



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
PRODUÇÃO VEGETAL**



**DAVID JAVIER MATUZ ZÁRATE**

**DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÃO EMULSIONÁVEL DO EXTRATO  
ETANÓLICO DE SEMENTES DE PINHA (*Annona squamosa* L.) E SEU EFEITO  
RESIDUAL EM CONDIÇÕES DE SEMICAMPO E CAMPO SOBRE *Plutella xylostella*  
(L., 1758) (LEPIDOPTERA: PLUTELIDAE)**

**RIO LARGO, AL**

**2018**

DAVID JAVIER MATUZ ZÁRATE

**DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÃO EMULSIONÁVEL DO EXTRATO  
ETANÓLICO DE SEMENTES DE PINHA (*Annona squamosa* L.) E SEU EFEITO  
RESIDUAL EM CONDIÇÕES DE SEMICAMPO E CAMPO SOBRE *Plutella xylostella*  
(L., 1758) (LEPIDOPTERA: PLUTELIDAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia (Produção Vegetal), do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Agronomia.

Orientador: Prof. Dr. Eurico Eduardo Pinto de Lemos  
Co-orientadora: Profa. Dra. Roseane Cristina Predes Trindade

RIO LARGO, AL

2018

**Catálogo na fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Setorial do Centro de Ciências Agrárias**  
Bibliotecária Responsável: Myrtes Vieira do Nascimento

Z36d Zarate, David Javier Matuz  
Desenvolvimento de formulação emulsionável do extrato etanólico de sementes de pinha (*Annona squamosa* L.) e seu efeito residual em condições de semicampo e campo sobre *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: plutelidae) / David Javier Matuz Zarate – 2018.

63 f.; il.

Dissertação (Mestrado em Agronomia: Produção Vegetal) - Universidade Federal de Alagoas, Centro de Ciências Agrárias. Rio Largo, 2018.

Orientação: Prof. Dr. Eurico Eduardo Pinto Lemos  
Coorientação: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Roseane Cristina Predes Trindade

Inclui bibliografia

1. Extrato etanólico - emulsão 2. Pinha 3. Traça-das-crucíferas  
I. Título

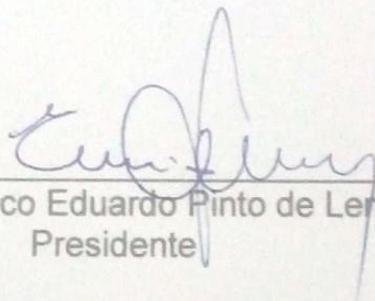
CDU 634.41

TERMO DE APROVAÇÃO

DAVID JAVIER MÁTUZ ZÁRATE  
(Matrícula 16130217)

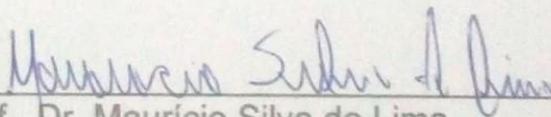
**“Desenvolvimento de formulação emulsionável do extrato etanólico de sementes de pinha (*Annona squamosa* L.) e seu efeito residual em condições de semicampo e campo sobre *Plutella xylostella* L. (1758) (Lepidoptera: Plutellidae)”**

Dissertação apresentada e avaliada pela banca examinadora em oito de março de 2018, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Agronomia, área de concentração em Produção vegetal do Programa de Pós-graduação em Agronomia (Produção Vegetal) da Unidade Acadêmica Centro de Ciências Agrárias da UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS.



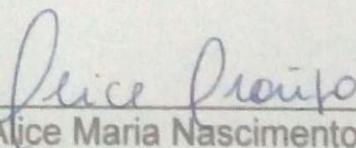
---

Prof. Dr. Eurico Eduardo Pinto de Lemos  
Presidente



---

Prof. Dr. Maurício Silva de Lima  
Membro



---

Prof.ª Dra. Alice Maria Nascimento Araújo  
Membro

Rio Largo - AL  
Março/2018

Este trabalho é dedicado a todos aqueles que contribuíram para a sua realização, especialmente ao Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) e ao Governo Mexicano, por me dar a oportunidade de continuar com meus estudos.

## AGRADECIMENTOS

Especialmente a Deus nosso Senhor e a Nossa Senhora de Guadalupe, por me dar a força e coragem.

A minha mãe Leticia Zárate Morales pelo apoio incondicional em minha vida.

Aos meus irmãos Susana, Juan Luís e Víctor Manuel Matuz Zárate, que apesar da distância, sempre estiveram me apoiando e incentivando para que eu não desistisse dos meus objetivos.

Ao Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) e ao Governo Mexicano por me dar a oportunidade de continuar com meus estudos.

A Profa. Dra. Roseane Cristina Predes Trindade e ao Prof. Dr. Eurico Eduardo Pinto de Lemos, pelos ensinamentos, apoio, paciência e ajuda no desenvolvimento do presente trabalho.

A minhas amigas Tatiana de Lima Salvador e Taciana de Lima Salvador, pela amizade, ajuda e apoio no mestrado e fora dele.

Aos colegas dos laboratórios de Controle Alternativo de Pragas e Biotecnologia Vegetal, pela amizade, companheirismo e ajuda nos momentos que eu precisei.

## RESUMO

As brássicas tem assumido importante papel no cenário mundial e brasileiro, por ser uma das hortaliças de grande relevância aos hábitos alimentares dos povos, bem como crescente dimensão econômica, social e ambiental. Dentre diversos problemas fitossanitários que causam perdas produtivas nos sistemas agrícolas no cultivo das brássicas destaca-se a traça-das-crucíferas (*Plutella xylostella* L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae), sendo o principal inseto-praga, por sua fácil dispersão, curto ciclo biológico e grande capacidade de desenvolver resistência aos agrotóxicos. Por esse motivo, a adoção de métodos de controle alternativos é importante para a elaboração de um plano de manejo integrado para a espécie. Assim, o método de controle alternativo usando extratos naturais de plantas torna-se uma das táticas do plano de manejo integrado de insetos-praga nos agroecossistemas. Desta forma, esse trabalho teve como objetivo desenvolver uma formulação emulsionável do extrato etanólico da semente de pinha, *Annona squamosa* L. (Annonaceae) e avaliar o seu efeito residual em plantas de couve no ambiente protegido e no campo sobre *P. xylostella*. Foram realizados experimentos para a determinação da concentração letal da emulsão do extrato etanólico da semente de pinha para o 1º e 3º ínstar larvais tratados, bem como efeito residual. A análise da emulsão mostrou que a CL<sub>50</sub> e CL<sub>95</sub> foram de 0,01 e 0,03% para o 1º ínstar larval e 0,68 e 3,42% para o 3º ínstar larval da *P. xylostella*. A emulsão do extrato etanólico da semente de pinha afetaram o desenvolvimento da praga. Em relação ao efeito residual, se montaram experimentos em duas épocas (inverno e verão) e em dois ambientes (telado e campo), a emulsão nas concentrações letais de cada ínstar tratadas controlaram a praga até 14DAP nas duas épocas, no ambiente telado, e para o ambiente campo a emulsão conseguiu controlar a praga até 8 e 6 DAP do 1º e 3º ínstar respectivamente, nas duas épocas.

**Palavras-chave:** Emulsão. Pinha. Traça-das-crucíferas. Concentração letal e subletal. Efeito residual.

## RESUMEN

Las brassícas vienen asumiendo un papel importante en el escenario mundial y brasileño, por ser una de las hortalizas de mayor relevancia a los hábitos alimenticios del pueblo, así como una creciente de dimensión económica, social y ambiental. Dentro de los diversos problemas fitosanitarios que causan pérdidas productivas en los sistemas agrícolas en el cultivo de las brassícas se destaca la palomilla de diamante (*Plutella xylostella* L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae), siendo la principal insecto-plaga, por su fácil dispersión, corto ciclo biológico y una enorme capacidad de desarrollar resistencia a los agrotóxicos. Por este motivo, la adopción de métodos de control alternativo es muy importante para la elaboración de un plan de manejo integrado para la especie. Así, el método de control de alternativos usando extractos naturales de plantas se tornan una de las prácticas del plan de manejo alternativo de insectos-plaga en los agroecosistemas. De esta forma, el presente trabajo tuvo como objetivos evaluar el efecto residual de la emulsión de extracto etanólico de la semilla de (*Annona squamosa* L.) en la mortalidad del 1° y 3° ínstar larval de la palomilla de diamante, ya observados en el laboratorio, y la persistencia en las plantas pulverizadas en casa de vegetación y en el campo y así desarrollar una fórmula adecuada para el control de esa plaga. Fueron realizados experimentos para la determinación de la concentración letal y subletal de la emulsión del extracto etanólico de la semilla saramuyo para el 1° y 3° ínstars tratados, así como el efecto residual de la emulsión. Los análisis de la emulsión mostro que la CL50 y CL95 fueron de 0,01 y 0,03% para el 1° ínstar larval y 0,68 y 3,42% ínstar larval de la *P. xylostella*. La emulsión del extracto etanólico de la semilla de la saramuyo afectaron el desarrollo de la plaga. En relación al efecto residual, se montaron experimentos en dos épocas (invierno y verano) y en dos ambientes (casa de vegetación y campo), la emulsión en las concentraciones letal y subletal de cada ínstar tratadas, controlaron la plaga hasta 14DDA en las dos épocas, en el ambiente casa de vegetación y para el ambiente de campo, la emulsión consiguió controlar la plaga hasta 8 y 6 DDA del 1° y 3° ínstar respectivamente, en las dos épocas.

**Palabras-claves:** Emulsión. Saramuyo. Palomilla de diamante. Concentración letal y subletal. Efecto residual.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Ciclo biológico da *Plutella xylostella*. A. Ovos da traça; B. larvas da traça; C. Pupa da traça; D. Traça adulta. .... 17
- Figura 2** - Etapas da criação da *Plutella xylostella*. A. Gaiolas dos adultos. B. Disco de couve com ovos da traça. C. Discos de couve com lagartas recém eclodidas. D. Pupas retiradas dos potes. .... 29
- Figura 3** - Resultado da preparação da emulsão do extrato de *Annona squamosa* e diferentes concentrações de Span e Tween: A. Emulsão 1 estável; B. Emulsão 2, 3 e 4 apresentando separação de fases (aquosa, oleosa)..... 37
- Figura 4** - Fotografias correspondentes à emulsão mais estável; 4A: Fotografia tomada após do preparo da emulsão; 4B: Fotografia tomada após de três meses de preparo da emulsão ... 41
- Figura 5** - A. Efeito residual da emulsão do extrato etanólico de *Annona squamosa* sobre lagartas do 1º ínstar de *Plutella xylostella* na época do inverno no ambiente semicampo; B. Efeito residual da emulsão do extrato etanólico das sementes da *Annona squamosa* sobre lagartas do 1º ínstar de *Plutella xylostella* na época do verão no ambiente semicampo. .... 44
- Figura 6** - A. Efeito residual da emulsão do extrato etanólico de *Annona squamosa* sobre lagartas do 3º ínstar de *Plutella xylostella* na época do inverno no ambiente semicampo; B. Efeito residual da emulsão do extrato etanólico das sementes da *Annona squamosa* sobre lagartas do 3º ínstar de *Plutella xylostella* na época do verão no ambiente semicampo. .... 47
- Figura 7** - A. Efeito residual da emulsão do extrato etanólico de *Annona squamosa* sobre lagartas do 1º ínstar de *Plutella xylostella* na época do inverno no ambiente de campo; B. Efeito residual da emulsão do extrato etanólico das sementes da *Annona squamosa* sobre lagartas do 1º ínstar de *Plutella xylostella* na época do verão no ambiente de campo..... 49
- Figura 8** - A. Efeito residual da emulsão do extrato etanólico de *Annona squamosa* sobre lagartas do 3º ínstar de *Plutella xylostella* na época do inverno no ambiente de campo; B. Efeito residual da emulsão do extrato etanólico das sementes da *Annona squamosa* sobre lagartas do 3º ínstar de *Plutella xylostella* na época do verão no ambiente de campo..... 50

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Proporção de reagentes utilizados para o preparo das emulsões do extrato etanólico da semente de <i>Annona squamosa</i> . .....	31
<b>Tabela 2</b> - Resultados observados das emulsões preparadas com extrato etanólico da semente de <i>Annona squamosa</i> com Span e Tween em proporções diferentes. ....	36
<b>Tabela 3</b> - Estudo de estabilidade da emulsão do extrato etanólico da pinha em ambiente com sol direto, indireto e em ambiente escuro, analisados em Rio Largo/AL, entre os meses dezembro 2016 a março 2017.....	38
<b>Tabela 4</b> - Avaliação das propriedades organolépticas da emulsão em curto prazo sob diferentes estresses.....	39
<b>Tabela 5</b> - Estimativas das concentrações letais (CLs) da emulsão do extrato etanólico da semente da pinha sobre a <i>Plutella xylostella</i> . ....	42

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

CECA - Centro de Ciências Agrárias

CL - Concentração Letal

CL50 - Concentração Letal para matar 50% da população

CL95 - Concentração Letal para matar 95% da população

DP - Desvio padrão

EEEP – Emulsão do extrato etanólico de pinha

FAO - Food and Agriculture Organization

IC - Intervalo de confiança

LI - Limite Inferior

LS - Limite Superior

NS - Não significativo

UFAL – Universidade Federal de Alagoas

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	13
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	15
2.1 Importância da couve manteiga ( <i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>acephala</i> DC.) .....	15
2.2. Aspectos bioecológicos e importância da traça-das-crucíferas .....	16
2.3. Danos .....	18
2.4 Controle alternativo para <i>Plutella xylostella</i> .....	19
2.5 Inseticidas de origem vegetal .....	21
2.6 A família Annonaceae .....	22
2.7. Emulsões .....	26
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	28
3.1. Condução da cultura da couve .....	28
3.2. Criação da traça-das-crucíferas <i>Plutella xylostella</i> .....	28
3.3 Aquisições das sementes de pinha e preparo do extrato .....	30
3.4. Preparo da emulsão do extrato etanólico da semente de pinha .....	30
3.4.1. Avaliação organoléptica e testes de estabilidade da emulsão estável .....	31
3.4.2. Testes de estabilidade normais a longo prazo .....	31
3.4.3 Testes de estabilidade acelerados a curto prazo .....	32
3.4.4 Caracterização da emulsão por microscopia ótica .....	32
3.5 Determinação das concentrações letais (CL <sub>50</sub> e CL <sub>95</sub> ) da emulsão do extrato etanólico da semente de pinha ( <i>Annona squamosa</i> ) sob diferentes instares larvais de <i>Plutella xylostella</i> .....	32
3.6. Avaliação residual da emulsão do extrato etanólico da pinha <i>Annona squamosa</i> , sobre o 1° e 3° instar da <i>Plutella xylostella</i> .....	33
3.6.1 Avaliação residual no semicampo da emulsão do extrato etanólico da pinha <i>Annona squamosa</i> , sobre o 1° e 3° instares da <i>Plutella xylostella</i> nas épocas inverno e verão .....	34
3.6.2 Avaliação residual no campo da emulsão do extrato etanólico da pinha <i>Annona squamosa</i> , sobre o 1° e 3° instares da <i>Plutella xylostella</i> nas épocas inverno e verão. ....	34
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	36
4.1. Preparo da emulsão do extrato etanólico da semente de pinha .....	36
4.2. Avaliação organoléptica e testes de estabilidade da emulsão estável .....	37
4.2.1. Testes de estabilidade normal a longo prazo da emulsão estável .....	37
4.2.2. Testes de estabilidade acelerados em curto prazo .....	39
4.2.3. Caracterização da emulsão por meio de microscopia ótica .....	40
4.3. Estimativas das concentrações letais da emulsão do extrato etanólico da semente de pinha ( <i>Annona squamosa</i> ) sobre lagartas de <i>Plutella xylostella</i> .....	41
4.4. Efeito residual no ambiente semicampo e campo da emulsão do extrato etanólico da pinha <i>Annona squamosa</i> , sobre o 1° e 3° instar da <i>Plutella xylostella</i> . ....	43

<b>4.4.1. Efeito residual no ambiente semicampo das CL<sub>50</sub> e CL<sub>95</sub> da emulsão do extrato etanólico da pinha <i>Annona squamosa</i>, sobre o 1° ínstar larval da <i>Plutella xylostella</i> nas épocas inverno e verão. ....</b>	<b>43</b>
<b>4.4.2 Efeito residual no ambiente semicampo das CL<sub>50</sub> e CL<sub>95</sub> da emulsão do extrato etanólico da pinha <i>Annona squamosa</i>, sobre o 3° ínstar larval da <i>Plutella xylostella</i> nas épocas inverno e verão. ....</b>	<b>46</b>
<b>4.4.3. Efeito residual no campo das CL<sub>50</sub> e CL<sub>95</sub> emulsão do extrato etanólico da pinha <i>Annona squamosa</i>, sobre o 1° ínstar larval da <i>Plutella xylostella</i> nas de épocas inverno e verão.....</b>	<b>48</b>
<b>4.4.4. Efeito residual no campo das CL<sub>50</sub> e CL<sub>95</sub> da emulsão do extrato etanólico da pinha <i>Annona squamosa</i>, sobre o 3° ínstar larval da <i>Plutella xylostella</i> nas épocas inverno e verão. ....</b>	<b>49</b>
<b>5. CONCLUSÕES .....</b>	<b>52</b>
<b>6. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>53</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A família Brassicaceae compreende um grupo diversificado de 350 gêneros e mais de 3200 espécies de hortaliças de grande valor econômico, social e nutricional (WATSON; DALLWITZ, 1992). Entre as mais importantes encontram-se: a couve manteiga (*Brassica oleracea* L. var. *acephala* DC.), repolho (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L.), couve-flor (*Brassica oleracea* L. var. *botrytis* L.), brócolis (*Brassica oleracea* L. var. *italica* Plenck) e couve-chinesa (*Brassica rapa pekinensis* L.), sendo amplamente cultivadas em ecossistemas tropicais e temperados.

A couve manteiga é uma cultura típica de outono-inverno, sendo que apresenta um melhor desenvolvimento em temperaturas entre 16 e 22°C, mas pode ser plantada durante o ano todo por apresentar tolerância a altas temperaturas (FILGUEIRA, 2008). É uma hortaliça anual, e no Brasil vem aumentando devido às novas maneiras de uso na parte culinária e as recentes descobertas da ciência em quanto às suas propriedades nutricêuticas (NOVO et al., 2010). É uma hortaliça fácil de cultivar, pois se adapta a diferentes ambientes e fazendo uma comparativa com outras hortaliças folhosas, a couve manteiga destaca-se por seu maior conteúdo de proteínas, carboidratos, fibras, cálcio, entre outros (LORENZ; MAYNARD, 1988; FILGUEIRA, 2008).

Dentre dos principais fatores de redução na produção de brassícas no mundo, está a traça-das-crucíferas [*Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) ], um microlepidóptero que está presente em quase todas as regiões produtoras de brássicas e em praticamente todo período de cultivo da planta. Dentre as características que dificultam seu controle, está a sua capacidade de migração, fácil adaptação ao ambiente, alta fecundidade e ciclo curto, o que lhe proporciona um aumento rápido na resistência aos inseticidas químicos (CASTELO BRANCO et al, 2001). O método de controle mais utilizado é o químico, aparentando trazer os melhores resultados, de forma rápida, prática e eficiente na redução dos prejuízos (CASTELO BRANCO et al., 2001; DIAS; SOARES; MONNERAT, 2004), contudo, este método empregado rotineiramente tem conduzido à seleção de populações resistentes (CASTELO BRANCO et al., 2001).

Existem algumas táticas de controle para controlar a traça-das-crucíferas as quais são os métodos legislativos, culturais, mecânicos, biológicos, por comportamento, autocida, químico e o método de resistência de plantas (GALLO et al., 2002). O uso de produtos alternativos o controle da praga reduz os efeitos negativos pelo uso de inseticidas

químicos por serem degradados rápidos no meio ambiente, o que reduz o impacto ambiental. (BRITO et al., 2008). O uso de produtos à base de plantas, além de ter efeito inseticida, apresentam uma diversidade de compostos ativos que agem sinergicamente que podem ser usados em sistemas de manejo integrado de pragas (NAVARRO-SILVA et al., 2009). Para que um inseticida à base de extrato de planta seja comercialmente viável, além de ser efetivo, precisa não ter ação contra inimigos naturais da praga-alvo, baixa toxicidade em mamíferos, biodegradável, ter uma fonte de matéria-prima abundante, custo baixo e facilidade para padronização dos compostos químicos (CORRÊA; VIEIRA, 2007).

Segundo Vendramim Castiglioni (2000) e Gonçalves Gervásio (2003), uma das limitações do uso de inseticidas vegetais é o desconhecimento dos efeitos sobre a fauna benéfica dos agroecossistemas, principalmente os inimigos naturais de importantes insetos-praga. Os chamados inseticidas botânicos podem ser utilizados no Manejo Integrado de Pragas, que é um sistema de controle de insetos em que se utiliza mais de uma tática de controle, desde que sejam seletivos aos inimigos naturais.

A retomada dos estudos com inseticidas botânicos se deve principalmente à necessidade de alcançar novos compostos para a utilização no controle de pragas, que sejam menos agressivos ao meio ambiente, sem resíduos nos alimentos, que impeçam ou retardem o aparecimento de insetos resistentes e, também, que não proporcionem ação sobre organismos benéficos (KRINSKI et al., 2014).

Dentre as plantas que apresentam potencial para o controle de pragas, se encontra a família Annonaceae, que apresentam em sua composição diversas substâncias com potencial inseticida, entre elas as acetogeninas que são as mais importantes por apresentarem bioatividade contra diversas espécies de insetos. Já existem trabalhos com diferentes espécies que atuam como inseticida, uma espécie dessa família é a pinha (*Annona squamosa* L.) que junto com a *Annona muricata* são as espécies mais utilizadas para estudos de potencial inseticida (KRINSKI et al., 2014).

Embora que na literatura se tenha relatado cada vez mais pesquisas de inseticidas naturais preparados a partir de plantas e dos seus derivados, tais como extratos e óleos essenciais, eles apresentam problemas de alta volatilidade e baixa solubilidade em água surgindo como alternativa o uso da emulsão a base de extratos vegetais.

Esse trabalho teve como objetivo desenvolver uma formulação emulsionável do extrato etanólico da semente de pinha e avaliar o seu efeito residual sobre *P. xylostella* em plantas de couve em condições de semicampo e campo, como uma nova estratégia de controle alternativo, dentro do manejo integrado da praga.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Importância da couve manteiga (*Brassica oleracea* L. var. *acephala* DC.)

A família Brassicaceae compreende um grupo diversificado de 350 gêneros e mais de 3200 espécies de hortaliças de grande valor econômico, social e nutricional (WATSON; DALLWITZ, 1992). Entre as mais importantes encontram-se: a couve manteiga (*Brassica oleracea* L. var. *acephala* DC.), repolho (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L.), couve-flor (*Brassica oleracea* L. var. *botrytis* L.), brócolis (*Brassica oleracea* L. var. *italica* Plenck) e couve-chinesa (*Brassica rapa pekinensis* L.) sendo amplamente cultivadas em ecossistemas tropicais e temperados. A couve manteiga é uma cultura típica de outono-inverno, sendo que apresenta um melhor desenvolvimento em temperaturas entre 16 e 22°C, mas pode ser plantada durante o ano todo por apresentar tolerância a altas temperaturas (FILGUEIRA, 2008).

A couve manteiga é uma hortaliça anual ou bienal, e no Brasil vem aumentando devido às novas maneiras de uso na parte culinária e as recentes descobertas da ciência em quanto às suas propriedades nutricêuticas (NOVO et al., 2010).

Novo et al. (2010) e Azevedo et al. (2017), relataram que a couve pode ser classificada por sua aparência, textura e cor das folhas, recebendo diferentes nomes dependendo de sua localidade. No Brasil, foram caracterizados cerca de 32 genótipos de couve em Campinas–SP e 30 em Diamantina e Lavras–MG com uma enorme diversidade morfológica e genética, denominadas como cabocla, japonesa, orelha de elefante, manteiga Geórgia, couve manteiga Baby, entre outras.

A couve manteiga, é uma hortaliça fácil de cultivar, adaptando-se a diferentes ambientes, tendo baixos custos de produção, uma alta produtividade, versatilidade na forma de consumo e elevado valor nutricional. Ela apresenta caule ereto e emite folhas continuamente e não forma cabeça como o repolho (FILGUEIRA, 2008). Fazendo uma comparativa com outras hortaliças folhosas, a couve destaca-se por seu maior conteúdo de proteínas, carboidratos, fibras, cálcio, ferro, niacina, vitamina A e vitamina C (LORENZ; MAYNARD, 1988).

Uns dos principais problemas que esta cultura apresenta são com as pragas, pois, a maioria apresenta resistência aos produtos químicos, principalmente a traça-das-crucíferas

*Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae), quem é a principal praga dessa cultura e da família Brassicaceae.

## 2.2. Aspectos bioecológicos e importância da traça-das-crucíferas

Conhecida como traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella*, é uma das principais pragas da família Brassicaceae devido à sua abrangência territorial e os danos que podem causar às culturas (MORATÓ, 2000; ULMER et al., 2002).

Acredita-se que a traça-das-crucíferas seja originária da Europa, porém já pode ser encontrada em toda a América, no Sudeste da Ásia, Austrália e Nova Zelândia (CAPINERA, 2015). No Brasil, o primeiro registro foi no estado da Bahia causando danos no cultivo de repolho (BONDAR, 1928). Essa ação cosmopolita ocorre pela facilidade de adaptação em diversos ambientes, a enorme habilidade de dispersão e ao alto potencial biótico. Conseguindo assim, sucesso na colonização de plantações ao redor do mundo. (CASTELO BRANCO; GATEHOUSE, 2001).

O ciclo biológico da traça-das-crucíferas pode variar entre 10 a 12 dias, dependendo da temperatura, já que esse fator abiótico é determinante para o desenvolvimento do inseto (DIAS et al., 2004). De modo que, em regiões tropicais com altas temperaturas, o inseto pode apresentar 15 gerações anuais (POELKING, 1992). Enquanto que, em regiões mais frias pode apresentar 6 gerações por ano (FRANÇA et al., 1985). Além disso, outros fatores que dificultam o controle da praga é a fácil adaptação a diferentes ambientes e sua capacidade migratória (CASTELO BRANCO; GATEHOUSE, 1997).

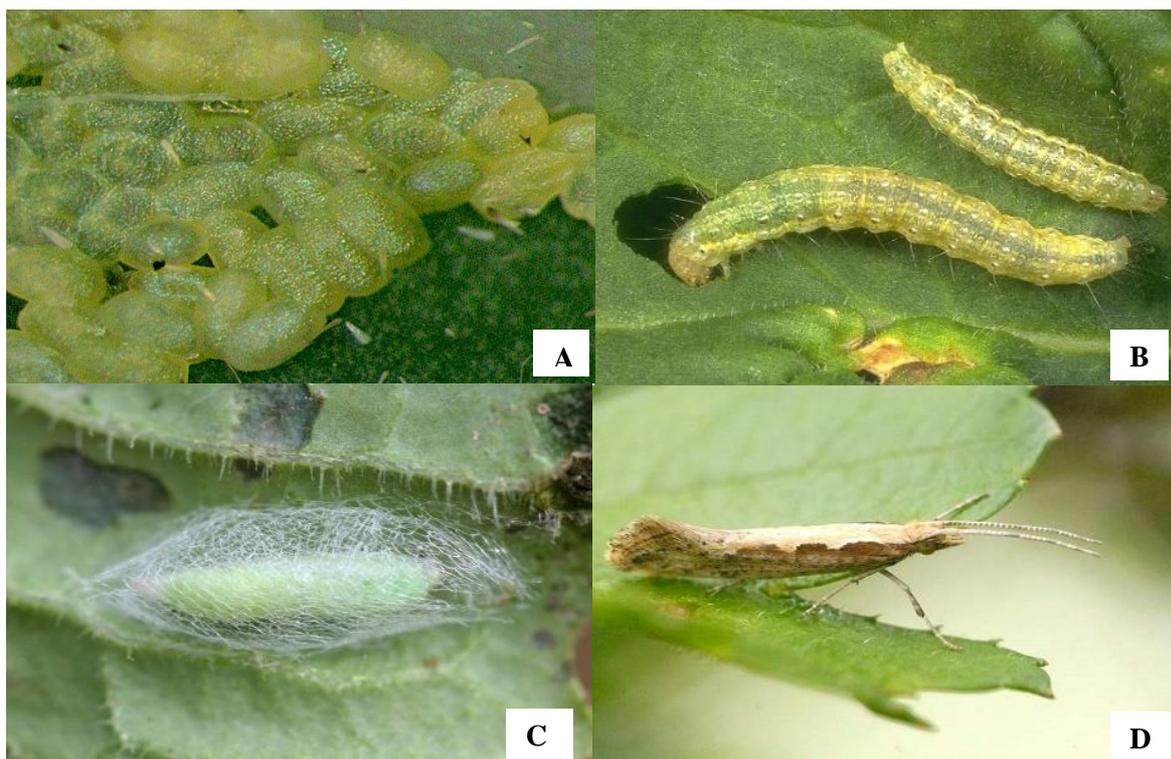
Segundo Gallo et al. (2002) e Capinera (2015), os ovos da *P. xylostella* apresentam cor amarelada e são arredondados (Figura 1A), os quais são depositados individualmente ou em pequenos grupos de dois a oito ovos na parte abaxial das folhas e que, após três ou quatro dias as lagartas eclodem. O período larval tem quatro instares com média de tempo de 4 a 5 dias, sendo que ao longo desse tempo as lagartas permanecem pequenas e ativas. O comprimento de cada instar não excede de 1,7; 3,5; 7,0 e 11,2 mm, respectivamente para os instares de 1 a 4, no último instar há a formação do casulo (CAPINERA, 2015).

As lagartas no primeiro instar atuam como minadoras, já que penetram no interior da folha para se alimentar do parênquima durante dois ou três dias. Depois desse tempo passam a se alimentar da epiderme da face inferior da folha, que seria a partir do segundo,

terceiro e quarto ínstar (CAPINERA, 2015). Devido ao hábito alimentar do primeiro ínstar de se encontrar protegida no interior das folhas, o controle é dificultado, já que o produto não consegue entrar em contato com a lagarta (IMENES et al., 2002).

Monnerat (1995) relata que inicialmente as lagartas de *P. xylostella* tem um aspecto esbranquiçado, com a cabeça preta e a partir do 2º ínstar passam a ter uma cor verde-clara com a cabeça parda (Figura 1B). Quando perturbadas podem até cair das folhas e, quando isso ocorre, elas ficam penduradas por um fio de seda que permite o seu retorno para a folha. No último ínstar, antes da transformação em pupas, tecem um pequeno casulo, constituído por pequenas malhas, na face inferior das folhas (Figura 1C). Após três ou quatro dias de pupa, emerge um microlepidóptero (GALLO et al., 2002; MEDEIROS, 2004).

**Figura 1** - Ciclo biológico da *Plutella xylostella*. A. Ovos da traça; B. larvas da traça; C. Pupa da traça; D. Traça adulta.



Fonte: (A) Yingjie Zhou; (B) Roger S Key; (C) Whitney Cranshaw; (D) James Lindsey

As fêmeas colocam de 160 a 360 ovos, aproximadamente, durante o ciclo reprodutivo (VACARI, et al., 2012). Capinera (2015), relata que o adulto da *P. xylostella* é uma mariposa pequena e acinzentada com antenas pronunciadas, com um comprimento de cerca de 6 mm (Figura 1D). Elas exibem uma mancha clara (prateada) na parte dorsal com forma de diamante e devido a essa marca é comumente conhecida por “diamondback moth”. Na parte ventral dos adultos, no final do abdômen pode-se observar que o macho apresenta uma “fenda”, enquanto a fêmea possui duas manchas de coloração escura (VACARI et al., 2012).

### 2.3. Danos

Essa praga é conhecida por causar danos apenas à família das crucíferas, mesmo as lagartas sendo muito pequenas podem causar danos graves ao limbo foliar, chegando a comprometer economicamente a cultura (CASTELO BRANCO et al., 2001; CAPINERA, 2015). Segundo Furlong; Wright; Dossdall (2013) os danos causados pela *P. xylostella* geram um prejuízo mundial de até 5 bilhões de dólares anualmente, desses, 1,4 bilhão é referente ao seu controle.

Medeiros (2004) relata que o maior dano causado por essa praga ocorre na fase larval, com a lagarta recém eclodida (1º instar) penetrando nas folhas, dificultando assim o controle, já que ela se encontra protegida e se alimentando do parênquima foliar. A partir do 2º, 3º e 4º instar, passa a se alimentar de toda a superfície foliar, caules e brotos vegetativos de couve, repolhos e também das inflorescências, no caso de brócolis e couve-flor.

Devido ao uso inadequado dos produtos químicos e alguns produtos naturais, há a seleção de populações da praga resistentes a alguns inseticidas químicos e naturais. Furlong; Wright; Dossdall (2013) relataram que já existem trabalhos que apresentam a *P. xylostella* como resistente aos piretroides, carbamatos, organofosforados, dos grupos químicos, e a azadiractina como ingrediente ativo e o *Bacillus thuringiensis*, entre outros.

## 2.4 Controle alternativo para *Plutella xylostella*

Algumas táticas de controle para *P. xylostella*, segundo Gallo et al. (2002), são os métodos legislativos, culturais, mecânicos, biológicos, por comportamento, autocida, químico e o método de resistência de plantas.

Alguns desses métodos de controle já não são mais viáveis para o Brasil, como por exemplo, o método legislativo, que consiste em evitar a presença ou propagação da praga, tendo em vista que a *P. xylostella* se encontra dispersa por todo o país, apresentando alta capacidade de dispersão, adaptabilidade climática e ambiental; o método de controle mecânico, que consiste em catações manuais da praga; o método cultural, que usa o sistema de rotações de culturas, épocas de plantio, aração de solo, eliminação de restos de cultura, entre outras práticas. Pode-se dizer o mesmo com o método de controle físico, que utiliza fogo, drenagem, inundações, armadilhas luminosas e temperatura. Dentre os métodos físicos, a armadilha luminosa parece ser o mais interessante, todavia não existem muitos trabalhos sobre esse método de controle (WATERHOUSE, 1987; LOGES, 1996; GALLO et al., 2002).

Mau e Kessin (2017) relatam que no Havaí se utiliza a irrigação por aspersão no controle da *P. xylostella*, uma vez que o jato de água sobre as folhas provoca o afogamento das lagartas quando elas ainda estão no primeiro ínstar. O método de controle por comportamento se baseia no estudo fisiológico do inseto, usando assim o controle com hormônios, o controle biológico se apresenta viável no controle de *P. xylostella*, pois é usada a regulação do número de plantas e inimigos naturais para o controle da praga ( GALLO et al., 2002), o método de controle autocida se baseia no emprego da técnica do inseto estéril e a manipulação genética de pragas, mas esse método não se mostrou eficaz no controle da *P. xylostella* segundo Furlong; Wright; Dosedall (2013).

Além das táticas de controle citadas acima, Furlong; Wright; Dosedall (2013), relataram alguns inimigos naturais já estudados que controlam a traça-das-crucíferas, ao qual se tem grupos dos parasitoides, predadores, vírus, fungos entomopatogênicos e bactérias.

A forma mais empregada para o controle da praga é o uso de inseticidas, e devido ao elevado número de aplicações que selecionando populações de insetos resistentes aos principais grupos de produtos, os quais são os organoclorados, carbamatos, organofosforados e piretroides, que são os grupos de inseticidas utilizadas pelos agricultores (FURLONG; WRIGHT; DOSDALL, 2013).

O uso dos produtos alternativos no controle da praga minimiza os efeitos negativos pelo uso dos químicos por serem de degradação rápida no meio ambiente, o que reduz o impacto (BRITO et al., 2008).

Navarro-Silva et al. (2009) relatam que alguns produtos à base de plantas além de terem efeito inseticida, apresentam uma diversidade de compostos ativos que agem sinergicamente, apresentando características atraentes, repelentes, entre outras, que podem ser utilizados em sistemas de manejo integrado de pragas, como alternativas para o controle e monitoramento de insetos.

Krinski et al. (2014), relatam que as plantas normalmente apresentam em sua composição química metabólitos primários e secundários. Os metabólitos primários são importantes para o desenvolvimento da planta e estão presentes em todas as células vegetais; os metabólitos secundários são utilizados como forma de proteção das plantas contra a ação de microrganismos, insetos e outros artrópodes fitófagos.

Para que um inseticida à base de extrato vegetal seja viável comercialmente, ele além de ser efetivo, precisa não ter ação contra inimigos naturais da praga-alvo, ter baixa toxicidade em mamíferos, ser biodegradável, possuir uma fonte de matéria-prima abundante, menor preço e facilidade para padronização dos compostos químicos (CORRÊA; VIEIRA, 2007).

Segundo Vendramim Castiglioni (2000) e Gonçalves Gervásio (2003) uma das limitações do uso dos inseticidas a base de plantas é o desconhecimento dos efeitos sobre a fauna benéfica dos agroecossistemas, principalmente os inimigos naturais de importantes insetos-praga. Os chamados inseticidas botânicos podem ser utilizados no Manejo Integrado de Pragas, que é um sistema de controle de insetos em que se utiliza mais de uma tática de controle, desde que sejam seletivos aos inimigos naturais.

Krinski et al. (2014), relatam que o uso de plantas e dos seus derivados como inseticida já era uma prática adotada pelo homem desde a idade antiga, e segundo Costa et al. (2004) essas substâncias foram muito usadas no início do século XX no controle de insetos, principalmente nos países tropicais.

O uso de produtos preparados a partir de plantas e dos seus derivados, tais como extratos e óleos essenciais contra insetos vêm aumentando nos países industrializados, e principalmente no Brasil já que possui uma flora rica e diversa.

A retomada dos estudos com inseticidas botânicos se deve principalmente à necessidade de alcançar novos compostos para a utilização no controle de pragas, que sejam menos agressivos ao meio ambiente, sem resíduos nos alimentos, que impeçam ou

retardem o aparecimento de insetos resistentes e, também, que não proporcionem ação sobre organismos benéficos (KRINSKI et al., 2014).

## 2.5 Inseticidas de origem vegetal

Inseticidas de origem vegetal eram muito usados para o controle de insetos no início da primeira metade do século XX (VIEGAS-JÚNIOR, 2003), mas ressurgem como alternativa promissora para o controle de insetos, após serem preteridos durante a Segunda Guerra Mundial com a descoberta dos inseticidas sintéticos nesta época, sobretudo, o uso do DDT (D'AMATO et al., 2002).

Plantas com ação inseticida tem sido utilizada como método alternativo no controle de pragas por meio dos pós, extratos e óleos essenciais contra insetos em geral tem aumentando nos países industrializados, principalmente no Brasil pelo fato de possuir flora rica e diversa. As plantas apresentam um grupo de compostos conhecidos como metabólitos secundários, esses compostos defendem os vegetais contra herbívoros e microrganismos fitopatogênicos (TAIZ; ZEIGER 2004; KRINSKI et al., 2014). Ao observar a literatura, envolvendo trabalhos que usaram plantas inseticidas, percebe-se o quanto vasta esta abordagem e pode-se observar a eficácia destes produtos como alternativa de controle contra insetos, pois além de isso, apresentam compostos biodegradáveis e produtos não tóxicos e são potencialmente adequados para o uso de controle de pragas (KRINSKI et al., 2014). Em contrapartida, existem limitações no uso desses produtos como a falta de dados relacionados à fitotoxicidade, à persistência e os efeitos sobre os organismos benéficos (COSTA et al., 2004).

Boiça Júnior et al. (2005) avaliaram 18 extratos de diferentes partes de espécies vegetais de regiões tropicais contra *P. xylostella*, verificando que os extratos de *Enterolobium contortisilliquum* Vell. (Mimosaceae), *Nicotiana tabacum* L. (Solonaceae), *Sapindus saponaria* L. (Sapindaceae) e *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) foram os mais eficientes, causando 100% de mortalidade das lagartas. Os demais tratamentos apresentaram diferentes resultados, onde alguns diferiram da testemunha, mostrando assim a viabilidade do uso de extratos vegetais no controle de pragas.

Alguns inseticidas alternativos tais como, extratos vegetais, sabões, detergentes, óleos essenciais e bioinseticidas, são menos agressivos ao ser humano e ao meio ambiente e podem levar a produção de alimentos para um novo caminho livre de contaminantes.

## 2.6 A família Annonaceae

A família Annonaceae, entre diversas famílias de plantas promissoras para estudos de compostos biológicos, é uma das que mais produzem compostos com atividade inseticida. É encontrada e distribuída por toda América Central e do Sul, Ásia e a África (HEUSDEN, 1992). Essa família possui aproximadamente 200 gêneros representados por cerca de 3.500 espécies descritas (SAUQUET et al., 2003; KRINSKI et al., 2014).

As anonáceas englobam árvores frutíferas de importância econômica em muitos países tais como, México, Venezuela, Chile, Austrália e Brasil. No Brasil as anonáceas se encontram distribuídas do Norte até o Sul com maior concentração na região Nordeste, principalmente no estado da Bahia, maior produtor de pinha (*Annona squamosa* L.) e graviola (*Annona muricata* L.) seguido por Pernambuco e Alagoas (BRAGA SOBRINHO, 2010).

Segundo Lemos (2011), no Brasil, as anonáceas mais habituais são a graviola (*A. muricata*), a pinha (*A. squamosa*) e a atemóia (*A. squamosa* x *A. cherimola*), cujas áreas de produção alcançam cerca de 15 mil hectares, na maioria cultivadas por pequenos agricultores de até 5 hectares e com baixo nível tecnológico.

Braga Sobrinho (2010), em um trabalho realizado pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), relatou que apesar de não se ter dados estatísticos sobre a produção de graviola, sabe-se que a demanda pela polpa vem aumentando, tanto no mercado interno como no externo. Assegura também que só no estado de São Paulo existem cerca de 247 mil pés de pinha e 105 mil pés de atemóia. Lemos (2014), relata que o levantamento dos dados de produção disponíveis no Censo Agropecuário de 2006 (IBGE, 2009), apresenta a região Nordeste como a principal produtora de pinha com mais de 94% de toda a área cultivada no país.

Segundo Inoue et al. (2009); Lemos (2014) e Krinski et al. (2014), várias espécies da família Annonaceae além de serem importantes na alimentação e terem um valor comercial, despertam o interesse para a produção de biocompostos retirados de várias

partes das plantas por oferecer importância medicinal, farmacológica, alelopática e inseticida devido à presença de acetogeninas (ACGs), que são substâncias nocivas a insetos e podem causar a morte destes organismos.

As ACGs são substâncias naturalmente bioativas isoladas exclusivamente de espécies dessa família, presentes em todas as partes da planta e são encontradas principalmente em espécies dos gêneros *Annona*, *Asimina*, *Uvaria*, *Rollinia* e *Goniothalamus*, com atividades citotóxicas, antitumoral, vermífida, antimicrobiana, antiemética, imunossupressora, inibidora de apetite, antimalárica e inseticida (PAES et al., 2016).

Os estudos de avaliação inseticida com a família Annonaceae concentram-se no momento, com as principais ordens de insetos consideradas pragas. A quantidade de espécies de insetos testadas sobre a ação destas plantas é de 65, destacando as ordens Diptera (17 espécies); Blattodea (2 espécies), Lepidoptera (19 espécies); Coleoptera (16 espécies) e Hemiptera (11 espécies); sendo estas 3 últimas ordens as de maior importância na agricultura (KRINKSI et al., 2014).

Indivíduos da ordem Lepidoptera, em geral, se alimentam do limbo e das nervuras foliares, onde podem ocasionar desfolhamento total em diversas culturas (LOURENÇÃO et al., 2010). Considerando este fato, muitas espécies da família Annonaceae têm sido avaliadas visando ao controle dessas pragas.

O primeiro estudo usando uma anonácea para o controle de uma lagarta foi com uma espécie do gênero *Spodoptera*, que faz parte do grupo de lepidópteros que se encontra amplamente distribuído no mundo, e das 30 espécies descritas, a metade é considerada praga de muitas culturas de importância econômica (POGUE, 2002).

Mikolajczak et al. (1988) foram os primeiros a usar uma anonácea *Asimina triloba* L. para o controle de *Spodoptera eridania* (Stoll, 1782) (Lepidoptera: Noctuidae). Depois de seus resultados, muitas pesquisas com outras espécies se difundiram, como a realização de bioensaios com outras espécies da família Annonaceae, para o controle da lagarta-militar *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), uma das principais pragas em mais de 80 espécies de plantas, atacando o algodão, o milho e a soja (POGUE, 2002; SAITO et al., 2004; MAIRESSE, 2005; ÁLVAREZ et al., 2007; ROJANO et al., 2007; CAPINERA, 2008; BLESSING et al., 2010).

Khalequzzeman e Sultana (2006) avaliaram o efeito do extrato da semente de *A. squamosa* à base de álcool de petróleo, acetato de etila, acetona e metanol sobre as estirpes Raj, CR 1, FSS II e CTC-12 do besouro da farinha vermelha, *Tribolium castaneum*

(Coleoptera: Tenebrionidae), aplicadas a larvas e besouros adultos em métodos de resíduo de película e a mortalidade foi avaliada após 24 horas. Para os bioensaios larvais, a maior toxicidade foi apontada para o extrato de álcool de petróleo ( $DL_{50}=0,031 \mu\text{g cm}^{-2}$ ) para o Raj e a menor toxicidade foi para o extrato de metanol ( $DL_{50}=15,697 \mu\text{g cm}^{-2}$ ) para o FSS II. Nos adultos o extrato de álcool de petróleo apresentou maior toxicidade ( $DL_{50}= 58.697 \mu\text{g cm}^{-2}$ ) no CTC 12 e quem apresentou menos toxicidade foi o extrato de acetona ( $DL_{50} = 22004.710 \mu\text{g cm}^{-2}$ ) em CR1.

Extratos de *Annona coriacea* e *A. muricata* foram testados em larvas do mosquito *Aedes aegypti* (Linnaeus 1762) (Diptera: Culicidae) cujas concentrações de 50 e 100 ppm do extrato de *A. coriacea*, com avaliações semanais mostraram que o uso do extrato a 100 ppm ocasiona uma mortalidade de 100% nas larvas aos 15 dias e, a  $CL_{50}$  (900 ppm) do extrato da *A. muricata* se considera promissor por apresentar embaixo da concentração máxima (5.000 ppm) recomendada pela Agência de Cooperação Técnica Alemanha (PARRA-HENAO et al., 2007; DILL; PEREIRA; COSTA, 2012).

Extratos hexânicos da *Annona diversifolia* Saff de diferentes partes da planta (sementes, raízes, caule e folhas) foram testados contra as formigas *Atta mexicana* (F. Smith, 1858) (Hymenoptera: Formicidae) nas concentrações de 1, 10, 100 e 1000 mg/mL, onde os extratos hexânicos das sementes e raízes apresentaram atividade moderada frente a *Atta mexicana*, enquanto os extratos das folhas e caule foram inativos e além disso os extratos ativos apresentam independência com o tempo de exposição (ACUÑA-CASTRO et al., 2011).

Hincapié-Llano et al., (2008), avaliaram o efeito inseticida de extrato hexânico, acetato de etila e etanol da semente da *A. muricata* L. sobre *Sitophilus zeamais* (Motschulsky, 1855) (Coleoptera: Curculionidae) cujo extrato obtido com hexano proporcionou um efeito inseticida maior que os outros extratos avaliados.

Kamaraj et al. (2011), avaliaram o papel da atividade larvicida de extratos de hexano, clorofórmio, acetato de etila, acetona e metanol de folhas secas e casca de *A. squamosa*, *Chrysanthemum indicum* L. e *Tridax procumbens* L. sobre larvas do quarto ínstar do vetor da malária *Anopheles Subpictus* Grassi e o vetor da encefalite japonesa, *Culex tritanieorhynchus* Giles (Diptera: Culicidae). Após 24 horas, todos os extratos de plantas mostraram controle moderado sobre *A. subpictus* Grassi e *C. tritanieorhynchus* Giles, no entanto, o maior efeito tóxico foi o extrato com metanol da casca de *A. squamosa*, extrato de acetato de etila da folha de *C. indicum* e o extrato de acetona da folha de *T. procumbens* sobre as larvas de *A. subpictus* ( $CL_{50}= 93,80, 39,98$  e  $51,57 \text{ mg/L}$ ) e o

extrato de metanol da casca de *A. squamosa*, extrato de metanol da folha de *C. indicum* e extrato de acetato de etilo da folha de *T. procumbens* sobre as larvas de *C. tritaneorhynchus* ( $CL_{50}=104,94, 42,49$  e  $69,16$  mg/L) respectivamente.

Saxena et al., (1993), avaliaram o efeito larvicida da *A. squamosa* sobre *Anopheles stephensi* (Liston, 1901) (Diptera: Culicidae) em concentrações de 50 e 200 ppm, cujo período de desenvolvimento das larvas foi ligeiramente reduzido, e os tratamentos com os alcaloides teve um efeito significativo na mortalidade, emergência e fisiologia reprodutiva nas larvas

Trindade et al. (2011) testaram o extrato das folhas de *A. muricata* no desenvolvimento das lagartas e pupas de *P. xylostella*, observaram que na maior concentração testada (5mg.mL) houve 100% de mortalidade das lagartas no extrato mais ativo e, em concentrações menores o incremento a fase de larva foi de até 2,6 dias, a viabilidade foi reduzida de forma significativa e a fase de pupa foi menos afetada pela exposição aos extratos, embora que sua duração tenha aumentado mais um dia na presença de concentrações não-letais.

Seffrin et al. (2010) avaliaram os extratos das sementes de *A. squamosa* e *Annona atemoya*, sobre o looper de repolho *Trichoplusia ni* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) utilizando diferentes bioensaios, onde os resultados obtidos que tanto *A. squamosa* e *A. atemoya* tem potencial como inseticidas botânicos.

Rao et al., (2005) testaram os extratos de metanol, hexano e acetado de etila de *A. squamosa* sobre o *Trogoderma granarium* (Everts, 1898) (Coleoptera: Dermestidae), todos os extratos apresentaram efeito inseticida sobre essa praga, mas o extrato de acetato de etila foi superior aos extratos de hexano e metanol.

Gomes et al. (2016) avaliaram a bioatividade do microencapsulado do extrato da semente da *Annona muricata*, sobre a *Plutella xylostella*, causando uma significativa toxicidade aguda ( $CL_{50}= 258\text{mg/L}^{-1}$ , e efeitos crônicos, reduzindo a viabilidade larval e aumento da duração do estágio larval, concluindo que a microencapsulação do extrato da semente de graviola pode ser uma alternativa viável no controle da traça-da-crucíferas com possíveis ganhos para o meio ambiente.

Maciel et al. (2015) avaliaram o efeito do extrato etanólico, hexânico e aquoso da semente de graviola para controlar o acaro *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). O extrato etanólico das sementes mostrou maior toxicidade. O efeito residual do extrato etanólico foi de 5 dias após a aplicação com taxas de mortalidade acima de 80%. Desta

forma. O extrato etanólico de graviola mostrou ser um produto promissor para o controle de *T. urticae*.

Embora que na literatura se tenha relatado cada vês mais pesquisas de inseticidas naturais preparados a partir de plantas e dos seus derivados, tais como extratos e óleos essenciais, eles apresentam problemas de alta volatilidade e baixa solubilidade em água surgindo como alternativa o uso da emulsão a base de extratos vegetais.

## 2.7. Emulsões

As emulsões são sistemas compostos por duas fases líquidas e imiscíveis, nas quais um dos líquidos está disperso de maneira uniforme no outro. Esta uniformidade consiste em dizer que as gotículas do líquido disperso no outro apresentam diâmetros iguais, em sua grande maioria. O líquido que está disperso em pequenas gotas é conhecido como fase dispersa, interna ou descontínua, enquanto que o segundo é chamado de fase de dispersão, externa ou contínua (VOIGT, 1982; ZANIN et al., 2001 e 2002; PRISTA et al., 2003; GENNARO, 2004).

Esses sistemas são termodinamicamente instáveis devido à sua grande energia superficial que é resultante da combinação de tensão na interface, da grande área de superfície da fase dispersa e da diferença de densidade entre os dois líquidos que constituem as fases (SENHORINI, 2010).

Desta forma, para confeccionar emulsões estáveis é imprescindível adicionar excipientes conhecidos como agentes emulsificadores ou tensoativos. Uma emulsão estável é definida como um sistema que consegue manter, de maneira homogênea, suas gotículas ou glóbulos na fase contínua. O tensoativo, neste caso, é responsável por manter um filme entre as fases (entre as gotículas e a fase externa), exercendo assim uma barreira física que impede a coalescência que pode ser definida como a junção, a união de duas ou mais gotículas. Caso este filme possua cargas, é considerado que o agente emulsificador exerça, portanto, uma barreira química. As emulsões oleosas (concentrado emulsionável, emulsão de água em óleo e emulsão de óleo em água) são amplamente utilizadas na área farmacêutica e cosmética (SENHORINI, 2010).

Um outro excipiente que geralmente é adicionado às emulsões, como forma de manter a estabilidade, são os conservantes, que podem ser acrescentados tanto na fase aquosa como na oleosa. Segundo a literatura, a porção aquosa é a principal responsável em

favorecer o crescimento de microorganismos, embora isto ocorra na porção oleosa, com menor frequência. A escolha do conservante sempre deve levar em consideração a aplicação da preparação e as possíveis incompatibilidades entre o conservante e constituintes das emulsões.

É sabido, também, que a preparação de emulsões envolve uma certa necessidade em aplicar ao sistema que se quer obter, uma certa quantidade de energia com a finalidade de formar a interface entre as duas porções. Um trabalho adicional tem que ser realizado, por meio de agitação manual ou mecânica para promover movimentação do sistema e superar a resistência ao fluxo. Além disso, aquecimento (calor) é algumas vezes fornecido para fundir sólidos serosos e, também, reduzir a viscosidade da porção oleosa. Logo, as preparações em grande escala necessitam de grandes quantidades de energia, tanto para solubilização como para a mistura, o que eleva o custo do método de preparo.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi conduzido no Laboratório de Entomologia: controle alternativo de pragas, em casa-de-vegetação e no campo do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas, em Rio Largo, AL, de coordenadas geográficas Latitude: 9°28'29,1''S; Longitude: 35°49'43,6''W; Altitude: 127,0 m., Dados meteorológicos foram obtidos da Estação Agrometeorológica, do Centro de Ciências Agrárias (CECA) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), Rio Largo - AL., entre o período de março 2016 a dezembro 2017.

#### 3.1. Condução da cultura da couve

Sementes de couve Georgia, *Brassica oleracea var. acephala*, foram semeadas em casa de vegetação, em bandeja de isopor contendo substrato comercial Bioplant® indicado para preparo de sementeira. Após 35 dias, as mudas foram transplantadas para local definitivo em canteiros. Foram adotados tratos culturais segundo Filgueira (2008), exceto a utilização de inseticidas. As folhas de couve foram utilizadas para os experimentos a partir de 40 a 55 dias após o transplântio.

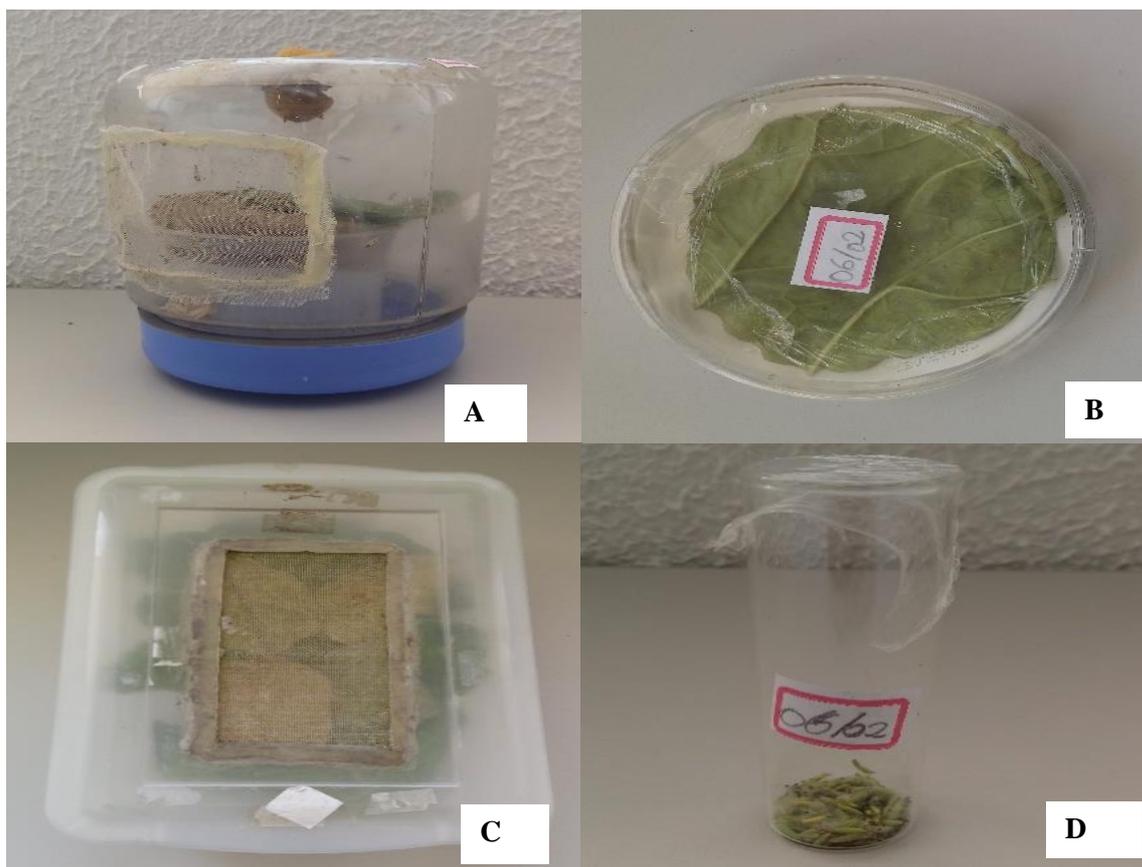
#### 3.2. Criação da traça-das-crucíferas *Plutella xylostella*

A criação e multiplicação de *Plutella xylostella* foi realizada no Laboratório de Entomologia: controle alternativo de pragas, sob condições de temperatura entre 25 e 28 °C, umidade relativa do ar entre 67 e 70 % e fotofase de 12h, a partir de uma criação já existente no laboratório.

Após a emergência, os adultos eram liberados em gaiolas plásticas transparentes circulares com abertura lateral fechada com tela antiáfídeo. Em cada gaiola foi colocado um pote plástico coberto com espuma umedecida, sobre o qual, foi colocado um disco de folha de couve medindo 8 cm de diâmetro para servir de substrato à postura, no sentido de simular a folha em condições de campo, e uma esponja embebida com solução açucarada a 10%, na parte superior da gaiola, para alimentação dos adultos (Figura 2A). Os discos de

folhas eram substituídos diariamente, e mantidos em placas de Petri de 8 cm de diâmetro até a eclosão das lagartas (Figura 2B). As lagartas recém eclodidas, oriundas de posturas realizadas em folhas de couve, foram transferidas para recipientes plásticos maiores contendo várias folhas de couve (Figura 2C). As folhas foram substituídas diariamente até as lagartas atingirem a fase de pupa. As pupas foram transferidas para tubos de vidro de fundo chato, fechados com filme plástico transparente (Figura 2D). Em cada recipiente foram realizados pequenos furos para que houvesse possibilidade de troca de ar. A cada 72 horas, após a emergência, os adultos foram transferidos para as gaiolas, reiniciando-se assim, um novo ciclo do inseto.

**Figura 2** - Etapas da criação da *Plutella xylostella*. A. Gaiolas dos adultos. B. Disco de couve com ovos da traça. C. Discos de couve com lagartas recém eclodidas. D. Pupas retiradas dos potes.



Fonte: Autor, 2018.

### 3.3 Aquisições das sementes de pinha e preparo do extrato

As sementes de pinha foram obtidas de um plantio do banco de germoplasma de anonáceas, do Centro de Ciências Agrárias (CECA) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL). Foram acondicionadas em sacos de papel Kraft e postas para secar em estufa de circulação de ar a uma temperatura de 60°C por 48 horas. Após a secagem total das sementes, realizou-se a moagem em moinho tipo Wiley para a obtenção do pó de baixa granulometria, que depois foi colocado em recipiente hermeticamente fechado devidamente identificado até o momento do preparo do extrato.

Para o preparo do extrato etanólico, 2,8 kg de pó das sementes de *A. squamosa* foi submetido à extração a frio em percolador de ação inox, primeiramente com 3,0 L de hexano, por um período de 4 horas, depois sobre a torta resultante da extração anterior foi extraído com 6,0 L de etanol, sendo 2,0 L a cada 24 horas durante 3 dias e em seguida filtrada. O solvente foi removido em evaporador rotativo a 50°C com rendimento de 312 gramas de peso líquido, acondicionado em recipiente hermeticamente fechado e etiquetado.

### 3.4. Preparo da emulsão do extrato etanólico da semente de pinha

O preparo da emulsão foi realizado no Laboratório de Biotecnologia Vegetal do CECA seguindo a metodologia de Senhorini (2010), que consistiu em combinar as fases aquosa e oleosa após um pré-aquecimento das duas fases a uma temperatura de 60°C. A fase oleosa recebeu o Span e a fase aquosa o Tween. Foram testadas diferentes concentrações de Tween e de Span para observar o tratamento com melhor estabilidade da emulsão (Tabela 1). Em Becker separados a fase oleosa e aquosa foram aquecidas a 60 graus por 10 minutos, depois as fases foram reunidas em um único Becker e deixadas em banho maria por mais 15 minutos, transcorrido esse tempo foi resfriada com agitação. Após o preparo das emulsões em suas diferentes concentrações de Tween e Span com o extrato etanólico da semente da pinha, foram colocadas em repouso em vidros devidamente etiquetadas para a observação da estabilidade no decorrer do tempo por um período de 24 horas.

**Tabela 1** - Proporção de reagentes utilizados para o preparo das emulsões do extrato etanólico da semente de *Annona squamosa*.

Emulsão	Span (g)	Tween (g)	Extrato (mL)	H <sub>2</sub> O (mL)
1	4,0	1,0	10	85
2	3,5	1,5	10	85
3	3,0	2,0	10	85
4	0,0	5,0	10	85

Fonte: Adaptação de Senhorini (2010)

### 3.4.1. Avaliação organoléptica e testes de estabilidade da emulsão estável

A emulsão estável, sem separação de fases, foi avaliada por meio de características organolépticas (estabilidade física), levando-se em consideração parâmetros físicos como aspectos ou aparência das emulsões. A emulsão estável desenvolvida neste trabalho foi avaliada por três meses para o teste de longo prazo, e teste de curto prazo cujas características avaliadas foram: homogeneidade, brilho, textura e opacidade.

Tanto para os testes de estabilidade normais quanto para os acelerados, a embalagem final adotada foi a de vidro utilizando-se um recipiente de 20 mL e com tampa bem vedada a fim de evitar processos oxidativos nas emulsões. Todos os testes foram feitos em triplicata e após 24 horas do preparo de todas as formulações, período este necessário para que o sistema seja considerado estável (sem separação de fases) (SENHORINI, 2010).

### 3.4.2. Testes de estabilidade normais a longo prazo

Três frascos de vidro com 20 mL de emulsão foram postos em ambiente sob a direta ação solar, três frascos em ambiente com sol indireto e três em ambiente escuro. O teste com ambiente de sol indireto foi realizado no interior do laboratório de pesquisa, ou seja, em ambiente interno em que a luminosidade, natural ou artificial, o teste em ambiente escuro foi feito dentro de uma caixa de papelão escura sem entrada de luz. Diariamente,

durante três meses, os frascos foram observados, com exceção dos que permaneceram no ambiente escuro, e as características desejáveis, citadas acima, foram avaliadas.

### **3.4.3 Testes de estabilidade acelerados a curto prazo**

Três frascos de vidro com 20 mL de emulsão foram postos em estufa a 50°C por 24 horas, três frascos de vidro com 20 mL de emulsão foram colocados em geladeira a 10° durante 24 horas e três frascos com 20 mL de emulsão foram submetidos à centrifugação durante 50 minutos a 3500 rpm. Depois do tempo requerido, as características citadas acima, foram observadas.

### **3.4.4 Caracterização da emulsão por microscopia ótica**

A avaliação da estabilidade da emulsão estável, 24 horas após seu preparo com e após os três meses de avaliação do extrato de *A. squamosa* foi realizada por meio de microscopia ótica (ZANIN et al., 2002). A emulsão estável foi espalhada sobre uma lâmina de vidro e depois uma lamínula foi posta sobre o material. Para a visualização da amostra foi usado um microscópio ótico, com lente objetiva de 40x. O registro das imagens ocorreu pela utilização de uma câmara fotográfica.

## **3.5 Determinação das concentrações letais (CL<sub>50</sub> e CL<sub>95</sub>) da emulsão do extrato etanólico da semente de pinha (*Annona squamosa*) sob diferentes instares larvais de *Plutella xylostella***

Após obter a emulsão com maior estabilidade, foram realizados testes preliminares com a mesma em diferentes concentrações para determinar os valores do Limite Inferior (LI) e Limite Superior (LS) para larvas de 1° e 3° instar, e assim estimar a CL<sub>50</sub> e CL<sub>95</sub> que cause mortalidade de 50 e 95% das lagartas.

Após estabelecido os limites da emulsão, foram avaliadas oito diferentes concentrações: 0,00030; 0,0092; 0,00283; 0,00871; 0,02679; 0,08234; 0,08722 e 0,25313%, para larvas de 1° e 3° ínstar correspondentes à sequência  $a_1$ ,  $a_1q^2$ ,  $a_1q^3$ ,  $a_1q^4$ ,  $a_1q^5$ ,  $a_1q^6$ , e  $a_1q^7$  obtida através da formula BLISS, (1934) e, a partir de experimentos realizados se conseguiu obter a  $CL_{50}$  e  $CL_{95}$  da emulsão com o auxílio do programa SAS 9.0.

$$q = \left( \frac{a_n}{a_1} \right)^{\frac{1}{n+1}}$$

Onde:  $q$  = razão da progressão geométrica (pg);  $n$  = número de concentrações a extrapolar;  $a_n$  e  $a_1$  = limites superior e inferior, respectivamente, da pg (concentrações que provocam mortalidade de 95% e semelhante à testemunha, respectivamente através de testes preliminares).

Discos de folha de couve manteiga foram cortados com 8cm de diâmetro e pulverizados com as diferentes concentrações da emulsão de extrato etanólico em torre de Potter (Potter, 1952). A pulverização foi realizada a uma pressão de 5 psi/pol<sup>2</sup> utilizando-se um volume de calda de 4,0 mL, correspondendo para um depósito de  $1,9 \pm 0,37$  mg/cm<sup>2</sup>.

Após serem pulverizados, os discos foram colocados sobre uma superfície coberta com papel toalha e permaneceram ao ar livre para a secagem do excesso de água. Lagartas recém eclodidas e do 3° instar foram colocadas nos discos tratados e colocadas em placas Petri de 8 cm de diâmetro contendo um papel filtro umedecido com água destilada para manter a umidade, e mantidos em laboratório com temperatura média entre 25° e 27°C e luminosidade mista natural e artificial de lâmpadas fluorescentes. Para cada tratamento foram usadas 5 repetições com 10 lagartas por parcela. Após 72 horas do início do experimento, avaliou-se a percentagem de mortalidade larval.

### **3.6. Avaliação residual da emulsão do extrato etanólico da pinha *Annona squamosa*, sobre o 1° e 3° instar da *Plutella xylostella***

### **3.6.1 Avaliação residual no semicampo da emulsão do extrato etanólico da pinha *Annona squamosa*, sobre o 1° e 3° instares da *Plutella xylostella* nas épocas inverno e verão**

Para avaliar o efeito residual da emulsão do extrato etanólico da pinha no ambiente telado com as concentrações letais estimadas para cada ínstar (CL<sub>95</sub> e CL<sub>50</sub>), o produto formulado Azamax® e a testemunha, grupos de 10 plantas de couve cultivadas em vasos de 5L preenchidos com uma mistura de terra e composto orgânico (1:1) e no mínimo de 4 folhas definitivas foram pulverizados no mesmo dia com os diferentes tratamentos utilizando um pulverizador manual cobrindo toda a planta com um volume de 200 mL.

Os intervalos de avaliação do efeito residual dos diferentes tratamentos foram de 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16 e 18 dias, sendo o tempo zero as plantas pulverizadas no mesmo dia.

A cada intervalo de aplicação, as folhas de cada tratamento eram destacadas das plantas, levadas ao laboratório para serem feitos os discos de 8cm de diâmetro e colocadas em placas de Petri revestidas com papel filtro umedecido para inocular as lagartas recém eclodidas (1° instar) e lagartas de 3° instar. Após três dias da montagem de cada experimento foram avaliadas a mortalidade das lagartas de cada ínstar, em experimentos separados.

Os dados coletados de temperatura durante a execução do experimento foram 31°C de máxima e 24,3°C de mínima no inverno e 34,2°C de máxima e 28°C de mínima no verão.

Os experimentos da avaliação residual da emulsão do extrato etanólico da pinha no ambiente telado foi em Delineamento Inteiramente Casualizados (DIC) em esquema fatorial (4 x 2), 4 tratamentos, 2 épocas (inverno e verão). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey através do programa SISVAR.

### **3.6.2 Avaliação residual no campo da emulsão do extrato etanólico da pinha *Annona squamosa*, sobre o 1° e 3° instares da *Plutella xylostella* nas épocas inverno e verão.**

O experimento de efeito residual no campo seguiu a mesma metodologia do experimento de telado. A única diferença é que os vasos contendo as plantas de couve ficaram dispostos em condições de campo sujeitos as intempéries.

Os dados das condições ambientais foram cedidos pela Estação Agrometeorológica, do Centro de Ciências Agrárias (CECA) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), Rio Largo – AL. Os dados coletados foram os seguintes: temperatura média máxima e mínima do ambiente na época de inverno (12/07/2017 a 26/07/2017) foi de 25,72°C e 19,01°C respectivamente. A umidade relativa máxima foi de 92,52% e a mínima foi de 64,86%. A precipitação pluvial (mm) e a radiação solar (MJ m<sup>-2</sup>) foram de 11,90 e 13,89 respectivamente. Para a época do verão (05/12/2017 a 19/12/2017) a temperatura máxima e mínima foi de 31,89°C e 21,82°C respectivamente. A umidade relativa máxima foi de 89,13% e a mínima 44,24%, a precipitação pluvial (mm) de 0,27 e a radiação solar (MJ m<sup>-2</sup>) de 23,26.

Os experimentos da avaliação residual da emulsão do extrato etanólico da pinha no ambiente campo foi em Delineamento Inteiramente Casualizados (DIC) em esquema fatorial (4 x 2), 4 tratamentos, 2 épocas (inverno e verão). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey através do programa SISVAR.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 4.1. Preparo da emulsão do extrato etanólico da semente de pinha

Das quatro formas de obtenção da emulsão, apenas a emulsão 1 (Tabela 2) ficou estável após 24 horas de repouso, pois não apresentou separação de fases, sem a formação de grumos (Figura 3A) e, com uma aparência cremosa. As emulsões 2 e 3 apresentaram separação de fases (Figura 3B), com um aspecto cremoso, mas não consideradas na classificação como emulsões boas. Já a emulsão 4 foi considerada com um resultado ruim, porque apresentou separação de fases aquosa e oleosa (Tabela 2 e Figura 3B).

**Tabela 2** - Resultados observados das emulsões preparadas com extrato etanólico da semente de *Annona squamosa* com Span e Tween em proporções diferentes.

Emulsão	Span (g)	Tween (g)	Observação após 24 horas	Aspecto	Resultado
1	4,0	1,0	Estável	Homogêneo	Excelente
2	3,5	1,5	Instável	Separação	Regular
3	3,0	2,0	Instável	Separação	Regular
4	0,0	5,0	Instável	Separação	Ruim

Fonte: Autor, 2018.

Em estudo semelhante, Senhorini (2010), utilizando o óleo vegetal de *Carapa guianensis* Aubl (Sapindales: Meliaceae), as mesmas quantidades de Span e Tween no preparo da emulsão, obteve 3 emulsões estáveis, sendo emulsão 3 a que apresentou um melhor resultado; no presente estudo a melhor foi a emulsão 1 com o mesmo aspecto homogêneo encontrado pela autora acima. Foi possível perceber que, com a mesma quantidade dos agentes dispersantes, mas com óleos de constituintes diferentes, a qualidade da emulsão foi diferente.

**Figura 3** - Resultado da preparação da emulsão do extrato de *Annona squamosa* e diferentes concentrações de Span e Tween: A. Emulsão 1 estável; B. Emulsão 2, 3 e 4 apresentando separação de fases (aquosa, oleosa)



Fonte: Autor, 2018.

## 4.2. Avaliação organoléptica e testes de estabilidade da emulsão estável

### 4.2.1. Testes de estabilidade normal a longo prazo da emulsão estável

A estabilidade física da emulsão, em termos de aparência e aspecto, tanto aquelas expostas ao sol indireto quanto no escuro apresentou a mesma estabilidade durante os três meses analisados, pois não houve separação das fases aquosa e oleosa. Nessas duas condições de armazenamento, a emulsão se solidificou permanecendo com características de viscosidade descritas por Zanin et al., (2001).

Por outro lado, a emulsão que foi exposta ao sol direto por de três meses apresentou-se bastante heterogênea com separação das fases aquosa e oleosa, um brilho opaco e opalescente (Tabela 3), os quais são defeitos não aceitáveis para uma emulsão aceitável segundo Zanin et al. (2001). Observou-se também que o pH medido (5,4) durante os 3 meses de armazenamento manteve-se constante à temperatura ambiente na emulsão armazenada sob sol indireto. Valores baixos de pH, em torno de 5,0 e 6,0 são características que ajudam a inibir o crescimento microbiano nas emulsões, portanto, a estabilidade se mantém (GENNARO, 2004).

**Tabela 3** - Estudo de estabilidade da emulsão do extrato etanólico da pinha em ambiente com sol direto, indireto e em ambiente escuro, analisados em Rio Largo/AL, entre os meses dezembro 2016 a março 2017.

<b>Características avaliadas</b>	<b>Sol direto</b>	<b>Sol indireto</b>	<b>Ambiente escuro</b>
Homogeneidade	Heterogêneo	Homogênea	Homogênea
Brilho	Opaco	Brilhante	Brilhante
Macio	Macio	Macio	Macio
Fino	Fino	Viscoso	Viscoso
Opacidade	Opalescente	Perolado	Perolado

Fonte: Autor, 2018.

Para avaliar os aspectos ou aparência do produto final, é necessário definir primeiramente as características que se deseja. Assim, as características organolépticas de uma emulsão com qualidades aceitáveis são: homogeneidade, brilho, maciez (sem aspecto fibroso), textura fina (não grosso e nem viscoso) e opacidade (ZANIN et al., (2001).

Avaliando-se as emulsões armazenadas nos ambientes com sol indireto e em escuro durante três meses foi possível se observar que as emulsões se mantiveram com aspecto físico homogêneo, sem separação das fases oleosas e aquosas, sem grumos, com aspecto brilhante, macio, viscoso e opaco. A emulsão exposta ao sol direto a estabilidade da emulsão foi quebrada apresentando separação de fases aquosa e oleosa (Tabela 3). O ambiente na qual ficou submetido a emulsão com sol direto foi um viveiro telado de plantas com telhas translúcidas que no período avaliado chegou a apresentar temperaturas médias de 35°C ao longo do dia, bem mais elevada do que as outras duas condições de armazenamento. É provável que tal temperatura tenha sido suficiente para quebrar a sua estabilidade, pois de acordo com Aulton (2005), a solubilidade de emulsionantes não-iônicos muda com o aumento da temperatura.

#### 4.2.2. Testes de estabilidade acelerados em curto prazo

A emulsão submetida aos testes de estabilidade acelerados a curto prazo mostrou que a estabilidade física, em termos de aparência e aspecto foi alterada apresentando separação de fases aquosa e oleosa com grumos quando exposta a ciclos de estresse como aumento drástico da temperatura ou a centrifugação por determinado tempo (Tabela 4). Além disso, a emulsão colocada na estufa a 50°C ou centrifugada a 3500 rpm por 50 minutos teve o pH alterado, sendo antes pH = 5,0 e depois dos testes pH = 7,2. Tais alterações são consideradas como defeitos graves e não aceitáveis para uma emulsão.

**Tabela 4** - Avaliação das propriedades organolépticas da emulsão em curto prazo sob diferentes estresses.

<b>Curto prazo</b>			
<b>Características avaliadas</b>	<b>Geladeira a 10°C</b>	<b>Estufa a 50°C</b>	<b>Centrifuga a 3500 rpm</b>
Homogeneidade	Homogênea	Heterogênea	Heterogênea
Brilho	Brilhante	Brilhante	Brilhante
Macio	Macio	Fibroso	Macio
Fino	Fino	Fino	Fino
Opacidade	Perolado	Opalescente	Opalescente
pH início	5,4	5,4	5,4
pH final	5,4	7,2	7,2

Fonte: Autor, 2018.

A emulsão submetida à temperatura baixa não apresentou alterações com relação às características organolépticas avaliadas no pH medido, sendo considerada como uma emulsão aceitável, o que segundo Gennaro (2004), indica a estabilidade do sistema (Tabela 4).

Segundo a lei da termodinâmica, todos os sistemas tendem a restabelecerem seus estados iniciais de energia mínima e, por isso, com emulsões há a tendência natural de diminuição da área de contato interfacial. Isso justifica a susceptibilidade das emulsões à separação de fase e outras instabilidades como: floculação (após agitação), coalescência, cremeação (separação em duas fases), sedimentação e maturação de Ostwald (processo no qual ocorre difusão das gotas da fase dispersa para a fase contínua, sem que haja contato entre as gotas) (PEREIRA e GARCIA-ROJAS, 2015).

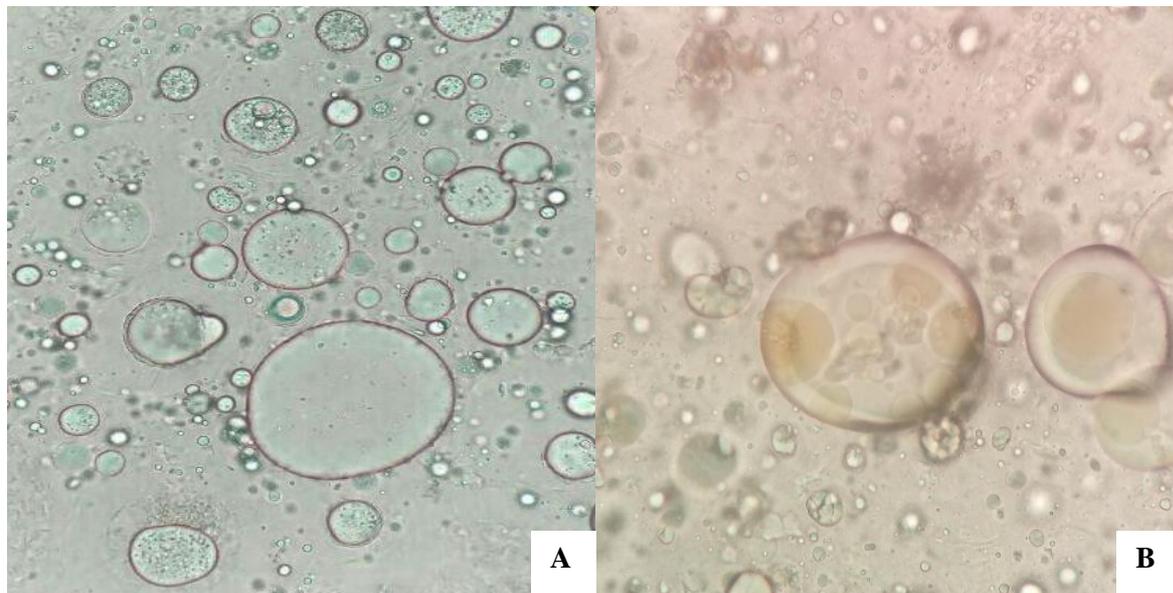
Esses testes de curto e longo prazo com a emulsão do extrato da semente de *A. squamosa* indicam claramente que as condições adequadas de armazenamento para o extrato formulado na forma de emulsão seriam em embalagem que proteja da luz direta e temperatura ambiente inferior a 30°C.

#### **4.2.3. Caracterização da emulsão por meio de microscopia óptica**

A emulsão mais estável também foi avaliada por meio de microscopia ótica para a observação da estabilidade após a preparação e três meses de preparo. As imagens revelaram que logo após a preparação e após três meses do armazenamento da emulsão o perfil de homogeneidade é o mesmo, embora logo no início do preparo os glóbulos (Figura 4A) se apresentam menores do que após três meses (Figura 4B), caracterizando assim, uma maior homogeneidade. A presença de glóbulos mais homogêneos em diâmetro, agregação e distribuição são sinais visíveis de estabilidade das emulsões (SENHORINI 2010).

Segundo Aulton (2005), a instabilidade de uma emulsão resulta de qualquer processo que cause um progressivo aumento do tamanho das partículas, e um alargamento na distribuição de tamanhos. De forma que, por fim as partículas dispersas podem se tornar tão grandes a ponto de se separar como líquido livre. Na Figura 4B, a emulsão testada apresentou após 3 meses a formação de glóbulos maiores e menores na solução, mostrando que se manteve estável.

**Figura 4** - Fotografias correspondentes à emulsão mais estável; 4A: Fotografia tomada após do preparo da emulsão; 4B: Fotografia tomada após de três meses de preparo da emulsão



Fonte: Autor, 2018.

#### **4.3. Estimativas das concentrações letais da emulsão do extrato etanólico da semente de pinha (*Annona squamosa*) sobre lagartas de *Plutella xylostella***

A emulsão do extrato etanólico da pinha se ajustou ao modelo de Probit com o valor de  $p = 3,074$ . As concentrações letais para o 1º ínstar foram de 0,01% (variando entre 0,008 e 0,017%) para a  $CL_{50}$  e 0,68% (variando entre 0,35 e 1,72%) para a  $CL_{95}$ . Para o 3º ínstar foram de 0,03% (variando entre 0,01 e 0,07%) para a  $CL_{50}$  e 3,42% (variando entre 0,82 e 54,01%) para a  $CL_{95}$  (Tabela 5).

**Tabela 5** - Estimativas das concentrações letais (CLs) da emulsão do extrato etanólico da semente da pinha sobre a *Plutella xylostella*.

Emulsão	GL <sup>1</sup>	N <sup>2</sup>	CL <sub>50</sub> (%) (IC <sub>95%</sub> ) <sup>3</sup>	CL <sub>95</sub> (%) (IC <sub>95%</sub> ) <sup>3</sup>	X <sup>2</sup>	P <sup>4</sup>
EEEP (1 <sup>o</sup> instar)	7	400	0,01 (0,008-0,017)	0,68 (0,35-1,72)	125.01	<.0001
EEEP (3 <sup>o</sup> instar)	7	400	0,03 (0,01-0,07)	3,42 (0,82-54,01)	52.86	<.0001

EEEP: emulsão extrato etanólico de pinha; X<sup>2</sup>: Qui-quadrado.<sup>1</sup>GL: Graus de liberdade.

<sup>2</sup>número de insetos usados. <sup>3</sup>IC: intervalo de confiança. <sup>4</sup>P: probabilidade 1%.

Fonte: Autor, 2018.

As concentrações letais dos ínstaes observadas foram diferentes, ou seja, a lagarta no 3<sup>o</sup> ínstar necessita de uma concentração maior da emulsão para ocasionar mortalidade (Tabela 5). Essa informação é considerada muito relevante, uma vez que no campo existem sobreposições de gerações do inseto e usando uma concentração errada não terá uma boa eficiência de controle sobre a praga.

Essa preocupação de avaliar se uma concentração letal estimada para lagartas recém eclodidas servirá para matar lagartas maiores pensando na sobreposição de fases larvais no campo também foi avaliada por Trindade et al. (2015) ao estudar três ínstaes larvais (1<sup>o</sup>, 3<sup>o</sup> e 5<sup>o</sup>) de *S. frugiperda* com extratos aquosos de inhame *Dioscorea rotundata* Poirr (Dioscoreaceae). A pesquisa mostrou que há diferença na ação inseticida dos extratos nos diferentes ínstaes larvais, sendo mais eficiente nos primeiros ínstaes (1<sup>o</sup> e 3<sup>o</sup>), com mortalidade logo nos primeiros dias para as lagartas recém eclodias e diminuindo a eficiência à medida que as lagartas vão crescendo, e possivelmente, adquirindo algum mecanismo de desintoxicação ou mecanismo de metabolização do princípio ativo por enzimas (CHEN; MAYER, 1985).

Observando as concentrações letais estimadas no presente trabalho, as quais foram muito baixas para controlar a *P. xylostella* (Tabela 5) podemos comparar com trabalhos encontrados na literatura que se assemelham em relação ao potencial inseticida das sementes da pinha e em baixas concentrações, como Sikdar et al. (2016), que usaram concentrações de 0,15; 0,30 e 0,75% sobre a cochonilha *Planococcus pacificus*

(Hemiptera: Pseudococcidae) em goiabeira, demonstrando eficiência da maior concentração em apenas dois dias. Rabelo e Bleicher (2014) que testaram concentrações de 0,5% de extratos etanólico das sementes de pinha sobre o pulgão *Aphis craccivora* Koch, 1854 (Hemiptera: Aphididae), em feijão caupi e concluíram que os extratos usados nos bioensaios foram eficientes, causando mortalidade em torno de 99%.

Yang; Deng; Hou (2008) acharam a concentração subletal de dois constituintes químicos isolados de frutos de *Ginko biloba* (Ginkgoaceae) no controle de *P. xylostella*, o bilobol (2,06g/L e o ácido gíngico (4,6g/L). Tais concentrações são consideradas muito elevadas comparadas com a concentração letal encontradas na emulsão do extrato etanólico da pinha para a mesma praga (Tabela 5).

#### **4.4. Efeito residual no ambiente semicampo e campo da emulsão do extrato etanólico da pinha *Annona squamosa*, sobre o 1° e 3° ínstar da *Plutella xylostella*.**

##### **4.4.1. Efeito residual no ambiente semicampo das CL<sub>50</sub> e CL<sub>95</sub> da emulsão do extrato etanólico da pinha *Annona squamosa*, sobre o 1° ínstar larval da *Plutella xylostella* nas épocas inverno e verão.**

No experimento realizado no telado, houve interação entre os tratamentos e dias após pulverização (DAP) ( $F= 5,757$ ;  $p < 0,001$ ) pelo teste de Tukey.

Nas condições de inverno, a CL<sub>95</sub> apresentou média acima de 90% de mortalidade até o 10° dia de avaliação, e do 12° ao 14° dia se mostrou com médias de 88 e 62%, respectivamente; diferentemente do produto comercial Azamax® que apresentou efeito tóxico até o 6° dia, estendendo-se com atividade de mortalidade até o 14° dia com médias de 72, 68, 52 e 36% de mortalidade no 8°, 10°, 12° e 14° dia, respectivamente (Figura 5). É possível notar que a emulsão formulada nesse estudo se apresentou bem mais estável e com um maior efeito residual do que um produto comercial registrado no Brasil, com uma diferença de 4 dias de maior eficiência de mortalidade. Segundo o Agrofít (2018), na recomendação do produto, o Azamax® pode apresentar um efeito residual de 7 a 10 dias, que pode variar com a dosagem e com a espécie alvo; no caso foi utilizada a dose recomendada (200 mL/100L) para *P. xylostella*, contida na bula.

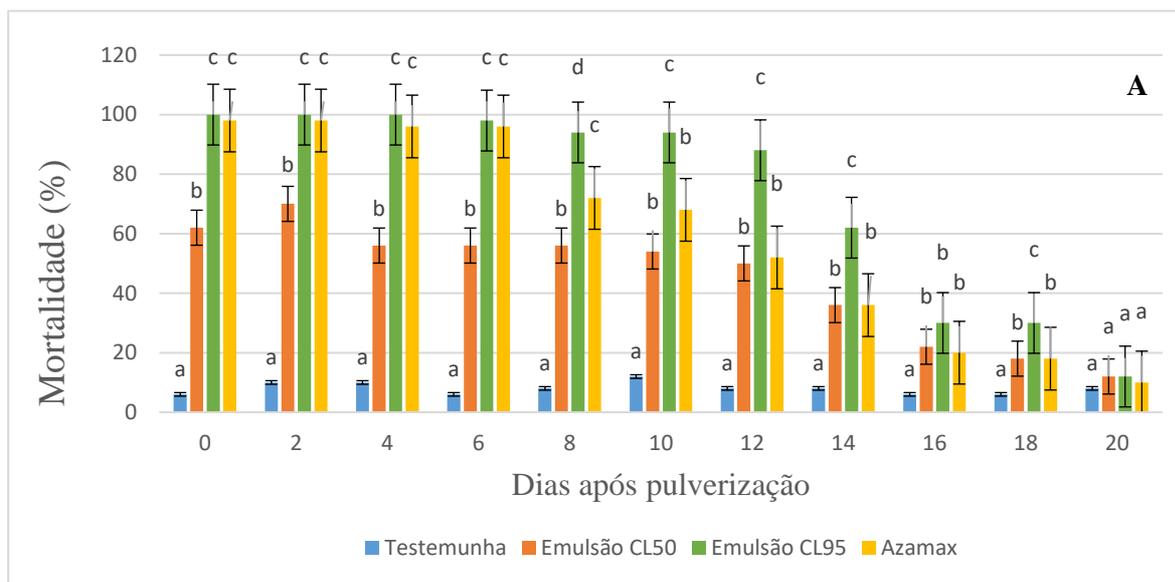
Com relação a CL<sub>50</sub> da emulsão, as mortalidades larvais se mantiveram estáveis, com uma mortalidade esperada de 50%, durante 12 dias. Um resultado bastante promissor

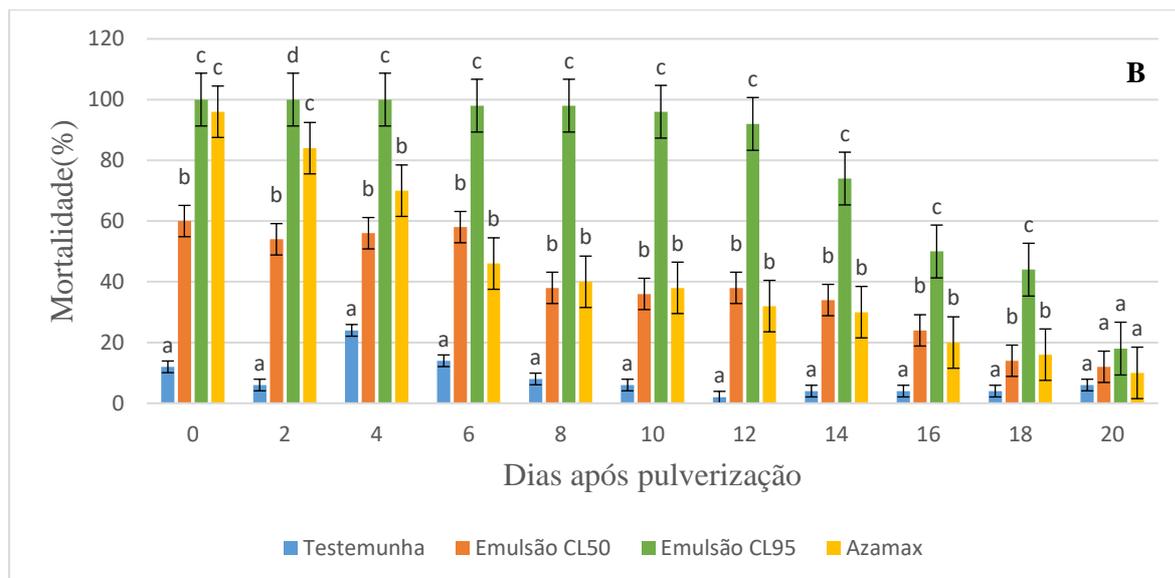
porque com uma CL bem inferior de 0,01%, manteve-se ativa por um bom período de tempo podendo ser associada com outra tática de controle.

As condições de verão, com temperaturas no ambiente semicampo superiores às do inverno, foram menos favoráveis ao produto comercial Azamax® e à emulsão CL50 que se mostraram menos ativas ao longo do período de avaliação. O Azamax® se mostrou ativo somente por 4 dias diminuindo sua ação tóxica drasticamente durante o restante do período de avaliação residual, inclusive com valores de médias de mortalidade bem semelhantes com a emulsão CL50 do 8º ao 14º dia.

Já a CL95 se mostrou bem semelhante às condições de inverno se estendendo mais dois dias de mortalidade acima de 90% do que nas condições de inverno.

**Figura 5** - A. Efeito residual da emulsão do extrato etanólico de *Annona squamosa* sobre lagartas do 1º instar de *Plutella xylostella* na época do inverno no ambiente semicampo; B. Efeito residual da emulsão do extrato etanólico das sementes da *Annona squamosa* sobre lagartas do 1º instar de *Plutella xylostella* na época do verão no ambiente semicampo.





Fonte: Autor, 2018.

Já Maciel et al. (2015) avaliaram o efeito residual do extrato etanólico das sementes de *Annona muricata* (Annonaceae) no controle do ácaro *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) em plantas de feijoeiro de 12 dias cultivadas em estufa. As plantas foram pulverizadas com o extrato etanólico (CL<sub>99</sub>= 12,07 mg/mL) e após períodos de 0, 24, 48, 72, 96 e 120 horas da aplicação coletou-se discos foliares que em laboratório ficaram expostos a 10 fêmeas adultas de *T. urticae*. A mortalidade foi avaliada diariamente até 120 horas após pulverização. O efeito residual do extrato seguiu até o final do experimento (5DAP) com mortalidade acima de 80%.

Os resultados apresentados neste trabalho mostraram que o extrato etanólico emulsionado de sementes de pinha na CL<sub>95</sub> foi muito superior na mortalidade das lagartas do primeiro instar ao único produto natural comercial existente no mercado - o Azamax e a outros extratos descritos na literatura (DILL et al., 2012; SILVA et al., 2013; MACIEL et al., 2015). A ação de mortalidade da emulsão CL<sub>95</sub> sobre as lagartas foi mais efetiva em concentração muito baixa e sua ação residual durou muito mais tempo do que o Azamax com a vantagem adicional de não apresentar diferenças significativas na ação durante o inverno ou verão.

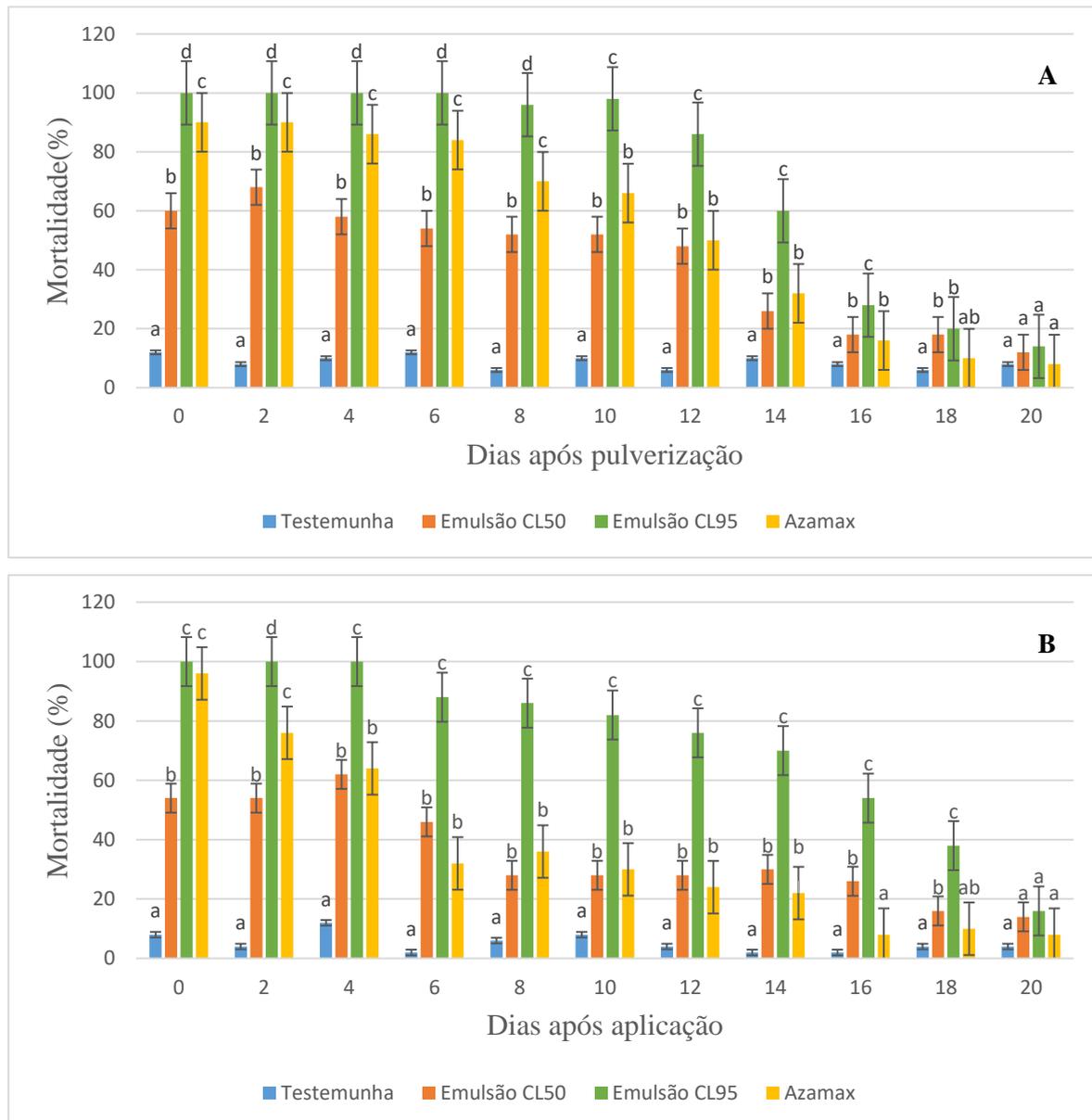
#### **4.4.2 Efeito residual no ambiente semicampo das CL<sub>50</sub> e CL<sub>95</sub> da emulsão do extrato etanólico da pinha *Annona squamosa*, sobre o 3º ínstar larval da *Plutella xylostella* nas épocas inverno e verão.**

No experimento realizado no telado, houve interação entre tratamentos e dias após pulverização (DAP) ( $F= 6,319$ ;  $p < 0,001$ ) pelo teste de Tukey.

A persistência da efetividade das soluções dos tratamentos sobre as lagartas do 3º ínstar foi muito semelhante àquela observada para as lagartas do 1º ínstar anteriormente apresentados, embora em concentrações do extrato mais elevadas. A CL<sub>95</sub> no período de inverno também apresentou mortalidade larval média superior a 90% até o 10º dia. Já o Azamax® apresentou um efeito de mortalidade menor do que a CL<sub>95</sub>, (Figura 2). Esses resultados são corroborados por Chen e Mayer (1985) que mostraram que lagartas em ínstares mais adiantados tem uma maior capacidade de adquirir algum mecanismo de desintoxicação ou metabolização do princípio ativo por enzimas.

Os resultados de mortalidade observados para as lagartas do 3º ínstar com o Azamax® e a emulsão na CL<sub>50</sub> foram também bastante semelhantes àqueles obtidos para lagartas de 1º ínstar no mesmo ambiente semicampo, mostrando sempre uma maior efetividade da ação no inverno do que no verão. Sendo que no inverno e no 3º ínstar a CL<sub>50</sub> da emulsão apresentou média de mortalidade de 50% até o 10º dia, diferentemente do 1º ínstar que foi até o 12º dia; porém, no verão, essa percentagem de mortalidade só foi apresentada até o 4º dia, diminuindo gradativamente até o final do experimento da mesma forma que o produto comercial Azamax® (Figuras 5 e 6).

**Figura 6 - A.** Efeito residual da emulsão do extrato etanólico de *Annona squamosa* sobre lagartas do 3º ínstar de *Plutella xylostella* na época do inverno no ambiente semicampo; **B.** Efeito residual da emulsão do extrato etanólico das sementes da *Annona squamosa* sobre lagartas do 3º ínstar de *Plutella xylostella* na época do verão no ambiente semicampo.



Fonte: Autor, 2018

Silva et al. (2013) avaliaram a eficácia dos extratos vegetais de *Annona coriacea*, *Annona crassiflora* e do produto comercial a base de óleo de nim sobre o percevejo *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae) em lavoura de soja, foram efetuadas amostragens da população da praga antes das aplicações e 2, 5 e 7 dias após. Com isso, as avaliações indicam que ao sétimo dia após as aplicações os extratos vegetais e o produto comercial à base de nim obtiveram eficiência no controle da praga, diferindo das

testemunhas, se assemelhando com os resultados do presente trabalho, pois a concentração letal da emulsão do extrato etanólico da semente da pinha do para controlar a lagarta do 3º ínstar da traça-das-crucíferas nas duas épocas (inverno e verão) e no mesmo ambiente (semicampo) obtiveram eficiência no controle da praga, matando acima de 90% 10DAP na época inverno (Figura 6A), e 100% 4DAP na época verão (Figura 6B).

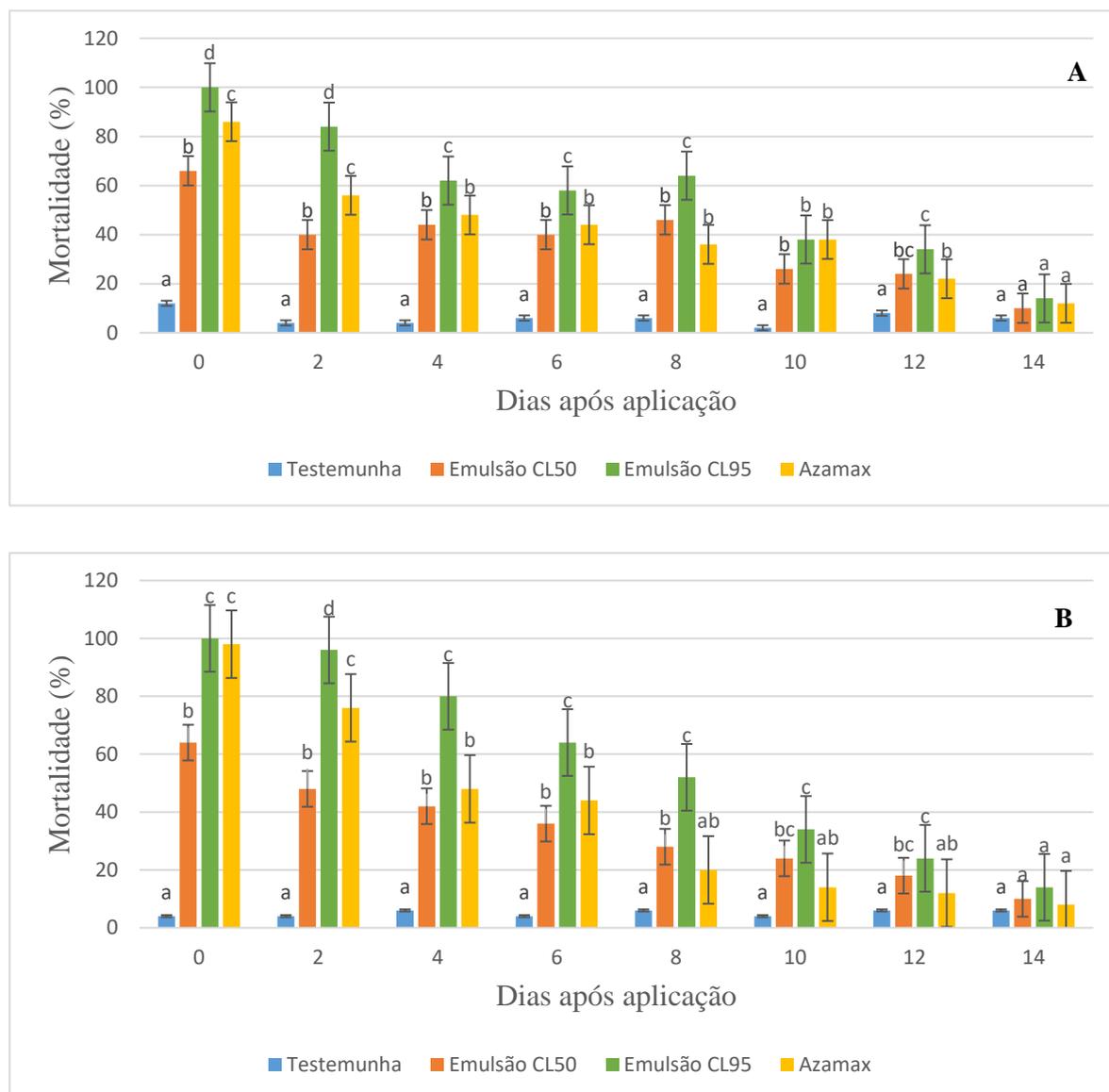
#### **4.4.3. Efeito residual no campo das CL<sub>50</sub> e CL<sub>95</sub> emulsão do extrato etanólico da pinha *Annona squamosa*, sobre o 1º ínstar larval da *Plutella xylostella* nas de épocas inverno e verão**

No experimento realizado no campo, os resultados apresentaram interação significativa entre tratamentos e dias após pulverização (DAP) ( $F= 3,139$ ;  $p < 0,001$ ) pelo teste de Tukey.

As mesmas concentrações usadas no experimento feito no telado para o efeito residual da emulsão do extrato etanólico da pinha, foram testadas no ambiente aberto em campo nas mesmas épocas para as lagartas de *Plutella xylostella* (Figuras 7A e 7B). Ficou evidenciado que em campo a emulsão testada na CL<sub>95</sub> se mostrou altamente letal para as lagartas do 1º ínstar até 2DAP durante o inverno e até 4DAP no verão. A partir disso a mortalidade começou a cair significativamente até o final do experimento (Figuras 7A e 7B), mostrando que os fatores abióticos, tais como, isolamento, vento, chuva, poeira e umidade relativa do ar presentes no ambiente aberto podem diminuir o efeito residual de todos os tratamentos. Vale a pena enfatizar que a emulsão formulada sempre se mostrou mais eficiente do que o produto comercial Azamax® na mortalidade larval de *P. xylostella*.

As chuvas ocorridas no período de inverno parecem ter influenciado na persistência da emulsão uma vez que esta foi maior em ambiente protegido (telado coberto) do que a céu. Foram registrados precipitações médias diárias (11,90 mm) mais frequentes nos dias de avaliação no inverno do que no verão (0,27 mm), o que pode ter contribuído para uma maior persistência da emulsão sobre a planta no período mais seco.

**Figura 7** - A. Efeito residual da emulsão do extrato etanólico de *Annona squamosa* sobre lagartas do 1º ínstar de *Plutella xylostella* na época do inverno no ambiente de campo; B. Efeito residual da emulsão do extrato etanólico das sementes da *Annona squamosa* sobre lagartas do 1º ínstar de *Plutella xylostella* na época do verão no ambiente de campo.



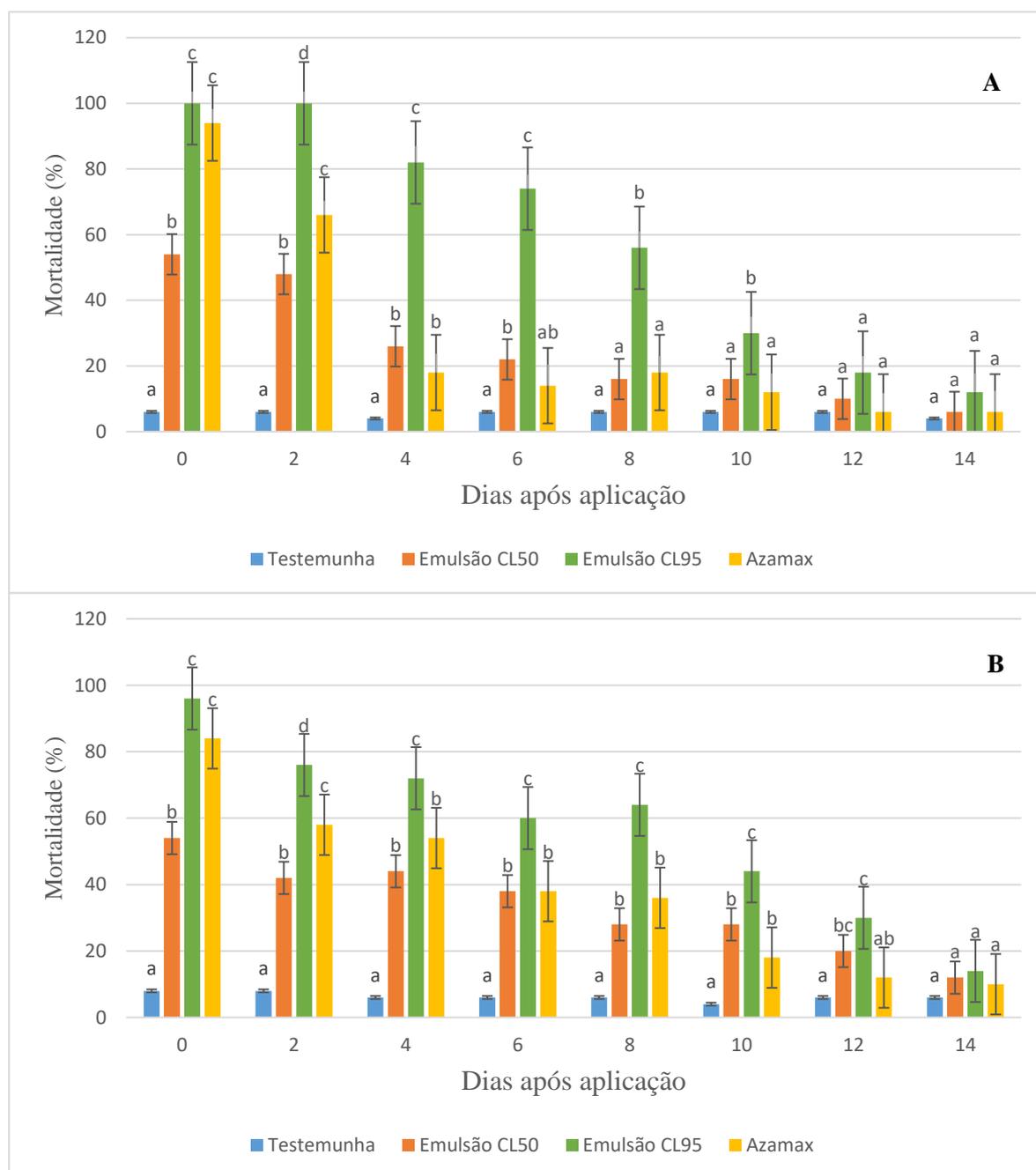
Fonte: Autor, 2018.

#### 4.4.4. Efeito residual no campo das CL<sub>50</sub> e CL<sub>95</sub> da emulsão do extrato etanólico da pinha *Annona squamosa*, sobre o 3º ínstar larval da *Plutella xylostella* nas épocas inverno e verão.

O experimento realizado a campo para lagartas do 3º ínstar das também apresentou interação significativas entre tratamentos e dias após pulverização (DAP) ( $F= 6,935$ ;  $p < 0,001$ ) pelo teste de Tukey.

Nas condições de campo a emulsão do extrato de sementes de pinha na CL95 para lagartas no 3º ínstar se mostrou superior ao produto comercial Azamax®, com médias elevadas de mortalidade até o 8º dia, variando de 96 a 64%, no inverno, e de 100 a 56%, no verão (Figuras 8A e 8B).

**Figura 8** - A. Efeito residual da emulsão do extrato etanólico de *Annona squamosa* sobre lagartas do 3º ínstar de *Plutella xylostella* na época do inverno no ambiente de campo; B. Efeito residual da emulsão do extrato etanólico das sementes da *Annona squamosa* sobre lagartas do 3º ínstar de *Plutella xylostella* na época do verão no ambiente de campo.



Fonte: Autor, 2018.

O Azamax®, embora tenha apresentado efetividade na aplicação matando 84% (inverno) e 94% (verão) das lagartas nos primeiros dias após a aplicação, perdeu ação rapidamente nos dias subsequentes à aplicação do produto sobre as plantas, ou seja, foi mais sensível em campo aberto do que a emulsão de sementes na CL95.

Uma das barreiras técnicas para a consolidação do uso de extratos botânicos é justamente uma menor persistência após a aplicação, menor durabilidade à conservação, assim, demandando à necessidade da elaboração de formulações que permitam o aumento da sua viabilidade para uso nos sistemas agrícolas para a proteção das culturas (BAJPAI; GIRI, 2002). Todavia, a emulsão formulada nesse trabalho se mostrou bastante promissora, pois conseguiu apresentar uma efetividade na mortalidade e um efeito residual superior ao único produto formulado e registrado à base de nim que se encontra no mercado brasileiro.

Tounou et al. (2011) avaliaram o efeito de diferentes tratamentos do extrato de *Ricinus communis* (20%) e emulsão de óleo (5 e 10%) e a persistência (0, 3 e 5 dias após a aplicação) sobre a mortalidade das lagartas de *P. xylostella* que foram testados no laboratório e no campo. Eles concluíram que os produtos de *R. communis* tinham um forte efeito larvicida, com maior persistência a céu aberto no verão do que no inverno, conforme observou-se no trabalho aqui apresentado.

Existem poucos trabalhos com extratos de plantas que abordam a questão do efeito residual, uma vez que a persistência no meio ambiente com condições tão variadas não é conhecida. O uso de extratos de plantas tem muitas vantagens em relação ao impacto ambiental e ao cuidado dos alimentos, pois não deixa resíduo em alimentos e é facilmente degradado pelo meio ambiente. De acordo com Schmutterer (1990), os produtos naturais possuem limitada persistência no ambiente porque estão sujeitos a um grande número de variáveis bióticas e abióticas que contribuem para a sua degradação da superfície das plantas, tais como: temperatura, umidade, raios ultravioletas, pH, chuva, entre outros.

## 5. CONCLUSÕES

- Das quatro tentativas de obtenção de uma formulação emulsionável de extrato etanólico da semente de *A. squamosa*, uma se mostrou eficiente com a mistura de Span e Tween;
- A emulsão do extrato etanólico da semente de *A. squamosa* deve ser armazenada em condições abaixo de 30°C e sob abrigo da luz do sol para evitar a quebra da sua estabilidade e eficiência;
- As concentrações letais para as lagartas de 1º e 3º ínstar de *P. xylostella*, são diferentes, sendo necessário concentrações mais elevadas para as lagartas maiores;
- O extrato emulsionado de sementes de *A. squamosa* na CL<sub>95</sub> foi mais eficiente do que o Azamax® no controle de lagartas de *P.a xylostella* no 1º e 3º instares, tanto na estufa quanto no campo e no período de inverno e de verão;
- A emulsão na CL<sub>95</sub> em ambiente protegido é eficiente na mortalidade de lagartas por até 14 dias após a aplicação;
- A aplicação da emulsão na CL<sub>95</sub> em campo reduz a sua persistência, mas não a sua eficiência inicial sendo sempre melhor do que o produto comercial Azamax.

## 6. REFERÊNCIAS

- ACUÑA-CASTRO, W.; DE LA CRUZ-CHACÓN, I.; GONZÁLEZ-ESQUINCA A.R. Actividad insecticida de *Annona diversifolia* frente a *Atta mexicana* In: **Anonáceas: plantas antiguas, estúdios recientes**. Gonzales-Esquinca, A.R. et al. Colección Jaguar, p.259-273. 2011.
- ALMEIDA, M. F.; BARROS, R.; GODIM JUNIOR, M.C.G.; FREITAS, S. Biologia de *Ceraeochrysa claveri* Navás (Neuroptera: Chrysopidae) predando *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). **Ciência Rural**. v. 39, n. 2, p. 313-318, 2009.
- ÁLVAREZ, O., NESKE, A., POPICH, S.; BARDÓN, A. Toxic effects of annonaceous acetogenins from *Annona cherimolia* (Magnoliales: Annonaceae) on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal Pesticide Science**, Tokyo, v. 80, n.1, p.63-67, 2007a.
- ARAÚJO JUNIOR, J.M.; MARQUES, E.J.; OLIVEIRA, J.V. Potencial de Isolados de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* e do Óleo de Nim no Controle do Pulgão *Lipaphis erysimi* (Kalt.) (Hemiptera: Aphididae). **Neotropical Entomology**, v. 38, n. 4, p. 520-525, 2009.
- ATTIA, S.; GRISSA, K.L.; LOGNAY, G., BITUM, E.; HANCE, G. A review of the major biological approaches to control the worldwide pest *Tetranychus urticae* (acari: Tetranychidae) with special reference to natural pesticides. **Journal of Pest Science**, v. 86, p. 361-386, 2013.
- AULTON, M.E. Delineamento de formas farmacêuticas. 2.ed. **Porto Alegre**: Artmed; 2005. 677p.
- AZEVEDO, AM; ANDRADE JÚNIOR, VC; SOUSA JÚNIOR, AS; SANTOS, AA; CRUZ, CD; PEREIRA, SL; OLIVEIRA, AJM. Eficiência da estimação da área foliar de couve por meio de redes neurais artificiais. **Horticultura Brasileira**, v.35, p. 14-19, 2017.
- BAJPAI, A.K. & GIRI, A. Swelling dynamics of a macromolecular hydrophilic network and evaluation of its potential for controlled release of agrochemicals. **Reactive and Functional Polymer**, v. 53, pp. 125-141. 2002

BIOCONTROLE. **Plutella xylostella**. 2013. Disponível em: <http://www.biocontrole.com.br/?area=pragas&id=16>. Acesso em: 04 de dezembro de 2017.

BLESSING, L. D. T.; ÁLVAREZ-COLOM, O.; POPICH, S.; NESKE, A.; BARDÓN, A. Antifeedant and toxic effects of acetogenins from *Annona montana* on *Spodoptera frugiperda*. **Journal of Pest Science**, Heidelberg, v. 83, n.3, p.307-310, 2010.

BOIÇA JÚNIOR, A.L.; MEDEIROS, C.A.M.; TORRES, A.L.; CHAGAS FILHO, N.R. Efeito de extratos aquosos de plantas no desenvolvimento de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) em couve. **Arquivos do Instituto Biológico**. São Paulo, v.72, n.1, p.45-50, 2005.

BONDAR, G. Séria praga de repolho na Bahia e *Plutella maculipennis* Curtis. *Chac. Quint.* 38, 602, 1928.

BRAGA SOBRINHO, R. Potencial de exploração de anonáceas no Nordeste do Brasil. EMBRAPA Agroindústria Tropical. **XII Agroflores – 17ª Semana Internacional da Fruticultura, Floricultura e Agroindústria**. 2010.

BRITO, C.H.; LOPES, E.B.; ALBUQUERQUE, I.C.; BATISTA, J.L. Avaliação de produtos alternativos e pesticidas no controle da cochonilha-do-carmim na Paraíba. **Ver. Biol. Ciênc. Terra 8**: p. 1-8, 2008.

CAPINERA, J. L. **Encyclopedia of entomology**. 2nd ed. Dordrecht: Springer, 2008. v.1-4, 4346 p.

CAPINERA, J.L. Diamondback Moth, *Plutella xylostella* (Linnaeus) (Insecta: Lepidoptera: Plutellidae). **IFAS Extension**. EENY-119, p. 1-4. 2015.

CASTELO BRANCO M; GATEHOUSE A. Survey of insecticide susceptibility in *Plutella xylostella* (L) (Lepidoptera: Yponomeutidae) in the Federal District, Brazil. **Neotropical Entomology** v30, p.327-332,2001.

CASTELO BRANCO, M.; FRANÇA, F.H.; MEDEIROS, M.A.; LEAL, J.G.T. Uso de inseticidas para o controle da traça-do-tomateiro e traça-das-crucíferas: um estudo de caso. **Horticultura Brasileira**. Brasília, v.19, n. 1, p.60-63, 2001.

CHEN, A.C. & MAYER, R.T. 1985. Insecticides: effects on the cuticle. **Insect Phys. Bioch. Pharm.**, 12: 57-77.

CORRÊA, A.G.; VIEIRA, P.C. **Produtos naturais no controle de insetos** – (Série de textos da escola de verão em química, vol. III) 2 ed., EdUFSCar, 150p. 2007.

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

D'AMATO, C.; TORRES, J. P. M.; MALM, O. DDT (dicloro difenil tricloroetano): toxicidade e contaminação ambiental - uma revisão. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 6a, p. 995-1002, 2002.

DE BORTOLI, S. A.; VACARI, A. M.; DE MAGALHÃES, G. O.; DIBELLI, W. DE BORTOLI, C. P.; ALVES; M. P. Subdosagens DE *Bacillus thuringiensis* em *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) e *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Revista Caatinga**. Mossoró, v25, n. 2, p.50-57, 2012.

DIAS DGS; SOARES CMS; MONNERAT RG. Avaliação de larvicidas de origem microbiana no controle de traça-das-crucíferas em couve-flor no Distrito Federal. **Horticultura Brasileira**, v. 22. p. 387-390, 2004.

DILL, E. M.; PEREIRA, M. J. B; COSTA, M. S. Efeito residual do extrato de *Annona coriacea* sobre *Aedes aegypti*. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 79, p. 595-601-601, 2012.

DOS SANTOS, L. **Efeito dos extratos orgânicos de *Annona muricata* L. e *Annona squamosa* L. (Annonaceae) sobre o pulgão *Aphis gossypii* (Glover, 1887) (Hemíptera: Aphididae) e seletividade ao predador *Eriopsis conexa* (Germar, 1824) (Coleóptera: Coccinellidae)**. Dissertação de mestrado. 2016. 57p.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BAPTISTA, G.C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIM, J.D.; MARCHINI, L.C.; LOPES, J.R.S; OMOTO, C. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920p.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo Manual de Olericultura: Agrotecnologia Moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 2ª edição, revista e ampliada. Viçosa: UFV, 2003.

FILGUEIRA, F.A.R. **Novo manual de olericultura: Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 3. ed. Viçosa. MG: Universidade Federal de Viçosa, 421p. 2008.

FRANÇA, F.H.; CORDEIRO, C.M.T.; GIORDANO, L.B.; RESENDE, A.M. Controle da traça-das-crucíferas em repolho, 1984. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 3, n. 2, p. 47-53. 1985.

FURLONG, M. J.; WRIGHT, D. J.; DOSDALL, L. M. Diamondback moth ecology and management: problems, progress, and prospects. **Annual Reviews Entomology**, v.58, p. 517-541, 2013.

GENNARO, A. R. **Remington: A Ciência e a Prática da Farmácia**. 20 ed., p. 759-763, 2004.

GOMES, I. B. et al. Bioactivity of microencapsulated soursop seeds extract on *Plutella xylostella*. **Ciência Rural**, v.46, n.5, p.771-775, 2016.

GONÇALVES-GERVASIO, R.C.R. **Efeito de extratos de *Trichilia pallida* Swartz e *Azadirachta indica* A. Juss (Meliceae) sobre *Tuta absoluta* (Meyrick) e seu parasitoide *Trichogramma pretiosum* Riley**. 2003. 88p. Tese (doutorado), Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

HERNANDEZ, C. R.; VENDRAMIN, J. D. Toxicidad de extractos acuosos de Meliaceae em *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Manejo Integrado de Plagas**, San José, v. 42, p. 14- 22, 1996.

HEUSDEN, E. C. H. Flowers of Annonaceae: morphology, classification and evolution. **Blumea** Netherland, v. 7, p.1-218, 1992. Supplement

HINCAPIÉ-LLANOS, C. A., ARANGO, D. L.; GIRALDO, M. C. Actividad insecticida de extractos de semilla de *Annona muricata* (Anonaceae) sobre *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Revista Colombiana del Entomología**, Bogotá, v. 34, n.1, p.76-82. 2008.

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Censo agropecuário**. Rio de Janeiro, 2009. 777p.

- INOUE, M.H.; SANTANA, D.C.; PEREIRA, M.J.B.; POSSAMAI, A.C.S.; AZEVEDO, V.H. Aqueous extracts of *Xylopi*a *aromatica* AND *Annona crassiflora* on marandu grass (*Brachiaria brizantha*) and soybean. **Scientia Agraria**, Curitiba, v.10, n.3, p.245-250, 2009.
- IMENES, S.D.L.; CAMPOS, T.B.; RODRIGUES NETTO S.M.; BERGMANN, E.C. Avaliação da atratividade de feromônio sexual sintético da traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidóptera: Plutellidae), em cultivo orgânico de repolho. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 69, n. 1, p. 81-84, 2002.
- JESUS, F.G.; PAIVA, L.A.; GONÇALVES, V.C.; MARQUES, M.A.; BOIÇA JNIOR, A.L. Efeito de plantas inseticidas no comportamento e biologia de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). **Arquivo do Instituto de Biologia**, v.78, n.2, p. 279-285, 2011.
- KAMARAJ, C.; BAGAVAN, A.; ELANGO, G.; ZAHIR, A. A.; RAJAKUMAR, G.; MARIMUTHU, S.; SANTHOSHKUMAR. T.; RAHUMAN, A. A. Larvicidal activity of medicinal plant extracts against *Anopheles subpictus* & *Culex tritaeniorhynchus*. **Indian Journal of Medical Research**, New Delhi, v. 134, p.101-106. 2011.
- KAWAZU, K.; ALCANTARA, J.; KOBAYASHI, A. Isolation and structure of neoannonin, a novel insecticidal compound from the seeds of *Annona squamosa*. **Agricultural and Biological Chemistry**, Tokyo, v. 53, p.2719-2722, 1989.
- KHALEQUZZEMAN, M.; SULTANA, S. Insecticidal activity of *Annona squamosa* L seed extracts against the red flour beetle, *Tribolium castaneum* (Herbst.). **Journal of Bio-Science**, Bangladesh, v. 14, p.107-112, 2006.
- KRINSKI, D.; MASSAROLI, A.; MACHADO, M. Potencial inseticida de plantas da família Annonaceae. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 36, edição especial, e., p. 224-243, 2014.
- LAETAMIA, J. A.; ISMAN, M. B. Toxicity and antifeedant activity of crude seed extracts of *Annona squamosa* (Annonaceae) against lepidopteran pests and natural enemies. **International Journal of Tropical Insect Science**, v. 24, p. 150-158, 2004a.
- LEMOS, E.E.P. A produção de anonáceas no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 36, edição especial, e., p. 77-85, 2014.

LEMOS, E.E.P. Panaroma de las anonas cultivadas em Brasil: saramuyo, guanábana y atemoya. In: **Anonáceas: plantas antigas, estudos recientes**. Gonzales-Esquinca, A.R. et al. Colección Jaguar, p.21-34. 2011.

LIU, Y; TABASHNIK, B.E. & PUSZTAI-CAREY, M. Field-evolved resistance to *Bacillus thuringiensis* toxin cryIC in diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 89, n. 4, p. 798-804, 1996.

LOGES, V. **Danos causados pela traça das crucíferas *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) em cultivares de repolho *Brassica oleracea* var. *capitata* (L.) e efeito sobre populações da praga e do parasitóide *Oomyzus sokolowskii* (Kurdjumov, 1912), em condições de campo**. 1996. 98 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Entomologia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 1996.

LORENZ OA; MAYNARD DN. **Handbook for vegetable growers**. 3a ed. New York: John Wiley-Interscience Publication. 456p, 1988.

LOURENÇÃO, A. L.; RECO, P. C.; BRAGA, N. R.; VALLE, G. E. DO; PINHEIRO, J. B. Produtividade de genótipos de soja sob infestação da lagarta-da-soja e de percevejos. **Neotropical Entomology**, New York, v. 39, p. 275-281, 2010.

MACIEL, A. G. S., RODRIGUES, J. S., TRINDADE, R. C. P., SILVA, E. S., SANT'ANA, A. E. G., & LEMOS, E. E. P. Effect of *Annona muricata* L. (1753) (Annonaceae) seeds extracts on *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) (Acari: Tetranychidae). **African Journal of Agricultural Research**, 10(48), 4370-4375. 2015.

MAIRESSE, L. A. S. **Avaliação da bioatividade de extratos de espécies vegetais, enquanto excipientes de aleloquímicos**. 2005. 329 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2005.

MAU, R.F.L.; KESSING, J.L.M. ***Plutella xylostella* (Linnaeus)**. 2007. Disponível em: <http://www.extento.hawaii.edu/kbase/crop/Type/plutella.htm>. Acesso em 27 de novembro de 2017.

MEDEIROS, C.A.M. **Efeito inseticida de extratos vegetais aquosos sobre *Ascisa monuste orseis* (Latreille) em couve (*Brassica oleracea* L. var. *acephala* DC.)**. Dissertação

(Mestrado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista 2004. 83p.

MEIRA, A. I.; PRATISSOLI, D.; DE SOUZA, L. P.; STURM, G. Seleção de espécies de *Trichogramma* sp. em ovos da traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella*. **Revista Caatinga**. Mossoró, v. 24, n. 2, p.1-8, 2011

MIKOLAJCZAK, K. L.; McLAUGHLIN, J.L.; RUPPRECHT, J. K. Control of pests with annonaceous acetogenins. **Washington: Secretary of Agriculture, 1988**. Patent n. 4, p.721.727, jan. 26, 1988.

MORATÓ, M. G. Plagas y enfermedad en el cultivo de coliflor. Descripción e control. **Vida Rural**, v. 8, n. 107, p. 1-5, 2000.

NAVARRO-SILVA, M. A.; MARQUES, F. A.; DUQUE, J. E. L. Review of semiochemicals that mediate the oviposition of mosquitoes: a possible sustainable tool for the control and monitoring of Culicidae. **Revista Brasileira de Entomologia**, Curitiba, v. 53, n.1, p.1-6, 2009.

NOVO MCSS; PRELA-PANTANO A; TRANI PE; BLAT SF. Desenvolvimento e produção de genótipos de couve manteiga. **Horticultura Brasileira**, v. 28, p. 321-325, 2010.

PAES, M.M.; VEGA, M.R.G.; CORTES, D.; KANASHIRO, M.M. Potencial Citotóxico das Acetogeninas do Gênero *Annona*. **Revista Virtual de Química**. v. 8, no. 3, p.945-980. 2016.

PARRA-HENAO, G.; GARCÍA, C.; COTES, J. Actividad insecticida de extractos vegetales sobre *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) vector del dengue en Colombia. **Revista CES Medicina**, Medellín, v. 21, p.47-54, 2007a.

PEREIRA, LJB; GARCIA-ROJAS, EE. Emulsões múltiplas: formação e aplicação em microencapsulamento de componentes bioativos. **Ciênc Rural**, v.45, n.1, jan, 2015.

POELKING, A. **Diamondback moth in the Philippines and its control with *Diadegma semiclausaum***, p. 271-278. In N.S Talekar (ed.), *Diamondback moth and other crucifer pests*. Proceedings of the Second Internacional Workshop. AVRDC, Taiwan, 603p. 1992.

POGUE G. M. A world revision of the genus *Spodoptera* Guenée (Lepidoptera: Noctuidae). **Memoirs of the American Entomological Society**, Philadelphia, v. 43, n.28, p.117-124, 2002.

PRISTA, L. N.; ALVES, A. C.; MORGADO, R.; LOBO, J. S. **Tecnologia Farmacêutica**. 6 ed., vol. 1, p.597-669, 2003.

RABELO, J.S.; BLEICHER, E. Controle de pulgão-preto em feijão-caupi com o uso de sementes de Annonaceae e a bioatividade das sementes em diferentes épocas de armazenamento. **Agropecuária Científica no Semiárido** – ACSA . ISSN 1808- 6845. v. 10, n. 4, p. 05-08, out-dez. 2014.

RAMALHO, D.G. **Capacidade reprodutiva e preferência da traça-das-crucíferas, *Plutella Xylostella* (L., 1758) (Lepidóptera: Plutellidae), para diferentes brassicáceas ao longo de gerações**. Dissertação de mestrado. 2014. 60p.

RAO, N. S.; SHARMA, K.; SHARMA, R. K. Antifeedant and growth inhibitory effects of seed extracts of custard apple, *Annona squamosa* against Khapra Beetle, *Trogoderma granarium*. **Journal of Agricultural Technology**, Bangkok, v. 1, n.1, p.43-54, 2005.

ROJANO, B.; GAVIRIA, C.; SÁEZ, J.; YEPES, F.; MUÑOZ, F. Y.; OSSA, F. Berenjenol aislado de *Oxandra cf. xylopioides* (Annonaceae) como insecticida. **Vitae**, Medellín, v. 14, p.95-100, 2007.

SAITO, M. L.; POTT, A.; FERRAZ, J. M. G.; NASCIMENTO, R. dos.S. Avaliação de plantas com atividade deterrente alimentar em *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) e *Anticarsia gemmatalis* Hubner. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 14, p.1-10, 2004.

SAUQUET, H.; DOYLE, J. A.; SCHARASCHKIN, T.; BORSCH, T.; HILU, K.; CHATROU, L. W.; LE THOMAS, A. Phylogenetic analysis of Magnoliales and Myristicaceae based on multiple data sets: implications for character evolution. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 142, p.125–186, 2003.

SAXENA, R. C.; HARSHAN, V.; SAXENA, A.; SUKUMARAN, P.; SHARMA, M. C.; KUMAR, M. L. Larvicidal and chemosterilant activity of *Annona squamosa* alkaloids against

Anopheles stephensi. **Journal of the American Mosquito Control Association**, Mount Laurel, v. 9, n.1, p.84-87, 1993.

SHUMUTTERER, H. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree *Azadirachta indica*. **Annual Reviews of entomology**. v. 35, p 271- 297, 1990.

SEFFRIN, R. C.; IKKEI, S.; YASMIN A.; MURRAY B. I. Effects of crude seed extracts of *Annona atemoya* and *Annona squamosa* L. against the cabbage looper, *Trichoplusia ni* in the laboratory and greenhouse. **Crop Protection**, Amsterdam, v. 29, n.1, p. 20-24, 2010.

SENHORINI, G.A. **Micropartículas Poliméricas de PHBVe Emulsões Contendo Extrato Vegetal de *Carapa guianensis***: Desenvolvimento, Caracterização e Aplicação. Dissertação de Mestrado. 2010. 89p.

SIKAR, D.C.; SUSHIMITA, K.; ROSHNEE, D.; VISHVA, M. **Evaluation os effectiveness of eco-friendly bio-pesticide extracted from custard apple seeds on white mealy bugs**. International Journal of Technical Research and Applications e-ISSN: 2320-8163, www.ijtra.com. Volume 4, Issue 2 (March-April, 2016), PP. 17-22.

SILVA, C.G.V. **Bioatividade de extratos etanólicos de *Croton* sobre *Plutella xylostella* (L.) e ação fumigante e composição química de óleos essenciais de *Croton grevioides* (Baill.) sobre *Zabrotes subfasciatus* (Boheman)**. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-graduação em entomologia Agrícola. UFRPE. 2007. 45f.

SILVA V.P., PEREIRA M.J.B., TURCHEN L.M. (2013) Efeito de extratos vegetais no controle de *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae) em lavoura de soja na região sudoeste do Estado de Mato Grosso. **Rev Agric** 88:185–190.

TAIZ, L; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**, 3ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719p.

TOUNOU, A.K., MAWUSSI, G., AMADOU, S., AGBOKA, K., GUMEDZOE, Y.M.D. & SANDA, K. (2011). Bio-insecticidal effects to plant extracts and oil emulsions of *Ricinus communis* L. (Malpighiales: Euphorbiaceae) on the diamondback, *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) under laboratory and semifield conditions. **Journal of Applied Bioscience** 43: 2899-2914.

TRINDADE, R.C.P.; FERREIRA, E.S.; GOMES, I.B.; SILVA, L.; SANT'ANA, A.E.G.; BROGLIO, S.M.F.; SILVA, M.S.. Extratos aquosos de inhame (*Dioscorea rotundata* Poirr.) e de mastruz (*Chenopodium ambrosioides* L.) no desenvolvimento da lagartado-cartucho-do-milho *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.17, p.291-296, 2015. DOI: 10.1590/1983-084X/13\_082.

TRINDADE, R.C.P.; LUNA, J.D.; LIMA, M.R.F.; SILVA, P.P.; SANTANA, A.E.G. Larvicidal activity and seasonal variation of *Annona muricata* (Anonaceae) extract on *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). **Revista Colombiana de Entomologia**. v.37, p.223-227. 2011.

ULMER, B. C.; GILLOTT, C.; WOODS, D.; ERLANDSON, M. Diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.), feeding and oviposition preferences on glossy and waxy *Brassica rapa* (L.) lines. **Crop Protection**, v. 21, n. 4, p. 327-331, 2002.

VACARI, A. M.; DE BORTOLI, S. A.; TORRES, J. B. Relationship between predation by *Podisus nigrispinus* and developmental phase and density of its prey, *Plutella xylostella*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdam, v. 145, n. 1, p. 30-37, 2012.

VENDRAMIM, J.D; CASTIGLIONI, E. **Aleloquímicos, resistência de plantas e plantas inseticidas**. In: GUEDES, J.C; COSTA, I.D; CASTIGLIONI, E. (Org). Bases e técnicas do manejo de insetos. Plallotti, Santa Maria, Brasil p 234, 2000.

VIEGAS-JUNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, São Paulo, v. 26, n.3, p.390-400, 2003.

VICKERS, R.A., FURLONG, M.J.; WHITE, A.; PELL, J.K. Initiation of fungal epizootics in diamondback moth populations within a large field cage: proof of concept of autodissemination. **Entomology Experimentallis Applicata**, v. 111, p. 7-17, 2004.

VOIGT, R. **Tratado de Tecnología Farmacéutica**. Zaragoza (Espanha): Acribia, p. 367-375, 1982.

WATERHOUSE, D.F. *Plutella xylostella*(Linneus) Lepidoptera: Yponomeutidae, diamondback cabbage moth. In: WATERHOUSE, D.F. NORRIS, K.R. (Ed). **Biological control**: pacific prospect. Melbourne: Inkata Press, 1987. c. 22, p. 177-191.

WATSON, L., AND DALLWITZ, M.J. **The families of flowering plants**: descriptions, illustrations, identification, and information retrieval. 1992. Version: 24th October 2017. [delta-intkey.com/angio](http://delta-intkey.com/angio). Acessado em 04 de dezembro de 2017.

WU, Q.J.; ZHANG, S.; YAO, J.; XU, B.; WANG, S.; ZHANG, Y. Management of diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) by mating disruption. **Insect Science**, v. 19, p. 643-648, 2012.

YANG, Z. DENG, M. HOU, Y. Insecticidal Ingredient of Ginkgo biloba L. **Sarcotesta**. V.26, p. 68-71. 2008

ZANIN, S. M. W.; MIGUEL, M. D.; CHIMELLI, M.; DALMAZ, A. C. Parâmetros físicos no estudo da estabilidade das emulsões. **Visão Acadêmica**, vol. 2, n. 2. p. 47-58, jul. /dez. 2001.

ZANIN, S. M. W.; MIGUEL, M. D.; CHIMELLI, M. C.; OLIVEIRA, A. B. Determinação do equilíbrio hidrófilo-lipófilo (EHL) de óleos de origem vegetal. **Visão Acadêmica**, vol. 3, n.1. p. 13-18, jan. /jun. 2002.