

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PROTEÇÃO DE PLANTAS

EMERSON DOS SANTOS FERREIRA

ESTUDO FITOQUÍMICO E ATIVIDADE INSETICIDA DE *Annona crassiflora* Mart.,
Annona mucosa (Jacq.) Baill. (Annonaceae), *Dioscorea rotundata* Poir (Dioscoreaceae) E
Chenopodium ambrosioides L. (Chenopodiaceae) em *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758)
(Lepidoptera: Plutellidae)

RIO LARGO
2016

EMERSON DOS SANTOS FERREIRA

ESTUDO FITOQUÍMICO E ATIVIDADE INSETICIDA DE *Annona crassiflora* Mart.,
Annona mucosa (Jacq.) Baill. (Annonaceae), *Dioscorea rotundata* Poir. (Dioscoreaceae) E
Chenopodium ambrosioides L. (Chenopodiaceae) em *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758)
(Lepidoptera: Plutellidae)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Proteção de Plantas da Universidade Federal
de Alagoas, como requisito parcial para obtenção
do título de Doutor em Proteção de Plantas.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Roseane Cristina Predes
Trindade.

Coorientador: Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart
Sant'ana

RIO LARGO
2016

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico
Bibliotecário Responsável: Valter dos Santos Andrade

F383 e Ferreira, Emerson dos Santos.
Estudo fitoquímico e atividade inseticida de *Annona crassiflora* Mart.,
Annona mucosa (Jacq.) Baill. (Annonaceae), *Dioscorea rotundata* Poir
(Dioscoreaceae) E *Chenopodium ambrosioides* L. (chenopodiaceae) em
Plutella xylostella (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) / Emerson dos
Santos Ferreira. – 2016.

130 f. : il.

Orientadora: Roseane Cristina Predes Trindade.

Coorientador: Antônio Euzébio Goulart Sant'ana.

Tese (Doutorado em Proteção de Plantas) – Universidade Federal de
Alagoas. Centro de Ciências Agrárias. Rio Largo, 2015.

Inclui bibliografia.

1. *Annonaceae*. 2. Traça-das-crucíferas. 3. Pragas - Controle. 4. Controle
Alternativo. 5. Inseticida. I. Título.

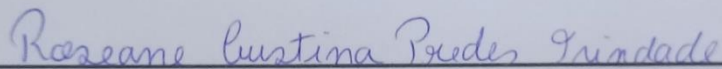
CDU: 632.951

Folha de aprovação

EMERSON DOS SANTOS FERREIRA

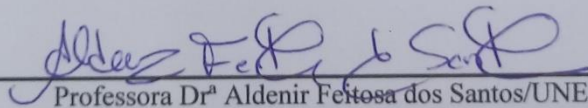
ESTUDO FITOQUÍMICO E ATIVIDADE INSETICIDA DE *Annona crassiflora* Mart., *Annona mucosa* (Jacq.) Baill. (Annonaceae), *Dioscorea rotundata* Poir. (Dioscoreaceae) E *Chenopodium ambrosioides* L. (Chenopodiaceae) em *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) / Tese em Proteção de Plantas, da Universidade Federal de Alagoas.

Tese submetida ao corpo docente do Programa de Pós-graduação em Proteção de Plantas da Universidade Federal de Alagoas e aprovada em (26) de (02) de (2016).

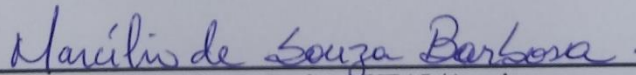


Professora Dr^a. Roseane Cristina Predes Trindade/ CECA/UFAL
(Orientadora)

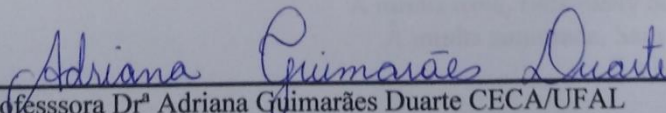
Banca examinadora:



Professora Dr^a Aldenir Feltosa dos Santos/UNEAL
(Examinador Externo)



Dr^a Marcílio de Souza Barbosa UFAL/Arapiraca
(Examinador Externo)



Professora Dr^a Adriana Guimarães Duarte CECA/UFAL
(Examinador Interno)

Dedico aos meus pais, Cleonildo Soares Ferreira e Elisa dos Santos Ferreira
À minha irmã, Emanuely dos Santos Ferreira
À minha namorada, Sara Padilha de Farias
E a toda minha família

Por todo amor, carinho, credibilidade, compreensão e incentivo
para vencer todos os obstáculos.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela saúde, paz e por iluminar o meu caminho ao longo desta jornada;

A Universidade Federal de Alagoas (UFAL) e ao Centro de Ciências Agrárias (CECA) pela oportunidade de estudar na instituição;

A Prof^ª. Dr^ª. Roseane Cristina Predes Trindade, pelos ensinamentos, oportunidade e apoio para realização deste trabalho;

Aos membros do Laboratório de Pesquisa em Recursos Naturais (LPqRN) da UFAL, em especial ao coorientador Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart Sant'ana, pela confiança, ensinamentos e importante colaboração na condução e desenvolvimento deste trabalho, a prof^ª Dr^ª. Aldenir Feitosa dos Santos e ao senhor Audir;

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Alagoas e a Coordenação de aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (FAPEAL/CAPES) pela concessão da bolsa de estudos para realização do curso;

Ao corpo docente do Programa de Pós-graduação em Proteção de Plantas-CECA, pelos ensinamentos;

Aos funcionários da Secretaria da pós-graduação, Geraldo de Lima, Marcos Antonio Lopes pela ótima convivência;

Aos amigos Djison Silvestre dos Santos, Ronycleide da Silva Sousa Bernardo, Anilde da Graça Sousa Maciel e Mirandy dos Santos Dias pela amizade e grande contribuição dada ao trabalho;

Aos que fazem parte do Laboratório de Controle Alternativo de Pragas, em especial aos amigos Ronycleide da Silva Sousa Bernardo, Anilde da Graça Sousa Maciel, Mirandy dos Santos Dias, Rui Fernando da Silva, Anderson Rodrigues Sabino e Djison Silvestre dos Santos por todo apoio, amizade e contribuição;

Aos colegas e amigos da pós-graduação, Ellen Carine Neves Valente, Márcia Daniela dos Santos, Simone da Silva Costa, Mércia Elias Duarte, Jakeline Maria dos Santos, Djison Silvestre dos Santos, Andrezo Adenilton Santos e Josemildo Verçosa de Araújo pelo excelente convívio durante a realização do curso;

RESUMO GERAL

Propondo encontrar métodos alternativos de manejo para a traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae), objetivou-se com o presente trabalho estimar as concentrações letais (CL₅₀ e CL₉₉), realizar o estudo fitoquímico biomonitorado do extrato metanólico e etanólico das sementes de *Annona crassiflora* Mart. e *Annona mucosa* Jacq. (Annonaceae). E dos extratos aquosos da parte aérea de *Dioscorea rotundata* Poir. (Dioscoreaceae) e *Chenopodium ambrosioides* L. (Chenopodiaceae) efetuar a prospecção dos constituintes químicos e avaliar a atividade inseticida em *P. xylostella*. A estimativa da (CL₅₀ e CL₉₉) foi obtida através da fórmula de Finney (1971) realizada por análise Probit. Para *A. crassiflora* foi de 0,0009 g.mL⁻¹ e 0,029 g.mL⁻¹, e para *A. mucosa* foi de 0,00004 g.mL⁻¹ e 0,0005 g.mL⁻¹, respectivamente, mostrando-se ativas positivamente à lagartas de *P. xylostella*. As partições oriundas das extrações com solvente clorofórmio (CHCl₃) foram as mais ativas nos testes de letalidade, com mortalidade registrada para *A. crassiflora* de 84% e 89% para *A. mucosa*. Depois de avaliada a atividade, as partições foram submetidas a fracionamento em coluna de sílica e as frações de *A. crassiflora* e *A. mucosa* obtidas da mistura de solventes hexano e clorofórmio (HEX:CHCl₃) (1:1) foram consideradas mais ativas e causaram 84 e 74% de mortalidade, respectivamente. No bioensaio de mortalidade realizado com as frações oriundas do método de Cromatografia Líquida de Média Pressão (MPLC) na concentração 0,00184% (CL₂₅), resultou em frações com mistura de solventes hexano e acetato, na qual a fração (HEX:ACOET) (3:7) da espécie *A. crassiflora* registrou mortalidade de 55% e a fração (HEX:CHCl₃) (1:1) 39-45 de *A. mucosa* com 72%. A purificação das frações de *A. mucosa* oriundas de (MPLC), aliado a análise em RMN, resultou na identificação da acetogenina squamocina. A estimativa das (CL₅₀) dos extratos aquosos de *D. rotundata* e *C. ambrosioides* foram 0,0014 g.mL⁻¹ e 0,006 g.mL⁻¹ e dos extratos etanólicos foram 0,0352 g.mL⁻¹ e 0,4 g.mL⁻¹. Quanto a avaliação de atividade inseticida, ambas espécies e tipos de extratos foram considerados ativos positivamente a lagartas de *P. xylostella*; no entanto, os extratos aquosos foram mais ativos. Na análise da prospecção dos constituintes químicos de *D. rotundata* e *C. ambrosioides*, constataram-se a presença de taninos flobafênicos, flavonas, flavonóis, xantonas, catequinas e saponinas, nas duas espécies. Desta forma, derivados das sementes de *A. crassiflora* e *A. mucosa* mostram ser um componente eficaz no controle de *P. xylostella*, assim como, os extratos aquosos de *D. rotundata* e *C. ambrosioides*, podem ser considerados eficientes bioinseticidas para controlar o inseto-praga estudado.

Palavras-chave: Annonaceae. Controle alternativo. Traça-das-crucíferas.

GENERAL ABSTRACT

Proposing to find alternative management methods for diamondback moth *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae), this study aimed to estimate the lethal concentrations (CL₅₀ and CL₉₉), perform bioguided phytochemical study of the methanol and ethanol extract of *Annona crassiflora* Mart. and *Annona mucosa* Jacq. (Annonaceae) seeds and aqueous extracts of the aerial parts of *Dioscorea rotundata* Poir. (Dioscoreaceae) and *Chenopodium ambrosioides* L. (Chenopodiaceae) and evaluate the chemical constituents and the insecticidal activity in *P. xylostella*. Estimation of (CL₅₀ and CL₉₉) was obtained from the formula of Finney (1971) carried out through Probit analysis. For *A. crassiflora*, concentrations were 0.0009 g.mL⁻¹ and 0.029 g.mL⁻¹, and for *A. mucosa*, 0.00004 g.mL⁻¹ and 0.0005 g.mL⁻¹, respectively, being positively active to *P. xylostella* caterpillars. Partitions originated from extraction with chloroform (CHCl₃) were the most active in lethality tests with mortality recorded for *A. crassiflora* of 84% and 89% for *A. mucosa*. After assessing activity, partitions were submitted to fractionation on a silica column and *A. crassiflora* and *A. mucosa* fractions obtained from the mixture of hexane and chloroform solvents (HEX: CHCl₃) (1:1) were found to be more active and cause 84 and 74% mortality, respectively. The mortality bioassay conducted with fractions derived from Medium-Pressure Liquid Chromatography (MPLC) at concentration 0.00184% (CL₂₅) resulted in fractions with a mixture of hexane and acetate, in which the (HEX:ACOET) (3:7) fraction of *A. crassiflora* species reported mortality of 55% and the (HEX:CHCl₃) (1:1) 39-45 fraction of *A. mucosa* of 72%. Purification of *A. mucosa* fractions derived from (MPLC), combined with analysis in NMR resulted in the identification of squamocin acetogenin. The estimate of (LC₅₀) of *D. rotundata* and *C. ambrosioides* aqueous extracts were 0.0014 g.mL⁻¹ and 0.006 g.mL⁻¹ and ethanol extracts were 0.0352 g.mL⁻¹ and 0.4 g.mL⁻¹. Regarding the insecticidal activity evaluation, both species and types of extracts were considered positively active to *P. xylostella* caterpillars; however, aqueous extracts were more active. In the analysis of the chemical constituents of *D. rotundata* and *C. ambrosioides*, the presence of tannins, flavones, flavonols, xanthenes, catechins and saponins was observed in both species. Thus, derivatives of *A. crassiflora* and *A. mucosa* seeds have shown to be effective in controlling *P. xylostella*, and *D. rotundata* and *C. ambrosioides* aqueous extracts can be considered efficient biopesticides to control the insect-pest under study.

Key Words: Soursop. Alternative Control. Diamondback moth.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Ciclo biológico de <i>Plutella xylostella</i>	16
Figura 2 – Purificação do extrato metanólico de <i>Annona crassiflora</i>	73
Figura 3 – Purificação do extrato etanólico de <i>Annona mucosa</i>	74
Figura 4- Mortalidade de lagartas neonatas de <i>Plutella xylostella</i> , submetidas a concentração 0.09% das frações de <i>Annona crassiflora</i> provenientes de partição líquido-líquido	78
Figura 5 - Mortalidade de lagartas neonatas de <i>Plutella xylostella</i> , submetidas a concentração 0.004% das frações de <i>Annona mucosa</i> provenientes de partição líquido-líquido.....	79
Figura 6- Mortalidade de lagartas neonatas de <i>Plutella xylostella</i> , submetidas a concentração 0.09% das frações de <i>Annona crassiflora</i> obtidas em coluna de Sílica.....	81
Figura 7 - Mortalidade de lagartas neonatas de <i>Plutella xylostella</i> , submetidas a concentração 0.004% das frações de <i>Annona mucosa</i> obtidas em coluna de Sílica.....	82
Figura 8 - Mortalidade de lagartas neonatas de <i>Plutella xylostella</i> , submetidas a concentração 0.03% das frações de <i>Annona crassiflora</i> oriundas de MPLC.....	82
Figura 9 – Mortalidade de lagartas neonatas de <i>Plutella xylostella</i> , submetidas a concentração 0.00184% das frações de <i>Annona mucosa</i> oriundas de MPLC.....	83
Figura 10 - Mortalidade de lagartas de <i>Plutella xylostella</i> , submetidas a concentração 0.01362% das frações purificadas de <i>Annona crassiflora</i>	87
Figura 11 - Estrutura química da ACG squamocina isolada de sementes de <i>Annona mucosa</i>	87

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Fracionamento da fração A CHCl ₃ :ACOET (1:1) de <i>Annona crassiflora</i> (MeOH).....	70
Tabela 2 - Fracionamento da fração B CHCl ₃ :ACOET (1:1) de <i>Annona crassiflora</i> (MeOH).....	70
Tabela 3 - Concentrações letais (CL ₅₀ e CL ₉₉) de extratos das sementes de <i>Annona mucosa</i> (etanólico) e <i>Annona crassiflora</i> (metanólico) sobre lagartas de <i>P. xylostella</i>	75
Tabela 4 – Reunião das frações de <i>Annona crassiflora</i> em coluna de sílica.....	85
Tabela 5 – Reunião de frações de <i>Annona crassiflora</i> em coluna de sílica.....	86
Tabela 6 - Reunião de frações de <i>Annona mucosa</i> em coluna de Sephadex.....	86
Tabela 7 - Teste para antocianina e antocianidina, flavonas, flavonóis xantonas, chalconas e auronas, flavonóis em prospecção de constituintes químicos de extratos aquosos.....	103
Tabela 8 - Teste para leucoantonocianidinas, catequinas e flavanonas em prospecção de constituintes químicos de extratos aquosos.....	103
Tabela 9 - Concentração letal (CL ₅₀) dos extratos aquosos da parte aérea de <i>Dioscorea rotundata</i> e <i>Chenopodium ambrosioides</i> sobre lagartas de <i>Plutella xylostella</i>	106
Tabela 10 - Concentração letal (CL ₅₀) dos extratos etanólicos da parte aérea de <i>Dioscorea rotundata</i> e <i>Chenopodium ambrosioides</i> sobre lagartas de <i>Plutella xylostella</i>	109
Tabela 11 - Resultado da prospecção fitoquímica realizada dos extratos aquosos e etanólicos das espécies <i>Dioscorea rotundata</i> e <i>Chenopodium ambrosioides</i>	110
Tabela 12 - Médias ± DP da viabilidade e duração das fases larval e pupal, peso de pupas e longevidade de adulto de <i>Plutella xylostella</i> submetidas a extratos aquosos liofilizados.....	113
Tabela 13 - Médias ± DP da razão sexual de adultos de <i>Plutella xylostella</i> submetidas a extratos aquosos liofilizados.....	115
Tabela 14 - Médias ± DP da preferência de oviposição de <i>Plutella xylostella</i> submetidas a extratos aquosos liofilizados.....	116

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACG(s)	Acetogenina(s)
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
DMSO	Dimetilsulfóxido
CLAEC	Cromatografia de Alta Eficiência
MPLC	Cromatografia Líquida de Média Pressão
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
CL ₅₀	É a concentração de um agente num meio que causa mortalidade em cinquenta por cento (50%) da população exposta
CEAGESP	Companhia de Entrepostos e Armazéns Gerais de São Paulo
THF	Tetrahidrofurano
¹ HNMR	Hidrogen-1 Nuclear Magnetic Resonance
IOBC/WPRS	International Organisation for Biological and Integrated Control / West Palaearctic Regional Section
MeOH	Metanol
EtOH	Etanol
HEX	Hexano
CHCl ₃	Clorofórmio
ACOET	Acetato
i.a.	Ingrediente ativo
CH ₂	Metileno
MIP	Manejo Integrado de Pragas
IMA	Instituto do Meio Ambiente do estado de Alagoas
HCL	Ácido clorídrico
EAL	Extrato aquoso liofilizado

pH Potencial hidrogeniônico

NaOH Hidróxido de Sódio

Na₂SO₄ Sulfato de Sódio

NH₄OH Hidróxido de Amônio

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	13
2.1 Aspectos gerais sobre <i>Plutella xylostella</i>	15
2.2 Táticas de controle de <i>Plutella xylostella</i>	17
2.2.1 Controle Biológico	17
2.2.2 Controle cultural	20
2.2.3 Controle por Resistência de plantas	20
2.2.4 Controle Químico	21
2.3 Aspectos gerais sobre o uso de plantas inseticidas	22
2.4 Utilização de plantas com potencial no controle de <i>Plutella xylostella</i>	24
2.5 Annonaceae	26
2.5.1 Considerações gerais sobre a família Annonaceae	26
2.5.2 <i>Annona mucosa</i> (Jacq.) Baill.	28
2.5.3 <i>Annona crassiflora</i> Mart.	29
2.5.4 Compostos ativos presentes em anonáceas	31
2.6 <i>Dioscorea rotundata</i> Poir.	32
2.7 <i>Chenopodium ambrosioides</i> L.	35
REFERÊNCIAS	38
TOXICIDADE E ESTUDO FITOQUÍMICO BIOMONITORADO DE <i>Annona crassiflora</i> Mart. E <i>Annona mucosa</i> Jacq. (Annonaceae) SOBRE <i>Plutella xylostella</i> (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae)	62
RESUMO	62
ABSTRACT	63
1 Introdução	64
2.1 Condução da cultura	65
2.2 Obtenção e criação de <i>Plutella xylostella</i>	66
2.3 Obtenção das sementes e preparo de extratos de <i>Annona crassiflora</i> e <i>Annona mucosa</i>	66
2.4 Toxicidade de extratos brutos de <i>Annona crassiflora</i> e <i>Annona mucosa</i> sobre <i>Plutella xylostella</i>	67
2.5 Estudo fitoquímico de extratos de <i>Annona crassiflora</i> e <i>Annona mucosa</i>	68
2.5.1 Partição líquido-líquido	68
2.5.2 Fracionamento da partição bioativa através de cromatografia em coluna de sílica dos extratos de <i>Annona crassiflora</i> e <i>Annona mucosa</i>	69
2.5.3 Cromatografia em Camada Delgada (CCD)	69
2.5.4 Cromatografia Líquida de Média Pressão (MPLC)	69

2.5.5 Cromatografia de alta eficiência (CLAE)	71
2.5.6 Cromatografia em coluna de Sílica das amostras de <i>Annona crassiflora</i>	71
2.5.7 Cromatografia em coluna de Sephadex das frações de <i>Annona crassiflora</i> e <i>Annona mucosa</i>	72
2.6 Identificação de ACG de <i>Annona mucosa</i>	72
3 Resultados e Discussão	75
3.1 Determinação das concentrações letais de extratos brutos de <i>Annona crassiflora</i> e <i>Annona mucosa</i> sobre <i>Plutella xylostella</i>	75
3.2 Avaliação da atividade inseticida das partições líquido-líquido de <i>Annona crassiflora</i> e <i>Annona mucosa</i> sobre <i>Plutella xylostella</i>	77
3.3 Avaliação da atividade inseticida frente a <i>Plutella xylostella</i> de frações oriundas da coluna de sílica	81
3.4 Avaliação da atividade inseticida frente a <i>Plutella xylostella</i> de frações oriundas de MPLC	82
3.5 Análises das corridas cromatográficas (CLAE)	85
3.6 Cromatografia em coluna de Sílica de frações de <i>Annona crassiflora</i>	85
3.7 Cromatografia em coluna de Sephadex de frações de <i>Annona crassiflora</i> e <i>Annona mucosa</i>	86
3.8 Avaliação da atividade inseticida de frações sobre <i>Plutella xylostella</i>	86
3.9 Identificação de ACG de <i>Annona mucosa</i>	87
4 CONCLUSÃO	89
5 REFERÊNCIAS	90
TOXICIDADE E ESTUDO FITOQUÍMICO POR PROSPECÇÃO E AÇÃO INSETICIDA DE <i>Dioscorea rotundata</i> Poir. E <i>Chenopodium ambrosioides</i> L. SOBRE <i>Plutella xylostella</i> (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae)	96
RESUMO	96
ABSTRACT	97
1 Introdução	98
2 Material e Métodos	100
2.1 Obtenção de plantas e preparo dos extratos aquosos e etanólicos	100
2.2 Estimativa da concentração letal (CL ₅₀) de extratos aquosos e etanólicos de <i>Dioscorea rotundata</i> e <i>Chenopodium ambrosioides</i> sobre <i>Plutella xylostella</i>	101
2.3 Prospecção dos constituintes químicos de <i>Dioscorea rotundata</i> e <i>Chenopodium ambrosioides</i>	102
2.3.1 Operações preliminares	102
2.3.2 Testes para fenóis, taninos pirogálicos e taninos flobafênicos	102

2.3.3	Teste para antocianina e antocianidina, flavonas, flavonois e xantonas, chalconas e auronas	102
2.3.4	Teste para leucoantonocianidinas, catequinas e flavanonas	103
2.3.5	Testes para flavonois, flavanonas, flavanonóis e xantonas	103
2.3.6	Teste para esteroides e triterpenoides.....	104
2.3.7	Teste para saponinas	104
2.3.8	Teste para alcaloides	104
2.4	Parâmetros biológicos de <i>Plutella xylostella</i>	105
2.4.1	Toxicidade de extratos aquosos liofilizados para <i>Plutella xylostella</i>	105
2.4.2	Teste de preferência para oviposição de <i>Plutella xylostella</i>	105
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	106
3.1	Estimativa da concentração letal (CL ₅₀) de extratos aquosos e etanólicos de <i>Dioscorea rotundata</i> e <i>Chenopodium ambrosioides</i> sobre <i>Plutella xylostella</i>	106
3.2	Prospecção dos constituintes químicos de <i>Dioscorea rotundata</i> e <i>Chenopodium ambrosioides</i>	110
3.3	Efeito de extratos aquosos liofilizados no desenvolvimento de <i>Plutella xylostella</i>	113
4	Conclusão	118
5	REFERÊNCIAS	119

1 INTRODUÇÃO GERAL

O ressurgimento das pesquisas com plantas inseticidas ocorreu em razão da necessidade de novas estratégias biorracionais mais adequadas ambientalmente. O emprego de derivados botânicos (bioinseticidas) tem ganhado importância, em especial, nos sistemas orgânicos, cujo mercado vem se expandindo rapidamente nos últimos anos em todo o mundo (MENDES et al., 2011). Entretanto, para o emprego de tal tecnologia ainda há necessidade de elucidar aspectos relacionados à composição química, toxicidade a organismos não alvos, estabelecimento de formulações mais adequadas e um controle de qualidade mais adequado (MENDES, 2012).

O Brasil abriga uma grande diversidade de plantas de várias famílias botânicas, dentre elas encontram-se as Annonaceae, Dioscoreaceae, Chenopodiaceae, entre outras, que contêm compostos secundários bioativos com propriedades inseticidas (TAPONDJOU et al., 2002; ESTRELA et al., 2006; TRINDADE et al., 2015).

Entre as principais famílias botânicas com sucesso como fonte de substâncias inseticidas, tem-se a Annonaceae, que se destaca pela grande diversidade apresentando 2.500 espécies e 135 gêneros descritos no mundo (CHATROU; RAINER; MAAS, 2004), tendo já sido registrados no Brasil, 29 gêneros, compreendendo cerca de 388 espécies (LORENZI; MATOS, 2002).

Estudos fitoquímicos têm identificado uma série de produtos naturais em espécies de Annonaceae, com destaque para as acetogeninas (ACGs), até então isoladas de um pequeno número de gêneros (*Annona*, *Asimina*, *Xilopia*, *Goniothalamus* e *Uvaria*). As ACGs possuem estruturas diversificadas e poderosas propriedades citotóxicas, com aplicações potenciais na geração de fármacos (compostos antitumorais) e de inseticidas agrícolas (COLOM et al., 2007; 2008; BLESSING et al., 2010).

Pesquisas apontam que a família Annonaceae, possui em sua composição as ACGs, como sendo potencialmente promissores no controle de vários grupos de insetos (NASCIMENTO et al., 2003), tais como *Annona crassiflora* (Mart., 1841) (LIMA, 2005), *Annona coriacea* (Mart., 1841) (MORAES, 2009), *Annona muricata* (Linnaeus, 1753) (PARRA-HENAO et al., 2007), entre outros. Todavia, para extrair tais metabólitos com ação inseticida, é necessário considerar a natureza química dos compostos e, principalmente, a composição do solvente utilizado (CHIRINOS et al., 2007).

Banaag, Honda e Shono (1997) relataram que frações de alcaloides extraídos de *Dioscorea hispida* (Dioscoreaceae) possuem atividade anti-alimentar e efeitos tóxicos sobre a

traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae), além de afetar o seu desenvolvimento.

Espécies da família Chenopodiaceae possuem atividade moluscicida (HMAMOUCI; LAHLOU; AGOUMI, 2000), fungicida (VARGAS et al., 1997; DELESPAUL et al., 2000), nematocida (INSUNZA; ABALLAY; MACAYA, 2001), larvicida (MORSY TOSSON et al., 1998), alelopática (OSORNIO; KUMAMOTO; WASSER, 1996) e antibacteriana (LALL; MEYER, 1999). No Brasil, a espécie *Chenopodium ambrosioides* L. popularmente conhecida como erva-de-Santa Maria, mastruz ou mastruço, e seu uso é largamente difundido em todo o país (DI STASI et al., 1989).

O mastruz, dependendo da dose, contém toxidez que é causada por um monoterpene constituinte de seu óleo essencial denominado ascaridol, cujo teor no óleo nunca é inferior a 60% (SOUSA et al., 1991). No entanto, o estudo de *C. ambrosioides* justifica-se: por suas propriedades moluscicida, fungicida, alelopática e larvicida e por contribuir para um melhor conhecimento desta espécie botânica.

O inseto-praga *P. xylostella*, é considerada, na Ásia e nas Américas, uma praga que causa sérios danos aos cultivos de espécies da família Brassicaceae, sendo a principal praga de *Brassica oleracea* var. capitata (CASTELO BRANCO; MEDEIROS, 2001; MACHADO et al., 2007). Segundo Silva et al. (1993), pode atacar também *Brassica oleracea* var. botrytis e *Brassica oleracea* var. acephala. Pode ocorrer em todo o território brasileiro e, dependendo da região e época de plantio, reduz consideravelmente o valor comercial da cultura (MELO; CASTELO BRANCO; MADEIRA, 1994).

Furlong; Wright; Dossall (2013) relataram que os danos causados por *P. xylostella* gera um prejuízo mundial de 4 a 5 bilhões de dólares anualmente, desses, 1,4 bilhão é referente ao seu controle. No Brasil, quanto em outros países produtores, esta praga pode ocasionar reduções de até 60% na produção (IMENES et al., 2002).

Dessa forma, o objetivo neste estudo, foi de realizar um estudo fitoquímico biomonitorado do extrato metanólico e etanólico das sementes de *Annona crassiflora*, *Annona mucosa* e prospecção fitoquímica dos extratos aquosos e etanólicos da parte aérea de *Dioscorea rotundata* e *Chenopodium ambrosioides*, para isolar e caracterizar o composto ativo majoritário responsável pela bioatividade.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos gerais sobre *Plutella xylostella*

O fator mais importante na redução da produção de brássicas em plantios comerciais nas diferentes regiões de cultivo do mundo tem sido a ocorrência de *P. xylostella* (DICKSON et al., 1990). No Brasil, a presença desta praga tem sido constatada durante todo o ano (CASTELO BRANCO; GUIMARÃES, 1990; BARROS et al., 1993; MELO; CASTELO BRANCO; MADEIRA, 1994; LOGES, 1996) e, por isso, ela tem se tornado alvo de pesquisas em todas as regiões produtoras, visando a obtenção de medidas de controle tecnicamente mais adequadas, economicamente satisfatórias e ecologicamente corretas.

Dependendo da região geográfica e da época do ano (MAHAR et al., 2004), a infestação da *P. xylostella* em brássicas pode ser, tanto nas folhas novas quanto nas velhas, ocasionando uma redução no crescimento da planta, na área foliar e, conseqüentemente, interferindo no produto final (CZERPAK et al., 2005). A *P. xylostella* causa danos severos nas plantas, principalmente em épocas secas do ano, podendo ocasionar perdas totais nos campos de produção (CASTELO BRANCO; FRANÇA; VILLAS BOAS, 1997). O dano é agravado porque ela ataca principalmente a folhagem, exatamente o que se retira para consumo e comercialização.

Segundo Medeiros (2004), as maiores injúrias causadas pelo inseto ocorrem na fase larval, em que após a eclosão, a pequena lagarta penetra nas folhas. Nesta fase o controle é dificultado, porque está protegida alimentando-se do parênquima foliar. Após esse período a lagarta passa a consumir toda a superfície foliar, caules e brotos vegetativos de repolhos, couve e ainda das inflorescências, no caso de couve-flor e couve-brócolis.

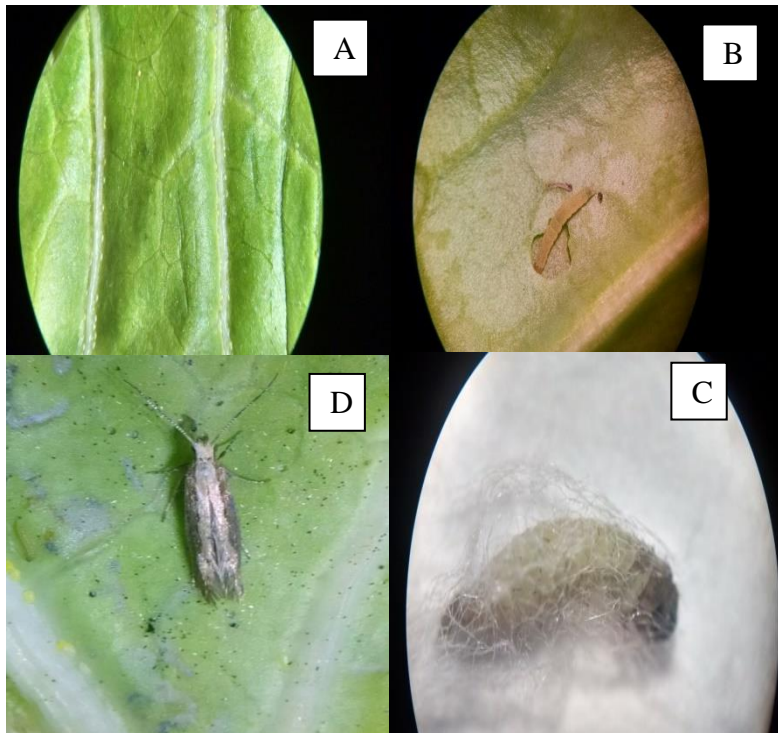
Considerando-se que o custo de manejo da traça-das-crucíferas foi mais de US\$ 1 bilhão em 1993 (TALEKAR; SHELTON, 1993) e levando em conta a inflação, o valor atual líquido deste montante é de US\$2,65 bilhões dólares assumindo uma inflação de 5% ao ano, sendo US\$1,81 bilhão de dólares a taxa de 3% que é aplicado. Além disso, tem ocorrido um aumento drástico em Brássicas (aumento de 39%) das áreas de produção desde 1993 e agora há uma área de cultivo adicional de 12 milhões ha/ano disponível para a praga que requer proteção (FAOSTAT, 2012).

Os ovos de *P. xylostella* medem menos de 1 mm de comprimento e de forma oval. As fêmeas podem pôr em média 160 ovos num ciclo de 15 a 35 dias dispostos preferencialmente na região ventral e próximo à nervura central das folhas (MEDEIROS et al., 2003).

Após três a quatro dias as lagartas eclodem e penetram nas folhas passando a se

alimentar da epiderme inferior, medem cerca de 2 mm (MEDEIROS et al., 2003) e constroem galerias nesta fase (Figura 1A). Em um período de 3 a 4 dias, as lagartas abandonam as minas passando a alimentar de todo o tecido foliar, podendo consumir inicialmente a superfície inferior características do dano da praga (Figura 1B). Podem também alimentar-se de pontos de crescimento das folhas impedindo sua formação (RUEDA; SHELTON, 1995).

Figura 1 - Ciclo biológico de *Plutella xylostella*. (A) fase embrionária, (B) fase larval, (C) fase pupal e (D) fase adulta.



Fonte: (Autor, 2016)

Monnerat (1995) relatou que inicialmente as lagartas de *P. xylostella* são esbranquiçadas com a cabeça preta, adquirindo posteriormente uma coloração verde-clara com a cabeça parda. Quando perturbadas, tendem a se contorcerem e recuarem, podendo até cair das folhas; quando isso ocorre, elas ficam penduradas por um fio de seda, por onde retornam à folha. Além disso, a traça-das-crucíferas possui quatro ínstares, sendo que no último há a formação da pupa.

Para transformarem-se em pupas, tecem um casulo, facilmente reconhecido por ser constituído de pequenas malhas, na face inferior das folhas (Figura 1C). Após cerca de quatro dias de pupa, emerge um microlepidóptero (Figura 1D). Nos machos a margem posterior das asas anteriores é branca e na posição de repouso forma uma mancha alongada característica sobre a face dorsal (MONNERAT, 1995; BIOCONTROLE, 2013). Os adultos são mais ativos

no final da tarde e início da noite, é nesse momento quando ocorre o acasalamento e a postura, cuja fêmea pode colocar os ovos por até quatro dias (HARCOURT, 1954).

A duração do ciclo biológico da traça-das-crucíferas varia conforme a temperatura (MEDEIROS et al., 2003), tendo sua duração reduzida em temperaturas mais elevadas. Em 15,56 °C, o ciclo de ovo a adulto é de 27 dias, podendo ocorrer até 14 gerações por ano. Em 26,67 °C, o ciclo de vida é de 11 dias, chegando a ocorrer até 30 gerações do inseto por ano. Castelo Branco; França; Villas Boas (1997), estimaram o período para eclosão da lagarta entre 3 a 4 dias. Segundo Ho (1965) a duração do período larval pode variar de 6 a 30 dias, dependendo da temperatura. Medeiros et al. (2003), mostraram resultados da duração pupal entre 3 a 5 dias. Além disso, Harcourt (1967) relatou que a longevidade dos adultos chega a ser de 7 a 47 dias para as fêmeas, numa média de 16,2 dias e os machos vivem de 3 a 58 dias, numa média de 12,1 dias. A postura começa ao anoitecer do dia seguinte à emergência das mariposas adultas, atingindo o pico de oviposição cerca de duas horas mais tarde e as fêmeas colocam 160 ovos em média, podendo chegar a mais de 300 ovos. Esse número pode ser influenciado pelo fotoperíodo, temperatura, idade e alimentação da lagarta.

Na maioria das vezes, para seu controle, os agricultores utilizam intensivamente produtos químicos para minimizar os danos causados por essa praga (SARFRAZ; KEDDIE, 2005). Entretanto, os usos desses produtos, de forma indiscriminada, têm causado danos ao ecossistema devido à sua toxicidade, facilitando assim o surgimento de gerações de insetos mais resistentes e também afetando não só as pragas alvo como também espécies benéficas (VILLAS BOAS; CASTELO BRANCO; GUIMARÃES, 1990; GONÇALVES, 1997; TORRES, 2000). Esses produtos, também têm possibilitado a contaminação das culturas com resíduos tóxicos prejudicando a saúde humana e animais de pequeno e médio porte (OLIVEIRA; VENDRAMIM; HADDAD, 1999).

2.2 Táticas de controle de *Plutella xylostella*

O difícil controle desta praga é devido em grande parte à resistência genética aos inseticidas. O controle apenas biológico ou químico não é o suficiente, logo uma combinação dessas e outras táticas são necessárias (MAU; KESSING, 2007).

2.2.1 Controle Biológico

O manejo da traça-das-crucíferas pode ser feito lançando mão de diversos métodos. Dentre eles, o controle biológico oferece uma solução para o controle sustentável

(GODONOU et al., 2009). Esse método pode ser feito utilizando o predador de ovos e larvas *Ceraeochrysa claveri* (Navás, 1911) (Neuroptera: Chrysopidae) (ALMEIDA et al., 2009) ou com diversos parasitoides (CASTELO BRANCO; MEDEIROS, 2001), como o de ovos, de espécies do gênero *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae) (PEREIRA et al., 2007, PRATISSOLI et al., 2008) e o parasitoide de larvas e pupas *Oomyzus sokolowskii* (Kurdjumov, 1912) (Hymenoptera: Eulophidae), importante agente de controle natural em várias regiões produtoras (FERREIRA; BARROS; TORRES, 2003; TORRES; BARROS; TORRES, 2009) e agentes entomopatogênicos como o fungo *Beauveria bassiana* (Vuillemin, 1912) (GODONOU et al., 2009) e a nematoides entomopatogênicos dos gêneros *Steinernema* e *Heterohabditis* (Razek e Gowen, 2002).

Os parasitoides e predadores de *P. xylostella* ocorrem naturalmente e podem reduzir a população na geração subsequente, desempenhando um papel importante no controle biológico. Mais de 90 parasitoides de *P. xylostella* são conhecidos em diferentes partes do mundo, muitos dos quais ocorrem constantemente junto à praga. Altos níveis de parasitismo têm sido reportados para manter baixos os níveis da traça-das-crucíferas em muitas partes do mundo (WATERHOUSE, 1987).

No Brasil, muitos parasitoides são encontrados em campos de produção de brássicas parasitando traça-das-crucíferas, sendo comuns *Diadegma* sp., *Apanteles* sp. e *Cotesia plutellae* (Kurdjumov, 1912) (Hymenoptera: Braconidae) (MONNERAT et al., 2000).

As espécies de parasitoides que possuem potencialidade para o controle de *P. xylostella* são *Diadegma semiclausum* (Hellen, 1949) (Hymenoptera: Ichneumonidae), que é parasitoide larval e pupal, *Diadromus collaris* (Gravenhorst, 1829) (Hymenoptera: Ichneumonidae), parasitoide pupal, *Cotesia vestalis* (Haliday, 1834) (Hymenoptera: Braconidae), um parasitoide larval, *O. sokolowskii*, parasitoide larval-pupal, dentre muitos outros (FURLONG; WRIGHT; DOSDALL, 2013).

Segundo Furlong, Wright e Dossdall (2013), não existem muitos trabalhos na área dos artrópodes predadores. O motivo dos mesmos serem poucos estudados está relacionado ao fato da dificuldade de se avaliar ecologicamente a contribuição desses predadores no controle de *P. xylostella*.

Brito et al. (2009) estudando o desenvolvimento ninfal de *Orius insidiosus* (Say, 1832) (Heteroptera: Anthocoridae), observaram que este não foi alterado durante os três primeiros instares, independentemente da presa utilizada. No entanto, a duração do quarto estágio ninfal foi maior para ninfas que se alimentaram de ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879)

(Lepidoptera: Pyralidae) (3,21 dias) diferindo das que predaram ovos de *P. xylostella* (2,33 dias). No quinto estágio ninfal houve uma inversão nesses resultados e as ninfas que se alimentaram de ovos de *P. xylostella* tiveram tempo de desenvolvimento maior que sob alimentação com ovos de *A. kuehniella*.

Ninfas e adultos do percevejo *Podisus nigrispinus* (Dallas, 1851) (Hemiptera: Pentatomidae) alimentaram-se de lagartas de primeiro ínstar de *P. xylostella* quando submetidas a teste de predação. No entanto, ovos da presa que também foram ofertados, não foram consumidos pelos percevejos. Taxas de duração de ínstar em *P. nigrispinus* variaram de 4,6 a 8,0 dias e a de sobrevivência diminuiu ao longo do desenvolvimento, com 53,3% sobrevivendo até o terceiro ínstar e 16,7% ao quarto ínstar. Apenas 30% das ninfas de *P. nigrispinus* sobreviveram até o quinto ínstar, mas, não atingiram a idade adulta, resultando em 100% de mortalidade das ninfas no quinto ínstar, quando ovos ou lagartas de primeiro ínstar foram a fonte alimentar (VACARI et al., 2013).

Quando analisada a sobrevivência de ninfas de *P. nigrispinus*, esta foi elevada, em torno de 96% do terceiro ao quinto ínstar e 100% para ninfas de quarto ínstar alimentadas com *P. xylostella*, independente do estágio presa. O número de lagartas consumidas foi sempre maior do que o número de pupas consumidas durante todos os estágios do predador (VACARI et al., 2013).

Estudos em laboratório com fungos entomopatogênicos mostraram que *Beauveria bassiana* (Vuillemin, 1912) é virulento a *P. xylostella*, proporcionando concentração letal (CL₅₀) para o isolado ESALQ-447 de $8,6 \times 10^6$ conídios.mL⁻¹ (SILVA et al., 2003). Em teste de campo, *B. bassiana* controlou a traça-das-crucíferas, proporcionando menor número de lagartas vivas por planta e maior peso médio das cabeças de repolho de aproximadamente três vezes (GODONOU et al., 2009).

Em outro estudo, lagartas da traça-das-crucíferas foram expostas a folhas de couve mergulhadas em suspensão de conídios (10^8 conídios.mL⁻¹) de oito isolados dos fungos *B. bassiana* e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok por um minuto. Foi observada mortalidade variando de 20 a 94%, sendo os isolados Bba5653 de *B. bassiana* e Ma182 de *M. anisopliae* os que causaram maior mortalidade larval, 94 e 90%, respectivamente, sendo a maior mortalidade confirmada observada para o isolado Bba5653 (31%) (GODONOU et al., 2009).

Foi constatado sinergismo de *B. bassiana* com óleo de mamona nas formas de pulverização sobre folha ($F_{4, 25} = 11,40$; $P < 0,0001$) e sobre folha com lagartas ($F_{4, 25} = 23,38$;

$P < 0,0001$). Na pulverização sobre folha e sobre folha com lagartas, a mistura do isolado ESALQ-447 com o óleo de mamona foi estatisticamente superior quanto à mortalidade de lagartas que os dois tratamentos pulverizados isoladamente, sendo o mesmo resultado observado para o Boveril[®] PM, ficando caracterizado o sinergismo sobre a traça-das-crucíferas (RONDELLI, 2010).

Com nematoides entomopatogênicos, Razek e Gowen (2002) observaram que a combinação de nematoides dos gêneros *Steinernema* e *Heterohabditis* com extrato de plantas de nim pode ser favorável para o controle de *P. xylostella*.

2.2.2 Controle cultural

Uma das grandes dificuldades para o controle das traça-das-crucíferas se deve, sobretudo ao fato de geralmente as áreas de cultivo ser pequenas e cultivadas o ano todo com plantas de diferentes idades. Isso permite a multiplicação da praga nos locais de cultivo. Assim sendo, plantios sucessivos de brássicas devem ser evitados, a fim de não prover hospedeiros para a praga continuamente (CASTELO BRANCO; FRANÇA; VILLAS BOAS, 1997).

Durante os períodos de chuvas e alta umidade, quando existem gotículas de água, mais da metade das três primeiras fases larvais morrem por afogamento (WATERHOUSE, 1987). A irrigação por aspersão efetuada durante a noite reduz o acasalamento e pode contribuir para diminuir a população da praga na área. Irrigações efetuadas durante o dia podem contribuir para a redução da população da traça-das-crucíferas através da remoção dos ovos na planta (OLIVEIRA, 2000).

Os restos culturais devem ser removidos imediatamente após a colheita das culturas para ajudar a evitar a permanência do inseto e posteriores migrações para plantas jovens em áreas adjacentes (MAU; KESSING, 2007).

2.2.3 Controle por Resistência de plantas

A resistência de plantas à *P. xylostella* tem sido avaliada com base em duas características principais: a cerosidade da superfície foliar, determinada pelo teor de alcano e o teor de sinigrina presente nas folhas (EIGENBRODE; SHELTON; DICKSON, 1990; EIGENBRODE et al., 1991; SPENCER, 1996; SPENCER; PILLAI; BERNAYS, 1999; ULMER et al., 2002; THULLER; BORTOLI; HOFFMAN-CAMPO, 2007).

Segundo Halkier; Gershenzon (2006) e Hopkins; Van Dam; Van Loon (2009), os glicosinolatos são compostos que atuam como metabólitos secundários de plantas, consistindo numa barreira química em resposta a desafios bióticos, reduzindo o dano causado por fitopatógenos, insetos-praga, invertebrados aquáticos, pássaros e alguns mamíferos. Os mecanismos de ação dos glicosinolatos não são totalmente conhecidos, porém acredita-se que sua toxicidade esteja associada à sua reação com grupos amino e sulfidrilas das proteínas (KAWAKISHI; KANEKO, 1987).

As plantas respondem à injúria provocada por insetos pelo acúmulo de altos níveis de glicosinolatos a nível sistêmico, aumentando sua resistência a ataques subsequentes (AGRAWAL et al., 2002; MEWIS et al., 2005; VAN DAM; RAAIJMAKERS; VAN DER PUTTEN, 2005).

Villas Boas et al. (2003) observaram que o controle do nível de dano de *P. xylostella* associado a linhagens de genótipo resistente de repolho reduziu o número de aplicações de inseticidas de quatro para três semanas.

2.2.4 Controle Químico

O método mais utilizado para o controle de *P. xylostella* é o químico. Muitas vezes é realizado de forma preventiva, por meio de produtos não seletivos em regime de aplicação de uma a duas vezes por semana (MAZLAN; MUMFORD 2005; GRZYWACZ et al., 2010), resultando no gasto de 1,4 bilhão de dólares anualmente para o controle ao se considerar o regime de aplicação semanal (ZALUCKI et al., 2012).

Apesar das alternativas utilizadas para minimizar as injúrias causadas por *P. xylostella*, o principal método utilizado pelos agricultores, por sua eficácia e facilidade de execução, ainda continua sendo o controle químico (FRANÇA et al., 1985; MEDEIROS; BOIÇA JÚNIOR; TORRES, 2005), que tem como consequência: o aumento da poluição ambiental, alteração nas populações de inimigos naturais, problemas na saúde do agricultor e o desenvolvimento da resistência da praga em campo (GEORGHIOU, 1983), ocasionada, principalmente, pela alta pressão de seleção dos inseticidas (OLIVEIRA, 2009).

Segundo Georghiou (1983), a resistência de insetos a inseticidas pode ser considerada um dos mais sérios problemas enfrentados na agricultura. Conforme relatou Vasquez (1995), a *P. xylostella* é o segundo artrópode mais resistente do mundo a inseticidas. Estudos de resistência a inseticidas em *P. xylostella*, revelam que esta praga já adquiriu resistência a 76 compostos químicos (WHALON, 2008).

As classes de inseticidas geralmente utilizadas pelos agricultores no controle de *P. xylostella* incluem, organoclorados, organofosforados, carbamatos, piretroides (CASTELO BRANCO; FRANÇA; VILLAS BOAS, 1997; CASTELO BRANCO, 1998; LIU; SPARKS; CHEN, 2003; FURLONG; WRIGHT; DOSDALL, 2013).

Já existem no Brasil produtos registrados para o controle dessa praga nas culturas do agrião (*Nasturtium officinale* R. Br.), alface (*Lactuca sativa* L.), alfafa (*Medicago Sativa* L.), brócolis (*Brassica oleracea* var. Italica), beterraba (*Beta vulgaris* L.), couve (*Brassica oleracea* var. Acephala), chicória (*Chicorium intybus* L.), couve-flor (*Brassica oleracea* var. Botrytis), algodão (*Gossypium hirsutum* L.), canola (*Brassica napus* L.), couve-de-bruxelas (*Brassica oleracea* var. Germmifera), couve-chinesa (*Brassica rapa* var. Pekinensis) e repolho (*Brassica oleracea* var. Capitata) (AGROFIT, 2015).

2.3 Aspectos gerais sobre o uso de plantas inseticidas

Os produtos naturais para uso direto no controle de pragas são representados principalmente por extratos aquosos e pós secos, os quais são produzidos na própria propriedade rural, a partir de espécies disponíveis localmente, contribuindo, dessa forma, para a redução da dependência tecnológica dos pequenos agricultores (MENEZES, 2005).

A percepção da opinião pública em relação ao fato dos produtos naturais serem mais seguros, quando comparados aos sintéticos, tem gerado grandes incentivos para o desenvolvimento e síntese de novos bioinseticidas. De tal forma, apesar dessa afirmação não ser amplamente elucidada em estudos científicos, o mercado permite preços especiais para produtos com certificação orgânica ou naturalmente produzidos (VILELA; DELLA LUCIA, 2001).

As plantas são ricas em substâncias bioativas, que são, frequentemente, ativas contra um número limitado de espécies. Algumas não específicas, muitas vezes são biodegradáveis e apresenta baixa ou nenhuma toxicidade a mamíferos. Assim, o estudo pode acarretar no desenvolvimento de novas classes de agentes de controle mais seguras (KIM et al., 2003).

Segundo Roel (2001), a utilização dessas plantas representa inúmeras vantagens quando comparada ao emprego de produtos sintéticos, pois, os compostos naturais são obtidos a partir de recursos renováveis, sendo rapidamente degradáveis e, ainda, são de fácil acesso e obtenção para os agricultores, o que representa um menor custo de produção. Além disso, o desenvolvimento da resistência dos insetos a essas substâncias, constituídas pela associação de vários princípios ativos, é um processo lento. Somado a isso, em contraponto aos dados

que elevam o consumo brasileiro no *ranking* dos agroquímicos sintéticos, o Brasil é também o país com a maior diversidade genética vegetal do mundo, contando com mais de 55.000 espécies catalogadas, de um total estimado entre 350.000 e 550.000 (SIMÕES et al., 2007). Desse modo, segundo Biermann (2009), é importante que sejam desenvolvidas linhas de ação voltadas para o aproveitamento de espécies vegetais pelo homem, aliada a manutenção do equilíbrio dos ecossistemas naturais.

São inúmeras as plantas possuidoras de atividade inseticida, e muitas precisam ser estudadas e introduzidas, quando possível nas propriedades agrícolas, como forma alternativa de controle de pragas (MENEZES, 2005).

Compostos derivados de espécies vegetais têm mostrado grande potencial para o uso no manejo de populações de insetos-praga, tanto por meio de preparações caseiras para uso direto na propriedade ou como modelo químico para o desenvolvimento de novos inseticidas sintéticos (VENDRAMIM; CASTIGLIONI, 2000; ISMAN, 2006). Mais de 200 mil metabólitos são atualmente conhecidos, entretanto, acredita-se que esse número represente apenas 10% da possível riqueza desses compostos existentes da natureza (DIXON; STRACK, 2003).

Apesar das vantagens declaradas, como a ação e degradação rápidas, toxicidade baixa a moderada para mamíferos, maior seletividade e baixa fitotoxicidade, os inseticidas botânicos apresentam algumas desvantagens como necessidade de utilização de composto sinergista, baixa persistência, carência de pesquisas, escassez do recurso natural, necessidade de padronização química e controle de qualidade, dificuldade de registro e custo (ISMAN, 2000; COSTA; SILVA; FIUZA, 2004; MENEZES, 2005).

Uma das principais limitações ao uso dos produtos de origem vegetal no campo, talvez seja a disponibilidade de matéria-prima, uma vez que, experimentos em laboratório são realizados com pequenas quantidades de extratos vegetais, diferentemente do que ocorre em áreas cultivadas, quando grandes quantidades de matéria-prima são necessárias (COSTA et al., 2009). Além disso, a falta de dados relacionados à fitotoxicidade, à persistência e aos efeitos sobre organismos benéficos e as dificuldades relacionadas ao isolamento de princípios ativos e a concentração em diferentes partes vegetais, também são algumas barreiras a serem rompidas e mais estudos nesta área são necessários (ISMAN, 2000; COSTA; SILVA; FIUZA, 2004; MENEZES, 2005).

Devido às pequenas quantidades disponíveis normalmente para realização de bioensaios em laboratório, os extratos provenientes de diversas espécies vegetais são testados e selecionados em doses únicas por meio de testes preliminares e triagens sobre os insetos-

modelo em diferentes estudos (MAIRESSE, 2005). De uma maneira geral, a pesquisa inicia-se com extratos brutos de plantas preparados com diversos solventes, tais como hexano, diclorometano, acetato de etila, etanol, metanol e água. Em seguida, os extratos ativos são fracionados por meio de métodos cromatográficos e as frações obtidas são testadas novamente, repetindo-se o processo até a obtenção do(s) composto(s) ativo(s) (SHAALAN et al., 2005).

Dessa forma, após a realização de tais testes, os extratos mais promissores passam a ser avaliados separadamente em diversas doses, por meio de experimentos mais “refinados” ou ainda servindo como preparativo para a elaboração de testes com compostos fracionados (MAIRESSE, 2005), para depois então, serem submetidos a uma análise do mecanismo de ação biológica, sendo essa etapa a mais complexa, pois exige a combinação de técnicas avançadas de biologia molecular, bioquímica e eletrofisiológica (CALIXTO, 2001).

Nesse contexto, a busca de novos fitoprotetores botânicos constitui-se num campo de pesquisa aberto, amplo e contínuo, pois a grande variedade de substâncias presentes na flora nacional continua sendo um enorme atrativo na área do manejo de insetos, principalmente levando-se em consideração que apenas uma pequena parcela de plantas foi investigada com tal finalidade (GRAVENA, 1992; SCHMALTZ; SANTOS; GUTERRES, 2005).

2.4 Utilização de plantas com potencial no controle de *Plutella xylostella*

O controle de pragas com a utilização de métodos de controle alternativos, especificamente com extratos vegetais, vem sendo estudado para minimizar o uso de inseticidas químicos. Tais métodos podem favorecer principalmente o pequeno agricultor, já que são de fácil utilização, não exigindo pessoal qualificado, são mais baratos, além de poderem ser produzidos na própria propriedade, facilitando a sua utilização (MAZZONETTO; VENDRAMIM, 2003).

No Brasil, tem-se avaliado a ação de extratos vegetais de diversas plantas sobre o desenvolvimento de *P. xylostella* (MEDEIROS et al., 2002a), sendo estes estudos direcionados para a determinação da ação ovicida (TORRES et al., 2002b), repelência (MEDEIROS et al., 2002b) e determinação da Concentração Letal Média (CL₅₀) (TORRES et al., 2002a), além da avaliação da ação sistêmica dos ingredientes ativos dos extratos de plantas como o nim *Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae) (ALMEIDA JÚNIOR; BOIÇA JÚNIOR; TORRES, 2002).

Ao avaliar o efeito de extrato aquoso de nim, sobre a biologia de *P. xylostella*, TORRES et al. (2006) verificaram que a CL₅₀ para lagartas de primeiro ínstar desse inseto foi de 0,06%, enquanto a dose letal desse mesmo extrato foi de 0,60% m/v.

Dequech et al. (2009) observaram que extratos aquosos a 10% p/v de folha e de ramo de *Melia azedarach* L. (Meliaceae), e do pó de *Nicotiana tabacum* L., além do bioinseticida comercial DalNeem® a 10% v/v, reduziram a oviposição de *P. xylostella* em folhas de couve e a utilização de extrato de pó-de-fumo, DalNeem® e de ramo de cinamomo controlaram eficientemente lagartas de *P. xylostella* a partir do segundo, do quinto e do sexto dia após a aplicação, respectivamente.

Sharma et al. (2012) avaliaram extratos de *Spilanthes acmella* (Linnaeus, 1767) (Asteraceae) obtidos de diferentes solventes (hexano, metanol e acetato de etila) na biologia de *P. xylostella* e concluíram que em todos os casos obtiveram resultados promissores, com a CL₅₀ de 1,5 µg.L⁻¹ para o acetato e 5µg.L⁻¹ para os demais extratos.

Extratos etanólicos do gênero *Croton* foram testados em *P. xylostella* e os que apresentaram maior toxicidade às lagartas foram os extratos de folhas de *Croton rhamnifolius* (Euphorbiaceae), pois requereu menor quantidade (14,95 µg mL⁻¹) para causar 50% de mortalidade na população, seguido dos extratos de *C. rhamnifolius* (caule), *C. jacobinensis* (Baill., 1864) (caule), *C. jacobinensis* (folha), *C. sellowii* (Baill., 1864) (folha), *C. sellowii* (caule) com valores de CL₅₀ de 42,4; 116,21; 183,85; 801,36; 1252,00µg mL⁻¹, respectivamente (SILVA, 2007).

Segundo Bandeira (2009) extratos vegetais de *Muntingia calabura* L. (Muntingiaceae), *Piper marginatum* Jacq. (Piperaceae), *Citrus reticulata* x *Citrus sinensis* e *Citrus reticulata* Blanco (Rutaceae) e *Melaleuca leucadendra* L. (Myrtaceae) foram testados em *P. xylostella* e se apresentaram tóxicos às lagartas. A toxicidade observada variou de acordo com a matriz vegetal e o solvente utilizado. As lagartas de *P. xylostella* foram mais sensíveis aos extratos etanólicos das flores de *M. calabura*, que promoveu 99,57% de mortalidade, seguido por extratos etanólico dos frutos (89,53%) e extrato hexânico dos frutos (87,09%).

De acordo com Boiça Júnior et al. (2005), a mortalidade larval de *P. xylostella* foi afetada pelos extratos aquosos das espécies vegetais na concentração de 10% p/v sendo os extratos de *Enterolobium contortisilliquum* (Vell.) (Fabaceae), *N. tabacum*, *Sapindus saponaria* (L.) (Sapindaceae) (frutos) e *Trichilia pallida* (Swartz.) (Meliaceae) (ramos) os mais eficientes, causando 100% de mortalidade das lagartas.

Onody (2009) observou alta taxa de mortalidade larval com os extratos obtidos das folhas de *Coriandrum sativum* (L.) (Apiaceae), especialmente os etanólicos e hexânicos. Em concentrações acima de 25% foi obtida 100% de mortalidade larval de *P. xylostella*. Com os extratos de *Allamanda cathartica* (L.) (Apocynaceae), as maiores mortalidades larvais também foram obtidas com os extratos etanólicos e hexânicos. Ambos os extratos, em concentrações maiores que 15%, provocaram mortalidade larval superior a 80%. As porcentagens de mortalidade observadas apresentaram-se maiores com o aumento das concentrações, sendo insuficiente para ser distinguido estatisticamente.

No estudo de avaliação dos aspectos biológicos de *P. xylostella* realizado por Jesus et al. (2011), lagartas alimentadas com os discos foliares de diferentes tratamentos dos extratos de *A. indica*, *S. saponaria* e *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) (Fabaceae) apresentaram menor peso. Em relação ao peso médio de pupas houve diferença significativa entre os tratamentos, sendo que as tratadas com extrato de *Dimorphandra mollis* Benth. (Fabaceae) apresentaram os maiores valores e as alimentadas com *A. indica* e *S. saponaria* tiveram os menores valores.

O uso de extratos vegetais ressurgiu como uma opção para o manejo integrado de pragas e que, associado a outras práticas, pode contribuir para a redução de doses e aplicações de inseticidas químicos sintéticos, que apresentam problemas aos organismos benéficos e ao meio ambiente (MACHADO et al., 2007). Sabendo da necessidade de informações sobre a ação de extratos de plantas, estudos a respeito, com plantas da família Annonaceae têm aumentado significativamente, visando demonstrar a utilidade deste grupo vegetal sobre diversas espécies de insetos.

2.5 Annonaceae

2.5.1 Considerações gerais sobre a família Annonaceae

A família Annonaceae é constituída por cerca de 100 gêneros e aproximadamente 2.300 espécies (CHATROU et al., 2012). As plantas dessa família possuem características primitivas, como gineceu apocárpico, estames livres e numerosos, distribuídos em forma de espiral em torno do receptáculo floral. Apresentam-se amplamente distribuídas, principalmente em regiões tropicais. As anonáceas englobam um grupo de frutíferas de importância econômica em diversos países como Chile, México, Venezuela, Austrália e Brasil.

No Brasil, existem 29 gêneros e 386 espécies de Annonaceae, distribuídas principalmente na Amazônia, mas também em outros biomas, como a Mata Atlântica e o Cerrado. É uma importante família de plantas constituintes da flora nacional, com espécies produtoras de frutos para consumo *in natura* e para uso na medicina popular (CHATROU; RAINER; MAAS, 2004).

Estas culturas são encontradas desde o norte do País, até o Estado de São Paulo. Foi na região semi árida do Nordeste que o cultivo destas fruteiras se espalhou. Nos Estados da Bahia, Pernambuco, Alagoas, Minas Gerais e São Paulo encontram-se plantios irrigados com bom nível tecnológico. Na região Nordeste, a Bahia é o principal produtor seguido dos estados de Pernambuco e Alagoas (BRAGA SOBRINHO, 2010).

É considerado muito importante economicamente, principalmente pela produção de frutos de grande interesse comercial. As espécies de maior interesse são a cherimóia (*Annona cherimola* Mill.), a pinha ou fruta-do-conde (*Annona squamosa* L.), atemóia (híbrido: *A. squamosa* x *A. cherimola*) e a graviola (*A. muricata*) (LORENZI; MATOS, 2002). Ressalta-se ainda que, em diversos países, algumas anonáceas são utilizadas, pelas populações rurais, como controladoras da fertilidade, para produzir esterilidade temporária, sendo muito comum, inclusive no Brasil, o uso do extrato de sementes de *A. squamosa* como abortivo (DAMASCENO et al., 2002).

Estima-se que haja em torno de 10.000 hectares de pinha, 2.500 de graviola, 1.000 de atemoia e 120 de cherimoia no Brasil. Em 2005 foram comercializadas 2.727 toneladas de pinha e 1.719 toneladas de atemóia a um preço médio de R\$ 14,00 a caixa de pinha com 3,7kg enquanto que a atemóia variou entre 12,50 e 21,00 reais a caixa (BRAGA SOBRINHO, 2010). O volume de anonáceas na Ceasa do Estado de São Paulo cresceu 27% entre os anos de 2007 e 2012, quando alcançou a comercialização de 6.400 toneladas (CEAGESP, 2013).

A quantidade de anonáceas comercializadas nas principais centrais de abastecimento está crescendo e se concentra principalmente no CEAGESP (61%). As informações coletadas pelo SIEM do CEAGESP mostram que entre 2011 e 2012 houve um crescimento da oferta de atemoia (35%) e de graviola (32%) (CEAGESP, 2012). No Brasil, a cherimoia tem sido menos cultivada devido à sua exigência por temperaturas baixas; as demais apresentam áreas cultivadas em diversas regiões do país, a fim de atender à demanda dos mercados de frutas frescas (pinha ou atemóia) e processadas (graviola) (BRAGA SOBRINHO, 2014).

Extratos de anonáceas foram avaliados em vários grupos de insetos tanto de importância médica quanto agrícola. Entre as pragas agrícolas, insetos mastigadores, como largatas de lepidópteros (LAETAMIA; ISMAN, 2004; ÁLVAREZ et al., 2007) e sugadores

de seiva como *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) podem ser controlados com o uso destes bioinseticidas (GUADAÑO et al., 2000). Entre os insetos relacionados a saúde humana, já foram testados em insetos sugadores de sangue, como o *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762), mosquito vetor da dengue e febre amarela em áreas tropicais (DOMÍNGUEZ- MARTÍNEZ et al., 2003; BOBADILLA et al., 2005)

Hemalatha et al. (2001) testaram extratos foliares de *A. squamosa* e relatou a atividade antimicrobiana contra infecções microbianas comuns em legumes, atividade inseticida sobre o besouro, *Callosobruchus chinensis* Mehra (1988) e verificou ainda a eficácia da atividade inseticida contra larvas e pupas do mosquito *Culex quinquefasciatus* (Say, 1823).

Os extratos bruto metanólico desengordurado com hexano e bruto hexânico de *A. coriacea* e o metanólico de *Annona mucosa*, na concentração de $0,1\text{mg.mL}^{-1}$, apresentaram 100% de mortalidade quando submetidos a atividade inseticida em larvas de *A. aegypti*, com CL_{50} $0,007\text{ mg/mL}$, $0,007\text{ mg/mL}$ e $0,010\text{ mg/mL}$, respectivamente (COSTA et al., 2013).

Omena et al. (2007) investigaram extratos etanólicos das sementes de *Annona glabra* e da casca da raiz de *Annona crassiflora* e constatou que as maiores atividades larvicidas em *A. aegypti* apresentaram valores de CL_{50} de $0,06$ e $0,71\ \mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente. Estes valores são menores do que a CL_{50} ($8,54\ \mu\text{g mL}^{-1}$) do extrato de raiz de *Derris* sp. que contém os inseticidas naturais potentes, como a rotenona.

2.5.2 *Annona mucosa* (Jacq.) Baill.

Entre as anonáceas neotropicais, *Annona mucosa* Jacq. (anteriormente agrupados no gênero *Rollinia* (RAINER, 2007)) é uma fruteira nativa da Amazônia e da Mata Atlântica, que é popularmente conhecido como "biribá". Embora o Brasil seja o seu lugar de origem, esta espécie cresce bem em diferentes habitats (FERREIRA et al., 2010).

Por ser uma espécie tropical, desenvolve-se bem em áreas de clima quente e úmido, com temperaturas médias de 24 a 26°C e chuvas acima de 1.500 mm anuais (SANTOS; ROBERTO; MARTINS, 2005). Destaca-se das demais espécies do seu gênero por apresentar frutos grandes e comestíveis, contendo polpa mucilaginoso e adocicada, o que justifica seu amplo cultivo nos neotrópicos.

Dentre as espécies de anonáceas cultivadas, o biribazeiro parece ser a mais tolerante ao ataque de pragas, como a *Hellipus catagraphus* (Germar, 1824) (MANICA et al., 2003). Seus frutos são de aceitação popular, sendo em sua maioria utilizados no consumo caseiro e comercialização regional (CALZAVARA, 1980). A polpa é branca ou creme, doce e

aromática. Em bons cultivos, consegue-se até cerca de 18 t/ha/ano. O biribazeiro possui compatibilidade comprovada, quando da enxertia com gravioleira, apresentando resistência às podridões de raízes (JUNQUEIRA et al., 1996).

O potencial de *A. mucosa* já foi anteriormente avaliado sobre outros insetos pragas como o gorgulho do milho *Sitophilus zeamays* Mots. (Coleoptera: Curculionidae) por Ribeiro et al. (2013), que testaram o efeito de diferentes partes da planta (folhas, galhos e sementes) em diferentes solventes (hexano, diclorometano e etanol) e concluíram que o extrato de sementes de *A. mucosa* na concentração de 300 mg Kg⁻¹ com solvente hexano proporcionou mortalidade de 98,0% e com solvente diclorometano 85,5%. Na concentração de 1500 mg Kg⁻¹ para ambos os solventes a mortalidade atingiu 100,0%.

O efeito de sementes de *A. mucosa* também foi avaliado para larvas de *A. aegypti* por Costa et al. (2013), constatando que o extrato metanólico na concentração de 0,1 mg.mL⁻¹ resulta em 100% de mortalidade após 24 horas da aplicação.

2.5.3 *Annona crassiflora* Mart.

O ecossistema de cerrado – considerada a mais rica biodiversidade de todas as savanas do mundo – necessita de mais estudos para se compreender a grande fonte de substâncias que esse bioma pode fornecer (COSTA et al., 2009). A espécie *A. crassiflora* é nativa do cerrado e apresenta ampla distribuição nesse bioma, sendo encontrada na Bahia, Minas Gerais, São Paulo, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Goiás e Tocantins. A espécie não ocorre nos cerrados de Rondônia, Amazonas, Amapá, Roraima e Ceará (RATTER et al., 2000).

É conhecida popularmente como araticum, marolo, pinha-do-cerrado, cabeça de negro, entre outros. Os frutos dessa espécie são muito apreciados por populações locais, sendo encontrados em muitos pomares domésticos e consumidos *in natura* e/ou utilizados na fabricação de compotas, doces, geléias, sorvetes, sucos e licores (ALMEIDA et al., 1998; LORENZI, 1998; LORENZI; MATOS, 2002).

A semente de araticum contém um teor relativamente elevado de óleo (45% com base no peso seco), o que permite, inclusive, extração por prensa contínua. O processo de extração com solvente, em escala semipiloto, apresentou um rendimento de 95%. O aroma do óleo é característico e agradável, provavelmente pela presença de terpenos. Possui coloração amarelada atraente. A composição e as características físico-químicas possibilitam produzir um óleo de boa qualidade, com grande potencial para o mercado de óleos finos, mas, a

presença de alcaloides precisa ser mais estudada. A eliminação destes compostos pode ser experimentada pelo refino ou extração com prensas contínuas (AGOSTINI; CECCHI; BARRERA-ARELLANO, 1995).

Segundo Franco (1999), em 100g de marolo encontram-se 453 μ g de tiamina, 100 μ g de riboflavina, 2,6 mg de niacina, 10,3 g de glicídios, 0,4 g de proteínas, 1,6 g de lipídios, 52 mg de cálcio, 24 mg de fósforo, 2,3 mg de ferro e 52 kcal. Contudo, essa espécie (*A. crassiflora*) corre risco de extinção, devido ao desmatamento do cerrado brasileiro (MELO, 2005).

O maroleiro, além de ser consumido como alimento por humanos e pela fauna silvestre, é matéria prima para retirada de cortiça e de madeira e é empregado como planta medicinal (AQUINO; WALTER; RIBEIRO, 2007). Attuch (2006) relatou que o araticunzeiro é utilizado empiricamente no tratamento de diarreia, reumatismo, feridas, úlceras, câncer de pele, fraqueza no sistema digestivo, cólicas e como regulador de menstruação. Em estudos realizados no Estado de Goiás, Souza e Felfili (2006) descreveram que o araticunzeiro também é empregado como inseticida.

Omena et al. (2007), comprovaram efeito inseticida em extratos preparados com a raiz do araticunzeiro, que possibilita seu emprego no controle do mosquito *A. aegypti* vetor da dengue.

Teste de atividade inseticida com extratos de *A. crassiflora* foi realizado pela EMBRAPA de Sete Lagoas, sobre pragas do milho e sorgo. Nas sementes dessa planta e em frações do extrato etanólico de suas folhas foi detectada a atividade inseticida para o controle da lagarta do cartucho do milho, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera:Noctuidae), podendo vir a ser utilizada como potencial inseticida natural no controle dessa praga (PIMENTA et al., 2000).

Ao avaliar o efeito do extrato de *A. crassiflora* sobre o percevejo *Euchistus heros* (Fabr., 1794) (Heteroptera: Pentatomidae), Oliveira (2009) observou que o extrato apresentou efeito fagodeterrentes, principalmente na maior concentração (4%), com resultados 50% menores que a testemunha.

2.5.4 Compostos ativos presentes em anonáceas

Entre as famílias botânicas de ocorrência em regiões tropicais, a família Annonaceae é uma das mais promissoras fontes de moléculas bioativas em virtude de sua grande diversidade de metabólitos secundários com atividade biológica (PINHEIRO et al., 2009).

Essa rica biodiversidade de substâncias químicas são apresentadas como: substâncias aromáticas, ácidos fenólicos, taninos, flavonoides, substâncias benzênicas, catequinas, proantocianidina, óleos essenciais, terpenos, esteroides, alcaloides, ACGs, carboidratos, lipídios, proteínas, lactonas, vitaminas, carotenos, saponinas, entre outros (LUNA, 2006; LIMA, 2007; REIS, 2011).

Os estudos sobre fitoquímica e atividade biológica das anonáceas estão sendo intensificados devido à presença das ACGs, que são uma classe de compostos com ampla atividade biológica (MATSUMOTO et al., 2010), tais como citotóxica, imunossupressora, inseticida, antiparasitária e antimicrobiana (LIMA; PIMENTA; BOAVENTURA, 2010).

As ACGs são substâncias naturais encontradas exclusivamente na família Annonaceae, sendo o gênero *Annona* a principal fonte desta classe de compostos, uma vez que, das 417 ACGs conhecidas até 2004, 289 foram isoladas a partir de 20 espécies deste gênero (BERMEJO et al., 2005).

Essas ACGs são as mais importantes por apresentarem bioatividade contra diversas espécies de insetos (ALALI; LIU; MCLAUGHLIN, 1999). Na literatura, são relatadas 42 espécies de Annonaceae com potencial inseticida, distribuídas em 14 gêneros (*Annona*, *Artabotrys*, *Asimina*, *Cardiopetalum*, *Dennettia*, *Duguetia*, *Guatteria*, *Monodora*, *Mkilua*; *Oxandra*, *Polyathia*, *Rollinia*, *Unonopsis* e *Xylopia*) com destaque para as espécies *A. muricata* (graviola) e *A. squamosa* (fruta-do-conde, pinha) que atualmente são as espécies mais utilizadas para estudos de potencial inseticida.

Quimicamente, as ACGs são compostos C35-C39 derivados dos ácidos graxos de cadeia longa e contém tipicamente duas cadeias longas de hidrocarbonetos, uma das quais conecta um grupo terminal lactona-2,4-dissubstituído podendo ser saturado ou insaturado, a um número variável de anéis tetraidrofurânicos (THF) e até o momento foram encontradas unicamente na família Annonaceae. As cadeias hidrocarbônicas apresentam-se geralmente oxigenadas na forma de grupos hidroxilas, acetoxilas e/ou cetonas. Acetogeninas sem anéis THF, contendo anéis simples com ligações duplas contendo ainda ou não grupos epóxidos também já foram descritas (FANG et al., 1993; CHANG; WU, 2001).

A uvaricina foi a primeira ACG isolada das raízes de *Uvaria acuminata* (Oliv.) (JOLAD; HOFFMANN; COLE, 1982), sendo que, até o momento, mais de 400 ACGs já foram identificadas e, alguma delas testadas em diversas áreas das ciências, inclusive na agrônômica (PIMENTA et al., 2003; BERMEJO et al., 2005).

As ACGs annosquamin B, a ACG bis-tetrahidrofurânica (bis-THF) adjacente, bullatacina e a ACG bis-THF não adjacente, annosquamin B, isoladas de *A. squamosa* (CHEN et al., 2013), são alguns exemplos de ACGs de anonáceas.

Pesquisas vêm sendo direcionadas na busca por bioinseticidas da família Annonaceae com atividade no controle de insetos-praga, fornecendo uma alternativa viável aos inseticidas sintéticos, e assim, reduzindo a possibilidade do surgimento de insetos resistentes.

Diversos estudos já foram realizados com espécies do gênero *Annona*, comprovando a atividade inseticida sobre diferentes insetos-praga. Colom et al. (2007) avaliaram os efeitos inseticidas e antialimentares de ACGs provenientes do extrato metanólico de sementes de *A. cherimolia* sobre *S. frugiperda*. Os autores concluíram que, das nove ACGs incorporadas na dieta artificial e fornecidas diariamente a lagartas de *S. frugiperda*, apenas a esquamocina proporcionou mortalidade elevada (100%). Para pupas, a mortalidade foi superior a 80% para todas as ACGs. Com relação aos efeitos antialimentares, apenas a esquamocina diferiu do controle, resultando lagartas com baixo peso, sugerindo ação redutora na eficiência na conversão de alimento em biomassa.

González-Esquinca et al. (2012) avaliaram o efeito de extratos aquosos e etanólicos de folhas e ramos de três espécies de *Annona* sp., incluindo *A. muricata*, sobre a fase larval de *Anastrepha ludens* (Loew). Os autores verificaram que os extratos aquosos de folhas de *A. muricata* foram mais tóxicos do que os extratos em etanol, com mortalidades de lagartas de 84,3% na concentração de 2000 µg ml⁻¹. Além disso, com o aumento no tempo de exposição dos extratos (24h - 72h), maiores foram os índices de mortalidade larval.

São inúmeros os exemplos encontrados em literatura da atividade inseticida de plantas da família Annonaceae, sendo possível mencionar a atividade larvicida de *A. mucosa* (OMENA et al., 2007) e *A. crassiflora* (COSTA et al., 2013) para *A. aegypti*.

2.6 *Dioscorea rotundata* Poir.

Os inhames se agrupam na classe das monocotiledôneas, e pertencem à família Dioscoreaceae e gênero *Dioscorea*, o mais importante economicamente e o único que ocorre no Brasil. Este gênero é o maior da família e apresenta mais de 600 espécies. São importantes

alimentos para as regiões tropicais e subtropicais (AYENSU, 1972).

Existem em torno de dez espécies cultivadas de inhame no mundo, pertencentes a cinco grupos: *Enantiophyllum* (*Dioscorea alata* L., *Dioscorea cayenensis* Lam., *Dioscorea rotundata* Poir., *Dioscorea nummularia* Lam., *Dioscorea opposita* Thunb. e *Dioscorea transversa* R.Br.), *Combilium* (*Dioscorea esculenta* Burk.), *Opsophyton* (*Dioscorea bulbifera* L.), *Macrogynodium* (*Dioscorea trifida* L.) e *Lasiophyton* (*Dioscorea pentaphylla* L.) (LEBOT, 2009), sendo que as principais são *D. rotundata*, *D. cayenensis*, espécies de origem africanas, pois nesse continente pode-se encontrar espécies selvagens relacionadas.

Estima-se que no Brasil ocorram entre 150 e 200 espécies de *Dioscorea*, sendo este o único gênero da família presente em todas as regiões do país, desde a Amazônia até o Rio Grande do Sul. Em termos de importância econômica merece destaque, as espécies *D. alata*, *D. cayenensis* e *D. rotundata* (PEDRALLI, 2002).

Trindade et al., (2015) realizaram teste inseticida em lagartas de *S. frugiperda* e na concentração de 20% do extrato aquoso de *D. rotundata*, observaram que a viabilidade larval foi em média de 12 %, e a duração do período larval, de 7 dias, enquanto para a testemunha a viabilidade média foi de 84 %, e a duração larval, 17 dias. Nas demais concentrações, a 10 e 5 % causaram mortalidade de 48 e 66 % das lagartas, com uma duração da fase larval de 12 e 14 dias, respectivamente.

A espécie *D. rotundata*, conhecida também como inhame amarelo, a qual apresenta rizóforo branco ou amarelo, é cultivada principalmente no litoral nordestino, produz poucos rizóforos por planta, mas, de grande tamanho. São plantas herbáceas, trepadeiras quando encontram um suporte; apresentam raiz tuberosa; caule volúvel, com cerca de 5 mm de diâmetro; folhas opostas com cerca de 7 cm de comprimento e 4,5 cm de largura; flores unissexuais, dispostas em inflorescência do tipo espiga. Apresentam rizóforos cilíndricos e de tamanho variável, geralmente de 1 a 10 kg. O florescimento dessas plantas no Brasil é raro e os frutos, quando formados, são cápsulas deiscentes. Quanto ao sistema reprodutivo, a espécie se reproduz por alogamia. A propagação pode ser feita pelos rizóforos, ou seja, por propagação vegetativa ou por sementes (SANTOS, 2002).

O inhame representa atualmente a quarta cultura de raízes e tubérculos mais importante do mundo, logo atrás da batata (*Solanum tuberosum* L.), mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) e batata-doce (*Ipomoea batatas* L.). É extremamente importante na alimentação dos povos de alguns países da África, Ásia e da América Latina, constituindo-se a alimentação básica para mais de 100 milhões de pessoas em todo mundo, sobretudo nos trópicos úmidos e sub-úmidos (FAO, 2011). Tem importante papel social, na segurança nutricional e na

sustentabilidade da agricultura de diversos países dos cinco continentes.

Estimativas da FAO (2011) indicam que em 2009 foram colhidos cerca de 4,7 milhões de hectares de inhame, que geraram 49,2 milhões de toneladas de rizóforos. Neste cenário, a África detém a hegemonia, ao responder por cerca de 96% do total produzido de inhame, sendo que três países desse continente se destacam: Gana, Costa do Marfim e Nigéria, os quais são responsáveis por cerca de 85% da produção mundial de inhame. Nesse continente, o inhame é a segunda mais importante cultura de raízes e tubérculos, depois da mandioca, tendo se destacado as espécies *D. cayenensis* e *D. rotundata*. Essas espécies de inhame são as mais cultivadas no mundo e representam cerca de 90% da produção mundial.

A inserção do Brasil no mercado internacional de inhame ainda é pequena (0,5% da produção mundial, com cerca de 230 mil toneladas cultivadas em 25.129 ha) (FAO, 2011). Embora haja registros de cultivo de *Dioscorea* no país desde os primórdios da colonização, desperdiçando a sua imensa aptidão edafoclimática para a exploração dessa cultura e as inúmeras possibilidades de negócios que adviriam em cadeias produtivas estruturadas. O Nordeste do Brasil detém cerca de 90% da produção nacional de *Dioscorea* spp., com destaque para os Estados da Paraíba (56 mil toneladas), Pernambuco (50 mil toneladas), Alagoas, Bahia e Maranhão, sendo que nestes municípios se destacam essencialmente as espécies ou o complexo de espécies *D. cayenensis/D. rotundata* e logo em seguida a espécie *D. alata* (SANTOS, 2002).

As espécies *D. cayenensis* (inhame amarelo) e *D. rotundata* (inhame branco), podem ser referidas também como inhame ou cará da Guiné. São plantas perenes, poliplóides, dióicas, se caracterizam por possuírem caule herbáceo, escadente (trepador) e com espinhos. Existem ainda grandes controvérsias sobre a taxonomia e a citogenética dessas espécies. Alguns autores consideram duas espécies diferentes (SCARCELLI et al., 2006; TOSTAIN et al., 2007) enquanto outros consideram ambas como parte de um complexo de espécies (DANSI et al., 2001; MIGNOUNA et al., 2002).

Os cultivos de inhame são de suma importância tanto para a agricultura tradicional como também para a agricultura familiar. Um exemplo disso ocorre na região sul do Estado de São Paulo, mais especificamente no Vale do Ribeira. Estudos realizados por Peroni e Hanazaki (2002) mostram que a cultura do inhame ocupa o segundo lugar em relação o número de variedades cultivadas (29 variedades), juntamente com a batata-doce e logo atrás da mandioca com 62 variedades.

Rizóforos de inhame são ricos nutricionalmente, sendo uma das principais fontes de fibra dietética, carboidratos, vitamina C e minerais essenciais (CHARLES et al., 2005;

POLYCARP et al., 2012). Além de seu valor nutritivo, algumas espécies de *Dioscorea* são conhecidas por seus metabólitos secundários (saponinas esteroidais, terpenoides, e alcaloides), que têm sido explorados para produtos farmacêuticos (MIGNOUNA et al., 2008) e também como inseticidas (DEGRAS, 1993; TRINDADE et al., 2015).

2.7 *Chenopodium ambrosioides* L.

O mastruz, *C. ambrosioides*, apresenta hábito herbáceo, com até um metro de altura, caule piloso e sulcado, folhas inteiras e simples, sendo as superiores sésseis e as inferiores pecioladas, de dimensões variadas e providas de pêlos (PACIORNIK, 1990). Com distribuição ampla pelo mundo, é utilizada em muitos lugares como antitérmico, antiespasmódico, tônico, auxiliar da digestão, anti-reumático e antipirético, sendo considerada pela Organização Mundial da Saúde como uma das espécies mais utilizadas entre os remédios tradicionais no mundo inteiro (LORENZI; MATOS, 2002).

Estudos demonstram que a espécie possui atividades moluscicida (HMAMOUCI et al., 2000), fungicida (VARGAS et al., 1997; DELESPAUL et al., 2000), nematocida (INSUNZA et al., 2001), larvicida (MORSY TOSSON et al., 1998), alelopática (OSORNIO et al., 1996) e antibacteriana (LALL; MEYER, 1999).

A atividade inseticida, dependente da dose, como na maioria das drogas, é causada por um monoterpeneo constituinte de seu óleo essencial denominado ascaridol, cujo teor no óleo nunca é inferior a 60% (SOUSA et al., 1991). No entanto, o estudo de *C. ambrosioides* justifica-se por suas propriedades moluscicida, fungicida, alelopática e larvicida e por contribuir para um melhor conhecimento desta espécie botânica (COSTA; TAVARES, 2006).

A fitoquímica do gênero *Chenopodium* foi estudada e os compostos relatados foram: minerais, hidratos de carbono, aminoácidos, constituintes não polares, proteínas, aromáticos, citocininas, saponinas, flavonoides, esteróis, terpenos e vitaminas, alcaloides (NASCIMENTO et al., 2006). Particularmente em *C. ambrosioides* os metabólitos secundários incluem: ácidos orgânicos, flavonas (glicosil), flavonóis e os seus glicosídeos (campferol, quercetina, e isoramnetina), esteróis e fitoesteróis (e avenasterol) espinasterol, monoterpeneos (acíclicos tais como mirceno- β , cis β -ocimeno e seu isômero trans, nerol e geraniol, e o acetato de citronelilo, monocíclicos, tais como limoneno, terpineno- α e γ seu isômero, α -terpinoleno, β -felandreno, *p*-cimeno, carvacrol, timol, trans-pinocarveol e α -terpineol, carvona, pinocarvone, piperitona e seus acetatos, e ascaridole; e bicíclico tal como

chanopanone), sesquiterpenoides (β -cariofileno and γ -curcumeno), e carotenoides (α -caroteno e β -caroteno) (KOKANOVA-NEDIALKOVA; NEDIALKOV; NIKOLOV, 2009).

C. ambrosioides tem sido estudada como uma potencial alternativa aos tradicionais métodos de controle de insetos. Vegetal altamente disseminado pelo Brasil, *C. ambrosioides* é bastante utilizado pela medicina popular no controle de verminoses intestinais (SANTOS; CORRÊA, 2006).

Outra aplicação da *C. ambrosioides* é no uso agrônomico, como nematicida, antifúngico, repelente de insetos e antioxidante. Segundo Mello et al. (2006), a planta apresenta potencial para controle de *Pratylenchus brachyurus* (Godfrey, 1929), tanto para rotação de cultura quanto pela aplicação de extrato. Seu óleo essencial é um repelente contra insetos sendo mais eficaz contra os que habitam no solo do que os que se alimentam da parte aérea da planta (CLOYD; CHIASSON, 2007).

Ao realizar estudo de atividade inseticida com extratos de plantas medicinais, Barbosa et al. (2013) observaram que adultos de *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) após 24 horas de exposição ao extrato etanólico de *C. ambrosioides*, proporcionou a maior mortalidade corrigida na concentração de 5%. Na última avaliação de mortalidade (48 h), o mesmo extrato de *C. ambrosioides* mostrou uma mortalidade mais elevada em comparação com as outras plantas, sendo as concentrações de 10,38 e 20,44% necessárias para causarem 50 e 99% de mortalidade em adultos de *D. speciosa*, respectivamente.

O óleo essencial de *C. ambrosioides* mostrou atividade antialimentar significativa com uma concentração antialimentar mediana (CL_{50}) em larvas de terceiro ínstar de 66,81 e 78,24 mg/L após 24 e 48h de exposição, respectivamente (WEI, H. et al., 2015). Outros antifeedants obtidos de produtos naturais têm sido relatados, incluindo principalmente os que são derivados de metabólitos secundários (ISMAN, 2002).

Segundo WEI et al., 2015, também revelou que a média do peso e a percentagem de formação de pupa foram inibidas pela ação do óleo essencial de *C. ambrosioides* de forma dependente da dose, sugerindo que a planta pode ser uma fonte importante para o desenvolvimento de um novo produto regulador do crescimento de insetos.

Os óleos essenciais muitas vezes consistem de uma mistura de monoterpenos e sesquiterpenos, é provável que os terpenoides possam ser o ingrediente ativo antialimentar *C. ambrosioides*. Para a maioria dos antialimentares, os modos de ação envolvem células gustativas. Especificamente, os antialimentares que estimulam um receptor dissuasivo, embora alguns possam bloquear ou interferir a percepção de estimulantes alimentar como açúcares e aminoácidos (ISMAN, 2002).

Com base nas propriedades exigidas em produtos químicos para controle de insetos que se alimentam de grãos, tais como: 1 - a toxicidade para os adultos; 2 - redução de oviposição; 3 - atividade ovicida; 4 - toxicidade para fases imaturas, *C. ambrosioides*, mostrou algumas potencialidades apreciáveis sob estes parâmetros (DENLOYE, A. A. et al., 2010). Os extratos aquosos e etanólicos de *C. ambrosioides* utilizados neste estudo mostraram toxicidades diferenciais contra insetos-praga de grãos armazenados. Os extratos alcoólicos foram consistentemente mais tóxicos do que os extratos aquosos. Tais diferenças na toxicidade de extratos vegetais obtidos usando diferentes solventes como neste estudo foram relatadas em pesquisas anteriores.

REFERÊNCIAS

- AGOSTINI, T. S.; CECCHI, H. M.; BARRERA-ARELLANO, D. Caracterização química da polpa e do óleo de marolo. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v. 45, n. 3, p. 237-241, 1995.
- AGRAWAL, A. A. Specificity of induced resistance in Wild radish. Causes and consequences for two specialist caterpillars. **Oikos**, v. 89, p. 493-500, 2000.
- AGRAWAL, A. A. et al. Ecological genetics of an induced plant defense against herbivores: additive genetic variance and costs of phenotypic plasticity. **Evolution**, v. 56, p. 2206–13, 2002.
- AGROFIT – Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. Brasília: MAPA, 2015. Disponível em: <[http://http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons)>. Acesso em: 10 de maio de 2015.
- ALALI, F. Q.; LIU; X. X.; MCLAUGHLIN; E. J. L. Annonaceous acetogenins: recent progress. **Journal of Natural Products**, v. 62, p. 504-540, 1999.
- ALMEIDA, M. F. et al. Cerrado: espécies vegetais úteis. **Embrapa- CPAC**, Planaltina, Distrito Federal, 1998.
- ALMEIDA JÚNIOR, R.; BOIÇA JÚNIOR, A. L.; TORRES, A. L. Ação sistêmica de amêndoas de nim (*Azadirachta indica*) no controle da traça-das-crucíferas *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) em repolho. In: **Congresso Brasileiro de Entomologia**, v. 19, anais, INPA, p. 157, 2002.
- ALMEIDA, M. F. et al. Biologia de *Ceraeochrysa claveri* Navás (Neuroptera: Chrysopidae) predando *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). **Ciência Rural**, v. 39(2), p. 313-318, 2009.
- ÁLVAREZ, O. et al. Toxic effects of annonaceous acetogenins from *Annona cherimolia* (Magnoliales: Annonaceae) on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal Pesticide Science**, v. 80, p. 63-67, 2007.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos, **Relatório de Atividades 2010**. Gerencia Geral de Toxicologia, 2011.

AQUINO, F. G.; WALTER, B. M. T.; RIBEIRO, J. F. Espécies vegetais de uso múltiplo em reservas legais de cerrado - Balsas, MA. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, supl. 1, p. 147-149, 2007.

ARRIAGA, A. M. C. et al. Chemical constituents and insecticidal activity of *Rollinia leptopetala* (Annonaceae). **Natural Product Communications**, v. 3, n. 10, p. 1687-1688, 2008.

ATTUCH, I. M. **Conhecimentos tradicionais do Cerrado: sobre a memória de Dona Flor, raizeira e parteira**. 2006, 147p. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Antropologia Social, Universidade de Brasília, Brasília, 2006.

AYENSU, E. S. Dioscoreales. In: METCALFE, C.R (ed). Anatomy of the monocotyledons. London: **Oxford University Press**, p. 181-182, 1972.

BANAAG, A.; HONDA, H.; SHONO, T. Effects of alkaloids from yam, *Dioscorea hispida* Schlusel, on feeding and development of larvae of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae). **Applied Entomology and Zoology**, v.32, p.119-126, 1997.

BANDEIRA, G. N. **Efeito de extratos vegetais e óleos essenciais no desenvolvimento de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae)**. Pernambuco, 2009. 57p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2009.

BARBOSA, F. S. et al. Medicinal plant extracts on the control of *Diabrotica speciosa* (Coleoptera: Chrysomelidae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 1, p. 142-149, 2013.

BARROS, R. et al. Controle químico da traça das crucíferas, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) em repolho. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 22, n. 3, p. 463-469, 1993.

BARROS, R.; VENDRAMIM, J. D. Efeito de cultivares de repolho, utilizados para criação de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), no desenvolvimento de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 28, n. 3, p. 469-476, 1999.

BARROSO, G. M. et al. Frutos e sementes: morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas. Viçosa: UFV, 443p. 1999.

BERMEJO, A. et al. Acetogenins from Annonaceae: recent progress in isolation, synthesis and mechanisms of action. **Natural Product Reports**, v. 22, p. 269-303, 2005.

BIERMAN, A. C. S. **Bioatividade de Inseticidas Botânicos sobre *Ascia monuste orseis* (Lepidoptera: Pieridae)**. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009.

BLESSING, L. D. T. et al. Antifeedant and toxic effects of acetogenins from *Annona montana* on *Spodoptera frugiperda*. **Journal of Pest Science**, v. 83, n. 3, p. 307-310, 2010.

BOBADILLA, M. et al. Evaluación larvica de suspensiones acuosas de *Annona muricata* Linnaeus (guanábana) sobre *Aedes aegypti* Linnaeus (Diptera, Culicidae). **Revista Peruana de Biología**, v. 12, p. 15-152, 2005.

BOIÇA JÚNIOR, A. L. et al. Efeito de extratos aquosos de plantas no desenvolvimento de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) em couve. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 72, n. 1, p. 45-50, 2005.

BRAGA SOBRINHO, R. Integrated production of Annonaceae in Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. 1, p. 102-107, 2014.

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

BRITO, J. P. et al. Aspectos biológicos de *Orius insidiosus* (Say, 1832) predando ovos de *Plutella xylostella* (L., 1758) e *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 76(4), p. 627-633, 2009. Bt e não Bt. In: CONGRESSO DE ECOLOGIA DO BRASIL, 2009. Anais, p. 1-3, 2009.

CALIXTO, J. B. Estudo farmacológico pré-clínico de plantas medicinais. In: Yunes, R. A.; Calixto, J. B. (Ed.). Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna. **Argos**, v. 12, n. 3, p. 77-99, 2001.

CALZAVARA, B. B. G. Fruteiras: abieiro, abricozeiro, bacurizeiro, biribazeiro, cupuaçuzeiro. (Série Culturas da Amazônia). Brasília: IPEAN, **EMBRAPA – CPATU**, 77p., 1980.

CAMPOS, F. R. et al. Isoquinoline alkaloids from leaves of *Annona sericea* (Annonaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 36, p. 804-806, 2008.

CARTEA, M. E. et al. Phenolic compounds in *Brassica* vegetables. **Molecules**, v. 16, p. 251-280, 2011.

CASTELO BRANCO, M.; GUIMARÃES, A. L. Controle da traça das crucíferas em repolho. **Horticultura Brasileira**, v. 10, n. 1, p. 24-25, 1990.

CASTELO BRANCO, M.; FRANÇA, F. H.; VILLAS BOAS, G. L. Traça-das-crucíferas *Plutella xylostella* – Artrópodes de importância econômica. **Comunicado Técnico da Embrapa Hortaliças**, p. 1-4, 1997.

CASTELO BRANCO, M. Inseticidas para o controle de traça-das-crucíferas: avaliação da eficiência, resistência e impacto sobre inimigos naturais. Brasília: **Embrapa-CNPQ**. 7p. 1998.

CASTELO BRANCO, M. Avaliação da eficiência de formulações de *Bacillus thuringiensis* para o controle da traça-das-crucíferas em repolho no Distrito Federal. **Horticultura Brasileira**, v. 17, n. 3, p. 237-240, 1999.

CASTELO BRANCO, M.; AMARAL, P. S. T. Inseticidas para o controle da traça-das-crucíferas. **Horticultura Brasileira**, v. 20, n. 3, p. 410-415, 2002.

CASTELO BRANCO, M.; MEDEIROS, M. A. Impacto de inseticidas sobre parasitóides da traça-das-crucíferas em repolho, no Distrito Federal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, p. 7-13, 2001.

CEAGESP - Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo. 2012. Disponível em: <<http://www.ceagesp.gov.br>>. Acesso em: 13 abril de 2015.

CHANG, F. R.; WU, Y. C. Novel cytotoxic annonaceous acetogenins from *Annona muricata*. **Journal of Natural Products**. v. 64, p. 925-931, 2001.

CHARLES, A. L.; SRIROTH, K.; HUANG, T. C. Proximate composition, mineral contents, hydrogen cyanide and phytic acid of 5 cassava genotypes. **Food Chemistry**, v. 92, p. 615–620, 2005.

CHARLESTON, D. S.; KFIR, R. The possibility of using Indian mustard, *Brassica juncea*, as a trap crop for the diamondback moth, *Plutella xylostella*, in South Africa. **Crop Protection**, v. 19, p. 455-460, 2000.

CHATROU, L. W. et al. A new subfamilial and tribal classification of the pantropical flowering plant family Annonaceae informed by molecular phylogenetics. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 169, n. 1, p. 5-40, 2012.

CHATROU, L. W.; RAINER, H.; MAAS, P. J. M. Annonaceae. *In*: Smith, N.; Mori, S. A.; Henderson, A.; Stevenson, D. W.; Heald, S. V. (Eds). Flowering plants of the Neotropics. New York: **Princeton University Press**. p. 18-20, 2004.

CHEN, Y. et al. Antitumor activity and toxicity relationship of Annonaceous acetogenins. **Food and Chemical Toxicology**, v. 58, p. 394-400, 2013.

CHENG, L. et al. Insensitive acetylcholine receptor conferring resistance of *Plutella xylostella* to Nereistoxin Insecticides. **Agricultural Sciences in China**, v. 7. p. 847-852, 2008.

CHIRINOS, R. et al. Optimization of extraction conditions of antioxidante phenolic compounds from mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón) tubers. **Separation and Purification Technology**, v. 55, n. 2, p. 217–225, 2007.

CLOYD, R. A.; CHIASSON, H. Activity of an essential oil derived from *Chenopodium ambrosioides* on greenhouse insect pests. **Journal of Economic Entomology**, v. 100, n. 2, p. 459-466, 2007.

COGBILL, S. et al. Adventitious shoot regeneration from cotyledonary explants of rapid-cycling fast plants of *Brassica rapa* L. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v. 101, p. 127–133, 2010.

COHEN, J. I. Poor nations turn to publicly developed GM crops. **Nature Biotechnology**, v. 23, p. 27-33, 2005.

COHEN, K. O. et al. Avaliação das características físicas e físico-químicas dos frutos de araticum procedentes de Cabeceiras, GO. Planaltina, DF: **Embrapa cerrados**, 16 p. Documentos, 270, 2010.

COLOM, O. Á. et al. Toxic effects of annonaceous acetogenins from *Annona cherimolia* (Magnoliales: Annonaceae) on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Pest Science**, v. 80, n. 1, p. 63-67, 2007.

COLOM, O. Á. et al. Toxic effects of annonaceous acetogenins on *Oncopeltus fasciatus*. **Journal of Pest Science**, v. 81, n. 2, p. 85-89, 2008.

COSTA, E. L. N.; SILVA, R. F. P.; FIUZA, L. M. Efeitos, aplicações e limitações de extratos de plantas inseticidas. **Acta Biologica Leopoldensia**, v. 26, n. 2, p. 173-85, 2004.

COSTA, M. V. L.; TAVARES, E. S. Anatomia foliar de *Chenopodium ambrosioides* L. (Chenopodiaceae) - Erva-de-Santa Maria. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, n. 3, p. 63-71, 2006.

COSTA, M. C. A. et al. Avaliação da não-preferência de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) entre híbridos de milho Bt e não Bt. In: Congresso Latino Americano de Ecologia. **Congresso de Ecologia do Brasil**. Ecologia e o futuro da biosfera. SEB, 2009.

COSTA, E. V. et al. Trypanocidal Activity of Oxoaporphine and Pyrimidine- β -Carboline Alkaloids from the Branches of *Annona foetida* Mart. (Annonaceae). **Molecules**, v. 16, p. 9714-9720, 2011.

COSTA, E. V. et al. Essential oil from the leaves of *Annona vepretorum*: chemical composition and bioactivity. **Natural Product Communications**, v. 7, n. 2, p. 265-266, 2012.

COSTA, E. V. et al. Chemical composition of the essential oils of *Annona pickelii* and *Annona salzmannii* (Annonaceae), and their antitumour and trypanocidal activities. **Natural Product Research**. v. 27, p. 997-1001, 2013.

CRUZ, P. E. O. et al. Chemical constituents from the bark of *Annona salzmannii* (Annonaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 39, p. 872-875, 2011.

CZERPAK C. et al. Eficiência de inseticidas para o controle de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) na cultura do repolho (*Brassica oleracea* var. *capitata*). **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 35, p. 129-131, 2005.

DAMASCENO, D. C. et al. Effects of *Annona squamosa* extract on early pregnancy in rats. **International Journal of Phytotherapy e Phytopharmacology**, v. 9, p. 667-672, 2002.

DANIEL, B. et al. Comparison of mosquito larvicidal activity of *Annona squamosa* leaves growing in different eco-zones in Tanzania. **International Journal of Pharma and Bio Sciences**, v. 2, n. 4, p. 566-572, 2011.

DANSI, A. et al. Ploidy variation in the cultivated yams (*Dioscorea cayennensis*-*Dioscorea rotundata* complex) from Cameroon as determined by flow cytometry.

Euphytica, v. 119, p. 301-307, 2001.

DEGRAS, L. The yam a tropical root crop. London, UK: **MacMillan Press**. 408 p., 1993.

DELESPAUL, Q. et al. The antifungal activity of oils as determined by different screening methods. **Journal of Essential Oil Research**, v. 12, n. 2, p. 256-66, 2000.

DEQUECH, S. T. B. et al. Ação de extratos de plantas na oviposição e na mortalidade da traça-das-crucíferas. **Ciência Rural**, v. 39, n. 2, p. 551-554, 2009.

DEWICK, P. L. Medicinal Natural Products: a biosynthetic approach. 3ed. **John Wiley & Sons**, 539p. 2009.

DEWICK, P. M. Medicinal Natural Products: a biosynthetic approach. 2ª Ed., **John Wiley & Sons**, 507p. 2002.

DICKSON, M. H. et al. Selection for resistance to diamondback moth (*Plutella xylostella*) in cabbage. **Hortscience**, v. 25, n. 12, p. 1643-1646, 1990.

DI STASI, L. C. et al. Plantas medicinais da Amazônia. São Paulo: **Editora UnESP**, 194p., 1989.

DIXON, R. A.; STRACK, D. Phytochemistry meets genome analysis, and beyond. **Phytochemistry**, v. 62, p. 815-816, 2003.

DOMÍNGUEZ-MARTÍNEZ, V. et al. Pupicidal activity of annonacin for *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). **Folia Entomologica Mexicana**, v. 42, p. 349-358, 2003.

DUTRA, L. M. et al. Chemical constituents from the leaves of *Annona pickelii* (Annonaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 41, p. 115-118. 2012.

EDELSON, J. V.; DICKSON, M. H. Resistance to insects by cabbage lines developed in New York when grown in south Texas. **Crop Protection**, v. 7, n. 6, p. 391-395, 1988.

EIGENBRODE, S. D.; SHELTON, A. M.; DICKSON, M. H. Two types of resistance to the diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) in cabbage. **Environmental Entomology**, v. 19, p. 1086-1090, 1990.

EIGENBRODE, S. D. et al. Characteristics of glossy leaf waxes associated with resistance to diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) in *Brassica oleracea*. **Journal of Economic Entomology**, v. 84, p. 1609-1618, 1991.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária: Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças. Disponível em: www.cnph.embrapa.br, acesso em março de 2015. Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Distrito Federal (**EMATER- DF**). Custo de produção. Disponível em: < <http://www.emater.df.gov.br>>. Acessado em: 20/05/2015.

ESTRELA, J. L. V. et al. Toxicidade de óleos essenciais de *Piper aduncum* e *Piper hispidinervum* em *Sitophilus zeamais*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.2, p.217-222, 2006.

FAHEY, J. W.; ZALCMANN, A. T.; Talalay, P. The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. **Phytochemistry**, v. 56, p. 5–51, 2001.

FANG, X. et al. Annonaceous Acetogenins: An Updated Review. **Phytochemical Analysis**, v. 4, p. 27-48, 1993.

FAO. FAOSTAT 2011 Data base. Disponível em: <http://faostat.fao.org>). Acesso em 19.dezembro.2015.

FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy. (<http://faostat.fao.org>), 2012.

FEITOSA, E. M. A. et al. Chemical composition and larvicidal activity of *Rollinia leptopetala* (Annonaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, n. 2, p. 375-378, 2009.

FERREIRA, S. W. J.; BARROS, R.; TORRES, J. B. Exigências térmicas e estimativa do número de gerações de *Oomyzus sokolowskii* (Kurdjumov) (Hymenoptera: Eulophidae), para regiões produtoras de crucíferas em Pernambuco. **Neotropical Entomology**, v. 32, p. 407-411, 2003.

FERREIRA, M. G. R. et al. Emergência e crescimento inicial de plântulas de biribá (*Rollinia mucosa* (Jacq.) Baill) (Annonaceae) em diferentes substrates. **Ciências Agrárias**, v. 31, p. 373-380, 2010.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. Viçosa: UFV, 402p. 2000.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo Manual de Olericultura - Agrotecnologia Moderna na Produção e Comercialização de Hortaliças**. 2ª ed., Viçosa, UFV, 2003.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 3ª ed. Viçosa. MG: Universidade Federal de Viçosa. 412 p. 2008.

FRANÇA, F. H. et al. Controle da traça-das-crucíferas em repolho. **Horticultura Brasileira**, v. 3, p. 47-53, 1985.

FRANCO, G. Tabela de composição química dos alimentos. 9. ed. São Paulo: **Atheneu**, 307p. 1999.

FURLONG, M. J. et al. Field and laboratory evaluation of a sex pheromone trap for the autodissemination of the fungal entomopathogen *Zoophthora radicans* (Entomophthorales) by the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae). **Bulletin of Entomological Research**, v. 85, n. 3, p. 331-337, 1995.

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.

GEORGHIOU, G. P. Management of resistance in arthropods. In G.P. Georghiou, & T. Satto (eds.), *Pest Resistance to Pesticides: Challenges and Prospects*. New York, **Plenum Press**, 797p. 1983.

GODONOU, I. et al. Potential of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* isolates from Benin to control *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae). **Crop Protection**, v. 28, p. 220-224, 2009.

GONÇALVES, P. A. S. Eficácia de inseticidas sintéticos e naturais no controle de tripses em cebola. **Horticultura Brasileira**, v. 15, p. 32-34, 1997.

GONZÁLEZ-ESQUINCA, A. R. et al. In vitro larvicidal evaluation of *Annona muricata* L., *A. diversifolia* Saff. and *A. lutescens* Saff. Extracts against *Anastrepha ludens* larvae (Diptera, Tephritidae). **Interciência**, v. 37, n. 4, p. 284-289, 2012.

GRAVENA, S. Controle biológico de insetos e ácaros no manejo de pragas. In: Cruz, B. P. B.; Batista, A.; Leite, L. G. (Org.) **II Ciclo de Palestras sobre Controle Biológico de pragas**. Anais. Fundação Cargill, p. 42-59, 1992.

GRZYWACZ, D. et al. Current control methods for diamondback moth and other brassica insect pests and the prospects for improved management with lepidopteran-resistant Bt vegetable brassicas in Asia and Africa. **Crop Protection**, v. 29, p. 68-79, 2010.

GUADAÑO, A. et al. Insecticidal and mutagenic evaluation of two annonaceous acetogenins. **Journal of Natural Products**, v. 63, p. 773-776, 2000.

HALKIER, B. A.; GERSHENZON, J. Biology and biochemistry of glucosinolates. **Annual Review of Plant Biology**, v. 57, p. 303-333, 2006.

HARBONE, J. B. Phenolics. In: Mann, J.; Davidson, R. S.; Hobbs, J. B.; Banthorpe, D. V. Natural Products. Their chemistry and biological significance. 1. ed. New York: **Longman scientific & Technical**, p. 361-388, 1994a.

HARBONE, J. B.; Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis, 2 ed., **Chapman and Hall**, p. 55-136, 1984.

HARCOURT, D. G. **The biology and ecology of the diamondback moth, *Plutella maculipennis*, Curtis, in eastern Ontario**. Phd thesis. Cornell Univ., Ithaca, NY, 107p. 1954.

HARCOURT, D. G.; LEROUX, E. J. Population regulation in insects and man. **American Scientist**, v. 55, p. 400-415, 1967.

HEMALATHA, M. K. et al. Antimicrobial and pesticidal activity of partially purified flavonoids of *Annona squamosa*. **Pest Management Science**, v. 58, p. 33-37, 2001.

HMAMOUCHE, M.; LAHLOU, M.; AGOUMI, A. Molluscicidal activity of some Moroccan medicinal plants. **Fitoterapia**, v. 71, p. 308-14, 2000.

HO, T. H. The Life-History and Control of the Diamondback moth in Malaya. **Bulletin**, Division of Agriculture Malaysia, v. 18, 26p. 1965.

HOPKINS, R. J.; VAN DAM, N. M.; VAN LOON, J. J. A. Role of glucosinolates in insect-plant relationships and multitrophic interactions. **Annual Review of Entomology**, v. 54, p. 57-83, 2009.

HORA, R. C.; GOTO, R.; BRANDÃO FILHO, J. U. T. O lugar especial da produção de hortaliças no Agronegócio. **Agrianual**, p. 323-323, 2004.

IDRIS, A. B.; GRAFIUS, E. Diurnal flight activity of *Diadegma insulare* (Hymenoptera: Ichneumonidae), a parasitoid of the diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) in the field. **Environmental Entomology**, v. 27, n. 2, p. 406 - 414, 1998.

IMENES, S. D. L. et al. Avaliação da atratividade de feromônio sexual sintético da traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), em cultivo orgânico de repolho. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 69, n. 1, p. 81-84, 2002.

INSUNZA, V.; ABALLAY, E.; MACAYA, J. In vitro nematicidal activity of aqueous extracts on Chilean populations of *Xiphinema americanum* sensu lato. **Nematropica**, v. 31(1), p. 47-54, 2001.

ISMAN, M. B. Plant essential oils for pest and disease management. **Crop Protection**, v. 19, p. 603-8, 2000.

ISMAN, M. Insect antifeedants. **Pesticide**, Outlook. 13, p. 152-157, 2002.

ISMAN, M. B. Botanical insecticides, deterrents and repellents in modern agriculture and na increasingly regulatd world. **Annual Review of Entomology**, v. 51, p. 45-66, 2006.

JESUS, F. G. et al. Efeito de plantas inseticidas no comportamento e biologia de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 78(2), p. 279-285, 2011.

JOHNSON, H. A. et al. Thwarting resistance: Annonaceus acetogenins as new pesticidal and antitumor agents. In: Coutler, S. J.; Cutler, H. G. (Ed.). **Biologically active natural products: pharmaceuticals**, p. 173-184, 2000.

JOLAD, S. D.; HOFFMANN, K. H. S.; COLE, J. R. Uvaricin, a new antitumor agent from *Uvaria accuminata* (Annonaceae). **Journal of Organic Chemistry**, v. 47, p. 3151-3153, 1982.

JUNQUEIRA, N. T. V. et al. Graviola para exportação: Aspectos fitossanitários. (Publicações técnicas frupex, 22) Brasília: MAARA – SDR EMBRAPA – SPI, 67p. 1996.

JUSTUS, K. A.; B. K. MITCHELL. Reproductive morphology, copulation, and inter-population variation in the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). **International Journal of Insect Morphology and Embryology**, v. 28, p. 231-244, 1999.

KAWAKISHI, S.; KANEKO, T. Interaction of proteins with allyl isothiocyanate. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 35, p. 85–88, 1987.

KFIR, R. Origin of the diamondback moth (Lepidoptera: Yponomeutidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 91, p. 164-167, 1998.

KIHAMPA, C. et al. Larvicidal and IGR activity of extract of Tanzanian plants against malaria vector mosquitoes. **Journal of Vector Borne Diseases**, v. 46, n. 2, p. 145-152, 2009.

KIM, S. I. et al. Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. **Journal of Stored Products Research**, v. 39, p. 293-303, 2003.

KOKANOVA-NEDIALKOVA, Z.; P. T. NEDIALKOV, P. T.; NIKOLOV, S. D. “The genus *Chenopodium*: phytochemistry, ethnopharmacology and pharmacology”. **Pharmacognosy Reviews**, v. 3, n. 6, p. 280–306, 2009.

LALL, N.; MEYER, J. J. M. In vitro inhibition of drugresistant and drug-sensitive strains of *Mycobacterium tuberculosis* by ethnobotanically selected South African plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 66, p. 347-354, 1999.

LEBOEUF, M. et al. The phytochemistry of the Annonaceae. **Phytochemistry**, v. 21, p. 2783-2813, 1982.

LEBOT, V. Tropical root and tuber crops: cassava, sweet potato, yams and aroids. Wallingford: **Crop production science in horticulture series**, v. 17, 440p., 2009.

LIAW, C. C. et al. Historic perspectives on annonaceous acetogenins from the chemical bench to preclinical trials. **Planta Medica**, v. 76, p. 1390-1404, 2010.

LIMA, M. R. F. **Contribuição para o conhecimento fitoquímico e da atividade biológica de *Annona crassiflora* Mart. e *Schinus terebinthifolius* Raddi**. 2005, 202p. Tese (Doutorado), Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2005.

LIMA, M. D. **Perfil cromatográfico dos extratos brutos das sementes de *Annona muricata* L. e *Annona squamosa* L. através da cromatografia líquida de alta eficiência.** Alagoas, 2007. 102p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Alagoas - Maceió, 2007.

LIMA, L. A. R. S.; PIMENTA, L. P. S.; BOAVENTURA, M. A. D. Acetogenins from *Annona cornifolia* and their antioxidant capacity. **Food Chemistry**, v. 122, n. 4, p. 1129-1138, 2010.

LIU, T. X.; SPARKS, A. N.; CHEN, W. Toxicity, persistence and efficacy of indoxacarb and two other insecticides on *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) immatures in cabbage. **Internacional Journal of Pest Management**, v. 49, n. 3, p. 235-241, 2003.

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. 98p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 1996.

LORENZI, H. Árvores brasileiras. Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil. **Instituto Plantarum de Estudos da Flora LTDA**, 2, 1998.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. Plantas Medicinais no Brasil: Nativas e Exóticas Cultivadas. Nova Odessa: **Instituto Plantarum**, 2002.

LÚCIO, A. S. S. C. et al. Alkaloids of the Annonaceae: occurrence and a compilation of their biological activities. **The alkaloids**. No prelo 2014.

LUNA, J. S. **Estudo de Plantas Bioativas.** Pernambuco, 2006. 254p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Pernambuco, 2006.

MAAS, P. J. M. et al. **Annonaceae from Central-eastern Brazil.** In: Scaloppi Junior, E. J. **Propagação de espécies de Annonaceae com estacas caulinares.** 2007, 92p. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de São Paulo – Jaboticabal, 2007.

MACHADO, L. A. et al. Uso de extratos vegetais no controle de pragas em horticultura. **Biológico**, v. 69(2), p. 103-106, 2007.

MAHAR A. N. et al. Microbial control of diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae) using bactéria (*Xenorhabdus nematophila*) and its metabolites

from the entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae*. **Journal of Zhejiang University Science**, v. 5, p. 1183-1190, 2004.

MAIRESSE, L. A. S. **Avaliação da bioatividade de extratos de espécies vegetais, enquanto excipientes de aleloquímicos**. 2005, 258p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2005.

MANICA, I. et al. Frutas Anonáceas: Ata ou Pinha, Atemólia, Cherimólia e Graviola. Tecnologia de produção, pós-colheita, mercado. Porto Alegre: Editora: **Cinco Continentes**. 596p. 2003.

MARIOT, M. P.; BARBIERI, R. L. Metabólitos secundários e propriedades medicinais da espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss. e *M. aquifolium* Mart.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 9, n. 3, p. 89-99, 2007.

MARSHALL, J. A. et al. A modular synthesis of annonaceous acetogenins. **Journal of Organic Chemistry**, v. 68, p. 1771-1779, 2003.

MARTINELLI, S. et al. Eficácia do indoxacarbe para o controle de pragas em hortaliças. **Horticultura Brasileira**, v. 21, p. 501-505, 2003.

MARTINS, D. Alcaloides, flavonoides e terpenoides de *Xylopiia aromatica*. 1996, 134p. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 1996.

MATSUMOTO, R. S. et al. Allelopathic potential of leaf extract of *Annona glabra* L. (Annonaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 24, n. 3, p. 631-635, 2010.

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: 06 de março de 2015.

MAYER, M. S.; MITCHELL, E. R. Differences between attractive diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), sex pheromone lures are not determinable through analysis of emissions. **Agricultural and Forest Entomology**, v. 1, n. 3, p. 229-236, 1999.

MAZLAN, N.; MUMFORD, J. Insecticide use in cabbage pest management in the Cameron Highlands, Malaysia. **Crop Protection**, v. 24, p. 31-39, 2005.

MAZZONETTO, F.; VENDRAMIM, J. D. Efeito de pós de origem vegetal sobre *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleptera: Bruchidae) em feijão armazenado. **Neotropical Entomology**, v. 32, p. 145-149, 2003.

MEDEIROS, C. A. M.; BOIÇA JÚNIOR, A. L.; TORRES, A. L. Efeito de extratos aquosos de plantas no desenvolvimento de *Plutella xylostella* (L., 1758) em couve. In: **Congresso Brasileiro de Entomologia**, anais, p. 165, 2002a.

MEDEIROS, C. A. M.; BOIÇA JÚNIOR, A. L.; TORRES, A. L. Efeito de extratos aquosos de plantas na repelência para oviposição de *Plutella xylostella* (L., 1758) em couve. In: **Congresso Brasileiro de Entomologia**, anais, p. 164, 2002b.

MEDEIROS, P. T. et al. Instalação e manutenção de criação massal da traça-das-crucíferas *Plutella xylostella*. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. (**EMBRAPA-CENARGEN**, Circular Técnica, 29), 4p. 2003.

MEDEIROS, C. A. M. **Efeito inseticida de extratos vegetais aquosos sobre *Ascia monuste orseis* (Latreille) em couve (*Brassica oleracea* L. var. *acephala* DC.)**. Dissertação de Mestrado, UEP, Jaboticabal, 83p., 2004.

MEDEIROS, C. A. M.; BOIÇA JÚNIOR, A. L.; TORRES, A. L. Efeito de extratos aquosos de plantas na oviposição da traça-das-crucíferas, em couve. **Bragantia**, v. 64, p. 227-232, 2005.

MELO, P. E.; CASTELO BRANCO, M.; MADEIRA, N. R. Avaliação de genótipos de repolho para a resistência à traça das crucíferas. **Horticultura Brasileira**, v. 12, n.1, p. 19-24, 1994.

MELO, D. L. B. **Dormência em sementes de *Annona crassiflora* Mart.** 2005, 50p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2005.

MELLO, A. F. S.; MACHADO, A. C. Z.; INOMOTO, M. M. Potencial de controle da erva-de-Santa-Maria sobre *Pratylenchus brachyurus*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, n. 5, p. 513-516, 2006.

MENDES, S.M. et al. Fall armyworm responses to genetically modified maize expressing the toxin Cry 1A(b). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, p. 239-244, 2011.

MENDES, C.S.O. **Caracterização da composição química e atividade biológica de extratos de *Alternanthera brasiliana* (L.) Kuntze Amarnathaceae.** 2012, 36p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2012.

MENEZES, E. L. A. Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. Seropédica, Rio de Janeiro: **Embrapa Agrobiologia**, 58p. 2005.

MEWIS, I. et al. Major signaling pathways modulate Arabidopsis glucosinolate accumulation and response to both phloem-feeding and chewing insects. **Plant Physiology**, v. 138, p. 1149–62, 2005.

MICHEREFF, M. F. F. et al. Uso do feromônio sexual sintético para captura de machos da traça-das-crucíferas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 10, p. 1919-1926, 2000.

MIGNOUNA, H. D.; DANSI, A.; AND ZOK, S. Morphological and isozymic diversity of the cultivated yams (*Dioscorea cayenensis/Dioscorea rotundata* complex) of Cameroon. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 49, p. 21–29, 2002.

MIGNOUNA, H. D.; ABANG; M. M.; ASIEDU, R. “Genomics of yams, a common source of food and medicine in the tropics,” in **Plant Genetics and Genomics: Crops and Models**, eds P. Moore and R. Ming, p. 549–570, 2008.

MONNERAT, R. G., **Interrelations entre la teigne des cruciferes, *Plutella xylostella*, son parasite *Diadegma* SP. Et La bacterie entomopathogene *Bacillus thuringiensis* Berliner.** 1995, 160p. Tese (Doutorado) – ENSAM – Montpellier, 1995.

MONNERAT, R. G. et al. Efeito do *Bacillus thuringiensis* Berliner e inseticidas químicos sobre a traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae) e seus parasitóides. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 29, n. 4, p. 723-729, 2000.

MONNERAT, R. G. et al. Caracterização de populações geograficamente distintas da traça-das-crucíferas por susceptibilidade ao *Bacillus thuringiensis* Berliner e RAPD-PCR. **Horticultura Brasileira**, v. 22, p. 607-609, 2004.

MORAES, J. M. 2009. **Bioatividade de extratos de Annonaceae sobre *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae).** 2009, 56p. Dissertação (Mestrado), Universidade do Estado de Mato Grosso, Cáceres, 2009.

MORENO, D. A. et al. Chemical and biological characterization of nutraceutical compounds of broccoli. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 41, p. 1508-1522, 2006.

MORSY TOSSON, A.M. et al. The effect of the volatile oils of *Chenopodium ambrosioides* and *Thymus vulgaris* against the larvae of *Lucilia sericata* (Meigen). **Journal of the Egyptian Societ of Pharmacology**, v. 28, n. 2, p. 503- 510, 1998.

MUSGRAVE, M. Realizing the potential of rapid-cycling *Brassica* as a model system for use in plant biology research. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 19, p. 314–325, 2000.

NASCIMENTO, F. C. et al. Acetogeninas de anonáceas isoladas de folhas de *Rollinia laurifolia*. **Química Nova**, v. 26, n. 3, p. 319-322, 2003.

NASCIMENTO, F. R. F. et al. “Ascitic and solid Ehrlich tumor inhibition by *Chenopodium ambrosioides* L. treatment”. **Life Sciences**, v.78, n. 22, p. 2650–2653, 2006.

NIINEMETS, U. et al. Stomatal constraints may affect emission of oxygenated monoterpenoids from the foliage of *Pinus pinea*. **Plant physiology**, v. 130, p. 1371-1385, 2002.

NOVO, M. C. S. S. et al. Morfologia de folhas de couve do Banco de Germoplasma do Instituto Agronômico. Campinas: **Instituto Agronômico de Campinas**, 27p. 2010b.

OKONKWO, E. U. Plant materials used for controlling insect pests of stored products in Nigeria, families Annonaceae, Piperaceae, and Rutaceae. **Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants**, v. 11, n. 1-2, p. 47-69, 2004.

OLIVEIRA, A. C. **Suscetibilidade de populações da traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) a inseticidas**. 2009, 28p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2009.

OLIVEIRA, J. V.; VENDRAMIM, J. D.; HADDAD, M. L. Bioatividade de pós vegetais sobre o caruncho do feijão em grãos armazenados. **Revista Agriculturas**, v. 74, p. 217-224, 1999.

OLIVEIRA, A. T. et al. Impacto da irrigação por aspersão convencional na dinâmica populacional da traça-das-crucíferas em plantas de repolho. **Horticultura Brasileira**, v. 18, n. 1, p. 37-40, 2000.

OMENA, M. C. et al. Larvicidal activities against *Aedes aegypti* of some Brazilian plants. **Bioresouce Technology**, v. 98, p. 2.549-2.556, 2007.

ONODY, H. C. **Estudo da fauna Hymenoptera parasitoides associados a hortas orgânicas e da utilização de extratos vegetais no controle de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae)**. 2009, 127p. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2009.

OSORNIO, J. J.; KUMAMOTO, J.; WASSER, C. Allelopathic activity of *Chenopodium ambrosioides* L. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 24(3), p. 195-205, 1996.

OTAKI, N. et al. Distribution and major sources of flavonoids intakes in the middle-aged Japanese women. **Journal of Clinical Biochemistry Nutrition**, v. 44, p. 231–238, 2009.

PARRA-HENAO, G.; PAJÓN, C. M. G.; TORRES, J. M. C. Actividad insecticida de extractos vegetales sobre *Rhodnius prolixus* y *Rhodnius pallescens* (Hemiptera: Reduviidae). **Boletín de Malariología y Salud Ambiental**, v. 47, n. 1, p. 125-137, 2007.

PEDRALLI, G. Distribuição geográfica e taxonomia das famílias Araceae e Dioscoreaceae no Brasil. In: Carmo, C. A. S. Inhame e taro: sistemas de produção familiar. **Incaper**, p.1 5-26, 2002.

PEREIRA, F. F. et al. Capacidade de parasitismo de *Trichogramma exiguum* Pinto & Platner, 1978 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) em diferentes temperaturas. **Ciência Rural**, v. 37, p. 297-303, 2007.

PERONI, N.; HANAZAKI, N. Current and lost diversity of cultivated varieties, especially cassava, under swidden cultivation systems in the Brazilian Atlantic Forest. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, n. 92, n. 2, p. 171-183, 2002.

PIMENTA, L. P. S. et al. Biological screening of *Annonaceous* Brazilian medicinal plants using *Artemia salina*. **Phytomedicine**, v. 10, p. 209-212, 2003.

PINHEIRO, M. L. B. et al. Acanthoic acid and other constituents from the stem of *Annona amazônica* (Annonaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, n. 6, p. 1095-1117, 2009.

POLYCARP, D. et al. Characterization of chemical composition and anti-nutrition factors in seven species within the Ghanaian yam (*Dioscorea*) germplasm. **Journal of Food Research**, v. 19, p. 985–992, 2012.

PRATISSOLI, D. et al. Selection of *Trichogramma* species for controlling the Diamondback moth. **Horticultura Brasileira**, v. 26, p. 259-261, 2008.

RAGGI, L. **Estudo da composição química e das atividades biológicas de óleos voláteis de espécies de Lauraceae, em diferentes épocas do ano**. 2008, 67p. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente - São Paulo, 2008.

RAINER, H. Monographic studies in the genus *Annona* L. (Annonaceae): inclusion of the genus *Rollinia* A.ST.-HIL. **Annalen Naturhistorischen Museums in Wien** - Serie B 108, p. 191-205, 2007.

RATTER, J. A. et al. Estudo preliminar da distribuição das espécies lenhosas da fitofisionomia Cerrado sentido restrito nos estados compreendidos pelo bioma Cerrado. **Boletim do Herbário Ezechias Paulo Heringer**, v. 5, p. 5-43, 2000.

RAZEK, A. S. A.; GOWEN, S. The integrated effect to the nematode-bacteria complex and neem plant extracts against *Plutella xylostella* (L.) larvae (Lepidoptera: Yponomeutidae) on chinese cabbage. **Archive Phytopathology**, v. 35, n. 2, p. 181-188, 2002.

REDDY, G. V.; URS, K. C. D. Mass trapping of diamondback moth *Plutella xylostella* in cabbage fields using synthetic sex pheromones. **International Pest Control**, v. 39, n. 4, p. 125-126, 1997.

REIS, C. N. ***Annona muricata*: análise química e biológica dos frutos de gravioleira**. Rio de Janeiro, 2011. 150p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Rio de Janeiro, 2011.

RIBANI, R. H. **Compostos fenólicos em erva-mate e frutas**. Campinas – SP, 2006. 158p. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas - Campinas, 2006.

RIBEIRO, L. P. et al. *Annona mucosa* Jacq. (Annonaceae): a promising source of bioactive compounds against *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 55, p. 6-14, 2013.

RINALDI, M. V. N. **Avaliação da atividade antibacteriana e citotóxica dos alcaloides isoquinolínicos de *Annona hypoglauca* Mart.** 2007, 125p. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo - São Paulo, 2007.

ROEL, A. R. Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o Desenvolvimento Rural Sustentável. **Revista Internacional de desenvolvimento Local**, v. 1, n. 2, p. 43-50, 2001.

RONDELLI, V. M. 2010. **Desempenho do fungo *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL. e do óleo de mamona para o controle de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae).** 47p. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2010.

RUEDA, A.; SHELTON, A. M. Diamondback moth (DBM). Global crop pests. Cornell. 1995. Disponível em: <www.nysaes.cornell.edu/ent/horticrops/english/dbm.html> Acesso em: 08 de março de 2015.

SANTOS, D. Y. A. C.; SALATINO, M. L. F. Foliar flavonoids of Annonaceae from Brazil: taxonomic significance. **Phytochemistry**, v. 55, p. 567 – 573, 2000.

SANTOS, E. S. Cultura do inhame (*Dioscorea ssp.*). João Pessoa: **EMEPA-PB, SEBRAE**, 9p., 2002.

SANTOS, C. E.; ROBERTO, S. R.; MARTINS, A. B. G. Propagação do biribá (*Rollinia mucosa*) e sua utilização como porta-enxerto de pinha (*Annona squamosa*). **Acta Scientiarum**, v. 27, n. 3, p. 433-436, 2005.

SANTOS, S. G.; CORRÊA, R. X. Diversidade genética de *Chenopodium ambrosioides* da região cacauieira da Bahia com base em marcadores RAPD. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 1, p.161-164, 2006.

SARFRAZ, M.; B. A. KEDDIE. Conserving the efficacy of insecticides against *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). **Journal of Applied Entomology**, v. 129, p. 149-157, 2005.

SCARCELLI, N.; TOSTAIN, S.; MARIAC, C. Genetic nature of yams (*Dioscorea sp.*) domesticated by farmers in Benin (West Africa). **Genetic Resources and Crop Evolution**, Dordrecht, v. 53, p. 121–130, 2006.

SCHMALTZ, C.; SANTOS, J. V.; GUTERRES, S. S. Nanocápsulas como uma tendência promissora na área cosmética: a imensa potencialidade deste pequeno grande recurso. **Infarma**, p. 16-80, 2005.

SHAALAN, E. A. et al. review of botanical phytochemicals with mosquitocidal potential. **Environment International**, v. 31, n. 8, p. 1149-1166, 2005.

SHARMA, A. et al. Insecticidal toxicity of apilanthol from *Spilanthes acmella* Murr. against *Plutella xylostella* L. **Scientific Research - American Journal of Plant Sciences**, v. 3, p. 1568-1572, 2012.

SILVA, A. L. et al. Avaliação de inseticidas piretróides no controle da traça das crucíferas *Plutella xylostella* (L., 1758) em repolho. **Anais das Escolas de Agronomia e Veterinária**, v. 23, n. 1, p. 7-12, 1993.

SILVA, D. B. et al. Frutas do cerrado. Brasília: **Embrapa**, 178 p. 2001.

SILVA, V. C. A. et al. Suscetibilidade de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) aos fungos *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. **Neotropical Entomology**, v. 32, p. 653-658, 2003.

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 greviodes* (Baill.) sobre *Zabrotes subfasciatus* (Boheman)**. 2007, 45p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco - Recife, 2007.

SILVA, M. S. et al. Alkaloids and other constituents from *Xylopiya langsdorffiana* (Annonaceae). **Química Nova**, v. 32(6), p. 1566-1570, 2009.

SIMÕES, C. M. O. et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5. ed., Porto Alegre/Florianópolis: **UFRGS/ UFSC**. p. 1090, 2007.

SOUSA, M. P. et al. Constituintes químicos ativos de plantas medicinais brasileiras. **Edições UFC**, 416p., 1991.

SOUZA, V.C.; LORENZI, H. Botanica Sistemática-Guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II, **Instituto Plantarum de Estudos da Flora** Ltda., Nova Odessa, SP. pp. 403-404, 2005.

SOUZA, C. D.; FELFILI, J. M. Uso de plantas medicinais na região de Alto Paraíso de Goiás, GO, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, n. 1, p. 135-142, 2006.

SPENCER, J. L. Waxes enhance *Plutella xylostella* oviposition in response to sinigrin and cabbage homogenates. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 81, p. 165-173, 1996.

SPENCER, J. L.; PILLAI, S.; BERNAYS, E. A. Synergism in the oviposition behavior of *Plutella xylostella*: sinigrin and wax compounds. **Journal of Insect Behavior**, v.12, p.483-500, 1999.

STEINER, F. et al. Efeito do composto orgânico sobre a produção e acúmulo de nutrientes nas folhas de couve manteiga. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 4, n. 2, p. 1886-1890, 2009.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Plant Physiology. Redwood City: **The Benjamin/Cumming Publishing**, 565p., 1998.

TALEKAR, N. S.; SHELTON, A. M. Biology, ecology, and management of the diamondback moth. **Annual Review of Entomology**, v. 38, p. 275-301, 1993.

TAPONDJOU, L. A. et al. Efficacy of powder and essential oil from *Chenopodium ambrosioides* leaves as post-harvest grain protectants against six-stored product beetles. **Journal of Stored Products Research**, v. 38, n. 4, p. 395-402, 2002.

THULLER, R.T.; BORTOLI, S. A.; HOFFMAN-CAMPO, C. B. Classificação de cultivares de brássicas com relação à resistência à traça-das-crucíferas e à presença de glucosinolatos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 4, p. 467-474, abr. 2007.

TORRES, A. L. **Efeito de extratos aquosos de plantas na biologia de *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae)**. 2000, 68P. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco - Recife, 2000.

TORRES, A. L.; BOIÇA JÚNIOR, A. L.; BARROS, R. Determinação da CL50 de extratos aquosos de plantas e efeito na biologia de *Plutella xylostella* (L., 1758) em couve. In: **Congresso Brasileiro de Entomologia**, 2002, anais, p. 135. 2002a.

TORRES, A. L. et al. Efeito de extratos aquosos de plantas na fase embrionária de *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae). In: **Congresso Brasileiro de Entomologia**, 2002, anais, p. 140. 2002b.

TORRES, A. L. et al. Efeito de extratos aquosos de *Azadirachta indica*, *Melia azedarach* e *Aspidosperma pryrifolium* no desenvolvimento e oviposição de *Plutella xylostella*. **Bragantia**, v. 65, n. 3, p. 447-457, 2006.

TORRES, C. S. A. S.; BARROS, R.; TORRES, J. B. Efeito da idade, fotoperíodo e disponibilidade de hospedeiro no comportamento de parasitismo de *Oomyzus sokolowskii* Kurdjumov (Hymenoptera: Eulophidae). **Neotropical Entomology**, v. 38, p. 512-519, 2009.

TOSTAIN, S. et al. Genetic diversity analysis of yam cultivars (*Dioscorea rotundata* Poir) in Benin using simple sequence repeat (SSR) markers. **Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization**, v. 5, n. 2, p. 71-81, 2007.

- TRINDADE, R. C. P. Extratos aquosos de inhame (*Dioscorea rotundata* Poirr.) e de mastruz (*Chenopodium ambrosioides* L.) no desenvolvimento da lagarta-do-cartucho-do-milho *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 2, p. 291-296, 2015.
- ULMER, B. et al. Diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.), feeding and oviposition preferences on glossy and waxy *Brassica rapa* (L.) lines. **Crop Protection**, v. 21, p. 327-331, 2002.
- VACARI, A. M. et al. Comparison of Eggs, Larvae, and Pupae of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) as Prey for *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 106, n. 2, p. 235-242, 2013.
- VAN DAM, N. M.; RAAIJMAKERS, C. E.; VAN DER PUTTEN, W. H. Root herbivory reduces growth and survival of the shoot feeding specialist *Pieris rapae* on *Brassica nigra*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 115, p. 61-70, 2005.
- VANDEMBERG, J. D. et al. Assesment of *Beauveria bassiana* sprays for control the diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) on crucifers. **Journal of Economic Entomology**, v. 91, n. 3, p. 624-630, 1998.
- VARGAS, I. A. et al. Effect of plant extracts on the growth and aflatoxin production of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. **Revista Mexicana de Fitopatologia**, v. 15, n. 2, p. 91-95. 1997.
- VASQUEZ, B. L. Resistance to most insecticides. In: T.J. Walker (ed.), University of Florida of Insect Records. Chapter 15: Resistant to Most Insecticides: Department of Entomology & Nematology. **University of Flórida**, Gainesville. 1995. Disponível em: <<http://ufbir.ifas.ufl.edu/chap15.htm>>. Acessado em: 10/003/2015.
- VEGA, M. R. G. et al. Flavonoids from *Annona dioica* leaves and their effects in Ehrlich carcinoma cells, DNA-topoisomerase I and II. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 18, n. 8, p. 1554-1559, 2007.
- VENDRAMIM, J. L.; CASTIGLIONI, E. Aleloquímicos, resistência de plantas e plantas inseticidas. In: Guedes, J. C.; Costa, I. D.; Castiglioni, E. (Org.) Bases e Técnicas do Manejo do Inseto. **Pallotti**, 234p. p.113-128, 2000.
- VILELA, E. F.; DELLA LUCIA, T. M. C. Introdução aos semioquímicos e terminologia. In: Vilela, E. F.; Della Lucia, T. M. C. (Org.). Feromônios de insetos. Biologia, química e emprego no manejo de pragas. 2 ed. Ribeirão Preto: Editora **HOLOS**, p. 9-23, 2001.

VILLAS BOAS, G. L.; CASTELO BRANCO, M.; GUIMARÃES, A. L. Controle químico da traça das crucíferas no Distrito Federal. **Horticultura Brasileira**, v. 8, p. 10-11, 1990.

VILLAS BOAS, G. L. et al. Manejo da traça-das-crucíferas utilizando-se genótipos resistentes associados ao nível de dano econômico. In: Congresso Brasileiro de Olericultura, Recife. Resumos: Recife: **Horticultura Brasileira**, p. 338, 2003.

WATERHOUSE, D. F. *Plutella xylostella* (Linneus) (Lepidoptera: Yponomeutidae), diamondback cabbage moth. In: WATERHOUSE, D. F.; NORRIS, K. R. (Ed.). **Biological control**, chap. 22, p. 177-191, 1987.

WEI, H. et al. The toxicity and physiological effect of essential oil from *Chenopodium ambrosioides* against the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae), v. 76, p. 68-74, 2015.

WHALON, M. E. Department of Entomology, Michigan State University, B11 Center for Integrated Plant Systems, East Lansing, **MI 48824**, USA, 2008.

ZALUCKI, M. P. et al. Estimating the Economic Cost of One of the World's Major Insect Pests, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae): Just How Long is a Piece of String? **Journal of Economic Entomology**, v. 105, p. 1115-1129, 2012.

ZENG, L. et al. Recent Advances in Annonaceous Acetogenins. **Natural Product Reports**, v. 29, p. 275-310, 1996.

TOXICIDADE E ESTUDO FITOQUÍMICO BIOMONITORADO DE *Annona crassiflora* Mart. E *Annona mucosa* Jacq. (Annonaceae) SOBRE *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae)

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi estimar as concentrações letais (CL₅₀ e CL₉₉) e realizar o estudo fitoquímico biomonitorado dos extratos de *Annona crassiflora* Mart. e *Annona mucosa* Jacq. (Annonaceae) sobre a traça-das-crucíferas *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae). A estimativa das concentrações letais foi realizada por análise de Probit utilizando as concentrações de 0,03; 0,06; 0,13; 0,27 e 0,57% para *A. crassiflora* e as concentrações de 0,0008; 0,001; 0,003; 0,006; 0,01 e 0,29% para *A. mucosa*. Para o estudo fitoquímico biomonitorado foram realizadas partições líquido-líquido, coluna cromatográfica de sílica e cromatografia líquida de média pressão (MPLC). A estimativa da (CL₅₀ e CL₉₉) dos extratos brutos de *A. crassiflora* e *A. mucosa* foram 0,0009 g.mL⁻¹, 0,029 g.mL⁻¹, 0,00004 g.mL⁻¹ e 0,0005 g.mL⁻¹, respectivamente, consideradas ativas positivamente a lagartas de *P. xylostella*. As partições oriundas das extrações com solvente clorofórmio (CHCl₃) foram as mais ativas nos testes de letalidade, com mortalidade registrada para *A. crassiflora* de 84% e 89% para *A. mucosa*. Depois de avaliada a atividade, as partições foram submetidas a fracionamento em coluna de sílica. As frações de *A. crassiflora* e *A. mucosa* obtidas da mistura de solventes hexano e clorofórmio (HEX:CHCl₃) (1:1) foram consideradas mais ativas e causaram 84 e 74% de mortalidade, respectivamente. Em seguida, foram realizados testes inseticidas das frações de MPLC. O bioensaio de mortalidade realizado das frações oriundas de MPLC com a (CL₂₅), resultou em frações com mistura de solventes hexano e acetato, na qual a fração (HEX:ACOET) (3:7) da espécie *A. crassiflora* causou mortalidade de 55% e a fração (HEX:CHCl₃) (1:1) 39-45 de *A. mucosa* 72%. Após essa determinação de atividade inseticida por meio de fracionamento biomonitorado das duas espécies de anonáceas, foi dada continuidade a purificação e realizado a identificação do constituinte químico através de Cromatografia Líquida de Alta Pressão (CLAE) e Ressonância Magnética Nuclear (RMN), respectivamente. Através destas análises, foi possível o isolamento de uma acetogenina de *A. mucosa* como molécula responsável pela toxicidade aos insetos, que foi identificada como squamocina. Desta forma, derivados das sementes de *A. crassiflora* e *A. mucosa* mostram ser um componente eficaz no controle de *P. xylostella*, apresentando efeito letal em lagartas.

Palavras-chave: Traça-das-crucíferas. Bioinseticida. Acetogeninas.

ABSTRACT

The objective of this study was to estimate the lethal concentrations (CL₅₀ and CL₉₉) and conduct the study phytochemical biomonitoring of extracts *Annona crassiflora* MART. and *Annona mucosa* JACQ. (Annonaceae) on the diamondback moth *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae). The estimate of lethal concentrations was done per Probit analysis using concentrations of 0.03, 0.06, 0.13, 0.27 and 0.57% for *A. crassiflora* and concentrations of 0.0008, 0.001, 0.003, 0.006, 0.01 and 0.29% for *A. mucosa*. To study the biomonitoring phytochemicals were done liquid-liquid partition, column chromatography of silica and medium pressure liquid chromatography (MPLC). The estimate of (LC₅₀ and LC₉₉) crude extracts from *A. crassiflora* and *A. mucosa* were 0,0009 g.mL⁻¹, 0,029 g.mL⁻¹, 0,00004 g.mL⁻¹ and 0,0005 g.mL⁻¹ respectively and evaluation of insecticidal activity both species were active positively to caterpillars *P. xylostella*. The partitions derived from the extraction solvent chloroform (CHCl₃) were the most active in the mortality tests. Mortality was registered for *A. crassiflora* 84% and 89% for *A. mucosa*. After evaluating activity, the partitions were submitted to fractionation. Fractions *A. crassiflora* and *A. mucosa* obtained from the mixture of hexane and chloroform solvents (HEX: CHCl₃) (1:1) were considered more active and caused 84 and 74% mortality, respectively. Then insecticide tests were carried out in fractions of MPLC. In the bioassay (MPLC) with (LC₂₅) resulted in fractions with a mixture of hexane and ethyl acetate solvents, in which the fraction (HEX: ACOET) (3:7) of *A. crassiflora* registered mortality of 55% and (HEX: CHCl₃) (1:1) 39-45 *A. mucosa* 72%. After this determination of insecticidal activity through biomonitoring fractionation of the two species of Annonaceae, purification was continued and accomplished the identification of the chemical constituent through High Pressure Liquid Chromatography (HPLC) and nuclear magnetic resonance (NMR), respectively. Through these analyzes, it was possible to isolate an acetogenin *A. mucosa* as a molecule responsible for toxicity to insects, which was identified as squamocina. Thus, derived from the seeds of *A. crassiflora* and *A. mucosa* showed an effective component in the control of *P. xylostella*, with lethal effect on caterpillars.

Keywords: Diamondback moth. Bioinsecticide. Acetogenins.

1 Introdução

Produtos naturais extraídos de plantas constituem-se em fonte de substâncias bioativas compatíveis com programas de manejo integrado de pragas (MIP), o que pode reduzir os efeitos negativos ocasionados pela aplicação indiscriminada de inseticidas organossintéticos ao meio ambiente (MEDEIROS; BOIÇA JÚNIOR; TORRES, 2005; THULLER et al., 2008; ZOTTI et al., 2010).

Segundo Vasconcelos, Gondim Junior e Barros (2006), uma alternativa que vem sendo retomada para o controle de pragas é o uso de metabólitos secundários presentes em inúmeras plantas, as quais são chamadas de plantas inseticidas. Diversas substâncias oriundas dos produtos intermediários ou finais do metabolismo secundário dessas plantas, que podem ser encontradas nas raízes, folhas e sementes, podem interferir severamente no metabolismo de outros organismos, causando impactos variáveis, como repelência, deterrência alimentar e de oviposição, esterilização, bloqueio do metabolismo e interferência no desenvolvimento, sem necessariamente causar a morte (MEDEIROS, 1990; LANCHER, 2000; BOIÇA JÚNIOR et al., 2005).

O potencial inseticida de diversas plantas já foi comprovado cientificamente, entre elas, as mais promissoras são as das famílias Meliaceae, Rutaceae, Asteraceae, Annonaceae, Piperaceae e Canellaceae (JACOBSON, 1989; ISMAN, 2006). Dentre estas famílias de plantas, a bioatividade das Annonaceae já foi verificada para diversas espécies de insetos, em especial sobre a traça-das-crucíferas, *Plutella xylostela* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) (LAETAMIA; ISMAN, 2004; DADANG; PRIJONO, 2009; TRINDADE et al., 2011).

Do ponto de vista fitoquímico, a família Annonaceae se destaca pelos variados tipos de metabólitos secundários. Dados quimiotaxonômicos caracterizam esta família pela presença de alcaloides, flavonoides e terpenoides, principalmente diterpenos (SILVA et al., 2009). Os estudos sobre fitoquímica e atividade biológica das anonáceas estão sendo intensificados devido à presença das acetogeninas (ACGs), que são uma classe de compostos com ampla atividade biológica (MATSUMOTO et al., 2010), tais como citotóxica, imunossupressora, inseticida, antiparasitária e antimicrobiana (LIMA; PIMENTA; BOAVENTURA, 2010).

As ACGs são substâncias naturais encontradas exclusivamente na família Annonaceae, sendo o gênero *Annona* a principal fonte desta classe de compostos, uma vez que, das 417 acetogeninas conhecidas até 2004, já foram isoladas 289 a partir de 20 espécies

deste gênero (BERMEJO et al., 2005). No Brasil, algumas espécies desse gênero são bastante apreciadas como *Annona crassiflora* MART. (DUTRA et al., 2012) e *Annona mucosa* Jacq. planta nativa da Floresta Amazônica e Mata Atlântica (LORENZI, 2002).

Em estudos realizados no Estado de Goiás, Souza e Felfili (2006) descreveram que *A. crassiflora* também é empregado como inseticida. Omena et al. (2007) comprovaram efeito inseticida em extratos preparados com a raiz de *A. crassiflora*, possibilita seu emprego no controle do mosquito vetor da dengue *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae). Pesquisas executadas por (ALALI; LIU; MCLAUGHLIN, 1999; RIBEIRO et al., 2013; COSTA et al., 2013) utilizando extratos de *A. mucosa*, constataram que esta contém substâncias com potencial inseticida.

Considerando que *A. crassiflora* e *A. mucosa* apresentam potencial inseticida sobre insetos-praga, o presente estudo teve como objetivo realizar um estudo fitoquímico com a atividade inseticida biomonitorada de extratos de sementes destas anonáceas no controle de *P. xylostella*.

2 Material e Métodos

O presente trabalho foi conduzido no Laboratório de Entomologia: controle alternativo de pragas, no Laboratório de Pesquisa em Recursos Naturais (LPqRN) e em casa-de-vegetação do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas, em Rio Largo, AL, Brasil.

2.1 Condução da cultura

Sementes de couve da variedade 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 30 dias, as mudas foram transplantadas para local definitivo em canteiros de alvenaria preenchidos com mistura de terra preta e torta de filtro de cana-de-açúcar (1:1). Foram adotados tratamentos culturais segundo Filgueira (2008), exceto a utilização de inseticidas. Folhas de couve foram utilizadas para os experimentos a partir de 40 a 55 dias após o transplante.

2.2 Obtenção e criação de *Plutella xylostella*

A criação e multiplicação foi estabelecida no laboratório de Controle Alternativo de Pragas, sob condições de temperatura de 25 ± 2 °C, umidade relativa do ar de 67 ± 2 % e fotofase de 12h, a partir de pupas oriundas de criação do Laboratório de Entomologia Agrícola da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) e de uma área de plantio do Centro de Ciências Agrárias em Rio Largo, AL, Brasil.

Após a emergência, os adultos foram liberados em gaiolas plásticas transparentes circulares (12cm de diâmetro x 15cm de altura) com abertura lateral fechada com tela antiáfideo. Em cada gaiola foi colocado um pote plástico coberto com espuma umedecida com água destilada, 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 as folhas em condições de campo, e uma esponja embebida com solução açucarada a 10%, na parte superior da gaiola, para alimentação dos adultos. Os discos de folhas eram substituídos diariamente, e mantidos em placas de Petri de 8 cm de diâmetro até a eclosão das lagartas.

Lagartas recém eclodidas, oriundas de posturas realizadas nos discos de couve, foram transferidas para recipientes plásticos (20 cm de comprimento x 10 cm de largura x 5 cm de altura) contendo folhas de couve. As folhas eram substituídas a cada dois dias até as lagartas atingirem a fase de pupa. As pupas foram transferidas para tubos de vidro de fundo chato (8,5 cm de comprimento x 1,5 cm de diâmetro) e fechados com filme plástico transparente. Pequenos furos eram realizados no filme plástico para que houvesse possibilidade de circulação de ar. Após 72 horas, emergiam os adultos, que eram transferidos para as gaiolas.

2.3 Obtenção das sementes e preparo de extratos de *Annona crassiflora* e *Annona mucosa*

As sementes de *A. crassiflora* e *A. mucosa* foram coletadas em abril de 2008 e outubro de 2009, respectivamente, no município de Tangará da Serra, Estado do Mato Grosso, Brasil (14°39'S; 57°26'W). As espécies estão depositadas no Herbário Tang., localizado na Universidade do Estado de Mato Grosso, Campus de Tangará da Serra, MT, Brasil. As exsiccatas de *A. crassiflora* e de *A. mucosa* estão depositadas sob os números 442 e 964, respectivamente.

Após coletar as sementes de *A. crassiflora* e *A. mucosa*, as mesmas foram secas e moídas até obter a granulometria de pó fino (malha 2,5 mm). Obtiveram-se (2,0kg) de *A. crassiflora* e (2,0Kg) de *A. mucosa*. O solvente metanol (3,0L) foi utilizado para obtenção do

extrato bruto de *A. crassiflora* e etanol (3,0L) para *A. mucosa*, em temperatura ambiente (25-27°C) durante três dias e filtrado. O resíduo foi extraído mais duas vezes de modo semelhante. Os solventes foram removidos por destilação sob pressão reduzida em evaporador rotativo e os extratos reunidos em recipientes hermeticamente fechados e etiquetados.

2.4 Toxicidade de extratos brutos de *Annona crassiflora* e *Annona mucosa* sobre *Plutella xylostella*

Foram realizados pré-testes de atividade inseticida com os extratos orgânicos de *A. crassiflora* e *A. mucosa* em diferentes concentrações para determinar valores próximos do Limite Superior (LS) e Limite Inferior (LI) dos extratos e assim observar qual extrato seria mais viável. Posteriormente, foram realizados bioensaios com os extratos de *A. mucosa* (etanólica) e *A. crassiflora* (metanólica), para determinação da CL_{50} . Para isto, foram estimadas seis concentrações através da fórmula de Finney (1971), $q = n+1\sqrt{an/a1}$, onde q é a razão da progressão geométrica, n é o número de concentrações a serem extrapoladas, an é o limite superior e $a1$ é o limite inferior.

As soluções dos extratos orgânicos foram solubilizadas em água destilada acrescentando-se um solvente dimetilsulfóxido (DMSO) a 1% v/v até as seguintes concentrações: 0,03; 0,06; 0,13; 0,27 e 0,57% (*A. crassiflora*) e 0,0008; 0,001; 0,003; 0,006; 0,01 e 0,29% (*A. mucosa*).

Foram confeccionados discos foliares de 8 cm de diâmetro com folhas de couve, que foram pulverizados com a solução dos extratos em diferentes concentrações, utilizando-se torre de Potter (POTTER, 1952). A aplicação foi realizada a uma pressão de 5 psi/pol² utilizando-se um volume de calda de 2,3 mL, o que corresponde a um depósito de $1,9 \pm 0,37$ mg.cm⁻². Esta quantidade aplicada está de acordo com o recomendado pela IOBC/WPRS (International Organization for Biological Control of Noxious Animals and Plants/ West Palearctic Regional Section) e representa o que ocorre no campo (REIS et al., 1998).

Os discos tratados com os extratos foram distribuídos sobre uma superfície coberta com papel toalha, onde permaneceram ao ar livre para evaporação do excesso de água. Lagartas recém eclodidas eram colocadas em placas de Petri de 8cm de diâmetro, contendo um disco tratado sobre papel de filtro umedecido com água destilada, para manutenção da umidade, mantidos nas condições climáticas da etapa de criação. A partir do terceiro dia de

montagem do bioensaio (período de tempo em que a lagarta sai do hábito alimentar de minador da folha), iniciaram-se as avaliações da mortalidade larval.

2.4.1 Análise dos dados

O experimento de toxicidade de extratos brutos foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, composto por sete tratamentos, sendo seis (concentrações) mais a testemunha e dez repetições. Para estimativa da concentração letal (CL_{50}), foi utilizado um modelo binomial com função de ligação complemento log-log (modelo de gompit), utilizando-se o Probit Procedure do software SAS versão 9.2 (SAS Institute, 2000).

O delineamento estatístico utilizado para os testes inseticidas com partições e frações foi o inteiramente casualizado contendo 10 repetições. A análise foi feita por comparação de médias pelo teste de Tukey utilizando o programa ASSISTAT versão 7.5 (Silva; Azevedo, 2009).

As partições e frações obtidas das separações foram testadas em lagartas recém-eclodidas de *P. xylostella* seguindo mesmo procedimento experimental do (item 2.4).

2.5 Estudo fitoquímico de extratos de *Annona crassiflora* e *Annona mucosa*

2.5.1 Partição líquido-líquido

O extrato bruto metanólico de *A. crassiflora* (149,0 g) foi suspenso em metanol e extraído com n-hexano (4 x 400 mL). Depois com a porção metanólica foi acrescida de água até obtenção de uma mistura metanol:água (1:1 v/v). A solução foi particionada à temperatura ambiente (25-27 °C), sucessivamente, com clorofórmio (400 ml x 4) e acetato de etila (400 ml x 4), originando, respectivamente, as frações hexânica (56,6 g; 37,9%), clorofórmica (85,4 g; 57,3%), acetanólica (3,9 g; 2,6%) e uma hidrometanólica (0,35 g; 0,23%) após remoção dos solventes.

O extrato bruto etanólico de *A. mucosa* foi submetido ao mesmo processo de partição com solventes de polaridades crescentes (hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol).

2.5.2 Fracionamento da partição bioativa através de cromatografia em coluna de sílica dos extratos de *Annona crassiflora* e *Annona mucosa*

Mediante os resultados obtidos no bioensaio inseticida anterior, a fração mais ativa da partição líquido-líquido, *A. crassiflora* (MeOH) e *A. mucosa* (EtOH) foram solubilizadas em seus respectivos solventes e incorporadas em sílica fina e submetida a fracionamento cromatográfico em coluna de sílica.

A coluna cromatográfica foi preenchida com (6,0g) de sílica em suspensão em acetato. A amostra bioativa incorporada em sílica foi introduzida na coluna e eluída com solventes em gradiente crescente de polaridade.

Para a fração clorofórmio de *A. crassiflora* (MeOH) foram utilizados os solventes: HEX:CHCl₃ (1:1); CHCl₃; CHCl₃:ACOET (9:1); CHCl₃:ACOET (1:1); ACOET; ACOET:MeOH (9:1) e MeOH.

A fração de clorofórmio de *A. mucosa* (80,0g) foi incorporada em gel de sílica (350,0g) e extraiu-se sucessivamente com HEX (5,6g -7,0%), HEX:CHCl₃ (1:1) (25,0g - 31,25%), CHCl₃ (31,0g - 38,75%), ACOET (12,0g - 15,0%), ACOET:MeOH (9:1) (2,5g - 3,12 %) e MeOH (2,1g - 2,62%) originando as respectivas frações.

2.5.3 Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

As frações obtidas nos métodos de cromatografia em coluna de Sílica e Sephadex foram submetidas à análises por CCD sobre cromatoplasmas padronizadas 60 (Merck®) com dimensões de 10 cm x 10 cm, tendo como fase estacionária gel de sílica de fase normal, ativadas a 100°C por 3-5 minutos. As frações, dissolvidas em seus respectivos solventes, foram aplicados sobre as placas com auxílio de um capilar e, em seguida, eluídos com diversas combinações de solventes.

Foram utilizados HEX:ACOET (1:1); ACOET:MeOH (9:1) entre outros. De acordo com os resultados de CCD as amostras eram selecionadas. As frações que apresentaram ser ricas em acetogeninas foram eluídas nos respectivos solventes e suas combinações e em seguida utilizou o revelador de Kedde para ocorrer a reação.

2.5.4 Cromatografia Líquida de Média Pressão (MPLC)

A fração CHCl₃:ACOET (1:1) (25g) de *A. crassiflora* foi dividida em duas partes identificadas por fração A e B. A f. A CHCl₃:ACOET (1:1) (25g) de *A. crassiflora* e a f. HEX-CHCl₃ (1:1) (20g) de *A. mucosa* foram comparadas através de cromatografia em

camada delgada (CCD) visando a identificação das similaridades das amostras vegetais. Posteriormente, foram purificadas por meio de (MPLC) em coluna de C-18, eluindo com os solventes HEX:ACOET e ACOET em gradiente crescente de polaridade (7:3; 7:4; 7:5; 3:7).

Para a fração A CHCL₃:ACOET (1:1) de *A. crassiflora* utilizou-se uma coluna de sílica de 80 gramas, fluxo contínuo de 15mL/min e 4 gramas de amostra. A fase móvel usada no tratamento foi hexano e acetato com variações nas proporções e no tempo (Tabela 1).

Tabela 1 - Fracionamento da fração A CHCL₃:ACOET (1:1) de *Annona crassiflora* (MeOH).

Proporções	Tempo
HEX: ACOET (6:4)	4 minutos
HEX: ACOET (1:1)	4 minutos
HEX: ACOET (3:7)	4 minutos
ACOET	4 minutos
ACOET: MeOH (8:2)	8 minutos

Fonte: Autor, 2016.

A fração B CHCL₃:ACOET (1:1) de *A. crassiflora* (MeOH), foi eluída com hexano, acetato e metanol e suas misturas em intervalos de uma hora, conforme descritos na (Tabela 2).

Tabela 2 - Fracionamento da fração B CHCL₃:ACOET (1:1) de *Annona crassiflora* (MeOH).

Proporções	Tempo
HEX: ACOET (6:4)	1 hora
HEX: ACOET (1:1)	1 hora
HEX: ACOET (3:7)	1 hora
ACOET	1 hora
ACOET: MeOH (8:2)	1 hora

Fonte: Autor, 2016.

As subfrações oriundas destes fracionamentos foram submetidas a CCD e reunidas por similaridade. Após, foram evaporadas em evaporador rotativo, armazenadas em frascos hermeticamente fechados e etiquetados.

2.5.5 Cromatografia de alta eficiência (CLAE)

As corridas cromatográficas analíticas foram realizadas com solventes ultrapuros. Na fase móvel foi utilizada água Milli-Q, obtida em equipamento MILLIPORE Simplicity UV e metanol grau HPLC J.T. Baker, filtrado em membrana de nylon 0,45 µm x 47 mm com sistema SUPELCO, próprio para filtração de solventes. As amostras foram analisadas em cromatógrafo líquido Shimadzu (Japão), bombas LC-10ADvp, controladora SCL-10Avp, degaseificador DGU-20A₃, detector SPD-M20A e autoinjeter SIL-20A HT. Coluna C18 (Shimadzu, Japão) (150 x 4,6 mm; 5µm), com sistema de eluição em gradiente, A: água Milli-Q e B: MeOH 5%B 0 min, 5%-100%B 0-25 min, 100%B 30 min, 5%B 40 min.

Todas as frações, antes de injetadas no cromatógrafo, foram filtradas em filtro de seringa MILLIPORE Millex - HV 0,45 µm PVDF (Polifluoreto de vinilideno).

As quatro frações analisadas foram: A e B HEX:CHCL₃ (3:7) de *A. crassiflora* e HEX:CHCL₃ (1:1) 7-9 e 39-45 de *A. mucosa*. Após a realização das análises de extratos em CLAE, posteriormente as amostras foram purificadas em coluna de sílica e sephadex, guiando-se por análises de CCD.

2.5.6 Cromatografia em coluna de Sílica das amostras de *Annona crassiflora*

Através da análise dos cromatogramas obtidos no CLAE, as frações de *A. crassiflora* foram reunidas, solubilizadas em seus respectivos solventes, incorporadas em sílica fina e submetidas a fracionamento cromatográfico em coluna de sílica.

A coluna cromatográfica foi preenchida com 60 gramas de sílica em suspensão em acetato. A amostra incorporada foi introduzida na coluna e eluída com solventes em gradiente crescente de polaridade.

As frações A e B HEX:ACOET (3:7) de *A. crassiflora* continham 5,5g e 1,6g, respectivamente. Para realizar a eluição das frações foram utilizados os seguintes eluentes: HEX:ACOET (9:1); HEX:ACOET (2:1); HEX:ACOET (3:2); HEX:ACOET (1:1); HEX:ACOET (1:2); ACOET; ACOET:MeOH (1:1) e MeOH.

2.5.7 Cromatografia em coluna de Sephadex das frações de *Annona crassiflora* e *Annona mucosa*

Este método foi realizado nas amostras das frações B HEX:ACOET (3:7) (2-4) e (12-16) de *A. crassiflora* e HEX:CHCL₃ (1:1) (7-9) e (39-45) de *A. mucosa*, oriundos da cromatografia em coluna de sílica, por apresentar os melhores sinais cromatográficos em CCD (Figuras 2 e 3).

Para a montagem da coluna em Sephadex LH-20, foram pesados 7 gramas do gel, o qual foi misturado com o eluente metanol. A mistura foi então colocada numa coluna e o seu empacotamento foi feito de forma simples, apenas com a força da gravidade.

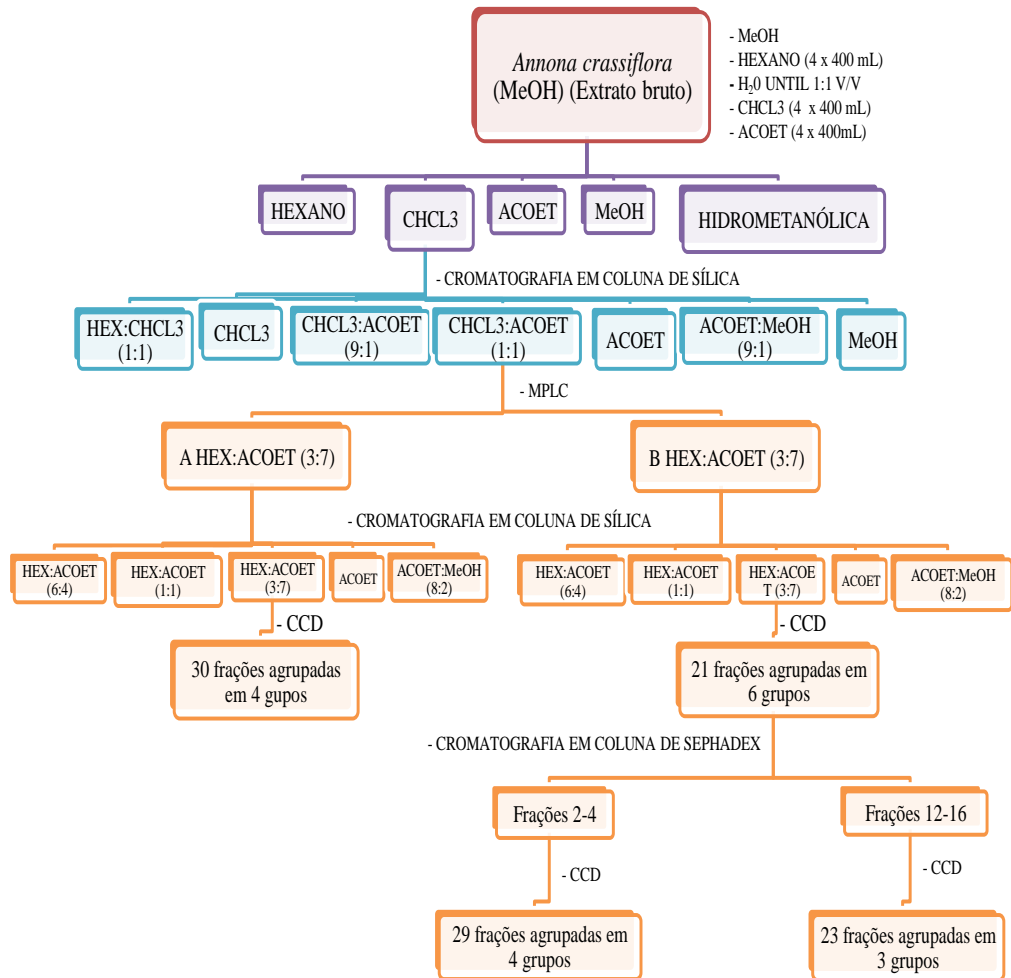
Com as subfrações, acima descritas, foram preparadas soluções pela dissolução de 1,6g de *A. crassiflora* e 0,8 g de *A. mucosa* em 2 mL de metanol. Em seguida, foram aplicadas na coluna de gel sephadex LH-20 e após a penetração da amostra no gel, foram eluídas com metanol. A coleta foi realizada por gotejamento e as frações retiradas a cada 20 mL. As subfrações obtidas foram avaliadas por CCD e aquelas que apresentavam semelhanças cromatográficas foram reunidas.

Com base nos resultados, as frações foram reunidas pelas semelhanças apresentadas nesse método, resultando num total de sete frações para *A. crassiflora* e quatro de *A. mucosa*. Em virtude da quantidade limitada obtida de cada fração, apenas aquelas ricas em ACGs foram submetidas à avaliação da atividade inseticida em *P. xylostella* conforme descritos no (item 2.4).

2.6 Identificação de ACG de *Annona mucosa*

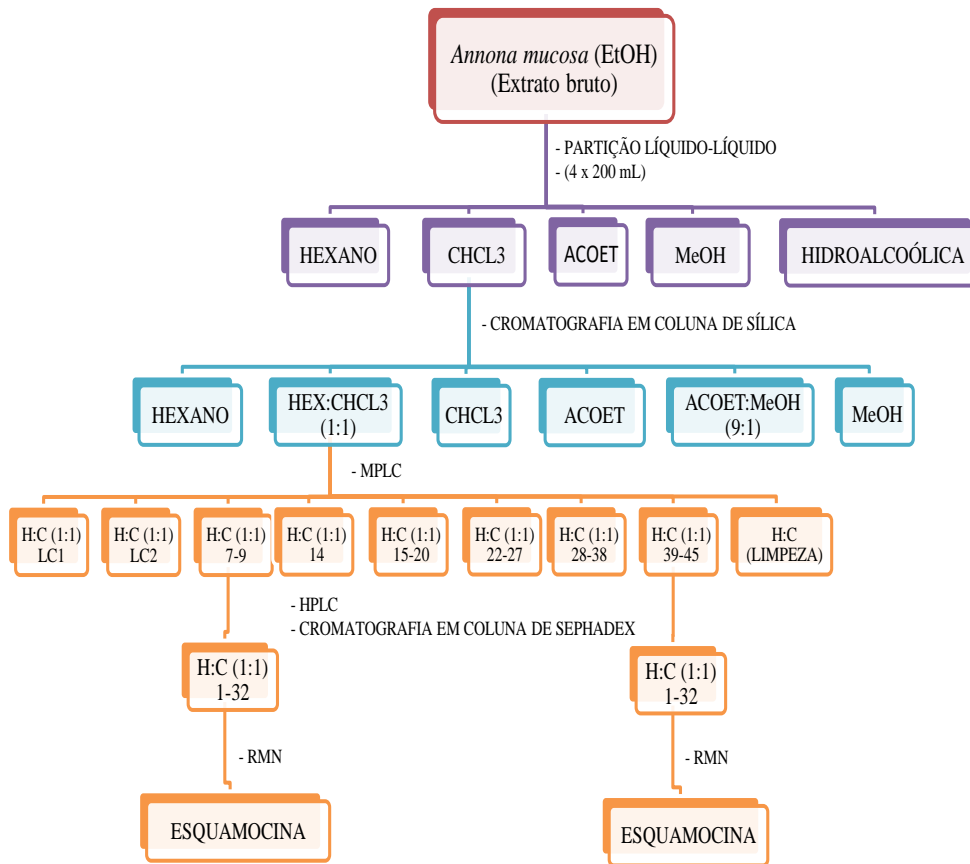
O composto obtido da fração HEX:CHCL₃ (1:1) 1-32 pelo método de cromatografia em coluna de sephdex foi solubilizado em (0,01 µg) de clorofórmio deuterado e os experimentos de ressonância nuclear magnética (RMN) uni e bidimensionais foram realizados em equipamento Bruker 400 MHz, à temperatura de 20°C. Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em ppm e as constantes de acoplamentos (J) em Hz. Os espectros foram analisados e os dados obtidos foram comparados com a base de dados HaveItAll NMR[®] para a confirmação da molécula encontrada.

Figura 2 - Purificação do extrato metanólico de *Annona crassiflora*.



Fonte: Autor, 2016.

Figura 3 - Purificação do extrato etanólico de *Annona mucosa*.



Fonte: Autor, 2016.

3 Resultados e Discussão

3.1 Determinação das concentrações letais de extratos brutos de *Annona crassiflora* e *Annona mucosa* sobre *Plutella xylostella*

O extrato metanólico das sementes de *A. crassiflora* apresentou toxicidade a *P. xylostella*, sendo necessária uma quantidade de 0,09%, correspondente a 0,0225 g do extrato, para causar 50% de mortalidade. E o extrato etanólico das sementes de *A. mucosa* também apresentou toxicidade a *P. xylostella*, com valor da (CL₅₀) estimada em 0,004% e que corresponde a 0,0020 g do extrato. Os valores das (CL₉₉) foram de 2,9% para o extrato metanólico de *A. crassiflora* e 0,06% do extrato etanólico de *A. mucosa* (Tabela 3).

Tabela 3 - Concentrações letais (CL₅₀ e CL₉₉) de extratos das sementes de *Annona mucosa* (etanólico) e *Annona crassiflora* (metanólico) sobre lagartas de *Plutella xylostella*.

Tratamentos	n ¹	GL ²	Inclinação ± EP	CL ₅₀ (%) (IC 95%)	CL ₉₉ (%) (IC 95%)	χ ² ³	P
Extrato etanólico	300	4	1,97 ± 0,22	0,004 (0,003-0,005)	0,06 (0,03-0,14)	4,6	0,32
Extrato metanólico	350	5	1,54 ± 0,20	0,09 (0,05-0,14)	2,9 (1,17-16,69)	10,5	0,06

¹ Número de lagartas utilizadas em cada tratamento.

² Grau de liberdade do qui-quadrado.

³ Qui-quadrado.

EP – Erro padrão.

IC – Intervalo de confiança.

P – Significância (P>0,05).

Fonte: Autor, 2016.

Os extratos metanólicos *A. crassiflora* e etanólicos de *A. mucosa* oriundos das sementes evidenciaram níveis elevados de toxicidade, isso se deve ao fato de plantas da família Annonaceae apresentarem substâncias com potencial a serem tóxicas, fagodeterrentes, inibidores de crescimento e outras características que desfavoreçam o desenvolvimento ou até mesmo acarretam na morte de insetos-praga.

Os valores de mortalidade das lagartas submetidas a CL₅₀ e CL₉₉ do extrato metanólico de *A. crassiflora* é evidenciado em uma concentração um pouco maior, quando comparada ao extrato de *A. mucosa*. Esta diferença pode estar associada à polaridade dos solventes, uma vez que, extraem diferentes grupos de substâncias químicas, de acordo com a polaridade dos mesmos, podendo ser mais tóxica ou não a *P. xylostella* (POTENZA et al., 2005).

A ação inseticida de extratos de plantas no controle de *P. xylostella* já é conhecida na literatura, porém, a estimativa da concentração letal, é um parâmetro de extrema importância

em estudos toxicológicos porque determina a potencialidade das plantas inseticidas investigadas.

Em um estudo semelhante avaliando a bioatividade com plantas do gênero *Croton*, cujos extratos etanólicos foram testados sobre lagartas de *P. xylostella*, verificou-se que o extrato de folhas de *Croton rhamnifolius* Kunth apresentou maior toxicidade, pois, requereu menor quantidade ($14,95 \mu\text{g mL}^{-1}$) para causar 50% de mortalidade na população (SILVA, 2007).

Nos extratos de diferentes espécies vegetais avaliados quanto a sua toxicidade em lagartas de *P. xylostella*, Bandeira (2009) relatou que a toxicidade observada de extratos etanólicos e hexânicos de *Muntingia calabura* L. (Muntingiaceae) variou de acordo com a matriz vegetal e o solvente utilizado, assim como constatado no presente estudo das espécies de *A. mucosa* e *A. crassiflora*. De forma que, lagartas de *P. xylostella* foram mais sensíveis aos extratos etanólico das flores que promoveu 99,57% de mortalidade, seguido por extratos etanólico dos frutos (89,53%) e extrato hexânico dos frutos (87,09%). E quanto ao potencial inseticida observado para os extratos e considerando as CL_{50} estimadas, observou-se que o extrato etanólico de flores ($CL_{50}=1,63\text{mg.mL}^{-1}$) foi 11,2 vezes mais tóxico do que extrato hexânico de flores ($CL_{50}= 18,30 \text{ mg.mL}^{-1}$) e 3 vezes mais tóxico do que os extratos etanólicos e hexânico dos frutos.

Dos resultados obtidos de mortalidade, revelou-se que os extratos de *A. crassiflora* e *A. mucosa* apresentaram ação inseticida significativa, quando comparadas a concentração subletal de dois constituintes químicos isolados de frutos de *Ginkgo biloba* (Ginkgoaceae) no controle de *P. xylostella*, o bilobol e o ácido ginkgólico com CL_{50} respectivas de 2,06g/L e 4,6g/L (YANG; DENG; HOU, 2008).

Corroborando com a toxicidade de anonas investigadas em lagartas de *P. xylostella*, Rodrigues et al. (2006) determinaram a CL_{50} de *A. crassiflora* em larvas de *A. aegypti*, constatando que os extratos etanólicos da casca do caule e casca da raiz foram testados sobre larvas de *A. aegypti* de terceiro ínstar e apresentaram CL_{50} de 23,06 e 26,89 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, respectivamente.

A mesma espécie vegetal foi investigada por Ribeiro et al. (2015), analisando a letalidade do extrato etanólico de *A. mucosa* em ninfas e adultos de *Diaphorina citri* (Kuwayama, 1908) (Hemiptera:Psyllidae), evidenciaram que dependendo do tempo de exposição, o extrato causou alta mortalidade em ninfas ($CL_{50} = 148,16 \text{ mg.L}^{-1}$ após 72 horas de exposição) e em adultos ($CL_{50} = 2,464 \text{ mg.L}^{-1}$ após 72 horas de exposição).

Ansante (2014) estudou a toxicidade dos extratos de *A. mucosa* submetidos a lagartas de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) e foi verificado que após 168 horas de exposição, lagartas de *S. frugiperda* apresentaram uma concentração letal (CL₅₀) estimada de 842,97 mg.kg⁻¹, enquanto que a CL₉₀ foi de 1.882,00 mg.kg⁻¹.

Em artrópodes, ACGs são considerados inibidores potentes do complexo I (NADH: ubiquinona oxidoreductase) do sistema de transporte mitocondrial de elétrons e do NADH: oxidase da membrana plasmática, que induz a apoptose (morte celular programada), talvez devido a privação de ATP (TORMO et al., 1999). No entanto, estudos mais recentes levantaram a hipótese que a inibição mitocondrial do complexo I não é o único modo de ação das ACGs (BLESSING et al., 2010; RIBEIRO et al., 2013.), considerando a gama de efeitos biológicos causados e os muitos átomos de carbono e grupos funcionais presentes nas suas estruturas.

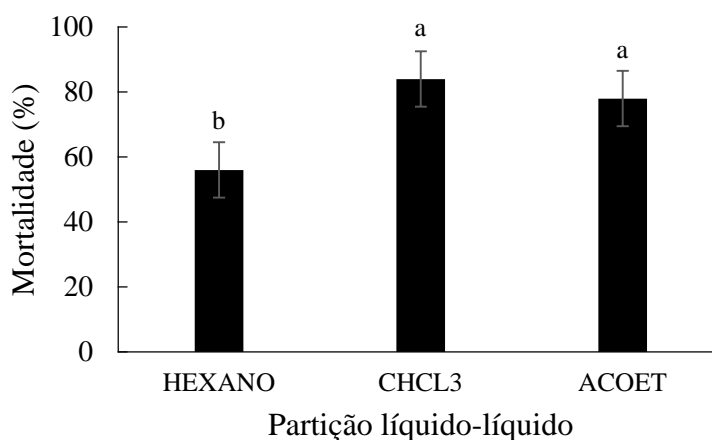
Desta forma, no bioensaio de toxicidade de extratos de semente de *A. mucosa* e *A. crassiflora* sobre *P. xylostella*, observou-se que os extratos etanólico e metanólico apresentaram atividade inseticida, portanto, procedeu-se a continuidade de fracionamento dos extratos e aos seus respectivos testes de atividade.

3.2 Avaliação da atividade inseticida das partições líquido-líquido de *Annona crassiflora* e *Annona mucosa* sobre *Plutella xylostella*

A partição clorofórmica (CHCl₃) de *A. crassiflora* apresentou uma porcentagem de mortalidade em torno de 84%. Este valor relativamente alto foi considerado um parâmetro desejável para prosseguir o biomonitoramento e os testes inseticidas (Figura 4).

Convém ressaltar que, independente da polaridade do solvente nas frações, a atividade inseticida estava presente. Como observado por Souza et al. (2009) no fracionamento do extrato de folhas de *A. muricata*, cujos solventes polares ou com polaridades intermediárias apresentaram maior concentração de ACGs.

Figura 4 - Mortalidade de lagartas neonatas de *Plutella xylostella*, submetidas a concentração 0.09% das frações de *Annona crassiflora* provenientes de partição líquido-líquido.



F = 61,0417**; P < 0,001; CV = 20,10%

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, de acordo com teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Autor, 2016.

Jaglan et al. (1997) testaram extratos orgânicos de sementes e de folhas de nim (*A. indica*) sobre *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1805) (Lepidoptera:Noctuidae). Esses autores observaram que os extratos com clorofórmio/metanol (9:1) obtidos de sementes e de folhas de nim, tiveram maior atividade inseticida que os extratos destas mesmas partes de planta, porém usando-se apenas metanol. Ademais, o extrato em clorofórmio/metanol (9:1) de sementes de nim também ocasionou efeitos morfogenéticos adversos sobre vários parâmetros biológicos de *H. armigera*. Os autores atribuíram a menor atividade inseticida do extrato em metanol à sua alta polaridade.

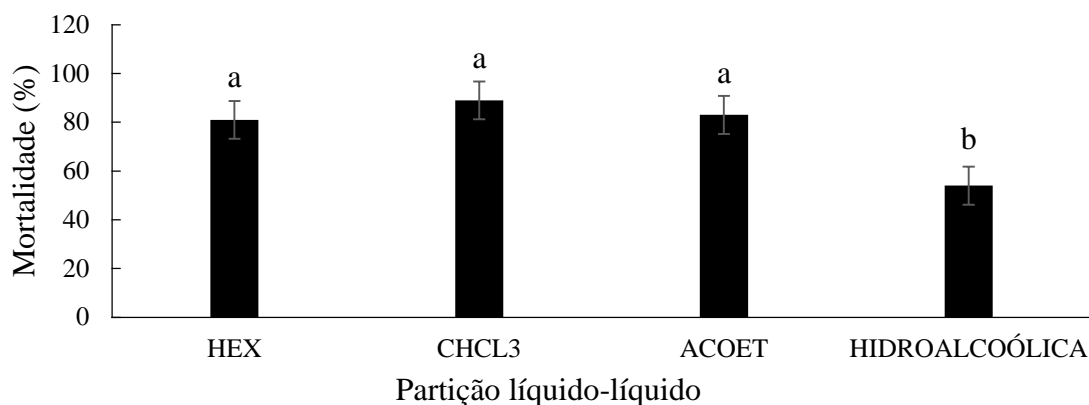
Assim, uma maior quantidade de substâncias inativas, como açúcares e taninos, teria sido extraída, e, portanto, causado uma diluição das substâncias ativas no extrato. O extrato clorofórmio/metanol (9:1), tendo como principal solvente o clorofórmio, de menor polaridade, teria impedido a extração de tais substâncias inativas, e, em razão de sua polaridade, teria extraído uma maior quantidade de substâncias ativas. Esta observação também está de acordo com o que foi obtido no trabalho, pois a fração clorofórmica apresentou maior atividade inseticida.

Cunha et al. (2006) observaram que extratos em clorofórmio ou diclorometano são capazes de apresentar atividade inseticida sobre diversas espécies de insetos, mesmo tendo sido obtidos de estruturas e de espécies de plantas inseticidas distintas.

Em *A. mucosa*, a maior porcentagem de mortalidade ocorreu na partição clorofórmica (CHCL₃) com 89%. Assim como a partição clorofórmica de *A. crassiflora*, também

apresentou um bom parâmetro para seguir o biomonitoramento e os testes inseticidas (Figura 5).

Figura 5 - Mortalidade de lagartas neonatas de *Plutella xylostella*, submetidas a concentração 0.004% das frações de *Annona mucosa* provenientes de partição líquido-líquido.



F = 18,7840**; P < 0,001; CV = 14,78%

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, de acordo com teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Autor, 2016.

No trabalho de Silva et al. (2012) as frações com solventes de diferentes polaridades apresentaram atividade inseticida semelhante, indicando que as duas espécies de Meliaceae estudada, *Trichilia pallida* (Swartz.) e *Toona ciliata* M. possuem uma elevada diversidade de metabólitos secundários com atividade inseticida para *Bemisia tabaci* (Gennadius:1889) (Hemiptera: Aleyrodidae). Os ramos e folhas destas plantas contêm compostos ativos pertencentes a diferentes grupos químicos com atividade inseticida semelhante e o fracionamento dos extratos utilizando solventes com polaridade crescente não reduziu a eficiência do material extraído. Estes resultados reforçam que essas plantas para o controle de *B. tabaci* é uma relação positiva porque a maior diversidade de grupos químicos com atividade inseticida para um extrato diminui a probabilidade para o desenvolvimento de populações de insetos resistentes. Este comportamento também foi observado no presente estudo com as frações do extrato de *A. mucosa*, visto que todas as frações evidenciaram toxicidade as lagartas.

Pesquisas anteriores corroboram que a atividade inseticida das anonas estudadas é potencializada quando extraída com solventes de polaridades crescentes, como a de Ansante (2014), que expôs por sete dias lagartas de *S. frugiperda* a dieta artificial contendo partições hidroalcoólica e hexânica de *A. mucosa* e constatou mortalidade de 100% na partição hidroalcoólica. O autor ainda relata também que foi verificada ação inseticida da partição

hexânica 63,54%, a qual é constituída majoritariamente por triglicerídeos sem, contudo, ocasionar efeito no desenvolvimento larval da espécie-praga.

Do mesmo modo, Ribeiro et al. (2013) concluiu que o extrato hexânico de sementes de *A. mucosa*, na concentração 300 mg kg⁻¹ causou mortalidade significativa de 98% após dez dias do tratamento em gorgulho *Sitophilus zeamais* (Motschulsky:1885) (Coleoptera:Curculionidae) e quase inibiu completamente a progênie F1, o que reduziu drasticamente o dano para as amostras de milho. A maior concentração deste extrato (1500 mg kg⁻¹) resultou na mortalidade total (100%) dos gorgulhos que foram expostos aos grãos tratados. Além disso, uma inibição completa da progênie F1 foi observada com a maior concentração do extrato preparado utilizando hexano.

Os extratos podem ser solúveis em acetona (KHALEQUZZAMAN; SULTANA, 2006) e água destilada (PÉREZ-PACHECO et al., 2004), embora, também possam ser solubilizados em outros solventes, como diclorometano, dimetilsulfóxido (DMSO), etanol e tween 20®. Os critérios para a escolha do solvente é focada no mínimo efeito negativo sobre o organismo estudado, obtendo-se assim extratos de plantas ou metabólitos secundários adequados a serem avaliados (CARVALHO, 2008).

Conforme Morales, Gonzalez e Aragon (2004), avaliaram a atividade larvicida de extratos polares (etanol) e apolares (éter) de *A. muricata* sobre *A. aegypti* e *Anopheles albimanus* (Wiedemann, 1820) (Diptera:Culicidae), verificando que o extrato apolar na concentração mais elevada (1800 ppm) resultou em 100% de mortalidade de *A. aegypti*, enquanto que a menor (37,5 ppm) foi de 3%. Em *A. albimanus*, a concentração que produziu 100% de mortalidade foi de (600 ppm) e em (37,5 ppm) obteve-se 64,7%. As concentrações letais dos extratos polares foram menores. Em *A. aegypti*, enquanto a concentração de (1800 ppm) foi necessária para se obter 100% de mortalidade, a de (37,5 ppm) produziu apenas 24%. Estes resultados comprovam que o gradiente de polaridade aumenta a eficácia do extrato, assim como foi realizado no presente trabalho.

Em outros trabalhos como o de Costa et al. (2013), reforçam que as ACGs presentes em anonáceas podem ser direcionadas a solventes apolares quando extraídas por estes. Neste caso, o extrato hexânico de *A. crassiflora*, na concentração de 1,0 mg.mL⁻¹ obteve mortalidade em larvas de *A. aegypti* superior a 90% e as concentrações 0,6 e 0,4 mg.mL⁻¹ apresentaram mortalidade acima de 50%. E para o extrato bruto metanólico de *A. mucosa*, a mortalidade de 100% das larvas só foi verificada na concentração de 0,8 mg.mL⁻¹, com CL₅₀ 0,010 mg.mL⁻¹, não diferindo da concentração 0,05mg/mL, com mortalidade de 95% das

larvas testadas. As concentrações 0,02 e 0,01 mg.mL⁻¹ apresentaram mortalidade de 77,5 e 75,00%, respectivamente.

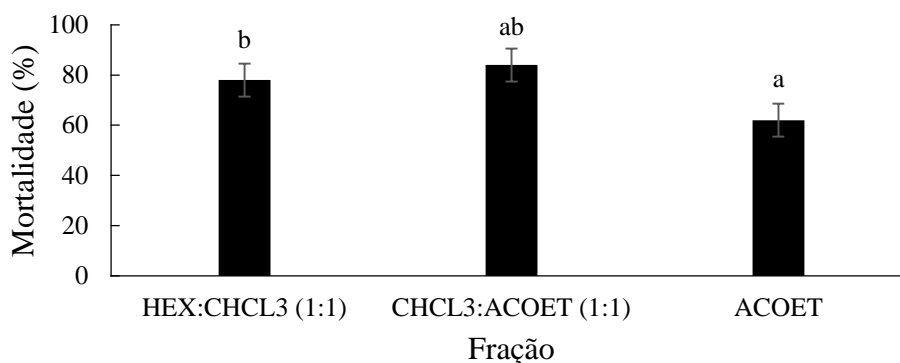
Verifica-se, portanto, que os insetos utilizados nas diversas pesquisas apresentam diferença na suscetibilidade a diferentes extratos orgânicos utilizados das espécies de Annonaceae, assim como, no presente estudo. Constatando-se, desta forma, a importância da determinação de concentrações letais e da relação entre a espécie-alvo envolvida.

3.3 Avaliação da atividade inseticida frente a *Plutella xylostella* de frações oriundas da coluna de sílica

As frações selecionadas para realizar o bioensaio foram as frações HEX:CHCL₃ (1:1), CHCL₃:ACOET(1:1) e ACOET de *A. crassiflora*. Selecionaram-se estas frações porque continham quantidade suficiente de material para prosseguir o processo de purificação e para realizar testes inseticidas. A maior porcentagem de mortalidade foi 84% da fração CHCL₃:ACOET(1:1) (Figura 6).

Selecionaram-se as frações HEX:CHCL₃ (1:1) e ACOET de *A. mucosa*, pois, estas continham uma quantidade de material suficiente para prosseguir o processo de purificação e para realizar testes inseticidas. A fração HEX:CHCL₃ (1:1) alcançou a maior porcentagem de mortalidade com 74% (Figura 7).

Figura 6 - Mortalidade de lagartas neonatas de *Plutella xylostella*, submetidas a concentração 0.09% das frações de *Annona crassiflora* obtidas em coluna de Sílica.

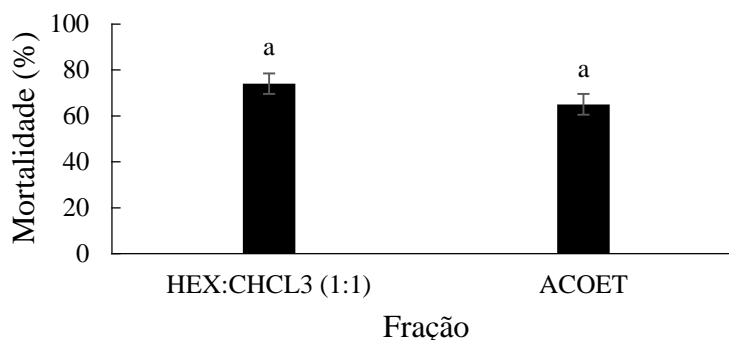


F = 62,9787**; P < 0,001; CV = 19,36%

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, de acordo com teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Autor, 2016.

Figura 7 - Mortalidade de lagartas neonatas de *Plutella xylostella*, submetidas a concentração 0.004% das frações de *Annona mucosa* obtidas em coluna de Sílica.



F = 1,1970 ns; P < 0,2882; CV = 26,47%

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, de acordo com teste de Tukey a 5% de probabilidade.

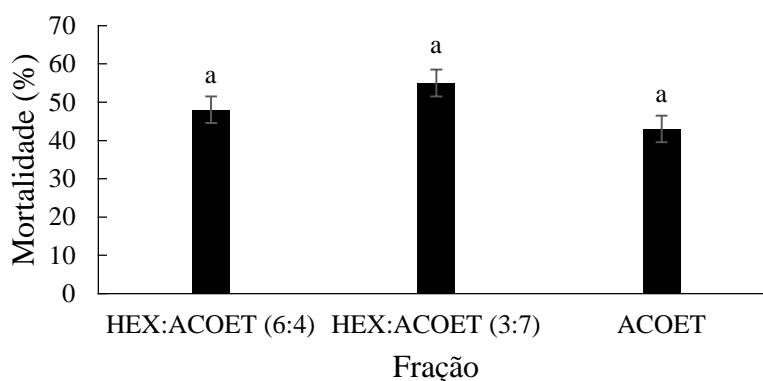
Fonte: Autor, 2016.

3.4 Avaliação da atividade inseticida frente a *Plutella xylostella* de frações oriundas de MPLC

Das frações de *A. crassiflora* obtidas em MPLC selecionaram-se as frações HEX:ACOET (6:4), HEX:ACOET (3:7) e ACOET. Estas continham quantidade suficiente para prosseguir o processo de purificação e posteriormente investigar sua atividade inseticida. A maior porcentagem de mortalidade foi 55% da fração HEX:ACOET (3:7) (Figura 8).

Apesar das porcentagens estarem próximas e pouco menores do que bioensaios anteriores pode-se considerar que as frações mantiveram o mesmo nível de atividade, pois, utilizou-se a concentração 0,03% que foi menor aos bioensaios anteriores. Nesta concentração, a fração que obteve menor atividade apresentou uma porcentagem de mortalidade acima de 40%, considerando-se que mesmo em pequenas concentrações, as frações de *A. crassiflora* têm resultados significativos em *P. xylostella*.

Figura 8 - Mortalidade de lagartas neonatas de *Plutella xylostella*, submetidas a concentração 0.03% das frações de *Annona crassiflora* oriundas de MPLC.



F = 1,1035 ns; P < 0,3694; CV = 31,11%

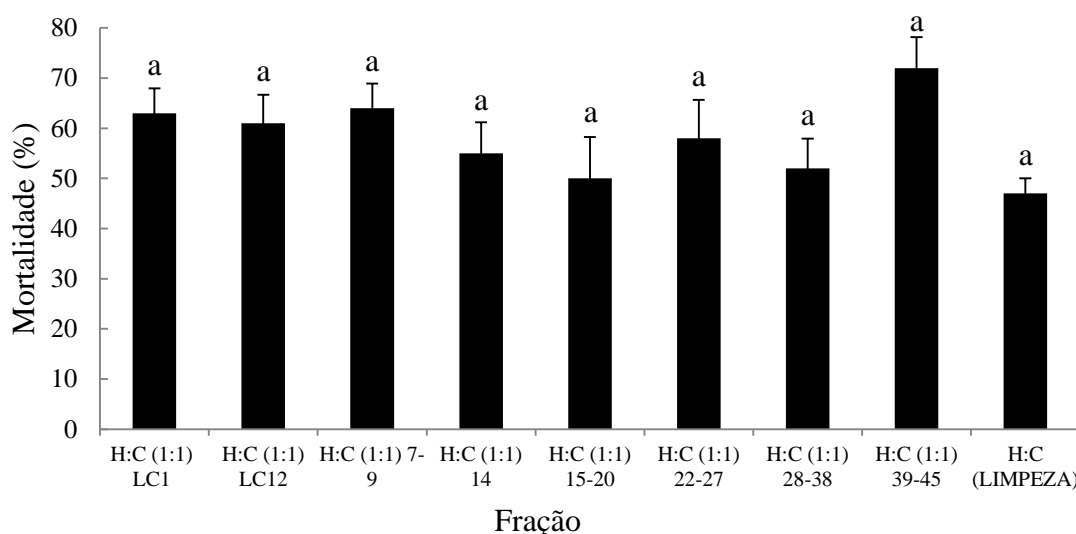
Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, de acordo com teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Autor, 2016.

A respeito de *A. mucosa*, realizou-se um bioensaio de atividade inseticida e as porcentagens de mortalidade das frações HEX:CHCL₃ (1:1) não diferiram estatisticamente entre si. As frações 7-9 e 39-45 obtiveram as maiores porcentagens de mortalidade com 64 e 72%, respectivamente, sendo consideradas mais ativas entre as demais (Figura 9).

Esse estudo de fracionamento biomonitorado mostrou que o composto da *A. mucosa* responsável pela bioatividade continua se mantendo ao longo das frações, e, portanto, foi possível, através de estudos com CLAE, Ressonância Magnética Nuclear e outras técnicas, elucidar qual composto é responsável pela atividade. Como no trabalho de Gu et al. (1997), que realizaram o biomonitoramento de *Rollinia mucosa* (Jacq.) Baill. (Annonaceae) através de HPLC / MS, constatando que este método de isolamento e purificação além de eficiente, identificou duas novas ACGs bioativas rollidecina C e rollidecina D, conjuntamente com a ACG desacetilluvaricina, a partir da fração metanol:água de folhas *R. mucosa*.

Figura 9 - Mortalidade de lagartas neonatas de *Plutella xylostella*, submetidas a concentração 0.00184% das frações de *Annona mucosa* oriundas de MPLC.



F = 1,7035 ns; P < 0,1101; CV = 32,89%

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, de acordo com teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Autor, 2016.

Apesar das frações de *A. mucosa* não terem sido diferentes estatisticamente entre si, apresentaram resultados promissores. A fração HEX:CHCL₃ (1:1) 39-45 teve mais de 70% de mortalidade na concentração 0.00184. Mesmo numa concentração pequena, a maioria das frações conseguiu alcançar índices de mortalidade superior a 50% dos insetos testados, resultado este que mostra a boa atividade inseticida desta anonácea.

Realizou-se um estudo cromatográfico e análise espectrométrica para identificação das substâncias, assim como foi feito no fracionamento cromatográfico, feito por Nascimento et al. (2003), do extrato hexânico das folhas de *Rollinia laurifolia* Schltdl. e a análise espectrométrica das substâncias puras obtidas das frações, que permitiu a identificação das ACGs uvariamicina-I, solamina e gonionenina (NASCIMENTO et al., 2003).

De modo análogo, Pimenta et al. (2001) realizando fracionamento cromatográfico das folhas de *R. laurifolia* através de ressonância magnética nuclear (RMN), identificaram a ACG laurifolin.

Conforme Santos e Boaventura (1994), ao investigarem os compostos presentes em *A. crassiflora* submetida a análises espectroscópicas usuais, indicaram tratar-se de uma ACG bis-tetra-hidrofurânica a qual foi denominada crassiflorina.

Com base nos resultados da pesquisa, observa-se que derivados de *A. crassiflora* e *A. mucosa* podem ser considerados bioinseticidas promissores no controle de *P. xylostella*, causando letalidade, podendo ser empregado em programas de manejo de pragas.

Essa potencialidade bioinseticida de *A. mucosa* também já foi atestada por outros autores como, o potencial de *A. mucosa* contra o gorgulho do milho *S. zeamays* por Ribeiro et al. (2013), que testaram o efeito de diferentes partes da planta (folhas, galhos e sementes) em diferentes solventes (hexano, diclorometano e etanol) e concluíram que o extrato de sementes de *A. mucosa* na concentração de 300 mg.Kg⁻¹ com solvente hexano proporcionou mortalidade de 98,0% e com solvente diclorometano 85,5%. Na concentração de 1500 mg.Kg⁻¹ para ambos os solventes a mortalidade atingiu 100%.

E o efeito de sementes de *A. mucosa* também foi avaliado para larvas de *A. aegypti* por Costa et al. (2013), constatando que o extrato metanólico na concentração de 0,1 mg mL resulta em 100% de mortalidade após 24 horas da aplicação.

Resultados semelhantes foram obtidos por Oliveira e Pereira (2009), ao estudar o extrato de sementes de *A. crassiflora* sobre adultos de *Euschistus heros* (Fabricius:1798) (Hemiptera:Pentatomidae), apresentando atividade anti-alimentar baseados no número de pontos de alimentação em vagens tratadas, quando comparadas com a testemunha, sendo a concentração 4,0% a que apresentou maior efeito fagodeterrente, seguida das concentrações 2,0 e 1,0%.

Pesquisa relacionada a atividade inseticida com extratos de *A. crassiflora* também foi realizada em pragas de *Zea mays* L. e *Sorghum bicolor* L. Moench., indicando que nas sementes desta planta e em frações do extrato etanólico de suas folhas foi detectada atividade

inseticida em lagartas do cartucho do milho, *S. frugiperda*, podendo vir a ser utilizada como um inseticida natural no controle dessa praga (PIMENTA et al., 2000).

Já existem no mercado internacional formulações comerciais à base de ACGs de anonáceas como ANOSOM® CE (10 g i.a/L de anonina). Um estudo realizado recentemente avaliou o número de novos ingredientes ativos (i.a) registrados pela Agência de Proteção Ambiental (EPA) nos Estados Unidos desde 1997 e verificou que do número total de pesticidas registrados, 20% são produtos naturais ou derivados de produtos naturais (CANTRELL; DAYAN; DUKE, 2012). Isso ressalta ainda mais a importância de pesquisas como esta na descoberta e desenvolvimento de novos produtos a serem disponibilizados para os programas de manejo integrado de pragas.

3.5 Análises das corridas cromatográficas (CLAE)

Os espectros das corridas foram realizados com tempos de retenção e comprimentos de ondas diferentes. Foi utilizado para identificar frações semelhantes visando fazer reuniões e verificar o nível de pureza das frações oriundas das etapas anteriores.

Nas amostras de *A. crassiflora* foram dadas continuação ao método de separação, purificação e isolamento, visto que, ainda continham uma mistura de substâncias. Do mesmo modo as de *A. mucosa*, sendo estas reunidas, pois, encontravam-se num grau mais avançado de pureza.

3.6 Cromatografia em coluna de Sílica de frações de *Annona crassiflora*

Das frações de A HEX:ACOET (70%) e B HEX:ACOET (70%) de *A. crassiflora* obtiveram-se as seguintes frações (Tabela 4).

Tabela 4 - Reunião das frações de *Annona crassiflora* em coluna de sílica.

FRAÇÃO	FRAÇÕES (REUNIDAS)	FRAÇÃO	FRAÇÕES (REUNIDAS)
	1-15		1
	16-23		2-4
A HEX:ACOET (3:7)		B HEX:ACOET (3:7)	5-9
	24-28		10-11
	29-30		12-16
			17-21

Fonte: Autor, 2016.

Em virtude da quantidade limitada obtida de cada reunião de frações, apenas aquelas ricas em ACGs (2-4) e (12-16) de 2 HEX:ACOET (70%) conforme observado no revelador de Kedde, foram dadas continuidade a purificação e isolamento.

3.7 Cromatografia em coluna de Sephadex de frações de *Annona crassiflora* e *Annona mucosa*

As frações B HEX:ACOET (3:7) de *A. crassiflora* e HEX:CHCL₃ (1:1) 7-9 e 39-45 de *A. mucosa* originaram as seguintes frações (Tabela 5 e 6).

Tabela 5 - Reunião de frações de *Annona crassiflora* em coluna de Sephadex.

FRAÇÃO	FRAÇÕES (REUNIDAS)	FRAÇÃO	FRAÇÕES (REUNIDAS)
	1-5		1-4
(Frações 2-4)	6-15	(Frações 12-16)	5-6
	16-19		7-23
	20-29		

Fonte: Autor, 2016.

Tabela 6 - Reunião de frações de *A. mucosa* em coluna de Sephadex.

FRAÇÕES	FRAÇÕES
	1
HEX:CHCL ₃ (1:1) 7-9	2
HEX:CHCL ₃ (1:1) 39-45	3
	...
	32

Fonte: Autor, 2016.

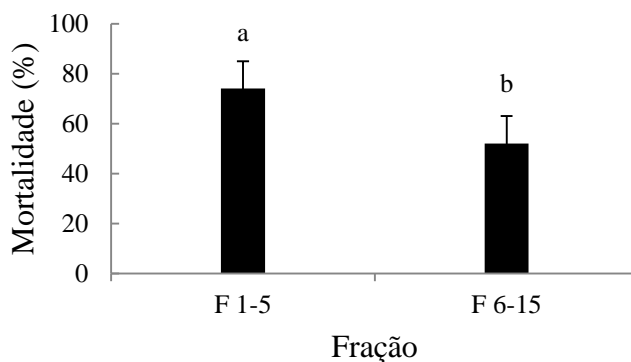
Em virtude da quantidade limitada obtida de cada reunião de frações, apenas aquelas que verificaram ser ricas em ACGs (1-5) e (6-15) conforme observado no revelador de Kedde, foram investigadas em bioensaio de atividade inseticida. E as frações de *A. mucosa* (7-9) e (39-45) foram analisadas em RMN para uma possível identificação do composto ativo.

3.8 Avaliação da atividade inseticida de frações sobre *Plutella xylostella*

As frações oriundas de *A. crassiflora* apresentaram atividade inseticida em lagartas de *P. xylostella*. A fração (1-5) evidenciou uma significativa porcentagem de mortalidade de 74% quando foi submetida à concentração de (0.01362%) (Figura 8). Mesmo ao utilizar uma

concentração letal menor, a porcentagem de mortalidade em lagartas correspondeu expressivamente.

Figura 10 - Mortalidade de lagartas de *Plutella xylostella*, submetidas a concentração 0.01362% das frações purificadas de *Annona crassiflora*.



F = 48,40 **; P < 0,1101; CV = 7,94%

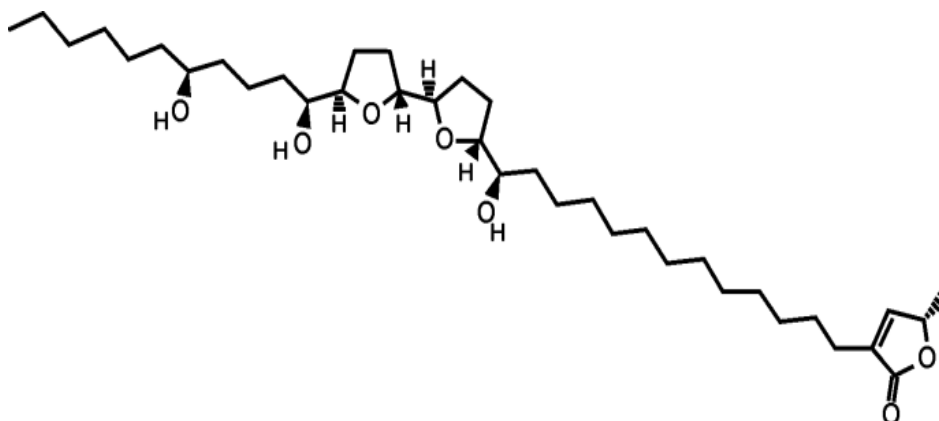
Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, de acordo com teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Autor, 2016.

3.9 Identificação de ACG de *Annona mucosa*

A Squamocina (Figura 11) foi a ACG isolada e identificada de um grupo de frações oriundos de HEX:CHCL₃ (1:1) 1-32 de *A. mucosa*. A análise por espectrometria de massas indicou a fórmula C₃₇H₆₆O₇, e a análise dos espectros de RMN ¹H e ¹³C mono e bidimensionais indicaram sinais característicos de grupos γ -lactona α , β -insaturada, a presença de anel *bis*-tetrahydrofurânico com duas hidroxilas em carbonos adjacentes. Os espectros de massas e de RMN ¹H e ¹³C mono e bidimensionais indicaram tratar-se predominantemente da squamocina.

Figura 11 - Estrutura química da squamocina isolada de sementes de *Annona mucosa*.



Fonte: Autor, 2016.

A ocorrência de ACGs pode ser identificada pela presença de alguns grupos funcionais característicos de suas estruturas, como sinais de RMN de ^{13}C de carboxilas de anéis lactônicos, que caem na região de 170 ppm, carbonos α e β -carbonílicos, que apresentam deslocamentos em torno de 130 e 150 ppm, respectivamente, CH de epóxidos, THF (tetrahidrofurano) e THP (tetrahidropirano) que caem entre 60 e 80 ppm, além da presença de CH₂ de cadeias alquílicas (NAVARO, 2013).

O grupo metil- γ -lactona é característico para a categoria das acetogeninas. Fang et al. (1993), Rupprecht, Hui e McLaughlin (1990) e Downum, Romeu e Stafford (1993) afirmam que este grupo pode ser encontrado em cinco formas diferentes (Estruturas A1, A2, A3, A4 e A5) e pode ser evidenciado pelos espectros na região do infravermelho e de RMN. A existência de um grupo metil- γ -lactona α,β -insaturado é indicado na região do infravermelho por uma banda forte em 1740-1750 cm^{-1} e para um grupo metil- γ -lactona saturado o sinal é observado a 1770 cm^{-1} . A espectroscopia de ressonância magnética nuclear também é essencial para a caracterização deste grupo.

As ACGs podem conter um, dois ou nenhum anel tetra-hidrofurano (THF). A presença deste anel em uma dada substância é evidenciada pela existência de sinais entre $\delta 79$ e 83 ppm no espectro de carbono-13. Com relação aos anéis THF podemos encontrar normalmente três tipos de ACGs. Aquelas do tipo A que possuem um anel THF flanqueado por duas hidroxilas e apresentam dois sinais de carbono entre $\delta 81$ e 83 ppm; as do tipo B com dois anéis THF em sequência flanqueados por duas hidroxilas e que apresentam quatro sinais de carbono entre $\delta 81$ e 83 e aquelas ACGs do tipo C que possuem dois anéis THF separados por quatro átomos de carbonos sendo um flanqueado por duas hidroxilas e o outro por apenas uma hidroxila que apresentam três sinais entre $\delta 81$ e 83 ppm e um sinal em $\delta 79$ ppm (LUNA, 2006).

A identificação de ACG squamocina evidenciou atividade inseticida para *P. xylostella*. Apresenta-se como o primeiro relato desta espécie vegetal e os resultados apontaram que esta ACG demonstra potencial inseticida sobre lagartas de *Plutella xylostella*, indicando que pode ser considerada promissora no controle deste inseto-praga.

4 CONCLUSÃO

O extrato metanólico de *A. crassiflora* e o extrato etanólico de *A. mucosa* apresentaram toxicidade a *P. xylostella* nos testes preliminares para determinação da CL_{50} . As partições clorofórmicas tanto de *A. crassiflora* quanto de *A. mucosa* foram as mais tóxicas a *P. xylostella*. As frações $CHCl_3:ACOET$ (1:1) de *A. crassiflora* e $HEX:CHCl_3$ de *A. mucosa* oriundas da coluna de sílica, foram as mais tóxicas a *P. xylostella*. As frações originadas em MPLC que obtiveram maior toxicidade em *P. xylostella* foram A e B $HEX:ACOET$ (3:7) de *A. crassiflora* e $HEX:CHCl_3$ (1:1) 7-9 e 39-45 de *A. mucosa*. A purificação das frações de *A. mucosa* oriundas de MPLC, aliado a análise em RMN, resultou na identificação da ACG squamocina.

5 REFERÊNCIAS

ALALI, F. Q.; LIU; X. X.; MCLAUGHLIN; E. J. L. Annonaceous acetogenins: recent progress. **Journal of Natural Products**, v. 62, p. 504-540, 1999.

ANSANTE, T. F. **Metabólitos secundários de Annonaceae: triagem, fracionamento biomonitorado e bioatividade frente a *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae)**. 2014, 103p. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo/ESALQ - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2014.

BANDEIRA, G. N. **Efeito de extratos vegetais e óleos essenciais no desenvolvimento de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae)**. Pernambuco, 2009. 57p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco - Recife, 2009.

BERMEJO, A. et al. Acetogenins from Annonaceae: recent progress in isolation, synthesis and mechanisms of action. **Natural Product Reports**, v. 22, n. 2, p. 269-303, 2005.

BLESSING, L. D. T. et al. Antifeedant and toxic effects of acetogenins from *Annona montana* on *Spodoptera frugiperda*. **Journal of Pest Science**, v. 83, n. 3, p. 307-310, 2010.

BOIÇA JÚNIOR, A. L. et al. Efeito de extratos aquosos de plantas no desenvolvimento de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) em couve. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 72, p. 45-50, 2005.

CANTRELL, C. L.; DAYAN, F. E.; DUKE, S. O. Natural products as sources for new pesticides. **Journal of Natural Products**, v. 75, n. 6, p. 1231-1242, 2012.

CARVALHO, T. **Avaliação de extratos vegetais no controle de *Brevipalpus phoenicis* e *Olygonychus ilicis* (Acari:Tenuipalpidae: Tetranychidae) em Cafeeiro**. 2008, 112p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras - Lavras, 2008.

COSTA, M. S. et al. Anonáceas provocam mortalidade em larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae). **Revista Brasileira de Biociências**, v. 11, p. 184-190, 2013.

CUNHA, U. S. et al. Frações de *Trichilia pallens* com atividade inseticida sobre *Tuta absoluta*. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 41, n. 11, p. 1579-1585, 2006.

DADANG, E. D. F.; PRIJONO, D. Effectiveness of two botanical insecticide formulations to two major cabbage insect pests on field application. **International Society for Southeast Asian Agricultural Sciences**, v.15, p. 42-51, 2009.

DUTRA, L. M. et al. Chemical constituents from the leaves of *Annona pickelii* (Annonaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 41, p. 115-118, 2012.

DOWNUM, K. R.; ROMEU, J. T.; STAFFORD, H. A. Recent advances in the acetogenins of Annonaceae. **Phytochemical Potential of Tropical Plants**, v. 27, p. 167-202, 1993.

FANG, X. et al. Annonaceous Acetogenins: An Updated Review. **Phytochemical Analysis**, v. 4, p. 27-48, 1993.

FILGUEIRA, F. A. R. Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 2. ed. **Viçosa**. MG: Universidade Federal de Viçosa. 412 p., 2008.

FINNEY. D. J. Probit analysis. **Cambridge Univ. Press**, Cambridge, 333 p., 1971.

GU, Z. M. et al. Isolation of new bioactive annonaceous acetogenins from *Rollinia mucosa* guided by liquid chromatography/mass spectrometry. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 5, n. 10, p. 1911-1916, 1997.

ISMAN, M. B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology**, v. 51, p. 45-66, 2006.

JACOBSON, M. Botanical pesticides: past, present and future. In: Arnason, J. T.; Philogène, B. J. R.; Morand, P. Insecticides of plant origin. Washington, DC, **American Chemical Society**, v. 387, p. 69-77, 1989.

JAGLAN, M. S. et al. Evaluation of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) extracts against american bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, p. 3262-3268, 1997.

KHALEQUZZAMAN, M.; SULTANA, S. Insecticidal activity of *Annona squamosa* L. seed extracts against the red flour beetle, *Tribolium castaneum* (Herbst). **Journal of Bio-Science**. v. 14, p.107-112, 2006.

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, 2004.

LANCHER, W. Ecofisiologia vegetal. São Carlos: **Rima**, 519p., 2000.

LIMA, L. A. R. S.; PIMENTA, L. P. S.; BOAVENTURA, M. A. D. Acetogenins from *Annona cornifolia* and their antioxidant capacity. **Food Chemistry**, v. 122, n. 4, p. 1129-1138, 2010.

LORENZI, H. Árvores Brasileiras - manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. **Nova Odessa**, São Paulo, V. 2, 2002.

LUNA, J. S. **Estudo de plantas bioativas**. 2006, 233p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco – Recife, 2006.

MATSUMOTO, R. S. et al. Allelopathic potential of leaf extract of *Annona glabra* L. (Annonaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 24, n. 3, p. 631-635, 2010.

MEDEIROS, A. R. M. Alelopatia: importância e suas aplicações. **Hortisul**, v.1, n.3, p.27-32, 1990.

MEDEIROS, C. A. M.; BOIÇA JÚNIOR, A. L.; TORRES, A. L. Efeito de extratos aquosos de plantas na oviposição da traça-das-crucíferas, em couve. **Bragantia**, v. 64, n. 2, p. 227-232, 2005.

MORALES C. A.; GONZÁLEZ, R.; ARAGÓN, R. Evaluación de la actividad larvicida de extractos polares y no polares de acetogeninas de *Annona muricata* sobre larvas de *Aedes aegypti* y *Anopheles albimanus* (Diptera: Culicidae). **Revista Colombiana de Entomología**, v. 30, n. 2, p. 187-192, 2004.

NASCIMENTO, F. C. et al. Acetogeninas de anonáceas isoladas de folhas de *Rollinia laurifolia*. **Quimica Nova**, v. 26, n. 3, p. 319-322, 2003.

NAVARO, J. M. **Identificação de metabólitos de *Annona dioica* com atividade ixodicida frente ao carrapato bovino, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus***. 2013, 87p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul - Campo Grande, 2013.

OLIVEIRA, A. C.; PEREIRA, M. J. B. Efeito antialimentar do extrato metanólico de *Annona crassiflora* Mart. sobre o percevejo marrom *Euschistus heros* (Fabr. 1798) (Heteroptera: Pentatomidae). **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 4, n. 2, p. 2633-2636, 2009.

OMENA, M. C. et al. Larvicidal activities against *Aedes aegypti* of some Brazilian plants. **Bioresouce Technology**, v. 98, p. 2549-2556, 2007.

PÉREZ-PACHECO, R. et al. Toxicidad de aceites, esencias y extractos vegetales en larvas de mosquito *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). **Acta Zoológica Mexicana**, v. 20, p. 141-152, 2004.

POTENZA, M. R. et al. Avaliação acaricida de produtos naturais para o controle de ácaro vermelho do cafeeiro *Oligonychus ilicis* (McGregor) (Acari: Tetranychidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 72, n. 4, p. 499-503, 2005.

POTTER, C. An improved laboratory apparatus for applying direct sprays and surface films, with data on the electrostatic charge on atomized spray fluids. **Annals Applied Biology**, v. 38, n. 1, p. 1-12, 1952.

PIMENTA, L. P. S. et al. Insecticide action of ethanolic extract from *Annona crassiflora* seeds against *Spodoptera frugiperda*. In: **XXI International Congress of entomology**, Foz do Iguaçu – Paraná. Book I. v. I, p. 1035, 2000.

PIMENTA, L. P. S. et al. Laurifolin, a novel acetogenin from *Rollinia laurifolia* leaves. **Tetrahedron Letters**, v. 42, p. 8433–8434, 2001.

REIS, P. R. et al. Seletividade de agroquímicos ao ácaro predador *Iphiseiodes zuluagai* Denmark & Muma (Acari: Phytoseiidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 27, p. 265-274, 1998.

RIBEIRO, L. P. et al. *Annona mucosa* Jacq. (Annonaceae): A promising source of bioactive compounds against *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 55, p. 6-14, 2013.

RIBEIRO, L. P. et al. Toxicity of an acetogenin-based bioinsecticide against *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) and its parasitoid *Tamarixia radiate* (Hymenoptera: Eulophidae). **Florida Entomologist**, v. 98, n. 3, p. 835-842.

RODRIGUES, A. M. S. et al. Larvicidal activity of some Cerrado plant extracts against *Aedes aegypti*. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 22, p. 314-317, 2006.

RUPPRECHT, J. K.; HUI, Y.; MCLAUGHLIN, J. L. Annonaceous acetogenins: a review. **Journal of Natural Products**, v. 53, p. 237-278, 1990.

SANTOS, L. P.; BOAVENTURA, M. A. D. Crassiflorina, uma acetogeninas tetra-hidrofurânica citotóxica de *Annona crassiflora* (Araticum). **Química nova**, v. 17, n. 5, p. 387-391, 1994.

SAS[®] Statistical Analysis System, version 8, Cary, NC: SAS Institute Inc., 2000.

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 greivoides* (Baill.) sobre *Zabrotes subfasciatus* (Boheman)**. 2007, 45p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2007.

SILVA, M. S. et al. Alkaloids and other constituents from *Xylopia langsdorffiana* (Annonaceae). **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1566-1570, 2009.

SILVA, G. C. D. B. et al. Insecticidal and behavioral effects of secondary metabolites from Meliaceae on *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). **Florida Entomologist**, v. 95, n. 3, p. 743-751, 2012.

SOUZA, C. D.; FELFILI, J. M. Uso de plantas medicinais na região de Alto Paraíso de Goiás, GO, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, n. 1, p. 135-142, 2006.

SOUZA, R. et al. Enhanced extraction yields and mobile phase separations by solvent mixtures for the analysis of metabolites in *Annona muricata* L. leaves. **Journal of Separation Science**, v. 32, n. 23-24, p. 4176-4185, 2009.

THULLER, R. T. et al. Interação tritrófica e influência de produtos químicos e vegetais no complexo: brássicas x traça-das-crucíferas x parasitóides de ovos. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 4, p. 1154-1160, 2008.

TORMO, J. R. et al. Annonaceous acetogenins as inhibitors of mitochondrial complex I. **Current Topics in Phytochemistry**, v. 2, p. 69-90, 1999.

TRINDADE, R. C. P. et al. Larvicidal activity and seasonal variation of *Annona muricata* (Annonaceae) extract on *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). **Revista Colombiana de Entomologia**, v. 37, p. 223-227, 2011.

VASCONCELOS, G. J. N.; GONDIM JUNIOR, M. G. C.; BARROS, R. Extratos aquosos de *Leucaena leucocephala* e *Sterculia foetida* no controle de *Bemisia tabaci* biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae). **Ciência Rural**, v. 36, n. 5, p. 1353-1359, 2006.

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

ZOTTI, M. J. et al. Seletividade de inseticidas usados na cultura do milho para ovos e ninfas do predador *Doru lineare* (Eschscholtz, 1822) (Dermaptera: Forficulidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, n. 1, p. 111-118, 2010.

TOXICIDADE E ESTUDO FITOQUÍMICO POR PROSPECÇÃO E AÇÃO INSETICIDA DE *Dioscorea rotundata* Poir. E *Chenopodium ambrosioides* L. SOBRE *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae)

RESUMO

As plantas de inhame e mastruz apresentam características promissoras para serem utilizadas como fitoinseticidas, tais como, baixo custo e fácil aquisição da parte não comercializável, manejo conhecido das culturas por pequenos agricultores e presença em todas regiões do Brasil, tornando-as uma alternativa viável no manejo de *Plutella xylostella*. Objetivou-se com o presente trabalho, avaliar o potencial inseticida de *Dioscorea rotundata* Poir. (Dioscoreaceae) e *Chenopodium ambrosioides* L. (Chenopodiaceae) sobre *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae), através de diferentes formas de extração e estimar a sua concentração letal (CL_{50}) conforme metodologia de Finney (1971) realizada por análise de Probit. As partes aéreas coletadas foram secas em estufas a 65 °C e em seguida triturou-se em moinho de facas até obtenção de um pó de granulometria fina. Na preparação dos extratos aquosos de *D. rotundata* foram utilizados 800 g em 4,0 L de água destilada e 550 g de *C. ambrosioides* em 3,0 L, respectivamente. Permaneceram imersas por 48 horas, após esse período os extratos foram filtrados e acondicionados em recipientes de vidro. Fez-se o congelamento dos extratos em freezer para posteriormente ser realizado o processo de liofilização. Na preparação dos extratos etanólicos foram imersos 1,5 g dos pós em 50 mL de etanol, durante 24 horas. Posteriormente, os extratos foram filtrados e concentrados em rotavapor a 50 °C e pressão reduzida. Além disso, realizou-se uma bioprospecção com o intuito de verificar quais possíveis compostos são responsáveis pela ação biológica. Quanto a avaliação de atividade inseticida, ambas espécies e tipos de extratos foram consideradas ativas positivamente às lagartas de *P. xylostella*. A estimativa da CL_{50} dos extratos aquosos e etanólicos de *D. rotundata* e *C. ambrosioides* foram 0,0014 g.mL⁻¹, 0,006 g.mL⁻¹, 0,0352 g.mL⁻¹ e 0,4 g.mL⁻¹, respectivamente. Observou-se, que os extratos aquosos foram mais ativos que os etanólicos e apresentaram-se mais tóxicos à *P. xylostella*. Na análise da prospecção dos constituintes químicos de *D. rotundata* e *C. ambrosioides*, foi constatado a presença de taninos flobafênicos, flavonas, flavonóis, xantonas, catequinas e saponinas, em ambas espécies. Desta forma, os extratos aquosos de *D. rotundata* e *C. ambrosioides*, podem ser considerados eficientes bioinseticidas em programas de manejo de pragas, podendo ser utilizado para controlar lagartas de *P. xylostella*.

Palavras-chave: Dioscoreaceae. Chenopodiaceae. Aquosos.

ABSTRACT

The plants yam and mastruz have promising characteristics for use as fitoinseticidas such as low cost and easy acquisition of unmarketable part, known crop management for small farmers and presence in all regions of Brazil, making them a viable alternative in management of *Plutella xylostella*. The objective of the present study was to evaluate the insecticide potential of *Dioscorea rotundata* Poir. and *Chenopodium ambrosioides* L. on *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) through various forms of extraction and estimation of lethal concentration (LC₅₀). The aerial parts collected were dried in kiln at 65 °C and then triturated in a knife mill to obtain a fine grain powder. In preparing the aqueous extract of *D. rotundata* were used 800 g in 4.0 L of distilled water and 550 g and 3.0 L. of *C. ambrosioides*, respectively. Remained immersed for 48 hours, after this period the extracts were filtered and packaged in glass containers. It did the freezing of the extracts to be subsequently accomplished the lyophilization process. In the preparation of ethanolic extracts were immersed 1.5 g of the powders in 50 mL of ethanol for 24 hours. Posteriormente, the extracts were filtered and concentrated on rotavapor at 50 °C and reduced pressure. Moreover, it carried out a bioprospection with the objective of verify possible compounds which are responsible for the biological action. As to evaluation of insecticidal activity, both species and types of extracts were considered active positively to caterpillars *P. xylostella*. The estimate of (LC₅₀) of water and ethanol extracts of *D. rotundata* and *C. ambrosioides* were 0,0014 g.mL⁻¹, 0,006 g.mL⁻¹, 0,0352 g.mL⁻¹ e 0,4 g.mL⁻¹, respectively. It was observed, however, that aqueous extracts were more active than the ethanol and presented more toxic to *P. xylostella*. In analyzing the prospection of chemical constituents from *D. rotundata* and *C. ambrosioides*, established the presence of phlobaphenes tannins, flavones, flavonols, xanthonnes, catechins and saponins, in both species. Thus, the aqueous extracts of *D. rotundata* and *C. ambrosioides*, can be considered effective biopesticides in pest management programs and can be used to control caterpillars of *P. xylostella*.

Keywords: Dioscoreaceae. Chenopodeaceae. Aqueous.

1 Introdução

Uma das mais importantes limitações do cultivo de brássicas tem sido o ataque de insetos-praga, dentre os quais se podem citar a traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) (FILGUEIRA, 2008), considerada a mais destrutiva no Brasil e em várias partes do mundo (MONNERAT et al., 2004, MEDEIROS; BOIÇA JUNIOR; TORRES, 2005; KHALIQ; ATTIQUE; SAYYED, 2007), cujos danos ocasionados pela fase larval podem levar à depreciação do produto, retardar o desenvolvimento e/ou acarretar a morte da planta (CASTELO BRANCO et al., 2001; MONNERAT et al., 2004).

O método mais utilizado para o seu controle é o químico, muitas vezes realizado de forma preventiva, por meio de produtos não seletivos em regime de aplicação de uma a duas vezes por semana (MAZLAN; MUMFORD, 2005; GRZYWACZ et al., 2010), resultando em enorme gasto de 1,4 bilhão de dólares anualmente para o controle ao se considerar o regime de aplicação semanal (ZALUCKI et al., 2012).

A elevada pressão de seleção devido ao uso abusivo de inseticidas para o controle dessa praga a tornou resistente a algumas classes de agroquímicos (SARFRAZ; KEDDIE, 2005; KHALIQ; ATTIQUE; SAYYED, 2007, ZAGO et al., 2014). Desta forma, produtos naturais extraídos de plantas constituem-se em fonte de substâncias bioativas compatíveis com programas de manejo integrado de pragas (MIP) e que pode reduzir os efeitos negativos ocasionados pela aplicação descontrolada desses produtos (MEDEIROS; BOIÇA JUNIOR; TORRES, 2005).

Uma das principais espécies botânicas hoje utilizadas como fonte de produtos inseticidas é conhecida comumente por nim (*Azadirachta indica* A. Juss) (Meliaceae), de origem asiática e uso difundido mundialmente (DEQUECHET et al., 2008). Os bons resultados obtidos com esta espécie têm estimulado estudos com outras meliáceas e diversas outras famílias botânicas, no intuito de encontrar novas espécies com atividade inseticida.

A cultura do inhame *Dioscorea* spp. também é conhecida por cará-da-costa, pertencente à família Dioscoreaceae, cujo gênero possui mais de 600 espécies e fácil adaptação às diferentes regiões (ZÁRATE; VIEIRA; MINUZZI, 2000; BRESSAN, 2005). As espécies de inhame mais cultivadas pertencem a *Dioscorea alata* L., *D. cayennensis* Lam. e *D. rotundata* Poir., cujos rizóforos são direcionados ao consumo *in natura* (BRESSAN, 2005; LIPORACCI; MALI; GROSSMANN, 2005).

O inhame é uma planta herbácea que apresenta características desejáveis de uma planta inseticida, pois, é um vegetal de manejo simples. As partes da planta utilizadas para a produção do extrato são as folhas e ramos, sendo estas não utilizadas comercialmente e produzida de forma contínua pelo vegetal. Desta forma, apontam-se vantagens de ser facilmente adquiridas e de não apresentar nenhum custo ao produtor (SANTOS, 1996).

O estudo para a utilização e indicação do inhame como planta inseticida ainda é muito limitado (BANAAG et al., 2005; FERREIRA, 2010; SOUSA et al., 2012; BASTOS, 2013; TRINDADE et al., 2015). No entanto, o efeito deste vegetal sobre a lagarta-do-cartucho foi evidenciado por Ferreira (2010), que ao estudar o efeito de extratos aquosos de quatro plantas inseticidas (inhame, nim, mastruz e graviola, na concentração de 5% (p/v)) na cultura do milho, verificou que as folhas das plantas tratadas com os extratos de inhame e de nim foram menos danificadas pelas lagartas.

Existem na literatura relatos de que a atividade biológica de *Dioscorea* spp. é devida à ação de alcaloides, como no trabalho de Bannaag et al. (2005), que relataram atividade anti-alimentar e tóxica de dois alcaloides (dioscorina e dioscorina N-óxido), de *Dioscorea hispida* Dennst. (Dioscoreaceae), contra lagartas de *P. xylostella* e *Pseudaletia separata* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae).

O mastruz, *Chenopodium ambrosioides* L. (Chenopodiaceae), é uma planta medicinal herbácea, originária da América do Sul, que ocorre em todo o Brasil, sendo considerada uma planta daninha em algumas regiões do país. Possui um cheiro forte e desagradável. As folhas e frutos acumulam óleo essencial rico em ascaridol, princípio ativo responsável pelo efeito vermífugo da planta. A espécie *C. ambrosioides* é muito utilizada principalmente pelas civilizações indígenas norte americanas, mexicanas, argentinas e bolivianas (LORENZI; MATOS, 2002).

Silva et al. (2005), avaliando o potencial inseticida de pós de 23 espécies vegetais, em relação a *S. zeamais*, verificaram mortalidade e redução na emergência de adultos, além da menor perda de peso dos grãos, quando do uso de pós de *C. ambrosioides*. Tavares; Vendramim (2005a) também observaram alta mortalidade e redução na emergência de adultos de *S. zeamais* quando da adição de pós de frutos de *C. ambrosioides* em grãos de trigo. Ainda, conforme Tavares; Vendramim (2005b) observaram, além do efeito inseticida por contato, a espécie apresenta atividade tóxica via fumigação de pós de seus frutos em relação à fase imatura e adultos de *S. zeamais*.

Considerando que *D. rotundata* e *C. ambrosioides* apresentam potencial inseticida sobre insetos-praga (TRINDADE et al. 2015), o presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial inseticida sobre *P. xylostella*, através de diferentes formas de extração e a estimativa da concentração letal (CL₅₀). Além disso, realizou-se uma bioprospecção com o intuito de verificar quais possíveis compostos são responsáveis pela ação inseticida.

2 Material e Métodos

2.1 Obtenção de plantas e preparo dos extratos aquosos e etanólicos

As partes aéreas de inhame e mastruz foram adquiridas em abril de 2014 nos municípios de Anadia e Taquarana, Estado de Alagoas, Brasil. O inhame foi coletado após a colheita da túbera e o mastruz após o florescimento. A identificação das espécies foi realizada no Instituto do Meio Ambiente de Alagoas (IMA) em Maceió-AL, cujas exsiccatas das plantas estão depositadas no herbário sob os números MAC 34905 e MAC 34911, respectivamente.

O material coletado foi acondicionado em sacos de papel, sendo em seguida levado para secar por 72 horas em estufa de ventilação forçada, a 65 °C. A seguir, o material foi triturado em moinho tipo Wiley para a obtenção do pó, que foi acondicionado em recipientes de vidros hermeticamente fechados e identificados, até seu uso nos bioensaios.

Na preparação dos extratos aquosos liofilizados de inhame e mastruz, foram emersos 200 g.L⁻¹ em água destilada e 183,3 g.L⁻¹, respectivamente. Essas misturas foram mantidas por 48 horas para extração dos compostos hidrossolúveis e após esse período o material foi filtrado. Em seguida os extratos aquosos das espécies foram congelados em freezer por 48 horas e submetidos à liofilização até a eliminação total da água.

Os extratos etanólicos foram preparados no Laboratório de Pesquisa em Recursos Naturais (LPqRN). Imergiram-se 1,5 g de cada pó vegetal em 50 mL de etanol, durante 24 horas. Posteriormente, o material foi filtrado, concentrado em rotavapor a 50°C e sob pressão reduzida.

Os resíduos concentrados obtidos da extração etanólica foram colocados em frasco de vidro devidamente etiquetados e acondicionados em capela para evaporação do solvente. Em seguida, foram vedados e armazenados em temperatura ambiente.

2.2 Estimativa da concentração letal (CL₅₀) de extratos aquosos e etanólicos de *Dioscorea rotundata* e *Chenopodium ambrosioides* sobre *Plutella xylostella*

Foram realizados pré-testes com os extratos aquosos e etanólicos de *D. rotundata* e *C. ambrosioides* em diferentes concentrações para determinar valores próximos do Limite Superior (LS), que matasse próximo de 100%, e o Limite Inferior (LI), que matasse próximo da testemunha. Após a determinação dos limites, as seis concentrações usadas para estimativa da CL₅₀ foram obtidas através da fórmula de Finney (1971), $q = \frac{n+1}{n} \sqrt[n]{a_1/a_n}$, onde q é a razão da progressão geométrica, n é o número de concentrações a serem extrapoladas, a_n é o limite superior e a₁ é o limite inferior.

Alíquotas dos extratos aquosos e etanólicos foram solubilizadas em água destilada acrescentando-se solvente dimetilsulfóxido (DMSO) a 1% v/v até as seguintes concentrações: para os extratos aquosos de *D. rotundata* as concentrações testadas foram: 0,375; 0,75; 1,5; 3,0 e 6,0% (m/v) e para *C. ambrosioides* 0,21; 0,43; 0,875 e 1,75% (m/v). As concentrações testadas para os extratos etanólicos de ambas espécies foram: 0,375; 0,75; 1,5 e 3,0% (m/v), utilizando água destilada como testemunha nos dois bioensaios.

Foram confeccionados discos foliares de 8 cm de diâmetro com folhas de couve Geórgia, *Brassica oleraceae* var. *acephala* DC. (Brassicaceae), que foram pulverizadas com a solução dos extratos em diferentes concentrações, utilizando-se torre de Potter (POTTER, 1952). A aplicação foi realizada a uma pressão de 5 psi/pol² utilizando-se um volume de calda de 2,3 mL, o que corresponde a um depósito de $1,9 \pm 0,37$ mg/cm². Esta quantidade aplicada está de acordo com o recomendado pela IOBC/WPRS (International Organization for Biological Control of Noxious Animals and Plants/ West Palearctic Regional Section) e representa o que ocorre no campo (REIS et al., 1998).

Os discos tratados com os extratos foram distribuídos sobre uma superfície coberta com papel toalha, onde permaneceram ao ar livre para evaporação do excesso de água. Lagartas recém eclodidas foram colocadas em placas de Petri de 8 cm de diâmetro, contendo um disco tratado sobre papel de filtro umedecido com água destilada, para manutenção da umidade, mantidos em laboratório (temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12h). A partir do terceiro dia da montagem do bioensaio, iniciaram-se as avaliações da mortalidade larval.

O experimento foi conduzido sob delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos mais a testemunha e cinco repetições com 10 lagartas cada uma para a determinação das concentrações letais de cada extrato. Os dados foram avaliados por análise

de Probit, usando o programa de análise estatística SAS para determinação da CL_{50} (SAS Institute 2000).

2.3 Prospecção dos constituintes químicos de *Dioscorea rotundata* e *Chenopodium ambrosioides*

Para a realização da etapa de triagem fitoquímica tomou-se como base a metodologia proposta por Matos (1989), a qual foi trabalhada com algumas adaptações, a fim de realizar prospecção dos seguintes aleloquímicos: fenóis, taninos pirogálicos, taninos flobafênicos, antocianina e antocianidina, flavonas, flavonóis, xantonas, chalconas, auronas, flavononois, leucoantocianidinas, catequinas, flavononas, flavonois, xantonas, esteroides, triterpenoides e saponinas.

2.3.1 Operações preliminares

De cada extrato obtido e utilizado nos bioensaios separaram-se 35 mL para a prospecção fitoquímica, os quais foram separados em sete porções de 3 mL em tubos de ensaios numerados e identificados de acordo com cada tipo de extrato.

2.3.2 Testes para fenóis, taninos pirogálicos e taninos flobafênicos

No tubo "1" de cada extrato foram colocadas três gotas de solução alcoólica de $FeCl_3$, após agitação foi observada a ocorrência de variação de cor ou formação de precipitado abundante escuro. A coloração entre o azul e o vermelho era indicativa de fenóis, precipitado escuro de tonalidade azul era indicativa da presença de taninos pirogálicos (taninos hidrolisáveis) e verde da presença de taninos flobafênicos (taninos condensados ou catéquicos). Para comparação foi realizado um teste em branco usando apenas água e o cloreto férrico.

2.3.3 Teste para antocianina e antocianidina, flavonas, flavonois e xantonas, chalconas e auronas

O tubo "2" foi acidulado com ácido clorídrico (HCl) a pH 3, o extrato do tubo "3" foi alcalinizado a pH 8,5 e o tubo "4" alcalinizado a pH 11 através da adição de hidróxido de sódio (NaOH). A variação de cor conforme a Tabela 7, indicou a presença ou ausência dos constituintes químicos.

2.3.4 Teste para leucoantonocianidinas, catequinas e flavanonas

O tubo "5" foi acidulado por adição de HCl até pH 2 e o tubo "6" foi alcalinizado pela adição de NaOH até pH 11. Ambos foram aquecidos com o auxílio de uma lamparina de álcool durante 3 minutos. A variação de cor conforme a Tabela 8, indicou a presença ou ausência dos constituintes químicos.

Tabela 7 - Teste para antocianina e antocianidina, flavonas, flavonois xantonas, chalconas e auronas, flavonóis em prospecção de constituintes químicos de extratos aquosos.

Constituintes	Tubos de ensaio com pHs diferentes		
	Cor do meio		
	Ácido pH 3 (tubo "2")	Ácido pH 8,5 (tubo "3")	Ácido pH 11 (tubo "4")
Antocianinas e Antocianidinas	Vermelha	Lilás	Azul - púrpura
Flavonas, flavonóis e xantonas	-	-	Amarela
Chalconas e auronas	Vermelha	-	Vermelho púrpura
Flavononóis	-	-	Vermelho laranja

Fonte: Matos, (1989). Nota: * segundo o autor resultados podem mascarar a presença de outros aleloquímicos.

2.3.5 Testes para flavonois, flavanonas, flavanonóis e xantonas

Ao Tubo "7" foi adicionado uma pequena fita de magnésio e 1,0 mL de HCl concentrado. Após o término da reação, indicada pelo fim da efervescência, o tubo "7" foi comparado com o tubo "5" (ambos acidulados). Esperava-se o aparecimento ou a intensificação de cor vermelha indicando a presença de flavonois, flavanonas, flavanonóis e/ou xantonas, livres ou seus heterosídeos.

Tabela 8 - Teste para leucoantonocianidinas, catequinas e flavanonas em prospecção de constituintes químicos de extratos aquosos.

Constituintes	Cor do meio	
	Ácido 5 Tubo 5	Alcalino 6 Tubo 6
	Leucoantocianidinas	vermelha
Catequinas	pardo - amarelada	-
Flavanonas	-	vermelho - laranja

Fonte: Matos, (1989). Nota: * segundo o autor alguns resultados podem mascarar a presença de outros aleloquímicos.

2.3.6 Teste para esteroides e triterpenoides

O resíduo seco do béquer foi extraído 3 vezes com 2 mL de clorofórmio e homogeneizado. A solução foi filtrada gota a gota em um pequeno funil com algodão, coberta com alguns decigramas de Na_2SO_4 anidro, para um tubo de ensaio. Foi adicionado 1 mL de anidro acético, agitou-se suavemente, e adicionou-se 3 gotas de H_2SO_4 concentrado. Agitou-se novamente e observou-se a projeção de cores indicando: coloração azul evanescente seguida de verde permanente é indicativa da presença de esteróides livres. A coloração parda até vermelha indica triterpenóides pentacíclicos livres.

2.3.7 Teste para saponinas

O resíduo insolúvel em clorofórmio, separado na operação anterior, foi redissolvido em 8 mL de água destilada e a solução foi filtrada para um tubo de ensaio. Agitou-se o tubo com a solução, fortemente, por 3 minutos e observou-se a formação de espuma, a qual se fosse persistente e abundante (colarinho) é indicativa da presença de saponinas (heteroides saponínicos).

2.3.8 Teste para alcaloides

O pH dos extratos foram corrigidos para 11 utilizando NH_4OH . Em seguida, cada solução obtida foi submetida a uma extração líquido-líquido utilizando três porções sucessivas de 30, 20 e 10 mL de uma mistura éter-clorofórmio 3:1. As fases éter-clorofórmio obtidas foram tratadas com Na_2SO_4 anidro para eliminação de água e misturadas com 3 pequenas porções sucessivas de HCl diluído para extração das bases orgânicas existentes. As soluções aquosas ácidas obtidas foram distribuídas em 3 tubos de ensaio, e a cada tubo foram adicionadas, respectivamente, 3 gotas dos reagentes de precipitação de alcaloides: Hager, Mayer e Dragendorff. A presença de alcaloides foi caracterizada pela formação de um precipitado floculoso e pesado em pelo menos 2 tubos dos 3 utilizados.

2.4 Parâmetros biológicos de *Plutella xylostella*

2.4.1 Toxicidade de extratos aquosos liofilizados para *Plutella xylostella*

Para o teste de toxicidade foram confeccionados discos de 8cm de diâmetro de folhas de couve. No tratamento com os extratos, os discos foliares foram submetidos à pulverização de 2,3 mL em cada lado do disco, nas respectivas suspensões. Para o tratamento testemunha, os discos foram pulverizados com água destilada e DMSO a 1%.

Os discos tratados e não tratados com os extratos foram distribuídos sobre uma superfície coberta com papel toalha, onde permaneceram ao ar livre para evaporação do excesso de água. Nesse experimento, foram realizados 10 repetições por tratamento contendo dez lagartas recém eclodidas em cada repetição. Transferiram-as para placas de Petri de 15cm de diâmetro, contendo um disco tratado, sobre papel de filtro umedecido com água destilada para manutenção da umidade e mantidos em laboratório (temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12h). A partir do terceiro dia da montagem do experimento, iniciaram-se as avaliações da mortalidade larval, a qual foi realizada a cada dois dias onde era realizada a troca das folhas velhas por novas folhas não tratadas.

Quando as lagartas se transformavam em pupas, eram coletadas diariamente e individualizadas em tubos de vidro, observando-se diariamente a emergência dos adultos. Para efeito, foram avaliados os seguintes parâmetros biológicos: duração e viabilidade das fases larval, pupal, longevidade de adultos e razão sexual.

2.4.2 Teste de preferência para oviposição de *Plutella xylostella*

Para os testes com chance de escolha, discos foliares de couve com 8 cm de diâmetro foram submetidos a pulverização de 2,3 mL dos extratos em cada lado do disco na concentração letal (CL_{50}) e um tratamento com inseticida químico. Após, foram postos sobre papel toalha para secagem ao ar livre; em seguida, divididos em partes, obtendo-se quatro discos foliares (2 cm de diâmetro) com dimensões semelhantes.

Discos retirados das mesmas folhas de couve foram pulverizados com água destilada e usados como padrão nos testes de repelência. Assim, foi formado um conjunto, constituído por quatro triângulos dispostos alternadamente sobre papel de filtro levemente umedecido com água destilada, sendo dois tratados com os extratos na concentração letal (CL_{50}), um tratado com água destilada e o outro com ingrediente ativo (deltametrina) na concentração

recomendada pelo fabricante. Esse conjunto foi colocado em gaiolas idênticas às utilizadas na criação de *P. xylostella*. Quatro casais de *P. xylostella* com até 12 horas de idade, provenientes da criação, foram introduzidos nas gaiolas e mantidos por 24 horas para oviposição sendo alimentados com solução açucarada a 10%, embebida em esponja presa na parte superior da gaiola.

O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos (CL₅₀, Deltametrina e Testemunha) e 10 repetições. A análise foi feita por comparação de médias pelo teste de Tukey utilizando o programa ASSISTAT versão 7.5 (Silva; Azevedo, 2009).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Estimativa da concentração letal (CL₅₀) de extratos aquosos e etanólicos de *Dioscorea rotundata* e *Chenopodium ambrosioides* sobre *Plutella xylostella*

Os extratos aquosos de *D. rotundata* e *C. ambrosioides* apresentaram toxicidade a *P. xylostella*, com valores da (CL₅₀) estimadas em 0,14 e 0,59%, respectivamente (Tabela 9).

Tanto *D. rotundata* quanto *C. ambrosioides* apresentaram níveis elevados de toxicidade. Isso se deve ao fato destas espécies apresentarem substâncias com potencial a serem tóxicas, fagodeterrentes, inibidores de crescimento e outras características que desfavorecem o desenvolvimento ou até mesmo a morte de insetos-praga.

Tabela 9 - Concentração letal (CL₅₀) dos extratos aquosos da parte aérea de *Dioscorea rotundata* e *Chenopodium ambrosioides* sobre lagartas de *Plutella xylostella*.

Tratamentos	n ¹	GL ²	Inclinação ± EP	CL50(%) (IC 95%)	χ ^{2 3}	P
<i>D. rotundata</i>	250	3	0,61 ± 0,20	0,14 (0,002-0,397)	0,33	0,95
<i>C. ambrosioides</i>	200	2	2,28 ± 0,48	0,59 (0,11–2,84)	4,72	0,09

¹ Número de lagartas utilizadas em cada tratamento.

² Grau de liberdade do qui-quadrado.

³ Qui-quadrado.

EP – Erro padrão.

IC – Intervalo de confiança.

P – Significância (P>0,05).

Fonte: Autor, 2016.

Existem na literatura relatos de que a atividade biológica de *Dioscorea* spp. é devida à ação de alcaloides, como no trabalho de Bannaag et al. (2005), que relataram atividade anti-alimentar e tóxica de dois alcaloides (dioscorina e dioscorina N-óxido), de *Dioscorea hispida*

Dennst. (Dioscoreaceae), contra lagartas de *P. xylostella* e *Pseudaletia separata* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae).

Em um estudo semelhante sobre a toxicidade de *D. rotundata*, Trindade et al. (2015) concluiu que extratos aquosos na concentração de 20% causou letalidade e retardo biológico em lagartas de *S. frugiperda*. O nível de atividade foi considerado satisfatório quando comparado aos resultados do presente trabalho, pois, na concentração de 0,14% ocasionou 50% de mortalidade em lagartas de *P. xylostella*.

De modo similar, Ferreira (2010) ao investigar o efeito inseticida de extratos aquosos desta espécie, além de outras três plantas inseticidas (*Azadirachta indica* A. Juss, *Chenopodium ambrosioides* L. e *Annona muricata* L.) na concentração de 5% (p/v) sobre *S. frugiperda*, constatou que folhas de plantas de milho tratadas com os extratos de inhame e nim foram menos danificadas pelas lagartas.

Assim como os resultados encontrados por Cunha et al. (2006), quanto à ação inseticida de extratos aquosos liofilizados ao comparar extratos aquosos liofilizados (EAL) a 3% de folhas e de ramos de *Trichilia pallens* C. DC., ocasionaram mortalidade larval de 40,6 e 47,6% ao quinto e décimo dia após infestação (DAI) em *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae) de forma mais eficiente em EAL de folhas, diferindo significativamente dos valores obtidos em EAL de ramos e do controle negativo ao quinto e décimo dia.

Resultados de ação tóxica de *C. ambrosioides* também foram encontrados por Mendonça (2009) ao estudar o efeito inseticida de pós de diferentes espécies vegetais no controle de *Sitophilus zeamais*, ao relatar que o pó de *C. ambrosioides* foi o único que ocasionou mortalidade de 100% dos adultos de *S. zeamais* no primeiro dia após a infestação. No mesmo trabalho, a CL_{50} encontrada no extrato aquoso de *C. ambrosioides* foi de 0,59, testando o pó desta espécie sobre adultos de *S. zeamais*.

Da mesma forma foi evenciado por Procópio et al. (2003), na estimativa do limiar de atividade inseticida de *C. ambrosioides* que, entre as seis espécies testadas, foi a única que afetou a sobrevivência de *S. zeamais*, constatando-se mortalidade de 100% dos adultos nas dosagens de 0,3 e 0,6 g de pó/ 20 g de grãos.

No entanto, Tavares (2006) estudou o efeito inseticida durante cinco dias dos extratos aquosos das folhas e frutos de três espécies de *Chenopodium* na concentração 10% sobre *S. zeamais* e constatou que o valor máximo de mortalidade encontrado foi de 0,6% nos extratos das folhas de *C. ambrosioides*, inferindo que as espécies não apresentam potencial inseticida sobre adultos deste inseto-praga provavelmente devido a forma de obtenção dos derivados

botânicos e aplicação destes derivados.

Em pesquisa com diferentes espécies vegetais, Boiça Junior et al. (2005) observou que a mortalidade larval de *P. xylostella* pelo extrato aquoso de *C. ambrosioides* na concentração de 10%, teve um valor em torno de 70%.

Os valores obtidos por Trindade et al. (2015) foram inferiores ao encontrado neste estudo para o extrato aquoso de inhame, observando que a concentração 6% testada em *P. xylostella* ocasionou 86% de mortalidade.

Após 24 horas da aplicação de extratos aquosos de *C. ambrosioides* sobre *Toxoptera citricida* (Kirkaldy, 1907) (Hemiptera: Aphididae) observou-se mortalidade significativa com o uso das concentrações 50 g.mL⁻¹, 60 g.mL⁻¹, 70 g.mL⁻¹, 80 g.mL⁻¹ e 90 g.mL⁻¹ na população de pulgão-preto dos citros, demonstrando a ação imediata do produto, o que é um aspecto bastante importante, já que há risco de perda pela ação dos fatores edafoclimáticos logo após a sua aplicação (SILVA, 2009).

De modo análogo, após 72 horas de pulverização dos extratos etanólicos de *Copaifera langsdorffii* Desf. (Fabaceae) e *C. ambrosioides* e extrato aquoso de *Ruta graveolens* L. (Rutaceae) na concentração de 5%, observou-se um menor número de adultos de *Bemisia tabaci* nas plantas de tomate tratadas com *C. langsdorffii* e *C. ambrosioides* do que nas tratadas com *R. graveolens* (BARBOSA et al., 2011).

Segundo Guzzo, Tavares e Vendramim (2006) o extrato aquoso a 10% das folhas e frutos de *C. ambrosioides* não apresentou atividade inseticida in vitro contra adultos de *Rhyzopertha dominica* (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Bostrichidae) e também não afetou a sobrevivência ou desenvolvimento.

A CL₅₀ de 0,59% encontrada no extrato aquoso de *C. ambrosioides* foi relativamente pequena, uma vez que Corrêa (2006) afirmou que o controle de insetos-praga com a utilização de extrato botânico é satisfatório a partir da concentração de 80%.

Os extratos etanólicos de *D. rotundata* e *C. ambrosioides* apresentaram toxicidade reduzida a *P. xylostella* quando comparada aos extratos aquosos, com valores das CL₅₀ estimadas em 0,0352 e 0,4 g/mL, respectivamente (Tabela 10). Isso pode estar relacionado ao fato da polaridade do solvente utilizado, concordando com os resultados obtidos por Gonçalves-Gervásio (2003), identificou que o extrato em clorofórmio de folhas de *T. pallida*, foi o mais eficiente sobre larvas de *T. absoluta*, em comparação a outros três extratos orgânicos (metanol, etanol e hexano).

Segundo Cunha et al. (2006), a mortalidade de lagartas de *T. absoluta*, alimentadas em folíolos tratados com o extrato em diclorometano (1%), foi a única que diferiu,

significativamente, das registradas nos controles com água e acetona ao terceiro dia após infestação (DAI). Ao sexto dia, todos os extratos ocasionaram mortalidade nas lagartas significativamente superior aos controles, embora não tenham diferido entre si.

Tabela 10 - Concentração letal (CL₅₀) dos extratos etanólicos da parte aérea de *Dioscorea rotundata* e *Chenopodium ambrosioides* sobre lagartas de *Plutella xylostella*.

Tratamentos	n ¹	GL ²	Inclinação ± EP	CL50(%) (IC 95%)	χ ² ³	P
<i>D. rotundata</i>	200	2	1,14 ± 0,29	3,52 (2,16-11,95)	0,29	0,86
<i>C. ambrosioides</i>	200	2	0,58 ± 0,31	5,19 (2,84-30,78)	0,0085	0,99

¹ Número de lagartas utilizadas em cada tratamento.

² Grau de liberdade do qui-quadrado.

³ Qui-quadrado.

EP – Erro padrão.

IC – Intervalo de confiança.

P – Significância (P>0,05).

Fonte: Autor, 2016.

Testando extratos orgânicos de sementes e de folhas de (*A. indica*) sobre *Helicoverpa armigera* (Hübner: 1805) (Lepidoptera:Noctuidae), Jaglan et al. (1997) constataram que os extratos com clorofórmio/metanol (9:1), obtidos de sementes e de folhas de nim, tiveram maior atividade inseticida que os extratos destas mesmas partes de planta, porém usando-se apenas metanol. Quando comparados aos resultados desta pesquisa, percebe-se que o solvente utilizado extraiu uma menor quantidade de compostos ativos, por isso, apresentaram baixa mortalidade, indicando que os compostos que causam letalidade sejam extraídos por solventes bem mais polares como a água.

Resultados semelhantes foram encontrados por Souza (2004), que testou extratos hexânico, clorofórmico, etanólico e metanólico de ramos de *T. pallida* sobre ninfas da mosca-branca *B. tabaci* (Genn.) biótipo B e o extrato clorofórmico (polaridade semelhante ao diclorometano) a 5% (p/v) foi considerado o mais ativo sobre o inseto. A mortalidade das ninfas de *B. tabaci* foi maior no extrato com clorofórmio, sendo que os demais não diferiram entre si, sugerindo que, nesta planta, os compostos que causam a mortalidade em mosca-branca sejam apolares (CUBILLO; SANABRIA; HIJE, 1999).

Assim como Almeida et al. (2011), avaliando a porcentagem média de *Zabrotes subfasciatus* (Bohemann, 1833) (Coleoptera: Bruchidae) mortos pela ação de diferentes doses dos extratos hidroalcoólicos de *C. ambrosioides*, revelou que a partir da dose de 6 mL, o extrato do mastruz atuou matando em 100%.

Soares et al. (2010) reportam que o extrato etanólico de *C. ambrosioides*

apresentou repelência contra o carrapato estrela *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) cujos resultados foram semelhantes aos obtidos com DEET (N,N-dietil-3-metilbenzamida), no entanto houve perda da atividade repelente devido à rápida evaporação de compostos ativos.

A bioatividade do extrato metanólico das folhas de *C. ambrosioides*, sob condições de laboratório, para a atividade larvicida, ovicida e de postura contra *Culex quinquefasciatus* sugere que o extrato é promissor como inseticida natural (RAJKUMAR; JEBANESAN, 2008).

Condizente aos resultados apresentados, Trindade et al. (2015) estudou o efeito da viabilidade larval em diferentes concentrações de *C. ambrosioides* sobre *S. frugiperda* e verificaram que apenas na concentração mais elevada de 20% ocorreu um decréscimo na viabilidade larval, com valor em torno de 10%.

O óleo essencial de *C. ambrosioides* a 90% em etanol repeliu o mosquito *Aedes aegypti*, por cerca de uma hora (GILLIJ; GLEISER; ZYGADLO, 2008).

Assim como, o óleo essencial de (*C. ambrosioides*) na concentração de 500 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ causou mortalidade corrigida a larvas de *Frankliniella schultzei* (Trybom, 1910) (Thysanoptera: Thripidae) de apenas 3,5% (RONDELLI et al., 2012), resultados similares foram obtidos no presente estudo com extratos etanólicos, evidenciando porcentagem de mortalidade reduzida.

3.2 Prospecção dos constituintes químicos de *Dioscorea rotundata* e *Chenopodium ambrosioides*

Os resultados da triagem foram considerados positivos pela presença da formação de precipitados e surgimento de coloração e espuma em taninos flobafênicos, flavononas, flavonóis, xantonas, catequinas e saponinas de ambos extratos (Tabela 11).

Tabela 11 - Resultado da prospecção fitoquímica realizada dos extratos aquosos e etanólicos das espécies *Dioscorea rotundata* e *Chenopodium ambrosioides*.

Constituintes químicos	<i>D. rotundata</i>		<i>C. ambrosioides</i>	
	E.A.D.R*	E.E.D.R*	E.A.C.A*	E.E.C.A*
Fenois	-	-	-	-
Taninos pirogálicos	-	-	-	-
Taninos flobafênicos	+	+	+	+
Antocianina e Antocianidina	-	-	-	-
Flavonas, Flavonois e Xantonas	+	+	+	+
Chalconas e Auronas	-	-	-	-
Flavonois	-	-	-	-
Leucoantocianidinas	-	-	-	-
Catequinas	+	+	+	+

Flavononas	-	-	-	-
Flavonois, Flavononas e Xantonas	-	-	-	-
Esteroides	-	-	-	-
Triterpenoides	-	-	-	-
Saponinas	+	+	+	+
Alcaloides	-	-	-	-

Positivo (+) e Negativo (-);

*EADR: extrato aquoso da parte aérea da espécie *Dioscorea rotundata*.

*EACA: extrato aquoso da parte aérea da espécie *Chenopodium ambrosioides*.

*EEDR: extrato etanólico da parte aérea da espécie *Dioscorea rotundata*.

*EECA: extrato etanólico da parte aérea da espécie *Chenopodium ambrosioides*.

Fonte: Autor, 2016.

Por meio de comparação dos resultados da prospecção fitoquímica, os extratos da parte aérea de *C. ambrosioides* e *D. rotundata* de ambos extratos, observam-se similaridades entre as classes estudadas.

Por ocasião do isolamento de compostos hidrossolúveis de plantas, é conveniente a remoção dos lipídeos, com extração prévia em álcool etílico seguida de sucessivas extrações com éter de petróleo antes da sua concentração em evaporador rotativo. Na extração de compostos polares de plantas ricas em taninos, recomenda-se uma extração prévia com hexano (para desengordurar o material), seguindo-se de extração com éter etílico, para extração dos compostos polares desejados, mas livres de taninos. Uma extração final com álcool etílico retiraria os compostos polares não extraídos pelo éter etílico, juntamente com os taninos (MATOS, 1988).

A ação inseticida de *C. ambrosioides*, que ocorreu neste trabalho, pode estar relacionada provavelmente a presença de flavonoides e terpenos presentes na sua estrutura, assim como descrito por Cruz et al. (2007).

De mesmo modo Jorge, Ferro e Koschtschak (1986) em sua abordagem fitoquímica verificou a presença de flavonoides e óleo essencial em *C. ambrosioides*.

Marins et al. (2011) encontrou resultados semelhantes na prospecção fitoquímica das partes aéreas da planta de *C. ambrosioides*, como triterpenoides, esteroides, catequinas, flavononas, compostos fenólicos, taninos e saponinas.

Um alto teor de terpenos esteroidais e galotaninos foi encontrado no extrato aquoso de *C. ambrosioides*. Além disso, flavonoides e alcaloides também foram encontrados. Porém, o extrato pesquisado foi negativo para antocianos, saponinas e quinonas (HALLAL et al., 2010).

Os taninos, compostos formados pela polimerização de unidades de flavonoides são dissuasivos (deterrentes) de alimentação por herbívoros e atuam também como

antimicrobianos (TAIZ; ZEIGER, 1998). As propriedades defensivas dos taninos são geralmente atribuídas a sua habilidade em se ligar às proteínas, como outros fenólicos, dificultando a digestão nos insetos.

Assim como De bona et al. (2012), resultados semelhantes sobre a classe dos flavonoides foi observou-se que nas folhas de *Erythrina mulungu* Mart. ex Benth. estão presentes catequinas, flavonas, flavonóis e xantonas, enquanto que nas inflorescências detectou-se a presença de antocianinas e antocianidinas, chalconas e auronas, flavanonóis, leucoantocianidinas e flavanonas

Os flavonoides estão entre os compostos naturais mais disseminados em plantas, registrando-se mais de dois mil deles, tanto em estado livre quanto como em glicosídeos. As principais categorias estruturais gerais são as flavonas, as flavanonas, os flavonóis, as antocianidinas e as isoflavonas. Foram atribuídas diferentes funções na natureza a vários flavonoides: compostos antimicrobianos, produtos do estresse de metabólitos ou moléculas sinalizadoras (ROBBERS et al., 1997). Sua presença nos vegetais parece estar relacionada com funções de defesa (proteção contra raios ultravioleta, ações antifúngicas e antibacteriana) e de atração de polinizadores (SIMÕES et al., 2002).

Segundo Almeida et al. (2011), as análises fitoquímicas de extratos hidroalcoólicos de *C. ambrosioides*, indicaram a presença de antocianina, flavanoide e esteroide.

Resultados de prospecção fitoquímica realizados em extratos hidroalcoólicos das folhas e inflorescências de *Erythrina mulungu* (Fabaceae), indicaram a presença de açúcares redutores, fenóis e taninos, proteínas e aminoácidos, flavonoides, alcaloides, depsídeos e depsídonas, derivados de cumarina e esteróides e triterpenóides. A saponina espumídica e esteroides e triterpenoides são compostos presentes exclusivamente nos extratos das folhas de *E. mulungu*. Já os alcaloides (ácido pícrico), glicosídeos cardiotônicos e glicosídeos antraquinônicos somente foram detectados no extrato hidroalcoólico das inflorescências. Entretanto os polissacarídeos e alcalóides, de acordo com o método Mayer, não foram detectados em nenhum dos extratos (DE BONA et al. 2012).

Jennings, Brown e Whright (1986) verificaram nos seus experimentos com extratos de *Delphinium geyeri* Greene (Ranunculaceae) a presença de flavonoides, substância isolada dessa planta, que apresentou maior atividade inibindo os receptores de acetilcolinesterase de insetos de forma mais potente que a nicotina.

A confirmação da presença destes constituintes químicos pode direcionar os estudos visando o isolamento e elucidação estrutural dos mesmos, como constatado por Rabêlo (2014).

3.3 Efeito de extratos aquosos liofilizados no desenvolvimento de *Plutella xylostella*

O extrato aquoso de *C. ambrosioides* e o tratamento químico apresentaram viabilidades larvais semelhantes e não evidenciaram diferença estatística. O extrato de *C. ambrosioides* quando comparado ao de *D. rotundata* o qual obteve 44% de viabilidade pelo teste de Tukey ($F= 37,16$; $p<0,00072$), demonstraram diferença estatística, revelando que o extrato de *C. ambrosioides* apresenta características em ocasionar consequências prejudiciais a biologia do inseto, no entanto, a propriedade de *D. rotundata* está ligada ao efeito tóxico, causando mais de 55% de mortalidade as lagartas (Tabela 12).

Tabela 12 - Médias \pm DP da viabilidade e duração das fases larval e pupal, peso de pupas e longevidade de adulto de *Plutella xylostella* submetidas a extratos aquosos liofilizados.

Tratamentos	Viabilidade larval (%) \pm DP	Duração larval (dias) \pm DP	Viabilidade pupal (%) \pm DP	Peso de pupas (mg) \pm DP	Duração pupal (dias) \pm DP	Longevidade de adultos (dias) \pm DP
Testemunha	98,00 \pm 6,32a	8,17 \pm 0,49b	98,00 \pm 6,32a	4,01 \pm 0,35b	3,05 \pm 0,05b	3,96 \pm 0,35a
Deltametrina	61,00 \pm 11,97b	7,62 \pm 0,41b	36,00 \pm 13,49b	5,12 \pm 0,83a	3,89 \pm 0,30a	3,64 \pm 0,65a
C. ambrosioides	66,00 \pm 16,46b	8,92 \pm 0,93a	32,00 \pm 16,19b	5,05 \pm 0,85a	3,34 \pm 0,46b	3,60 \pm 0,53a
D. rotundata	44,00 \pm 9,66c	7,70 \pm 0,44b	43,00 \pm 12,51b	5,33 \pm 0,74a	3,09 \pm 0,22b	3,91 \pm 0,89a
CV%	17,40	7,52	24,23	14,88	8,96	17,00

Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$)

*DP = Desvio padrão

**CV% = Coeficiente de variação

Fonte: Autor, 2016

As substâncias que regulam a relação entre organismos são os aleloquímicos, definidos como substâncias não nutritivas produzidas por uma espécie e que afetam o crescimento, sanidade, comportamento e biologia da população de outra espécie (VENDRAMIM; CASTIGLIONI, 2000). Uma vez ingerido os aleloquímicos podem reduzir o consumo da alimentação e inibir a oviposição como foi verificado em alguns bioensaios com os extratos no presente trabalho.

A duração larval do extrato de *D. rotundata* e do tratamento químico Decis evidenciaram os menores períodos larvais e não apresentaram diferença estatística (Tabela 12), conferindo aos tratamentos características de ação tóxica imediata dos compostos extraídos. O extrato de *C. ambrosioides* prolongou o tempo de duração larval diferindo dos demais ($F= 7,52$; $P<0,00116$), sendo maior até mesmo que a testemunha, configurando que a ação do extrato incidiu diretamente nos parâmetros biológicos do inseto.

O prolongamento na fase larval pode estar associado à redução na eficiência de conversão do alimento ingerido (TANZUBIL; McCAFFERY, 1990). A redução desse período

é explicada pelo efeito inibidor da alimentação das larvas provocadas pelas substâncias presentes nas plantas, induzindo a mudança de estágio. Resultados similares foram obtidos em experimentos com *Spodoptera litura* (Fabricius:1775) (Lepidoptera:Noctuidae) utilizando extratos de plantas das meliáceas: *Trichilia americana* (WHEELER; ISMAN, 2001) e *Trichilia connaroides* (XIE et al., 1994). A redução do período larval também foi constatada com a aplicação de extratos de meliáceas sobre *S. frugiperda* (MIKOLAJCZAK; DREED, 1987; MIKOLAJCZAK; ZILKOWSKI; BARTELT, 1989; MATOS et al., 2006).

Resultados similares foram encontrados por Knaak et al. (2012), sendo constatado que os extratos de *C. ambrosioides* obtidos por maceração e infusão submetidos em *S. frugiperda* na dosagem de 100 µl, ocasionou o prolongamento do período larval.

Estudos realizados por Broadway e Duffey (1986) demonstraram que inibidores de proteases podem reduzir significativamente o desenvolvimento das larvas dos lepidópteros, *Heliothis zea* (Boddie, 1850) e *Spodoptera exigua* (Hübner, 1808). Segundo Ferreira-da-Silva et al. (2000) lecitinas presentes em *Canavalia ensiformis* interferem no desenvolvimento larval de *Lacanobia olereacea*.

Nos bioensaios para avaliação do efeito de extratos sobre a duração do período pupal, observou-se que não houve alterações neste período com a utilização dos extratos aquosos liofilizados de *C. ambrosioides* e *D. rotundata*. Apenas o tratamento químico diferiu significativamente dos demais ($F= 16,71$; $P<0,0001$) (Tabela 12).

As alterações observadas no período de pupa e de adulto estão, provavelmente, associadas aos efeitos das substâncias presentes nos extratos vegetais durante o estágio larval. O efeito tóxico das plantas inseticidas é mais eficiente sobre as larvas do que sobre as pupas, pois são as larvas que ingerem as substâncias químicas presentes nas plantas (RODRIGUEZ; VENDRAMIM, 1996; CESPEDES et al., 2000; MARTINEZ, 2001). Esse efeito se reflete nas alterações morfológicas, redução de peso e tamanho observados nas pupas no presente trabalho.

Também foram observados que os parâmetros biológicos de viabilidade e peso de pupas não apresentaram diferença estatística ($F= 59,32$; $P<0,00018$) para viabilidade e ($F= 6,66$; $p<0,03376$) com a utilização dos extratos aquosos obtidos por liofilização de *C. ambrosioides* e *D. rotundata* (Tabela 12). Do mesmo modo, não foi verificado efeito significativo dos tratamentos sobre a longevidade de adultos ($F= 0,84$; $p<0,2932$).

A razão sexual observada das fêmeas no estágio adulto não apresentaram desvios significativos, constatando-se que os extratos aquosos liofilizados não promoveram alterações

na proporção sexual dos insetos e também não indicou diferença estatística pelo teste de Tukey ($F= 19,67$; $p<0,01169$) para fêmeas (Tabela 13).

Tabela 13 - Médias \pm DP da razão sexual de adultos de *Plutella xylostella* submetidas a extratos aquosos liofilizados.

Tratamentos	Razão Sexual (%) \pm DP
Testemunha	55.1 \pm 9,66a
Deltametrina	45.9 \pm 14,94a
C. ambrosioides	59.3 \pm 13,70a
D. rotundata	44.2 \pm 11,54a
CV%	45,92

Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$)

*DP = Desvio padrão

**CV% = Coeficiente de variação

Fonte: Autor, 2016.

A inibição da alimentação provocada por extratos vegetais pode interferir no peso pupal. Se o peso é menor que o do controle, sugere-se que a planta provoca diminuição no consumo e utilização do alimento. Como consequência, pupas de menor peso darão origem a adultos pequenos e possivelmente haverá problemas na cópula destes indivíduos com indivíduos normais e as fêmeas serão menos fecundas (RODRIGUEZ; VENDRAMIM, 1996).

Nesse bioensaio, observou-se que a inviabilidade da fase larval pelo extrato aquoso liofilizado de *D. rotundata* teve ação tóxica imediata sobre as lagartas, causando a mortalidade de um número maior de indivíduos nesta fase e promovendo redução populacional. No entanto, os extratos aquosos liofilizados de *C. ambrosioides* atuaram de forma prolongada devido ao efeito inibidor de alimentação e repelência, proporcionando alterações prejudiciais aos parâmetros biológicos avaliados. Desta maneira, percebe-se que a ação dos extratos aquosos liofilizados investigados está ligada diretamente as substâncias presentes, que podem ocasionar atividade inseticida rápida ou então prolongada, afetando outros estágios da biologia do inseto.

3.4 Teste de preferência para oviposição de *Plutella xylostella*

Os extratos aquosos liofilizados e o tratamento químico não apresentaram diferença estatística significativa ($F= 16,36$; $P<0,00087$) (Tabela 14). Apenas o tratamento testemunha diferiu dos demais. Apesar dos resultados de preferência de oviposição com os extratos aquosos não demonstrarem diferença, observa-se que o extrato de *C. ambrosioides* revelou

uma média de ovos considerada pequena de aproximadamente 50, que pode estar associada ao potencial de repelência da planta.

Tabela 14 - Médias \pm DP da preferência de oviposição de *Plutella xylostella* submetidas a extratos aquosos liofilizados.

Tratamentos	Preferência de Oviposição (Nº) \pm DP
Testemunha	130,70 \pm 36,63a
Deltametrina	72,10 \pm 30,23b
C. ambrosioides	49,90 \pm 15,16b
D. rotundata	70,40 \pm 21,67b
CV%	33,65

Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$)

*DP = Desvio padrão

**CV% = Coeficiente de variação

Fonte: Autor, 2016.

Resultados similares foram encontrados por Medeiros, Boiça Junior e Torres (2005) avaliando extratos de frutos de *Sapindus saponaria* (L.) (Sapindaceae) e de *Enterolobium contortisiliquum* e folhas de *Tradescantia pallida* (Commelinaceae) na concentração de 10% para repelência de oviposição de *P. xylostella* e obtiveram repelência de até 100%.

Assim como no presente estudo, a avaliação da repelência em oviposição realizado por Jesus et al. (2011), observaram o efeito de quatro plantas inseticidas (*Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae), *S. saponaria*, *Dimorphandra mollis* (Fabaceae) e *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) (Fabaceae) a 10% na oviposição de *P. xylostella* e a média total de ovos após 4 dias foram respectivamente de 280,00; 313,33; 231,16 e 252,50, todas diferiram da testemunha, que teve uma média de 556,83, porém, sem diferirem entre si.

Os resultados de números de ovos dos extratos aquosos liofilizados quando comparados ao da testemunha, observou-se que essa taxa de oviposição quase dobrou, concluindo que os extratos revelaram o efeito de repelência. No trabalho de Dequech et al. (2009), ao avaliar a oviposição de *P. xylostella*, com extratos de pó-de-fumo e *Melia azedarach* L. a 10% obtiveram uma deterrência de pelo menos 50% na oviposição das folhas tratadas em relação à testemunha. No entanto, Charleston et al. (2005) avaliaram extrato de cinamomo e *Azadirachta indica* A. Juss. sobre a escolha de oviposição de *P. xylostella* e verificaram que o extrato de cinamomo diferiu da testemunha com 75% de deterrência de oviposição enquanto que o nim não diferiu da testemunha.

Martins et al. (2007), avaliaram o efeito de extratos aquosos de nim, pimenta, cinamomo e *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) sobre a preferência de oviposição de *P.*

xylostella observando que a média de ovos da testemunha foi pelo menos cinco vezes maior que a média dos demais tratamentos.

Pesquisas anteriores sobre avaliações de repelência como a de Neri et al. (2006), evidenciaram que *A. indica* possui efeito de repelência para oviposição sobre *B. tabaci* e que o aumento da concentração acarretou num menor número de ovos, com uma média de 300 ovos para a testemunha e 60 para a maior concentração testada, 10%. Estas pesquisas esclarecem que além do potencial inseticida, os extratos vegetais também podem ser úteis como repelente para oviposição, como observado no presente estudo.

4 Conclusão

Os extratos aquosos foram mais ativos e tóxicos a *P. xylostella*, que os extratos etanólicos. A CL_{50} de extratos aquosos foram menores do que etanólicos, provavelmente devido a polaridade dos solventes, que extraíram os compostos ativos responsáveis pela ação inseticida. As análises fitoquímicas forneceram informações relevantes acerca da presença de metabólitos secundários das espécies *D. rotundata* e *C. ambrosioides*, tais como, taninos flobafênicos, flavonas, flavonóis, xantonas, catequinas e saponinas, para que assim possa chegar ao isolamento de princípios ativos importantes na produção de novos fitoinseticidas.

5 REFERÊNCIAS

ALMEIDA, F. A. C. et al. Bioatividade de extratos vegetais no controle do *Zabrotes subfasciatus* isolado e inoculado em uma massa de feijão *Phaseolus*. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 13, n. Especial, p. 375-384, 2011.

BANAAG, A. B. et al. Two Isoquinuclidine Alkaloids of a Tropical Yam, *Dioscorea hispida* (Dioscoreaceae) as Antifeedant and Toxin Against Lepidopteran Insects. **Biopesticides International**, v. 1, n. 1,2, p. 46-53, 2005.

BARBOSA, F. S. et al. Insecticide effects of *Ruta graveolens*, *Copaifera langsdorffii* and *Chenopodium ambrosioides* against pests and natural enemies in commercial tomato plantation. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 33, n. 1, p. 37-43, 2011.

BASTOS, D. L. L. **Extrato aquoso da parte aérea do inhame sobre diferentes idades larvais de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) na cultura do milho**. 2013, 30p. TCC – Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Federal de Alagoas. Rio Largo – AL.

BOIÇA JUNIOR, A. L. et al. Efeito de extratos aquosos de plantas no desenvolvimento de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) em couve. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 72, p. 45-50, 2005.

BRESSAN, E. **Diversidade isoenzimática e morfológica de inhame (*Dioscorea* spp.) coletados em roças de agricultura tradicional do Vale do Ribeira**. 2005, 172p. Tese (Doutorado). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2005.

BROADWAY, R. M.; DUFFEY, S. S. Plant proteinase inhibitor: mechanism of action and effect on the growth and digestive physiology of larval *Heliothis zea* and *Spodoptera exigua*. **Journal of Insect Physiology**, v. 32, p.827-833, 1986.

CASTELO BRANCO, M. et al. Uso de inseticidas para o controle da traça-do-tomateiro e traça-das-crucíferas: um estudo de caso. **Horticultura Brasileira**, v. 19, p. 60-63, 2001.

CESPEDES, C. L. et al. Growth inhibitory effects on fall armyworm *Spodoptera frugiperda* of some limonoids isolated from *Cedrela* spp. (Meliaceae). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p.1903-1908, 2000.

CHARLESTON, D. S. et al. Behavioural responses of diamondback moth *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) to extracts derived from *Melia azedarach* and *Azadirachta indica*. **Bulletin of Entomological Research**, v. 95, p. 457-465, 2005.

CORRÊA, R. S. **Toxicidade de extrato de *Lonchocarpus floribundus* Benth (Timbó) sobre *Toxoptera citricida* Kirkaldy (Pulgão preto dos citros) Sternorrhyncha Aphididae.** 2006. 70 p. Dissertação (Mestrado) – Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia, Manaus. 2006.

CUBILLO, D.; SANABRIA, G.; HIJE, L. Evaluación de la repelencia y mortalidade causada por inseticidas comerciales y extractos vegetales sobre *Bemisia tabaci*. **Manejo Integrado de Plagas**, v. 53, p. 65-71, 1999.

CUNHA, U. S. et al. Frações de *Trichilia pallens* com atividade inseticida sobre *Tuta absoluta*. **Pesquisa agropecuaria brasileira**, v. 41, n. 11, p. 1579-1585, 2006.

CRUZ, G. V. B. et al. Increase of cellular recruitment, phagocytosis ability and nitric oxide production induced by hydroalcoholic extract from *Chenopodium ambrosioides* leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, n. 1, p. 148-154, 2007.

DE BONA, A. P. et al. Estudo fitoquímico e análise mutagênica das folhas e inflorescências de *Erythrina mulungu* (Mart. ex Benth.) através do teste de Micronúcleo em roedores. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 14, n. 2, p.344-351, 2012.

DEQUECHET, S. T. B. et al. Efeito de extratos de plantas com atividade inseticida no controle de *Microtheca ochroloma* Stål (Col.: Chrysomelidae), em laboratório. **Revista Biotemas**, v. 21, n. 1, p. 41-46, 2008.

DEQUECH, S. T. B. et al. Ação de extratos de plantas na oviposição e na mortalidade da traça-das-crucíferas. **Ciência Rural**, v. 39, n. 2, p. 551-554, 2009.

FERREIRA, E. S. **Utilização de espécies vegetais em diferentes vias e formas de aplicação no controle de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae).** 2010. 30p. TCC – Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Federal de Alagoas. Rio Largo, 2010.

FERREIRA-da-SILVA, C. T. Proteolytic activation of canatoxin, a plant toxic protein, by insect cathepsin-like enzymes. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v. 44, p.162-171, 2000.

FILGUEIRA, F. A. R. Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 2. ed. **Viçosa**. MG: Universidade Federal de Viçosa. 412 p. 2008.

FINNEY. D. J. Probit analysis. **Cambridge Univ. Press**, Cambridge, 333p. 1971.

GILLIJ, Y. G.; GLEISER, R. M.; ZYGADLO, J. A. Mosquito repellent activity of essential oils of aromatic plants growing in Argentina. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 7, p. 2507-2515, 2008.

GONÇALVES-GERVÁSIO, R. C. R. **Efeito de extratos de *Trichilia pallida* Swartz e *Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae) sobre *Tuta absoluta* (Meyrick) e seu parasitóide *Trichogramma pretiosum* Riley**. 2003. 88p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2003.

GRZYWACZ, D. et al. Current control methods for diamondback moth and other brassica insect pests and the prospects for improved management with lepidopteran-resistant Bt vegetable brassicas in Asia and Africa. **Crop Protection**, v. 29, p. 68-79, 2010.

GUZZO, E. C; TAVARES, M. A. G. C; VENDRAMIM, J. D. Evaluation of insecticidal activity of aqueous extracts of *Chenopodium* spp. in relation to *Rhyzopertha dominica* (Fabr.) (Coleoptera: Bostrichidae). **9th International Working Conference on Stored Product Protection**, v. 7, p.926-930, 2006.

HALLAL, A. et al. Evaluation of the analgesic and antipyretic activities of *Chenopodium ambrosioides* L. **Asian Journal of Experimental Biological Sciences**, v. 1 n. 1, p. 189-192, 2010.

JAGLAN, M. S. et al. Evaluation of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) extracts against american bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.45, p.3262-3268, 1997.

JESUS, F. G. et al. Efeito de plantas inseticidas no comportamento e biologia de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 78(2), p. 279-285, 2011.

JENNINGS, K. R.; BROWN, D. G.; WHIRIGHT, D. P. Methylcaconitine, a naturally occurring insecticides with a high affinity for the insects cholinergic receptor. **Experientia**, v. 2, n. 6, p. 611-613, 1986.

JORGE, L. I. F.; FERRO, V.O.; KOSCHTSCHAK, M. R. W. Diagnose comparativa das espécies *Chenopodium ambrosioides* L. (erva de Santa Maria) e *Coronopus didymus* L. (mastruço): Principais características morfo-histológicas e químicas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 1, p. 143-153, 1986.

KHALIQ, A.; ATTIQUE M. N. R.; SAYYED, A. H. Evidence for resistance to pyrethroids and organophosphates in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) from Pakistan. **Bulletin of entomological research**, v. 97, p. 191-200, 2007.

KNAAK, N. et al. Atividade inseticida de extratos de plantas medicinais sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **BioAssay**, v. 7, n. 1, p. 1-6, 2012.

LIPORACCI, J.; MALI, S.; GROSSMANN, M. Efeito do método de extração na composição química e nas propriedades funcionais do amido de inhame (*Dioscorea alata*). **Ciências Agrárias**, v. 26, n. 3, p. 345-352, 2005.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas. Instituto Plantarum, **Nova Odessa**, 512p. 2002.

MARINS, A. K. M. et al. Prospecção fitoquímica das partes aéreas da Erva-de-Santa-Maria (*Chenopodium ambrosioides* L.). In: **Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e Encontro Latino Americano de Pós Graduação**, Espírito Santo, v. 15, p. 1-5, 2011.

MARTINS, L. R. et al. Efeito de extratos aquosos de plantas na oviposição de *Plutella xylostella* Linneus (Lepdoptera: Plutellidae) em mostarda (*Brassica* sp.) em laboratório. **XVI Congresso de Iniciação Científica**, 2007.

MARTINEZ, S. S. The use of plants with insecticidal and repellent properties in pest control. **Instituto Agronômico do Paraná**, 4p, 2001.

MATOS, F. J. A. Introdução à fitoquímica experimental. Fortaleza: Edições **UFC**, 128p. 1988.

MATOS, J. M. D.; MATOS, M. E. O. Farmacognosia: curso teórico – prático. Fortaleza: **Edições UFC**, 1989.

MATOS, A. P. et al. Atividades biológicas de extratos orgânicos de *Trichilia* spp. (Meliaceae) sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera:Noctuidae) em dieta artificial. **BioAssay**, v. 1, p.1-7, 2006.

MAZLAN, N.; J. MUMFORD, J. Insecticide use in cabbage pest management in the Cameron Highlands, Malaysia. **Crop Protection**, v.24, p. 31-39, 2005.

MEDEIROS, C. A. M.; BOIÇA JUNIOR, A. L.; TORRES, A. L. Efeito de extratos aquosos de plantas na oviposição da traça-das-crucíferas, em couve. **Bragantia**, v. 64, n. 2, p. 227-232, 2005.

MENDONÇA, A. L. **Atividade inseticida de pós vegetais no controle de *Sitophilus zeamais* (Motschulsky, 1855) (Coleoptera: Curculionidae) em milho armazenado (*Zea mays* L.) (Poaceae)**. 2009, 52p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo, 2009.

MIKOLAJCZAK, K. L.; DREED, D. K. Extractivess of seeds of the meliaceae: effects on *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith), *Acalyma vittatum* (F.), and *Artemia salina* Leach. **Journal of Chemical Ecology**, v. 13, p. 99-111, 1987.

MIKOLAJCZAK, K. L.; ZILKOWSKI, B. W.; BARTELT, R. J. 1989. Effect of meliaceous seed extracts on growth and survival of *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). **Journal of Chemical Ecology**, v. 15, p. 121-128, 1989.

MONNERAT, R. G. et al. Caracterização de populações geograficamente distintas da traça-das-crucíferas por susceptibilidade ao *Bacillus thuringiensis* Berliner e RAPD-PCR. **Horticultura Brasileira**, v. 22, p. 607-609, 2004.

NERI, D. K. P. et al. Efeito do extrato aquoso de nim sobre *Bemisia tabaci* Biótipo B (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae), em meloeiro. **Revista Verde**, v. 1, n. 2, p. 48-53, 2006.

POTTER, C. An improved laboratory apparatus for applying direct sprays and surface films, with data on the electrostatic charge on atomized spray fluids. **Annals of Applied Biology**, v. 38, n. 1, p. 1-12, 1952.

PROCÓPIO, S. O. et al. Bioatividade de diversos pós de origem vegetal em relação a *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). **Ciência agrotecnológica**, v. 27, n. 6, p. 1231-1236, 2003.

RABÊLO, S. V. **Revisão de alcaloides do gênero *Annona*, estudo fitoquímico e avaliação da atividade biológica de atemoia (*Annona cherimola* x *Annona squamosa*)**. 2014, 234p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Vale do São Francisco, Petrolina, 2014.

RAJKUMAR, S.; JEBANESAN, A. Bioactivity of *Chenopodium ambrosioides* L. (Family: Chenopodiaceae) against the filariasis vector *Culex quinquefasciatus* say (Diptera: Culicidae). **Canadian Journal of Pure and Applied Sciences**, v. 2, n. 1, p. 129-132, 2008.

REIS P. R. et al. Seletividade de agroquímicos ao ácaro predador *Iphiseiodes zuluagai* Denmark & Muma (Acari: Phytoseiidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 27, p. 265-274, 1998.

ROBBERS, J. E. et al. Farmacognosia e Farmacobiotechnologia. São Paulo: **Editorial Premier**, 1997.

RODRIGUEZ, H. C.; VENDRAMIM, J. D. Toxicidad de extractos acuosos de Meliaceae en *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Manejo Integrado de Plagas**, v. 42, p. 14-22, 1996.

RONDELLI, V. M. et al. Composição química e avaliação do potencial inseticida do óleo essencial de *Chenopodium ambrosioides* no controle de *Frankliniella schultzei*. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 8, n. 15, p. 2450-2458, 2012.

SANTOS, E. S. Inhame (*Dioscorea* spp): aspectos básicos da cultura: Emepa-PB, **Sebrae**, 1ª ed, 158 p. 1996.

SARFRAZ, M.; KEDDIE, B. A. Conserving the efficacy of insecticides against *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). **Journal of Applied Entomology**, v. 129, p. 149-157, 2005.

SAS[®] Statistical Analysis System, version 8, **Cary, NC**: SAS Institute Inc., 2000.

SILVA, G. et al. Búsqueda de plantas com propiedades inseticidas para el control de *Sitophilus zeamais* em maíz almacenado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 1, p. 11-17, 2005.

SILVA, M. P. L. Bioatividade de extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides* L., no controle de *Toxoptera citricida* (Hemiptera: Aphididae) em citros. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 4, n. 2, p. 543-545, 2009.

SIMÕES, C. M. O. et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 4. ed. Editora: **UFSC**, p. 403-434, 2002.

SOARES, S. F. et al. Repellent activity of plant-derived compounds against *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) nymphs. **Veterinary Parasitology**, v. 167, p. 67-73, 2010.

SOUSA, R. S. et al. Extrato aquoso de inhame via aplicação no solo para o controle de *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae). In: XXIV Congresso Brasileiro de Entomologia, 2012. XXIV Congresso Brasileiro de Entomologia, 2012.

SOUZA, A. P. **Atividade inseticida e modo de ação de extratos de meliáceas sobre *Bemisia tabaci* (genn., 1889) biótipo b.** 2004, 116p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Plant physiology, 2, ed, Sunderland: **Sinauer Associates**, 1998, 792p.

TANZUBIL, P. B.; McCaffery, A. R. Effects of azadirachtin and aqueous neem seed extracts on survival, growth and development of the african armyworm, *Spodoptera exempta*. **Crop Protection**, v. 9, p. 383-386, 1990.

TAVARES, M. A. G. C.; VENDRAMIM, J. D. Bioatividade da erva-de-santa-maria, *Chenopodium ambrosioides* L., sobre *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 2, p. 319-323, 2005a.

TAVARES, M. A. G. C.; VENDRAMIM, J.D. Atividade inseticida da erva-de-santa-maria, *Chenopodium ambrosioides* L., em relação a *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 72, n. 1, p. 51-55, 2005b.

TAVARES, M. A. G. C. **Busca de compostos em *Chenopodium* spp. (Chenopodiaceae) com bioatividade em relação a pragas de grãos armazenados.** 2006, 111p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Querioz”, Piracicaba, 2006.

TRINDADE, R. C. P. et al. Extratos aquosos de inhame (*Dioscorea rotundata* Poirr.) e de mastruz (*Chenopodium ambrosioides* L.) no desenvolvimento da lagarta-do-cartucho-do-milho *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 2, p. 291-296, 2015.

VENDRAMIM, J. D.; CASTIGLIONI, E. 2000. Aleloquímicos, Resistência de Plantas e Plantas Inseticidas, p.113-128. In: Guedes, J. C.; Costa, I. D.; Castiglioni, E. (eds.) Bases e Técnicas do Manejo de Insetos, **UFSM/CCR/DFS**, 234p, 2000.

WHEELER, D. A.; ISMAN, M. B. Antifeedant and toxic activity of *Trichilia americana* extract against the larvae of *Spodoptera litura*. **Entomologia experimentalis et applicata**, v. 98, p. 9-16, 2001.

XIE, Y. S. et al. Biological activity of extracts of *Trichilia* species and the limonoids hirtin against lepidoptera larva. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 22, p. 129–136, 1994.

ZAGO, H. B. et al. Resistance and behavioural response of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) populations to *Bacillus thuringiensis* formulations. **Pest Management Science**, v. 70, p. 488-495, 2014.

ZALUCKI, M.P. et al. Estimating the Economic Cost of One of the World's Major Insect Pests, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae): Just How Long is a Piece of String? **Journal of Economic Entomology**, v. 105, p.1115-1129, 2012.

ZÁRATE, N. A. H.; VIEIRA, M.; MINUZZI, A. Produção de cará (*Dioscorea* sp) em diferentes densidades de plantio. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 24, n. 2, p. 387 391, 2000.