

## Efeito Fagodeterrente e Inseticida do Extrato Etanólico de *Calymperes lonchophyllum* Schwägr. (Bryophyta) Sobre Lagartas de *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae)

## Antifeedant and Insecticide Effect of Ethanolic Extract from *Calymperes lonchophyllum* Schwägr. (Bryophyta) on Caterpillars *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae)

Rita de Cássia Pereira dos Santos<sup>a</sup>; Eryka de Nazaré Rezende Moraes<sup>a</sup>; Raynon Joel Monteiro Alves<sup>b</sup>; Roberto Cezar Lobo da Costa<sup>a</sup>; Wilson José Mello e Silva Maia<sup>a</sup>; Ana Cláudia Caldeira Tavares Martins<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Universidade Federal Rural da Amazônia. AM, Brasil.

<sup>b</sup>Universidade do Estado do Pará. PA. Brasil.

\*E-mail: raynon\_alves@yahoo.com.br

### Resumo

As briófitas possuem, em sua composição química, importantes metabólitos bioativos que podem ser utilizados para o controle de insetos-praga, como a *Spodoptera frugiperda* (JE Smith). Diante disso, este estudo reportou os efeitos fagodeterrente e inseticida do extrato etanólico de *Calymperes lonchophyllum* Schwägr. sobre larvas de de *S. frugiperda* de 3º instar. Foram testados cinco tratamentos (controle; 2,00; 1,00; 0,50 e 0,25 mg/ml de extrato), com cinco repetições, totalizando 25 bioensaios, sendo que cada um continha um disco foliar tratado com 50 µl de controle (água e DMSO) e as quatro concentrações do extrato, e uma lagarta. As avaliações de fagodeterrencia e mortalidade foram realizadas após 24, 48 e 72 horas do experimento. Os resultados indicaram que, após 48 horas, os tratamentos com as concentrações 2,00 e 1,00 mg/ml já apresentavam uma ação fagodeterrente sobre as lagartas, assim como tais concentrações demonstraram um efeito inseticida, em 72 horas. Com base nisso, este é o primeiro estudo realizado no Brasil com *C. lonchophyllum*, e indicou a potencialidade do extrato etanólico dessa espécie de musgo para aplicações biotecnológicas voltadas ao controle de pragas do gênero *Spodoptera* spp.

**Palavras-chave:** Briófitas. Compostos Bioativos. Efeito *antifeedant*. Lagarta-do-Cartucho do Milho.

### Abstract

*Bryophytes have, in their chemical composition, important bioactive metabolites that can be used to control insect pests, such as Spodoptera frugiperda (JE Smith). This study reported the antifeedant and insecticidal effects of the ethanolic extract of Calymperes lonchophyllum Schwägr. on 3rd instar S. frugiperda larvae. Five treatments were tested (control; 2.00; 1.00; 0.50 and 0.25 mg/ml of extract), with five replications, totaling 25 bioassays, each containing a leaf disc treated with 50 µl of control (water and DMSO) and the four concentrations of the extract and one caterpillar. The antifeedant and mortality evaluations were performed after 24, 48 and 72 hours of the experiment. The results indicated that, after 48 hours, the treatments with the concentrations 2.00 and 1.00 mg/ml already showed an antifeedant action on the caterpillars, as well as such concentrations demonstrated an insecticidal effect, in 72 hours. Based on this, this is the first study carried out in Brazil with C. lonchophyllum, and indicated the potential of the ethanolic extract of this species of moss for biotechnological applications aimed at controlling pests of the genus Spodoptera spp.*

**Keywords:** Bryophytes. Bioactive Compounds. Antifeedant Effect. Fall Armyworm.

### 1 Introdução

As plantas com propriedades inseticidas vêm sendo utilizadas pelo homem desde antigamente, persistindo até hoje, com mais de 2.000 espécies de plantas conhecidas (Viegas-Júnior, 2003). Produtos naturais provenientes de vegetais podem ser uma opção para o manejo de pragas na forma de extratos ou como subsídios para a produção de inseticidas botânicos comerciais (Guerra, 1985; Reis *et al.*, 2023). Estas práticas constituem formas alternativas, de baixo custo e de fácil acesso aos produtores rurais para evitar prejuízos na produção, diminuir riscos à saúde humana e minimizar os impactos ambientais, pois os extratos botânicos são rapidamente degradáveis e menos tóxicos em relação aos agroquímicos sintéticos (Figueiredo; Rocha; Freitas, 2018; Leão, 1996; Souza, 2004; Torres;

Freitas, 2018).

Atualmente, diversos produtos naturais são utilizados no controle de pragas, como o da *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), popularmente conhecida como lagarta-do-cartucho do milho, em função do dano causado à espiga do milho (*Zea mays* L.) (Poaceae), e cujo controle populacional, no geral, ocorre por meio de agroquímicos sintéticos (Ayil-Gutiérrez *et al.*, 2018; Casmuz *et al.*, 2010; Cruz; Figueiredo; Matoso, 1999). Como alternativa ao uso desses produtos, extratos de várias espécies de plantas têm sido reportados em relação à *S. frugiperda* como repelente, *antifeedant* (fagodeterrente), ovicida, inseticida, indutor de toxicidade celular, supressor reprodutivo, redutor de fertilidade e fecundidade, inibidor de crescimento, entre outros (Paredes-Sánchez *et al.*, 2021; Rioba; Stevenson, 2020);

Neste contexto, destacam-se as briófitas que, geralmente, não são atacadas por insetos, caracóis, lesmas e outros invertebrados, pois apresentam uma grande variedade de terpenos lipofílicos, compostos aromáticos, ácidos graxos, compostos fenólicos, (bis)bibenzilos, ésteres e outros (Asakawa *et al.*, 1988; Asakawa; Ludwiczuk; Nagashima, 2013; Davidson; Longton, 1987; Novaković *et al.*, 2021). Estudos nesta linha de pesquisa têm demonstrado promissores efeitos letais e subletais de briófitas sobre insetos, inclusive em relação ao ciclo biológico de *S. frugiperda* (Alves, 2023; Markham *et al.*, 2006; Moraes *et al.*, 2021; Ramirez *et al.*, 2017; Santos *et al.*, 2022), que é a espécie-praga de interesse nesta investigação.

Dando continuidade à busca por espécies de briófitas promissoras para o controle populacional de insetos-praga, realizou-se um estudo aplicado com *Calymperes lonchophyllum* Schwägr. (Calymperaceae), um musgo comumente encontrado sobre troncos vivos ou em decomposição de árvores nativas da Floresta Amazônica, e porque o extrato dessa espécie já havia sido reportado como potencial antibacteriano (Lisboa; Ilkiu-Borges, 2007; Pinheiro; Lisboa; Brazão, 1989; Santos; Lisboa, 2008). Entretanto, até o momento, não foi encontrado registro na literatura nacional sobre a ação de extrato dessa espécie de musgo sobre insetos. Diante disso, o presente estudo reporta a análise dos efeitos fagoderrente e inseticida do extrato etanólico de *C. lonchophyllum* sobre a lagarta-do-cartucho do milho.

## 2 Material e Métodos

### 2.1 Coleta, identificação e triagem do material botânico

Foram coletadas 100 g frescas de *C. lonchophyllum* em um fragmento de Floresta Amazônica no Parque Ecológico do Gunma (01°13'00.86"S e 48°17'41.18"W), município de Santa Bárbara, Estado do Pará, utilizando as técnicas de coleta propostas por Yano (1989). As amostras foram lavadas, separadas com auxílio de pinça (Flume 5) e lupa (Leica, Wild M3Z) e identificadas seguindo as técnicas usuais para a espécie (Florschütz, 1964; Lisboa, 1993). Adotou-se a classificação taxonômica de Goffinet, Buck e Shaw (2008) e as exsiccatas estão depositadas no Herbário João Murça Pires do Museu Paraense Emílio Goeldi - MPEG, em Belém, Pará, Brasil.

Após o processo de separação e identificação da espécie de interesse, o material botânico foi lavado, desidratado ao Sol e conservado em ambiente refrigerado. Como essas plantas ocorrem geralmente em moitas, tapetes ou tufos reunindo indivíduos de diferentes gêneros ou espécies (Richards, 1984), os espécimes de *C. lonchophyllum* foram minuciosamente separados, considerando o gametófito e o esporófito.

### 2.2 Preparo do extrato etanólico, solução-estoque e concentrações

As análises foram realizadas no Laboratório Central de

Extração Química da Universidade Federal do Pará (UFPA), no qual a amostra seca de *C. lonchophyllum* foi pesada (6 g) em balança de precisão (Shimadzo, modelo AY220) e triturada em pistilo. Posteriormente, tal amostra foi submetida à maceração a frio, em temperatura ambiente (25 a 30 °C), usando como solvente o etanol PA (120 ml).

A cada dois dias, esse material era filtrado a vácuo e remacerado, renovando apenas o etanol, por um período de seis dias, totalizando três macerações a frio, com objetivo de assegurar a extração de maior número de substâncias da matriz vegetal. O extrato bruto (volume obtido) de cada etapa foi colocado em um balão volumétrico, concentrado em rotavapor (marca Büchi, modelo R-3), sob pressão reduzida de 45 °C ± 1 °C, a fim de evaporar todo o etanol (Barbosa, 2004; Simões *et al.*, 2007). O teor de substâncias (extrativos) solúveis em etanol foi determinado pela massa seca de 50 mg de extrato de *C. lonchophyllum*.

Dessa massa seca, foram utilizados 20 mg diluídos em 10 ml de dimetilsulfóxido (DMSO) para preparar a solução-estoque, ou seja, a concentração de 20 mg/10 ml consistiu na relação massa do extrato/volume do solvente. A partir desta solução-estoque foram preparadas as diluições (tratamentos) nas concentrações de 2,0; 1,0; 0,5 e 0,25 mg/ml (Markham *et al.*, 2006; Moraes *et al.*, 2021; Santos *et al.*, 2022), pois o intuito desse procedimento foi adicionar o solvente (DMSO) em uma solução, diminuindo a concentração do soluto (extrato). Para o grupo controle foram usados 5 ml de DMSO diluído em 5 ml de água.

### 2.3 Criação de lagartas-do-cartucho

As lagartas de *S. frugiperda* foram coletadas em uma área de cultivo de milho nas proximidades do Setor de Solos da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA) e em plantas cultivadas em casa de vegetação. No caso das lagartas, estas foram colocadas em caixas gerbox plásticas transparentes de 12 x 12 x 3 cm, contendo folhas de milho (dieta natural) para obtenção da colônia inicial das larvas. O período médio de duração das fases de ovo, larva, pupa e adulto é de cerca de 3, 25, 11 e 12 dias, respectivamente (Gassen, 1996; Silva, 2016).

As lagartas foram criadas no Laboratório de Bioecologia de Insetos (LABIN/ICA/UFRA), em ambiente climatizado (24 ± 2 °C) e umidade relativa de 70 ± 10%. Ao iniciarem a fase de pupa, os insetos foram transferidos para novas caixas gerbox limpas e com papel filtro umedecido no fundo para manter a umidade. Os adultos (mariposas) foram acondicionados em gaiolas de tubo de PVC (cloreto de polivinila) de 30 cm de diâmetro por 40 cm de altura, revestidas internamente com papel de filtro para postura. As mariposas foram alimentadas com solução de mel a 10%, embebidas em pedaços de algodão. Os ovos (posturas) foram retirados e acondicionados em caixas gerbox esterilizadas. As larvas recém-eclodidas, após o primeiro instar, foram colocadas em copos descartáveis contendo a dieta artificial de Bowling (1967).

## 2.4 Preparo do teste por ingestão sem chance de escolha

Para os bioensaios foram utilizadas 25 lagartas de 3º instar, que possuem entre 10 e 12 dias de vida (Silva, 2016). Este instar foi selecionado, em função de que, no início da fase larval, as lagartas têm preferência alimentar pelas folhas jovens da planta e o aumento da população ainda pode ser controlado (Harrison, 1984; Hoy; Shelton, 1987). Além disso, é importante considerar que, em geral, as lagartas têm mais sensibilidade aos compostos secundários nos instares iniciais, diminuindo conforme o desenvolvimento larval avança (Bellonda; Zucoloto, 2009).

Foram aplicados cinco tratamentos (controle e 2,00; 1,00; 0,50 e 0,25 mg/ml de extrato), com base em trabalhos realizados com extratos de briófitas sobre insetos, incluindo a ordem Lepidoptera e a espécie *S. frugiperda* (Labbé *et al.*, 2005; Markham *et al.*, 2006; Moraes *et al.*, 2021; Santos *et al.*, 2022). As seções foliares de plantas de milho, usadas no experimento, foram obtidas a partir do cultivo de milho em casa de vegetação para a obtenção de discos foliares de 2,3 cm de diâmetro com um perfurador tipo *scrapbook*. Nestes discos foram pipetados 50 µl dos respectivos tratamentos e, depois, foram transferidos para placas de *Petri*, previamente forradas com discos de papel de filtro de 10 cm de diâmetro, recebendo uma lagarta cada. As placas de *Petri* foram mantidas úmidas durante todo o experimento para preservar a turgescência dos discos foliares.

## 2.5 Delineamento experimental

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos e cinco repetições, totalizando 25 bioensaios. Cada repetição foi composta por uma larva de 3º instar e um disco foliar tratado com o controle e as concentrações do extrato.

## 2.6 Análise dos dados

Foram analisados o consumo foliar e a mortalidade das lagartas em 24, 48 e 72 horas. Para a primeira análise foi elaborada uma escala de dano foliar relativa com escores (pontuações) de 0 a 5 (Markham *et al.*, 2006, adaptado), como uma ferramenta de comparação quantitativa para determinar a porcentagem de consumo dos discos foliares de milho e, consequentemente, determinar o valor de fagodeterrência, que corresponde à parte foliar não consumida. Os escores 0, 1, 2, 3, 4 e 5 representam, respectivamente, 0%, 1-25%, 26-50%, 51-75%, 76- 99% e 100% de dano foliar. Já a taxa de mortalidade, esta foi medida contabilizando o número de morte larval ao dia.

Os dados experimentais contabilizados às 24, 48 e 72 horas foram submetidos à análise de variância em relação ao consumo foliar, e suas médias comparadas pelo Teste U de Mann-Whitney, o qual avalia a significância das diferenças entre o controle e cada tratamento com as concentrações do extrato, além de verificar possíveis diferenças entre esses

tratamentos (Siegel; Castellan Júnior, 2006). Todos os testes foram unilaterais e utilizaram um nível de confiança de  $\alpha = 0,05$ .

Em função do número de lagartas mortas nos tratamentos ter sido maior que no controle foi aplicado o Teste de Fischer (Siegel; Castellan Júnior, 2006), com nível de confiança  $\alpha = 0,05$ . Neste caso, foi verificada a significância das diferenças entre as frequências de duas amostras independentes (controle x cada um dos tratamentos com as concentrações do extrato). Como as amostras foram pequenas, recorreu-se à Modificação de Tocher, a qual verifica a significância de diferenças não tão extremas. Os cálculos de Fischer e Tocher representam a prova estatística mais poderosa para dados dispostos em tabelas 2 x 2 (Siegel; Castellan Júnior, 2006). Todas as análises foram realizadas por meio do software BioEstat 5.0 (Ayres *et al.*, 2007).

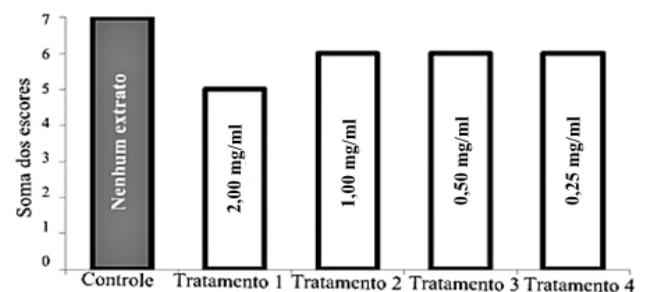
## 3 Resultados e Discussão

### 3.1 Fagodeterrência

#### 3.1.1 Após 24 horas

Realizando-se, inicialmente, a soma dos escores (pontuações) equivalentes ao consumo foliar, a Figura 1 demonstra as diferenças entre o comportamento alimentar nos diferentes tratamentos com o extrato e o controle. Nesse sentido, nota-se que esses resultados não revelaram grandes diferenças no consumo alimentar quando se compara cada um dos tratamentos com o controle.

**Figura 1** - Soma dos escores de consumo foliar das lagartas de 3º instar de *S. frugiperda* no controle e nos tratamentos com as concentrações do extrato etanólico de *C. lonchophyllum*, após 24 horas



Fonte: dados da pesquisa.

A constatação da inexistência de diferenças no consumo alimentar após 24 horas é observada quando, por meio do Teste U, não são verificadas diferenças significativas entre o controle e os tratamentos 1 (P-valor = 0,1481), 2, 3 e 4 (P-valor = 0,3008), pois tais valores estão acima de P-valor = 0,05, que é o parâmetro que denota a diferença significativa entre os tratamentos. Nesse caso, as distintas concentrações de extratos de *C. lonchophyllum* não provocaram fagodeterrência significativa nas lagartas após 24 horas de contato com o alimento (Quadro 1). Não houve também diferenças significativas entre os tratamentos 1, 2, 3 e 4 e o controle, sugerindo que não houve nenhuma concentração de extrato

mais eficiente que a outra em promover ação fagoderrente.

**Quadro 1** - Testes U de Mann-Whitney em relação à fagoderrencia no controle e nos tratamentos com as concentrações do extrato etanólico de *C. lonchophyllum* sobre as lagartas de 3º instar de *S. frugiperda*, após 24 horas

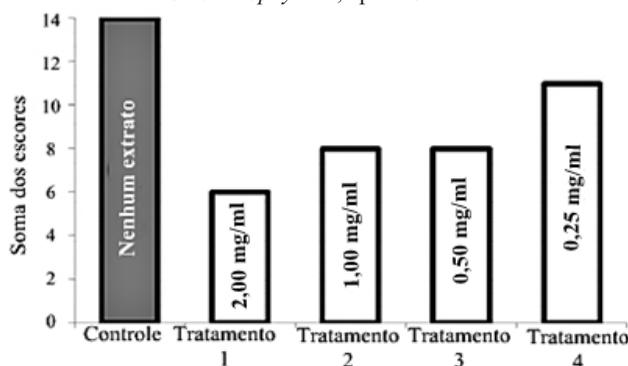
	Controle vs. T1 (2,00 mg/ml)	Controle vs. T2 (1,00 mg/ml)	Controle vs. T3 (0,50 mg/ml)	Controle vs. T4 (0,25 mg/ml)
Estatística "z"	1,0445	0,5222	0,5222	0,5222
Valor crítico	1,6449	1,6449	1,6449	1,6449
P-valor	0,1481	0,3008	0,3008	0,3008

Fonte: dados da pesquisa.

### 3.1.2 Após 48 horas

Após 48 horas, verificou-se a existência de maiores diferenças no consumo alimentar das lagartas nos diferentes tratamentos com as concentrações do extrato de *C. lonchophyllum* (Figura 2). Após a aplicação do Teste U foi observado que, no controle, o consumo foliar foi significativamente maior quando comparado ao consumo dos tratamentos 1 (P-valor = 0,0108), 2 e 3 (P-valor = 0,0473), pois tais valores estão abaixo de P-valor = 0,05 (Quadro 2). Isto permitiu considerar que houve ação fagoderrente provocada nas respectivas concentrações (2,00; 1,00 e 0,50 mg/ml) do extrato de *C. lonchophyllum*, decorrido 48 horas do experimento.

**Figura 2** - Soma dos escores de consumo foliar das lagartas de 3º instar de *S. frugiperda* no Controle e nos diferentes tratamentos com extratos de *C. lonchophyllum*, após 48 horas



Fonte: dados da pesquisa.

**Quadro 2** - Testes U de Mann-Whitney em relação à fagoderrencia no controle e nos tratamentos com as concentrações do extrato etanólico de *C. lonchophyllum* sobre as lagartas de 3º instar de *S. frugiperda*, após 48 horas

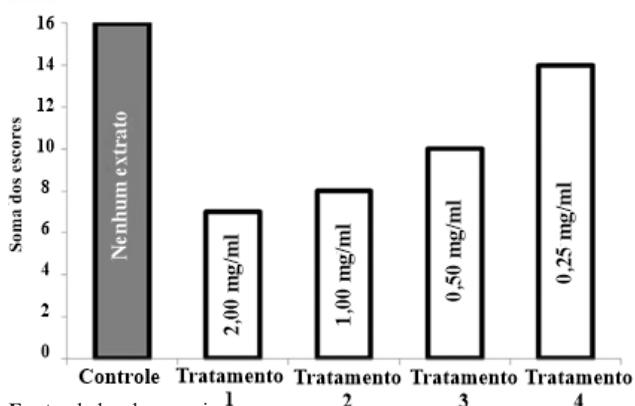
	Controle vs. T1 (2,00 mg/ml)	Controle vs. T2 (1,00 mg/ml)	Controle vs. T3 (0,50 mg/ml)	Controle vs. T4 (0,25 mg/ml)
Estatística "z"	2,2978	1,6711	1,6711	0,9400
Valor crítico	1,6449	1,6449	1,6449	1,6449
P-valor	0,0108	0,0473	0,0473	0,1736

Fonte: dados da pesquisa.

### 3.1.3 Após 72 horas

Novamente, verificou-se a existência de diferenças no consumo alimentar dos tratamentos 1 ao 4, quando comparado ao controle (Figura 3). Pelo Teste U foram encontradas diferenças significativas nos tratamentos 1 (2,00 mg/ml) e 2 (1,00 mg/ml) (P-valor = 0,0236 e P-valor = 0,0473, respectivamente) em relação ao controle, pois os escores desses dois tratamentos foram estatisticamente menores que P-valor = 0,05 (Quadro 3). Portanto, pode-se inferir que o extrato etanólico de *C. lonchophyllum*, nas concentrações de 2,00 mg/ml e 1,00 mg/ml, possui ação fagoderrente sobre as larvas de 3º instar de *S. frugiperda*, após 72 horas de contato com o alimento.

**Figura 3** - Soma dos escores de consumo foliar das lagartas de 3º instar de *S. frugiperda* no Controle e nos tratamentos com as concentrações do extrato etanólico de *C. lonchophyllum*, após 72 horas



Fonte: dados da pesquisa.

**Quadro 3** - Testes U de Mann-Whitney em relação à fagoderrencia no controle e nos tratamentos com as concentrações do extrato etanólico de *C. lonchophyllum* sobre as lagartas de 3º instar de *S. frugiperda*, após 72 horas

	Controle vs. T1 (2,00 mg/ml)	Controle vs. T2 (1,00 mg/ml)	Controle vs. T3 (0,50 mg/ml)	Controle vs. T4 (0,25 mg/ml)
Estatística "z"	1,9845	1,6711	1,3578	0,5222
Valor crítico	1,6449	1,6449	1,6449	1,6449
P-valor	0,0236	0,0473	0,0873	0,3008

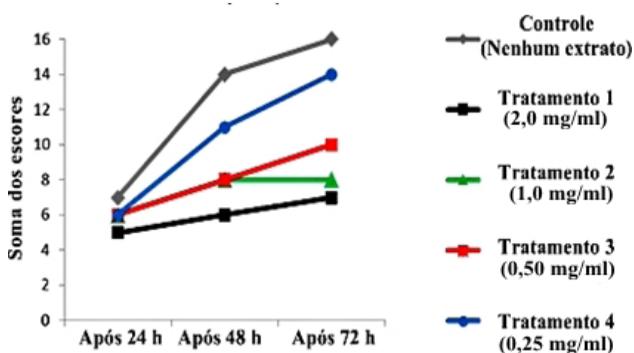
Fonte: dados da pesquisa.

Durante experimento similar, a ação do extrato etanólico de *Calymperes palisotii* Schwägr (Calymperaceae) resultou na redução do consumo de folhas de feijão-caupi por lagartas-do-cartucho de 3º instar em todos os tratamentos com as diferentes concentrações desse extrato (Alves, 2023). Entre as maiores concentrações, a de 1,0 mg/ml apresentou diferenças significativas em relação ao controle, após 24 horas (p = 0,0216344) e depois de 72 horas (p = 0,0047008), sugerindo um efeito fagoderrente moderado já no início do experimento.

A Figura 4, que agrupa os resultados de consumo

alimentar das lagartas de todos os tratamentos, após 24, 48 e 72 horas, evidenciou que houve uma redução da alimentação dos espécimes à medida que foram aumentadas as concentrações do referido extrato, enquanto no controle os valores dos escores foram ascendentes, durante os três dias. Em um estudo similar usando o extrato etanólico de *Campylopus surinamensis* Müll. Hal. também foi verificada a redução do consumo de folhas de milho por larvas de 3º instar de *S. frugiperda* em todos os tratamentos com as concentrações desse extrato, principalmente, em 2,00, 1,00 e 0,50 mg/ml, sugerindo que houve eficiência em promover uma ação fagoderrente sobre as lagartas (Santos *et al.*, 2022).

**Figura 4** - Evolução da soma dos escores de consumo alimentar de larvas de 3º instar de *S. frugiperda* no Controle e nos tratamentos com as concentrações do extrato etanólico de *C. lonchophyllum*, após 24, 48 e 72 horas



Fonte: dados da pesquisa.

## 3.2 Mortalidade

### 3.2.1 Após 24 horas

Após este período, foi observada apenas uma morte no tratamento 3 (0,50 mg/ml) (Quadro 4). Porém, o número de mortes no controle, assim como no grupo que recebeu o tratamento 3 e nos grupos dos demais tratamentos, foi estatisticamente igual (P-valor = 0,5000) (Quadro 4). Isto indicou que nenhuma das concentrações do extrato etanólico de *C. lonchophyllum* apresentou ação inseticida sobre larvas de 3º instar de *S. frugiperda*, pois o P-valor foi maior que 0,05.

**Quadro 4** - Número de lagartas vivas e mortas observadas no controle e nos tratamentos com as concentrações do extrato etanólico de *C. lonchophyllum*, após 24 horas

	Controle (Nenhum extrato)	T1 (2,00 mg/ml)	T2 (1,00 mg/ml)	T3 (0,50 mg/ml)	T4 (0,25 mg/ml)	Total
Viva	5	5	5	4	5	24
Morta	0	0	0	1	0	1
<b>Total</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>25</b>

p-valor (Fisher) = 0,5000. p-valor (Tocher) = 0,5000.

Fonte: dados da pesquisa.

### 3.2.2 Após 48 horas

Neste recorte temporal, o tratamento 1 (2,00 mg/ml) foi o único que apresentou espécimes mortos, o equivalente a dois (Quadro 5). Por meio do Teste de Fisher, verificou-se que não houve diferença significativa entre o tratamento 1 e o controle (P-valor (Tocher) = 0,0833). Ao aplicar o Teste de Fisher entre o tratamento 1 e cada um dos demais tratamentos, os resultados foram os mesmos (P-valor (Tocher) = 0,0833) (Quadro 5). Neste sentido, após 48 horas do experimento, não foi observada ação inseticida significativa em nenhuma das concentrações do extrato etanólico de *C. lonchophyllum* sobre as lagartas, visto que P-valor (Tocher) foi maior que 0,05.

**Quadro 5** - Número de lagartas vivas e mortas observadas no Controle e nos tratamentos com as concentrações do extrato etanólico de *C. lonchophyllum*, após 48 horas

	Controle (Nenhum extrato)	T1 (2,00 mg/ml)	T2 (1,00 mg/ml)	T3 (0,50 mg/ml)	T4 (0,25 mg/ml)	Total
Viva	4	3	4	4	4	19
Morta	1	2	1	1	1	6
<b>Total</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>25</b>

P-valor (Fisher) = 0,5000. P-valor (Tocher) = 0,0833

Fonte: dados da pesquisa.

### 3.2.3 Após 72 horas

Os tratamentos 1 (2,00 mg/ml) e 2 (1,00 mg/ml) apresentaram os mesmos números de lagartas vivas e mortas (Quadro 6). Diante disso, os resultados do Teste de Fisher realizado no Quadro 6, que vale tanto para a comparação entre o controle e o tratamento 1 quanto para a comparação entre o controle e o tratamento 2, indicaram que houve diferença significativa entre o controle e o tratamento 1 ou 2 (P-valor (Tocher) = 0,0238), pois o valor de P foi menor que 0,05 (Quadro 6). Constatou-se que, após 72 horas, as concentrações de 2,00 mg/ml e 1,00 mg/ml do extrato etanólico de *C. lonchophyllum* apresentaram ação inseticida significativa.

**Quadro 6** - Número de lagartas vivas e mortas observadas no controle e no tratamento 1 e no controle e no tratamento 2 do extrato etanólico de *C. lonchophyllum*, após 72 horas

	Controle (Nenhum extrato)	T1 (2,00 mg/ml)	T2 (1,00 mg/ml)	Total
Viva	4	2	2	6
Morta	1	3	3	4
<b>Total</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>10</b>

p-valor (Fisher) = 0,2619. p-valor (Tocher) = 0,0238

Fonte: dados da pesquisa.

Já em relação ao controle e o tratamento 4 (0,25 mg/ml), não foi verificada diferença significativa (P-valor (Tocher) = 0,0833), pois o valor de P-valor foi acima de 0,05 (Quadro 7).

**Quadro 7** - Número de lagartas vivas e mortas observadas no Controle e no Tratamento 4 do extrato etanólico de *C. lonchophyllum*, após 72 horas

	Controle (Nenhum extrato)	T4 (0,25 mg/ml)	Total
Viva	4	3	7
Morta	1	2	3
<b>Total</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>10</b>

P-valor (Fisher) 0,5000. P-valor (Tocher) 0,0833

Fonte: dados da pesquisa.

Ao comparar o tratamento 1 ou 2 (2,00 ou 1,00 mg/ml) com o tratamento 3 (0,50 mg/ml), em ambos os casos, foi verificado que houve diferença significativa, apresentando P-valor (Tocher) = 0,0238 (Quadro 8), quando anteriormente comparados ao controle, pois o valor de P foi abaixo de 0,05.

**Quadro 8** - Número de lagartas vivas e mortas observadas no Tratamento 1 ou 2 e Tratamento 3 do extrato etanólico de *C. lonchophyllum*, após 72 horas

	T1 ou T2 (2,00 ou 1,00 mg/ml)	T3 (0,5 mg/ml)	Total
Viva	2	4	6
Morta	3	1	4
<b>Total</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>10</b>

P-valor (Fisher) = ,2619 .. P-valor (Tocher) = ,0238

Fonte: dados da pesquisa.

Quanto ao tratamento 4 (0,25 mg/ml), aplicou-se o Teste de Fisher para compará-lo aos tratamentos 1 e 2, e não foram observadas diferenças significativas (P-valor (Tocher) = 0,1032), pois P foi superior a 0,05 (Quadro 9). Este fato permitiu inferir que o número de mortes no tratamento 1 ou 2 (2,00 ou 1,00 mg/ml) foi estatisticamente igual ao tratamento 4 (0,25 mg/ml).

**Quadro 9** - Número de lagartas vivas e mortas observadas no Tratamento 1 ou 2 e Tratamento 4 do extrato etanólico da espécie *C. lonchophyllum*, após 72 horas

	T1 ou T2 (2,00 ou 1,00 mg/ml)	T4 (0,25 mg/ml)	Total
Viva	2	3	5
Morta	3	2	5
<b>Total</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>10</b>

P-valor (Fisher) = ,5000. P-valor (Tocher) = ,1032

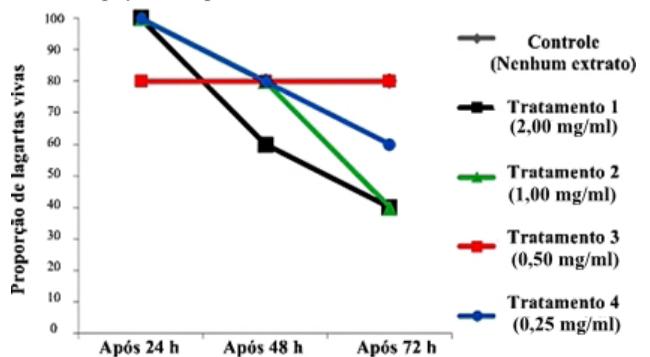
Fonte: dados da pesquisa.

Apesar da concentração de extrato do tratamento 3 (0,50 mg/ml) se apresentar maior que o tratamento 4 (0,25 mg/ml), neste último foi observado um maior número de mortes, o equivalente a duas, mas as diferenças entre estes tratamentos foram estatisticamente não significativas. Nesse contexto, Alves (2023) verificou que o extrato etanólico de *C. palisotii* teve efeito inseticida sobre lagartas-do-cartucho de 3º instar, sendo mais fatal em 48 e 72 horas e na concentração de 0,5 mg/ml e 0,25 mg/ml, o que indicou um possível efeito hormético. De acordo com Carvalhinho *et al.* (2017), esse efeito consiste na inversão na relação

concentração-resposta, sendo que as menores concentrações são as mais ativas.

A Figura 5 mostra a proporção de lagartas vivas nos respectivos tratamentos em cada recorte temporal. Destaca-se que os tratamentos 1, 2 e 4 mostraram mortalidade progressiva, sendo que os tratamentos 1 e 2 apresentaram 40% de lagartas vivas após 72 horas (Figura 5).

**Figura 5** - Evolução da proporção de larvas vivas de *S. frugiperda* entre diferentes concentrações do extrato etanólico de *C. lonchophyllum*, após 24, 48 e 72 horas



Fonte: dados da pesquisa.

No geral, observou-se que a maior mortalidade foi obtida entre as maiores concentrações de extrato (2,00 e 1,00 mg/ml), sugerindo que essas proporcionaram maior mortalidade dos espécimes.

#### 4 Conclusão

O extrato etanólico de *C. lonchophyllum* apresentou tanto atividade fagodeterrente quanto inseticida sobre larvas de 3º instar de *S. frugiperda*, sugerindo a existência de compostos bioativos que conferem defesa a essa espécie de musgo, e que podem ser de interesse para aplicações biotecnológicas no controle populacional de pragas do gênero *Spodoptera* spp. As melhores concentrações desse extrato foram 2,00 e 1,00 mg/ml, que conferiram fagodeterência a partir de 48 horas, e efeito inseticida (letal), em 72 horas.

O presente estudo representa o primeiro trabalho científico no Brasil a ser realizado com a espécie *C. lonchophyllum*, comprovando a atividade inseticida e/ou fagodeterrente derivados de seu extrato etanólico. Os resultados sugerem que a referida espécie de musgo, ocorrente em grande quantidade na Amazônia brasileira, é de grande importância e interesse para pesquisas de substâncias naturais que podem ser usadas como parte de um sistema de manejo integrado de pragas.

#### Referências

- ALVES, R.J.M. *Composição química volátil e bioatividades de briófitas sobre Spodoptera frugiperda (JE Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em folhas de feijão-caupi (Vigna unguiculata (L.) Walp.)*. Belém: Universidade Federal do Pará, 2023.
- ASAKAWA, Y. *et al.* Activity of drimane antifeedants and related compounds against aphids, and comparative biological effects and chemical reactivity of (-)- and (+)- polygodial. *J.*

*Chem. Ecol.*, v.14, p.1845-1855, 1988.

ASAKAWA, Y.; LUDWICZUK, A.; NAGASHIMA, F. Phytochemical and biological studies of bryophytes. *Phytochemistry*, v.91, p.52-80, 2013.

AYIL-GUTIÉRREZ, B.A. *et al.* Biological effects of natural products against *Spodoptera* spp. *Crop Protection*, v.114, p.195-207, 2018. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2018.08.032>

AYRES, M. *et al.* BIOESTAT – Aplicações estatísticas nas áreas das ciências bio-médicas. Belém: Ong Mamiraua, 2007.

BARBOSA, W.L.R. Manual para análise fitoquímica e cromatográfica de extratos vegetais. *Rev. Cient. UFFPA*, v.4, 2004.

BELLONDA, H.C.H.B.; ZUCOLOTO, F. Bioecologia e nutrição de insetos: base para o manejo integrado de pragas. Brasília: *Embrapa Informação Tecnológica*, 2009.

BOWLING, C.C. Rearing of two lepidopterous pests of rice on common artificial diet. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, v.60, p.1215-1216, 1967.

CARVALHINHO, D.T. *et al.* Toxicidade de extratos de *Anadenanthera macrocarpa* (Fabaceae: Mimosoideae) e *Bougainvillea butiana* (Nyctaginaceae) para lepidópteros-praga. *Biotemas*, v.30, n.2, p.15-24, 2017.

CASMUZ, A. *et al.* Revisión de los hospederos del gusano cogollero del maíz, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Rev. Soc. Entomol. Arg.*, v.69, n.3/4, p.209-231, 2010.

CRUZ, I.; FIGUEIREDO, M.L.C.; MATOSO, M.J. Controle biológico de *Spodoptera frugiperda* utilizando o parasitóide de ovos *Trichogramma*. *Embrapa- CNPMS, Circular Técnica*, v.30, p.1- 40, 1999.

DAVIDSON, A.J.; LONGTON, R.E. Acceptability of mosses as food for a herbivore, the slug, *Arion hortensis*. *Symp. Biol. Hung.*, v.35, p.707-719, 1987.

FIGUEIREDO, R.C.; ROCHA, W.C.; FREITAS, A.D.G. Efeito inseticida do óleo essencial e extratos etanólicos das folhas de mastruz (*Chenopodium ambrosioides* L.) sobre o gorgulho do milho (*Sitophilus zeamais* Mots). *Ens. Ciênc.*, v.22, n.2, p.80-84, 2018. doi: <https://doi.org/10.17921/1415-6938.2018v22n2p80-84>

FLORSCHÜTZ, P.A. The Mosses of Suriname. Musci Part I. In: LANJOUW, J. (Ed.). *Flora of Suriname*. Leiden, Brill, p.1-271, 1964.

GASSEN, D. *Manejo de Pragas associadas à cultura do milho*. Passo Fundo: Aldeia Norte, 1996.

GOFFINET, B.; BUCK, W.R.; SHAW, A.J. Morphology, anatomy, and classification of the Bryophyta. In: SHAW, A.J.; GOFFINET, B. *Bryophyte Biology 2*. Cambridge: University Press Cambridge. 2008. p.71-126.

GUERRA, M.S. *Receituário caseiro*: alternativas para o controle de pragas e doenças de plantas cultivadas e de seus produtos. Brasília: Embrater, 1985.

HARRISON, F.P. Observations on the infestation of corn by fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) with reference to plant maturity. *Florida Entomol.*, v.67, n.3, p. 333-335, 1984.

HOY, C.W.; SHELTON, A.M. Feeding response of *Artogeia rapae* (Lepidoptera: Pieridae) and *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae) to cabbage leaf age. *Environ. Entomol.*, v.16, p.680-682, 1987.

LABBÉ, C. *et al.* Antifungal and insect antifeedant 2-Phenylethanol esters from the liverwort *Balantiopsis*

*cancellata* from Chile. *J. Agricul. Food Chem.*, v.53, p.247-249, 2005.

LEÃO, M.G. *Fitoterápicos na família*. Mirassol D' Oeste: Pref. Municipal de Mirassol D'Oeste. p.1-36, 1996.

LISBOA, R.C.L. *Musgos Acrocárpicos do Estado de Rondônia*. Belém, Museu Paraense Emílio Goeldi, 1993.

LISBOA, R.C.L.; ILKIU-BORGES, A.L. Uma nova avaliação da brioflora da Reserva Mocambo, Belém (PA). In: GOMES, J.I. *et al.* *Diversidade e dinâmica da área de Pesquisa Ecológica do Guamá-APEG*. Belém: Embrapa Amazônia Ocidental, 2007. p.149-174.

MARKHAM, K. *et al.* Evaluation of fern and moss protein-based defenses against phytophagous insects. *Int. J. Plant Sci.*, v.167, p.111-117, 2006.

MORAES, E.N.R. *et al.* Effect of extract of amazon moss on *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) in maize. *Rev Ibero-Am. Ciênc. Amb.*, v.12, n.8, 2021. doi: <https://doi.org/10.6008/CBPC2179-6858.2021.009.0039>

NOVAKOVIĆ, M. *et al.* Phytochemicals from bryophytes: structures and biological activity. *J. Serbian Chem. Soc.*, v.86, p.1-37, 2021. doi: <https://doi.org/10.2298/JSC211027100N>

PAREDES-SÁNCHEZ, F.A. *et al.* Advances in control strategies against *Spodoptera frugiperda*. A review. *Molecules*, v.26, n.18, p.5587, 2021. doi: <https://doi.org/10.3390/molecules26185587>

PINHEIRO, S.M.F.; LISBOA, C.L.; BRAZÃO, R. V. Contribuição ao estudo de briófitas como fontes de antibióticos. *Acta Amaz.*, v.19, p.139-145, 1989.

RAMÍREZ, M. *et al.* Constituents of the argentine liverwort *Plagiochila diversifolia* and their insecticidal activities. *Chem. Biodiversity*, v.14, n.12, p.1-8, 2017. doi: <https://doi.org/10.1002/cbdv.201700229>

REIS, D.L.R.S. *et al.* Potencial de plantas inseticidas no controle de formigas cortadeiras no Brasil. *Unisanta BioSci.*, v.12, n.1, p.17-39, 2023.

RICHARDS, P.W. The Ecology of tropical forest bryophytes. In: SCHUSTER, R.M. *New Manual of Bryology*. *J. Hattori Bot. Lab.*, v.2, p.1233-1270, 1984.

RIOBA, N.B.; STEVENSON, P.C. Opportunities and scope for botanical extracts and products for the management of fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) for smallholders in Africa. *Plants*, v.9, n.2, p.207, 2020. doi: <https://doi.org/10.3390/plants9020207>

SANTOS, R.C.P. *et al.* Insecticide and phagodeterrent activity of *Campylopus surinamensis* Müll. Hal. (Bryophyta) on the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* JE Smith (Lepidoptera: Noctuidae). *Rev Ibero-Am. Ciênc. Amb.*, v.13, n.8, 2022.

SANTOS, R.C.P.; LISBOA, R.C.L. Musgos (Bryophyta) da Microrregião do Salgado Paraense e sua utilização como possíveis indicadores de ambientes perturbados. *Rodriguésia*, v.59, p.361- 368, 2008.

SIEGEL, S.; CASTELLAN JÚNIOR, N.J. *Estatística não-paramétrica para ciências do comportamento*. Porto Alegre: Artmed, 2006.

SILVA, P.H.S. Pragas da cultura do feijão-caupi. In: BASTOS, E.A. (Org.). *A cultura do feijão-caupi no Brasil*. Teresina: Embrapa Meio-norte, 2016.

SIMÕES, C.M.O. *et al.* *Farmacognosia*: da planta ao medicamento. Florianópolis: UFRGS, 2007.

SOUZA, A. P. *Atividade inseticida e modo de ação de extratos*

*de meliáceas sobre Bemisia tabaci (Genn., 1889) biótipo b..*  
São Paulo: USP, 2004.

TORRES, P.I.F.; FREITAS, A.D.G. Uso do pião-roxo (*Jatropha gossypifolia* L.) para controle biológico de gorgulhos do feijão (*Acanthoscelides obtectus* Say). *Ens. Ciênc.*, v.22, n.1, p.33-36, 2018. doi: <https://doi.org/10.17921/1415-6938.2018v22n1p33-36>

VIEGAS-JUNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. *Química Nova*, v.26, p.390-400, 2003.

YANO, O. Briófitas. In: FIDALGO, O.; BONONI, V.L.R. *Técnicas de coleta, preservação e herborização de material botânico*. São Paulo: Instituto de Botânica, São Paulo, 1989. p.27-30.