ocimum gratissimum* e *Xylopiya aethiopica* contra o gorgulho do milho (Ngamo *et al.* 2001, Tapondjou *et al.* 2005) e triterpenos de *Junellia aspera* contra *S. oryzae* (Pungitore *et al.* 2005).

O extrato de *T. spathacea* não apresentou efeito deterrente em nenhuma das concentrações testadas, desde que os valores de IDA obtidos não ultrapassaram 10%. Os efeitos deterrentes de preparações vegetais e compostos sintéticos podem resultar da percepção de algum componente deletério por sensores neuronais associados ao aparelho bucal do inseto (efeito pré-ingestão) ou de um processo de intoxicação (efeito pós-ingestão), o qual pode envolver a inibição de enzimas digestivas. Nesse sentido, pode-se inferir que o extrato de folhas de *T. spathacea* não continha compostos capazes de causar a rejeição da dieta, ou os continha em concentração insuficiente.

O efeito deterrente alimentar de um produto inseticida tem grande potencial em impedir a ação danosa da praga, mas pode ter sua eficácia limitada devido à plasticidade fenotípica dos insetos, que podem se tornar

insensíveis em períodos até mesmo extremamente curtos, tais como dias e horas (Isman 2006).

Apesar de não ter resultado na mortalidade dos insetos durante o período analisado, a ingestão dos discos contendo o extrato induziu distúrbios nutricionais, em todas as concentrações testadas. Os valores de TGB foram negativos (Figura 1A), indicando que houve perda de biomassa pelos insetos. A ECAI variou de -13 a -21,8% (Figura 1B), indicando que o alimento ingerido foi insuficiente para contrabalançar os prejuízos causados. Os valores de TCR não foram significativamente ( $p > 0,05$ ) alterados (Figura 1C), o que está de acordo com a ausência de um efeito de rejeição pré e pós-ingestão.



**Figura 1.** Parâmetros nutricionais de adultos de *S. zeamais* alimentados com dieta artificial contendo o extrato de folhas de *T. spathacea*. TGB: taxa de ganho relativo de biomassa. ECAI: eficiência de conversão do alimento ingerido. TCR: taxa de crescimento relativo.

Embora o extrato de folhas de *T. spathacea* não tenha causado efeito agudo sobre os insetos, as alterações na fisiologia nutricional detectadas em nosso trabalho sugerem que o extrato pode ser capaz de exercer toxicidade crônica sobre os adultos de *S. zeamais*. Adicionalmente, a ausência de efeito deterrente aqui relatada assegura que a intoxicação pelo extrato não resulta no bloqueio da ingestão e que, portanto, o extrato poderá causar danos acumulativos aos insetos. Similar ao extrato de folhas de *T. spathacea*, o óleo essencial extraído da inflorescência de *Alpinia purpurata* também não causou efeito letal agudo em adultos de *S. zeamais*, mas alterou a fisiologia nutricional dos insetos (Lira et al. 2015).

Em conclusão, o extrato de folhas de *T. spathacea* é fonte de compostos com ação deletéria sobre a fisiologia nutricional de adultos de *S. zeamais*. Distúrbios nutricionais podem causar diversos efeitos em longo prazo em insetos, tais como redução da eficiência reprodutiva e da longevidade, o que pode reduzir consideravelmente os danos causados por uma determinada praga. Os resultados desse trabalho estimulam futuros estudos visando a identificação de princípios ativos do extrato.

#### Referências bibliográficas

- Abrol, D.P., Shankar, U. 2014. Pesticides, Food Safety and Integrated Pest Management. *In*: Pimentel, D., Peshin, R. (Eds.). Integrated Pest Management. Pesticide Problems, vol. 3. Springer, New York. Pp. 167-200.
- Addor, R.W. 1994. Insecticides. *In*: Godfery, C.R.A. (Ed.). Agrochemicals from natural products. Marcel Dekker. Inc., New York. Pp. 1-62.
- Assem, L., Takamiya, M. 2007. Phosphine General information. Institute of Environment and Health, Cranfield University.
- Botton, M., Lorini, I., Loeck, A.E., Afonso, A.P.S. 2005. O gorgulho do milho *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) como praga em frutíferas de clima temperado. Circular Técnica nº 58. Bento Gonçalves: Embrapa.
- Buzzi, Z. J. 2005. Entomologia didática. 4.ed. Curitiba: Editora UFPR.
- Fazolin, M., Costa, C.R., Damaceno, J.E.O., Albuquerque, E.S., Cavalcante, A.S.S., Estrela, J.L.V. 2010. Fumigação de milho para o controle do gorgulho utilizando caule de *Tanaecium nocturnum* (Bignoniaceae). Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.45, p.1-6.
- Fishel, F.M. 2014. Pesticide effects on nontarget organisms. Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida.
- Gallo, D. et al. 2002. Entomologia agrícola. FEALQ, Piracicaba.
- Isman, M.B., 2006. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. Annual Reviews in Entomology, v.51, p. 45-66.
- Lazzari, S.M.N., Karkle, A.F., Lazzari, F.A. 2006. Resfriamento artificial para o controle de Coleoptera em arroz armazenado em silo metálico. Revista Brasileira de entomologia. v. 50, p. 293-296.
- Lira, C.S., Pontual, E.V., Albuquerque, L.P., Paiva, L.M., Paiva, P.M.G., Oliveira, J.V., Napoleão, T.H., Navarro, D.M.A.F. 2015. Evaluation of the toxicity of essential oil from *Alpinia purpurata* inflorescences to *Sitophilus zeamais* (maize weevil). Crop Protection, v.71, p. 95-100.
- Loeck, A.E. 2002. Pragas de produtos armazenados. EGUFPEL, Pelotas.
- Lorini, I. 2008. Manejo integrado de pragas de grãos de cereais armazenados. Embrapa Trigo, Passo Fundo. p.72.
- Napoleão, T.H., Belmonte, B.R., Pontual, E.V.; Albuquerque, L.P.; Sá, R.A.; Paiva, L.M.; Coelho, L.C.B.B; Paiva, P.M.G. 2013. Deleterious effects of *Myracrodruon urundeuva* leaf extract and lectin on the maize weevil, *Sitophilus zeamais* (Coleoptera, Curculionidae). Journal of Stored Products Research, v.54, p. 26-33.
- Nath, N.S., Bhattacharya, I., Tuck, A.G., Schlipalius, D.I., Ebert, P.R. 2011. Mechanisms of phosphine toxicity. Journal of Toxicology, v. 2011, artigo 494168.
- Ngamo, L.S.T., Ngassoum, M.B., Jirovertz, L., Ousman, A., Nukenine, E., Moukala, O.E. 2001 Protection of stored Maize against *Sitophilus zeamais*



- (Motsch.) by use of essential oils of species from Cameroon. Medicine Faculty Landbouww, University Gent, v. 66, p. 473-478
- Menezes, E.L.A. 2005. Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modos de ação e uso agrícola. Seropédica: Embrapa Agrobiologia.
- Pereira, C.J., Pereira, E.J.G., Cordeiro, E.M.G., Della Lucia, T.M.C., Tótola, M.R., Guedes, R.N.C., 2009. Organophosphate resistance in the maize weevil *Sitophilus zeamais*: Magnitude and behavior. Crop Protection, v. 28, p. 168-173.
- Pontual, E.V., Napoleão, T.H., Assis, C.R.D., Bezerra, R.S.; Xavier, H.S., Navarro, D.M.A.F., Coelho, L.C.B.B., Paiva, P.M.G. 2012. Effect of *Moringa oleifera* flower extract on larval trypsin and acetylcholinesterase activities in *Aedes aegypti*. Archives of Insect Biochemistry and Physiology, v. 79, p. 135–152.
- Pungitore, C.R., García, M., Gianello, J.C., Sosa, M.E., Tonn, C.E. 2005. Insecticidal and antifeedant effects of *Junellia aspera* (Verbenaceae) triterpenes and derivatives on *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). Journal of Stored Products Research, v. 41, p. 433-443.
- Regnault-Roger, C., Staff, V., Philogène, B., Terrón, P., Vincent, C. 2004. Biopesticidas de origen vegetal. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa.
- Salvadori, J.R.; Lau, D.; Pereira, P.R.V.S. 2009. Cultivo de trigo. Embrapa Trigo, Sistema de Produção.
- Tapondjou, A.L., Adler, C., Fontem, D.A., Bouda, H., Reichmuth, C. 2005. Bioactivities of cymol and essential oils of *Cupressus sempervirens* and *Eucalyptus saligna* against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium confusum* Du Val. Journal of Stored Products Research, v. 41, p. 91–102.
- Viegas Júnior, C. 2003. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. Química Nova, v. 26, p. 390-400.
- Vinha, M.B., Pinto, C.L.O., Pinto, C.M.F., Souza, C.F., Souza, M.R.M., Oliveira, L.L. 2011. Impactos do uso indiscriminado de agrotóxicos em frutas e hortaliças. Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável, v.1, p. 1-5
- Xie, M., Hu, J., Long, Y.M., Zhang, Z.L., Xie, H.Y., Pang, D.W. 2009. Lectin-modified trifunctional nanobiosensors for mapping cell surface glycoconjugates. Biosensors and Bioelectronics, v. 24, p. 1311-1317.