

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

ISMAEL BARROS GOMES

**Toxicidade e Formulação de Extratos de *Annonamuricata*L. (Annonaceae) para o
Controle de *Plutellaxylostella*(L.,1758) (Lepidoptera: Plutellidae)**

Rio Largo, AL
2013

ISMAEL BARROS GOMES

Toxicidade e Formulação de Extratos de *Annonamuricata*L. (Annonaceae) para o Controle de *Plutellaxylostella*(L.,1758) (Lepidoptera: Plutellidae)

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Agronomia.

Área de concentração: Proteção de Plantas.

Orientadora: Prof^aDr^a Roseane Cristina Predes Trindade

Coorientador: Prof^o Dr^o Antônio Euzébio Goulart de Sant'Ana

Rio Largo, AL
2013

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico
Bibliotecária Responsável: Fabiana Camargo dos Santos

G633t Gomes, Ismael Barros.
 Toxicidade e formulação de extratos de *Annona muricata* L.
(Annonaceae) para o controle de *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera:
Plutellidae) / Ismael Barros Gomes. – 2013.
 83 f. : il.

Orientadora: Roseana Cristina Predes Trindade.
Coorientador: Antônio Euzébio Goulart de Sant'Ana.
Dissertação (Mestrado em Proteção de plantas) – Universidade Federal de
Alagoas. Centro de Ciências Agrárias. Rio Largo, 2013.

Bibliografia: f. 69-83.

1. Traça-das-crucíferas – Controle. 2. Graviola – Extrato inseticida. 3.
Extrato etanólico – Microencapsulamento. 4. Extratos – Efeito residual.
5. Extrato – Concentração letal. I. Título.

CDU: 632.95:615.322

Folha de Aprovação

ISMAEL BARROS GOMES

Toxicidade e Formulação de Extratos de *Annonamuricata*L. (Annonaceae) para o Controle de *Plutellaxylostella*(L.,1758) (Lepidoptera: Plutellidae)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Agronomia pela Comissão Julgadora composta pelos membros:

Prof^ªDr^ª Roseane Cristina Predes Trindade, Universidade Federal de Alagoas

Banca Examinadora:

Dr. Marcílio de Souza Silva, Universidade Federal de Alagoas

Prof^ªDr^ª Roseane Cristina Predes Trindade, Universidade Federal de Alagoas

Prof^ªDr^ª Sônia Maria F. Broglio, Universidade Federal de Alagoas

Dedico este trabalho a todos aqueles que contribuíram para a sua realização, principalmente a minha namorada Kássia de Souza Correia.

AGRADECIMENTOS

Em especial aos meus Pais, Israel Gomes e Inácia Maria Barros Gomes, sempre presentes em minha vida.

A minha namorada Kássia de Souza Correia, por sua amizade, carinho, auxílio e constante disposição em ajudar.

A Prof^aDr^a. Roseane Cristina Predes Trindade, pela orientação desde os primeiros passos na pesquisa científica, pelo incentivo, confiança e amizade.

Ao Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart Sant'Ana, pela apoio e orientação.

Ao Centro de Ciências Agrárias e o Prof. Dr. Eurico Eduardo Pinto de Lemos, pela infraestrutura e recursos oferecidos para a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Irinaldo Diniz Basílio Junior e seu bolsista Danilo Abreu Vieira, e a farmacêutica Renara pela paciência e auxílio na microencapsulação.

Aos meus colegas de laboratório, Ronycleide da Silva Souza, Alds Priscila Alves de Araujo Costa, Rilton Moraes Santos, Raiza Rocha e Cícera Regina da Silva que tanto me ajudaram.

A CAPES, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela concessão da bolsa de Mestrado.

Aos membros da banca.

RESUMO

A traça-das-crucíferas, *Plutellaxylostella*(L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae), é a principal praga de brássicas em todo o mundo, principalmente por sua fácil dispersão, curto ciclo e grande capacidade de desenvolver resistência a inseticidas. Por esse motivo, a adoção de métodos de controle alternativos é importante para a elaboração de um plano de manejo integrado para a espécie. Dentre esses métodos, tem-se o uso de extratos de plantas com ação inseticida tais como espécies da família Annonaceae, como a graviola *Annonamuricata*L. (Annonaceae) que possui relatos de atividade inseticida, acaricida e vermícida. Desta forma, o presente trabalho teve como objetivos avaliar o efeito de diferentes solventes extratores da semente de graviola na mortalidade, biologia e oviposição de *P. xylostella* e sua persistência nas plantas e, posteriormente com o melhor extrato desenvolver uma formulação viável para o controle da praga. Foram realizados experimentos para a determinação da concentração letal e subletal de três extratos (aquoso, hexânico e etanólico) para determinação da CL_{50} e avaliações do efeito dos extratos na biologia e oviposição do inseto, bem como o efeito residual do extrato. Com o extrato mais promissor foi elaborada uma formulação microencapsulada utilizando-se “Spraydrying”. A análise de extratos mostrou que a CL_{50} e a CL_{99} foram de 0,013 e 0,084%; 0,025 e 0,196%; 2,33 e 35,22%, para o extrato etanólico, hexânico e aquoso, respectivamente. Os extratos orgânicos afetaram o desenvolvimento da praga, com menor viabilidade e duração larval, mas não afetou a fase pupal. Além disso, o extrato etanólico na concentração letal se mostrou eficiente como deterrente de oviposição, afetou negativamente a fase embrionária. Em relação ao efeito residual, os extratos etanólicos nas concentrações letal e subletal diferiram da testemunha até o 4º dia após a aplicação, mostrando assim que o extrato pode persistir na planta por esse período. Não foi possível encontrar uma emulsão estável para os extratos orgânicos da semente de *A. muricata*. O extrato etanólico microencapsulado mostrou resultados semelhantes aos encontrados com o extrato etanólico, com uma concentração subletal de 0,025%, uma concentração letal de 0,3%, afetou o desenvolvimento da praga e a persistência na planta foi de pelo menos quatro dias. A formulação microencapsulada é bastante promissora para ser utilizada pelos agricultores, mas ainda precisa de ajustes para aplicação.

Palavras chave: Traça-das-crucíferas. Graviola. Microencapsulamento, Biologia. CL_{50} . Persistência.

ABSTRACT

The diamondback moth, *Plutellaxylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae), is the major pest of crucifers worldwide, mainly because of its ease of dispersion, short cycle and high capacity to develop resistance to insecticides. Therefore, the adoption of alternative control methods is important for the development of an integrated management plan for the species. Among these methods, there is the use of plant extracts with insecticidal activity such as species of the family Annonaceae like soursop *Annonamuricata* L. (Annonaceae) has reported insecticide, acaricide and vermicide activity. Thus, this study aimed to evaluate the effect of different solvent extractors of soursop seed in mortality, biology and oviposition of *P. xylostella* and its residual effect in plants, and subsequently to extract the best feasible to develop a formulation for the control of pests. Experiments were performed to determine the lethal and sublethal concentrations of three extracts (aqueous, hexane and ethanol) to determine the LC₅₀ and evaluations of the effect of the extracts on insect biology and oviposition, as well as the residual effect of the extract. With the most promising extract was prepared microencapsulated formulation using "Spray drying" technique. The analysis of extracts showed that the LC₅₀ and LC₉₉ were 0.013 and 0.084 %, 0.025 % and 0.196, 2.33 and 35.22 % for the ethanol extract, hexane and aqueous, respectively. The organic extracts affected the development of the pest, and lower larval viability, but did not affect pupal stage. Furthermore, the ethanol extract on lethal concentration proved effective as oviposition deterrent, and negatively affected the embryonic stage. In relation to the residual effect, the ethanol extracts lethal and sublethal concentrations differed from the control until the 4th day after application, thus showing that the extract may persist on the plant for at least this period. Could not find a stable emulsion for organic seed extracts of *A. muricata*. The ethanol extract microencapsulated showed results similar to those of the ethanol extract, with a sublethal concentration of 0.025% a lethal concentration of 0.3%, affected the development of the pest and persistence in the plant was at least four days. The microencapsulated formulation is promising to be used by farmers, but still needs tweaking for application.

Keywords: *Diamondback*. Soursop. Microencapsulation. Biology. LC₅₀. Persistence.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Ciclo biológico da <i>Plutellaxylostella</i> . (A) fase embrionária, (B) fase larval, (C) fase pupal e (D) fase adulta -----	18
Figura 2 -	Etapas da criação de <i>Plutellaxylostella</i> . 1A – Gaiolas dos adultos. 1B – ovos da traça. 1C – lagartas nos potes. 1D – pupas retiradas dos potes.-----	36
Figura 3 -	Detalhe Mini Spray Dryer B-290 (A) e seu recipiente de coleta (B)-----	42
Figura 4 -	Mortalidade larval de <i>Plutella xylostella</i> em diferentes concentrações do extrato aquoso, hexânico e etanólico da semente de <i>Annona muricata</i> -----	46
Figura 5 -	Separação das fases aos 15 minutos. (A) Emulsão hexânica 0 min. (B) Emulsão etanólica 0 min. (C) Emulsão hexânica 15 min. (D) Emulsão etanólica 15 min. -----	63
Figura 6 -	Microencapsulação do extrato etanólico da semente de <i>Annonamuricata</i> com aerosil que permaneceu no estado líquido (A). Microencapsulação com goma arábica, que formou o pó (B). -----	64
Figura 7 -	Mortalidade larval de <i>Plutellaxylostella</i> (%) em função da concentração do extrato etanólico da semente de <i>Annonamuricata</i> microencapsulada ---	66
Figura 8 -	Comparação alimentar de <i>Plutella. xylostella</i> entre a testemunha (A) e a folha tratada (B) com a concentração subletal do extrato etanólico de <i>Annonamuricata</i> microencapsulado -----	69

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Proporção de homogeneizadores utilizados para o preparo das emulsões dos extratos orgânicos da semente de <i>Annonamuricata</i> -----	41
Tabela 2 -	Análise de Probit para os extratos aquoso, etanólico e hexânico da semente de <i>Annonamuricata</i> -----	45
Tabela 3 -	Resumo da concentração letal e subletal dos extratos orgânicos e aquoso da semente de <i>Annonamuricata</i> sobre a mortalidade de lagartas de <i>Plutellaxylostella</i> -----	47
Tabela 4 -	Comparação do limite inferior, superior e CL ₅₀ dos extratos aquoso, hexânico e etanólico da semente de <i>Annonamuricata</i> sobre a mortalidade larval de <i>Plutellaxylostella</i> -----	48
Tabela 5 -	Médias ± DP da viabilidade e duração das fases larval e pupal e longevidade do adulto de <i>Plutellaxylostella</i> tratadas com extratos orgânicos da semente de <i>Annonamuricata</i> -----	51
Tabela 6 -	Viabilidade (%) ± DP dos ovos de <i>Plutellaxylostella</i> tratados com extratos orgânicos da semente de <i>Annonamuricata</i> -----	54
Tabela 7 -	Média ± DP de ovos de <i>Plutellaxylostella</i> depositados em folhas de couve tratadas com extrato orgânico de semente de <i>Annonamuricata</i> , da testemunha e do tratamento padrão -----	57
Tabela 8 -	Média da mortalidade larval de <i>Plutellaxylostella</i> para os fatores tempo de aplicação, concentração e ação do extrato da semente de <i>Annonamuricata</i> -----	59
Tabela 9 -	Média Mortalidade Larval (%) de <i>Plutellaxylostella</i> para a interação Tempo x Concentração da aplicação do extrato da semente de <i>Annonamuricata</i> -----	60
Tabela 10 -	Análise de Probit do extrato etanólico da semente de <i>Annonamuricata</i> microencapsulado----- -----	65
Tabela 11 -	Comparação do limite inferior, superior e subletal do extrato etanólico da semente de <i>Annonamuricata</i> microencapsulado-----	66
Tabela 12 -	Médias ± DP da viabilidade e duração larval e pupal e longevidade dos adultos de <i>Plutellaxylostella</i> tratadas com extrato etanólico da semente de <i>Annonamuricata</i> microencapsulado-----	68

Tabela 13 -	Mortalida larval \pm DP (%) de <i>Plutellaxylostella</i> em função dos dias após a aplicação da CL ₅₀ do extrato etanólico da semente de <i>Annonamuricata</i> e seu microencapsulado-----	70
Tabela 14 -	Interação fator Tempo x Produtos -----	69
Tabela 15 -	Mortalidade larval \pm DP (%) de <i>Plutellaxylostella</i> em função dos dias após aplicação da CL ₅₀ do microencapsulado -----	70

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

APL – Arranjo Produtivo Local

Bt - *Bacillusthuringiensis*

CEAGESP - Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo

CECA – Centro de Ciências Agrárias

CL – Concentração Letal

CL₅₀ – Concentração Letal para matar 50% da população

CL₉₉ – Concentração Letal para matar 99% da população

CV% - Coeficiente de Variação

DMSO – Dimetilsulfóxido , C₂H₆OS

DP – Desvio padrão

FAO – FoodandAgricultureOrganization

GIFAP- Grupo Internacional das Associações Nacionais de Fabricantes de Produtos Agroquímicos

IC- Intervalo de confiança

LI – Limite Inferior (CL₁₀)

LS –Limite Superior (CL₉₉)

NS – Não significativo

T/HA/ANO – Tonelada por hectare ao ano

UFAL – Universidade Federal de Alagoas

UR – Umidade relativa

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO -----	14
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA -----	16
2.1	Importância econômica das Brássicas -----	16
2.2	Aspectos gerais sobre a traça-das-crucíferas -----	17
2.2.1	Aspectos morfológicos e biologia -----	17
2.2.2	Danos -----	19
2.2.3	Métodos de controle -----	20
2.3	Inseticidas de origem vegetal -----	23
2.3.1	Aspectos gerais -----	23
2.3.2	Uso de plantas com potencial de controle de <i>Plutellaxylostella</i> -----	24
2.4	Anonáceas -----	26
2.4.1	Importância econômica das anonáceas -----	26
2.4.2	Anonáceas com ação inseticida -----	27
2.4.3	O princípio ativo das anonáceas -----	29
2.5	Formulações de inseticidas -----	30
2.5.1	Emulsão -----	32
2.5.2	Microencapsulamento-----	32
3	MATERIAL E MÉTODOS -----	35
3.1	Condução da cultura -----	35
3.2	Criação do inseto -----	35
3.3	Obtenção das sementes e preparo dos extratos -----	37
3.4	Experimentos com extratos aquosos e orgânicos da semente de	37

	<i>Annonamuricata</i> -----	
3.4.1	Determinação e efeito da CL ₅₀ e CL ₉₉ dos extratos da semente de <i>Annonamuricata</i> na biologia de <i>Plutellaxylostella</i> -----	37
3.4.2	Efeito dos extratos de <i>Annonamuricata</i> na fase embrionária de <i>Plutellaxylostella</i> -----	39
3.4.3	Teste de não preferência para oviposição de <i>Plutellaxylostella</i> -----	39
3.4.4	Efeito residual dos extratos de <i>Annonamuricata</i> sobre <i>Plutellaxylostella</i> -----	40
3.5	Experimentos com formulações dos extratos orgânicos da semente de <i>Annonamuricata</i> -----	41
3.5.1	Preparo da emulsão -----	41
3.5.2	Microencapsulamento-----	42
3.5.2.1	Determinação e efeito da CL ₅₀ e CL ₉₉ dos extratos da semente de <i>Annonamuricata</i> microencapsulado na biologia de <i>Plutellaxylostella</i> -----	43
3.5.2.2	Efeito residual dos extratos microencapsulados de <i>Annonamuricata</i> sobre <i>Plutellaxylostella</i> -----	44
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO -----	45
4.1	Experimentos com extratos aquosos e orgânicos da semente de <i>Annonamuricata</i> -----	45
4.1.1	Determinação da CL ₅₀ e CL ₉₉ dos extratos da semente de <i>Annonamuricata</i> para <i>Plutellaxylostella</i> -----	45
4.1.2	Efeito da CL ₅₀ dos extratos da semente de <i>Annonamuricata</i> na biologia de <i>Plutellaxylostella</i> -----	50
4.1.3	Efeito dos extratos de <i>Annonamuricata</i> na fase embrionária de <i>Plutellaxylostella</i> -----	54

4.1.4	Teste de não preferência para oviposição de <i>Plutelaxylostella</i> -----	57
4.1.5	Efeito residual dos extratos de <i>Annonamuricata</i> sobre <i>Plutelaxylostella</i> -	58
4.2	Experimentos com formulações dos extratos orgânicos da semente de <i>Annonamuricata</i> -----	61
4.2.1	Emulsão -----	61
4.2.2	Microencapsulamento-----	64
4.2.2.1	Determinação da CL ₅₀ e CL ₉₉ do extrato etanólico da semente de <i>Annonamuricata</i> microencapsulado para a <i>Plutellaxylostella</i> ----- -----	65
4.2.2.2	Efeito da CL ₅₀ e CL ₉₉ do extratoetanólicoda semente de <i>Annonamuricata</i> microencapsulado na biologia de <i>Plutellaxylostella</i> ----- -----	67
4.2.2.3	Efeito residual do extrato microencapsulado de <i>Annonamuricata</i> sobre <i>Plutellaxylostella</i> -----	69
5	CONCLUSÕES -----	72
	REFERÊNCIAS -----	73

1INTRODUÇÃO

A atividade da horticultura no agreste alagoano vem ganhando destaque no cenário estadual, em função da crescente aglomeração de agricultores familiares que têm investido nas hortaliças folhosas. A atividade tem se destacado também pelo aspecto da mão-de-obra empregada, pois os sistemas de produção têm sua base de sustentação na agricultura familiar, que iniciam seus cultivos nos arredores das residências, em áreas peri-urbana até a zona rural. De modo geral, os sistemas de cultivo dessas hortaliças e o manejo da produção adotam práticas e técnicas relativamente simples, com baixo nível de tecnologia. Segundo dados do Arranjo Produtivo Local (APL) Horticultura do Agreste, apesar de não se ter dados oficiais que dimensione o universo de produtores de hortaliças na região agreste, estima-se que existam aproximadamente 800 produtores que cultivam hortaliças, distribuídos em sete municípios, os quais serão contemplados com a dinamização da horticultura, através do APL (SEPLANDE, 2013).

Dentre os principais fatores de redução na produção de brássicas ou crucíferas, não só no Brasil, como praticamente em todo mundo, está a traça-das-crucíferas *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae), um microlepidóptero que está presente em quase todas as regiões produtoras de brássicas e em praticamente todo período de cultivo da planta. Dentre as características que dificultam seu controle, está a sua capacidade de migração, fácil adaptação ao ambiente, alta fecundidade e ciclo curto, o que lhe proporciona um aumento rápido na resistência aos inseticidas químicos (CASTELO BRANCO et al, 2001). O uso de inseticidas sintéticos, geralmente, é a forma mais empregada para o controle dessa praga, sendo o número de aplicações muito elevado, provocando a seleção de populações resistentes aos principais grupos de inseticidas. As classes de inseticidas geralmente utilizadas pelos agricultores incluem, organoclorados, organofosforados, carbamatos, piretroides (FURLONG; WRIGHT; DOSDALL, 2013).

A busca por novos inseticidas, incluindo o uso de plantas para realização de inseticidas naturais, constitui-se num campo de investigação aberto, amplo e contínuo. A diversidade de substâncias presentes na flora continua sendo um enorme atrativo na área de controle de insetos, levando-se em consideração que apenas uma pequena parcela das plantas foi investigada com tal finalidade (SCHMALTZ; SANTOS; GUTERRES, 2005).

Dentre as plantas que apresentam potencial para o controle de pragas estão as espécies pertencentes à família Annonaceae, onde existem trabalhos com diferentes espécies desde os anos 90. Dentre as espécies pertencentes a essa família têm-se a graviola (*Annona muricata* L.), onde trabalhos mostram que possui efeito inseticida para algumas espécies de insetos, nematocida e bactericida, e onde a sua semente, fonte promissora de material para a produção de extrato, sendo descartada no processo de industrialização (HERNÁNDEZ & ANGEL, 1997).

Tendo em vista que esses inseticidas naturais, geralmente apresentam uma menor durabilidade tanto após a aplicação, quanto em sua conservação, nota-se a necessidade da realização de formulações que possibilite o aumento da viabilidade desses inseticidas e sua obtenção para os agricultores. Entre os tipos de formulação, pode-se optar pela emulsão, que consiste na mistura entre dois líquidos imiscíveis, utilizando métodos como agitação e adição de homogeneizadores (BAJAPAI & GIRI, 2002).

Outra solução são os processos micro/nanotecnológicos que vêm sendo aplicados, principalmente, na indústria farmacêutica e cosmética porque torna mais eficiente a veiculação de moléculas bioativas no organismo, bem como facilita a penetração desses compostos nas camadas mais profundas da pele, potencializando o efeito dos produtos (SCHMALTZ; SANTOS; GUTERRES, 2005; NEVES, 2008). A aplicação da nanotecnologia no controle de pragas agrícolas é muito incipiente, constituindo-se em um vasto campo a ser explorado (NEVES, 2008).

A encapsulação de extratos de *A. muricata* pode oferecer um sistema de liberação lenta e controlada dos extratos como forma de aumentar a eficiência do ingrediente ativo aplicado no combate de pragas em potencial. Além disso, espera-se diminuir a utilização e, por consequência, o impacto ambiental causado com o uso de agroquímicos sintéticos altamente tóxicos. O uso de material biodegradável no processo de encapsulação torna-se também necessário para contribuir com a redução do impacto ambiental.

Esse trabalho tem como objetivo avaliar primeiramente o efeito de diferentes solventes extratores da semente de graviola na mortalidade, biologia e oviposição de *P. xylostella* e sua persistência nas plantas e numa segunda etapa com o melhor extrato desenvolver uma formulação viável para o controle da traça-das-crucíferas, como uma indicação de uma nova estratégia de controle alternativo, dentro do manejo integrado da praga.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Importância econômica das brássicas

A família Brassicaceae abrange espécies de hortaliças de grande valor econômico, social e nutricional, tais como couve (*Brassica oleracea* L. var. *acephala* DC.), repolho (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L.), couve-flor (*Brassica oleracea* L. var. *botrytis* L.), brócolis (*Brassica oleracea* L. var. *italica* Plenck) e couve-chinesa (*Brassica pkinensis*). Além destas, existem na família várias outras espécies hortícolas e/ou oleaginosas tais como a rúcula (*Eruca sativa*), pak-choi (*Brassica campestris* L. var. *chinensis* Makino), couve-rabano (*Brassica oleracea* var. *gongylodes*), nabo-comprido (*Brassica rapa* var. *rapa*), rabanete (*Raphanus sativus* L.) e mostarda-de-folha (*Brassica juncea* L.) (FILGUEIRA, 2008).

Essa família botânica é uma das mais importantes economicamente, com cerca de 2,2 milhões de hectares plantados anualmente no mundo (VICKERS et al., 2004). As plantas representativas compreendem um grupo diversificado de 350 gêneros e mais de 3200 espécies (WATSON & DALLWITZ, 1992).

A couve-de-folha é a que mais se assemelha à ancestral couve silvestre. Ela apresenta caule ereto e emite folhas continuamente e não forma cabeça como o repolho. Dentre as hortaliças, a couve apresenta destaque devido ao seu alto valor nutritivo (FILGUEIRA, 2003). É uma cultura que pode durar até dois anos, podendo ser colhida quase todo o ano, e com uma produção variando de 15 a 17 t/ha/ano (RAU, 2009). É uma hortaliça de fácil cultivo, com capacidade de adaptação a diferentes ambientes, baixo custo de produção, alta produtividade, versatilidade na forma de consumo e elevado valor nutricional (SILVA JÚNIOR, 1987).

Segundo Furlong; Wright; Dossall (2013), entre os anos de 1993 e 2009 a produção de brássicas aumentou em 39%, sendo que em 2009, a área cultivada estimada era de 3,4 milhões de hectares em todo o mundo.

Segundo a FAO (Food and Agriculture Organization), no ano de 2011 o maior produtor de couve e outras brássicas foram a China, seguidos pela Índia e Rússia com uma produção de 5,2, 4,6 e 1,1 milhões de toneladas, respectivamente.

2.2 Aspectos gerais sobre a traça-das-crucíferas

2.2.1 Aspectos morfológicos e biologia

Gallo et al. (2002) descreve os ovos da traça-das-crucíferas como sendo alaranjados, elípticos, aplanados e com presença de relevos ondulados. Os ovos são depositados na parte abaxial das folhas podendo se encontrar isolados ou em grupos de dois ou três.

Após três ou quatro dias eclodem as lagartas, que penetram no interior da folha passando a alimentar-se do parênquima, durante dois ou três dias. Em seguida abandonam a galeria e passam a alimentar-se da epiderme da face inferior da folha. As lagartas atingem o máximo desenvolvimento com 8 a 10 mm de comprimento, após nove ou 10 dias da eclosão (BIOCONTROLE, 2013). Devido ao hábito alimentar do 1º estágio larval de se encontrar protegida no interior das folhas (IMENES et al., 2002), seu controle é dificultado, uma vez que o produto não consegue entrar em contato direto com a lagarta.

Monnerat (1995) relata que inicialmente as lagartas de *P. xylostella* é esbranquiçada 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 instares, sendo que no último há a formação do casulo.

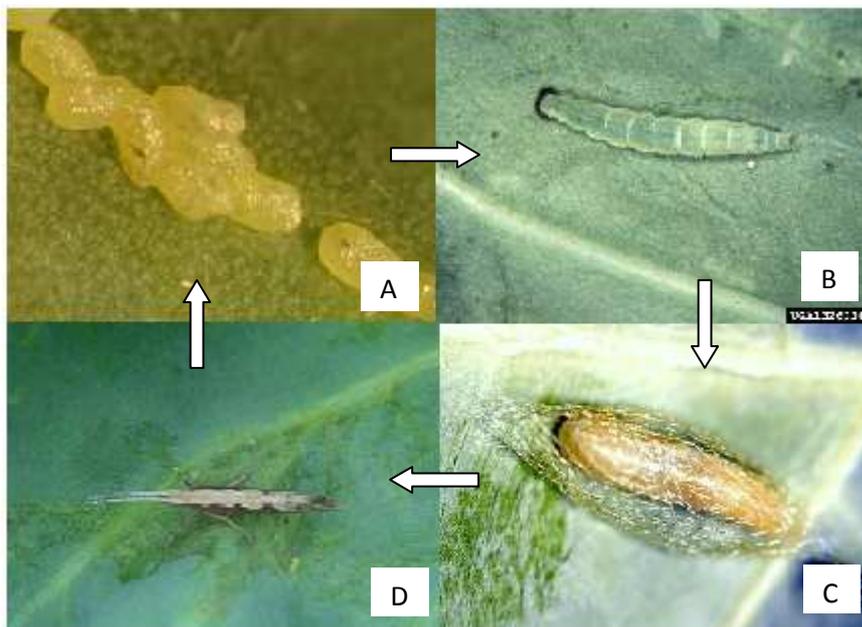
Para transformarem-se em pupas, tecem um pequeno casulo, facilmente reconhecido por ser constituído de pequenas malhas, na face inferior das folhas. Após cerca de quatro dias de pupa, emerge um microlepidóptero. Nos machos a margem posterior das asas anteriores é branca e na posição de repouso forma 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, onde a fêmea pode colocar os ovos por até quatro dias (HARCOURT, 1954).

Sabe-se que as espécies pertencentes à ordem Lepidoptera apresentam, em geral, de 3 a 5 ecdises, que pode ser acompanhada pelo tamanho da cápsula cefálica, que cresce em largura em razão constante. Ecole et al. (1999) observou que a partir da curva multimodal de frequência da largura da cápsula cefálica há presença de grupos com fase larval de 3, 4 e 5 instares, sugerindo assim, a hipótese da existência de lagartas que apresentam crescimento

mais rápido, completando o desenvolvimento larval em apenas 3 ínstaes. O grupo que apresenta 4 ínstaes teria um crescimento normal e o grupo com 5 ínstaes apresentaria um crescimento mais retardado devido a razões diversas como deficiência alimentar, desvios fisiológicos ou até mesmo razão sexual.

Segundo Monnerat (1995), o ciclo vital do adulto dura em torno de 15 a 35 dias, e cada fêmea pode colocar em média 160 ovos. Além disso, Castelo Branco & Villas Boas (1997), estimou o período para eclosão da lagarta entre 3 a 4 dias e máximo desenvolvimento larval entre 9 a 10 dias após a eclosão. Medeiros et al. (2003), mostraram resultados da duração pupal que dura entre 3 a 5 dias. Além do fato, da traça-das-crucíferas apresentar alta prolificidade e curtas gerações presenciadas por Ulmer et al. (2002), outros fatores que dificultam o controle dessa praga afirmados por Castelo Branco e Gatehouse(1997), é o fato de possuírem alta adaptabilidade as diferentes ambientes e capacidade migratória.

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



Fonte: (A) Jackeline da Silva Carvalho, (B) Whitney Cranshaw, (C) Lyn Finn, (D) Fmcagricola.

Vale ressaltar, também um aspecto biológico deste inseto que é o elevado número anual de gerações no campo, normalmente com sobreposição delas (ULMER et al., 2002). Bertels

(1956) citou seis gerações deste inseto por ano, com cerca de 35 dias cada. Em regiões tropicais, *P. xylostella* pode apresentar até 15 gerações por ano (POELKING, 1992).

2.2.2 Danos

A traça-das-crucíferas ocorre em todos os continentes, com grande importância na Ásia e nas Américas (CASTELO BRANCO et al., 2001). No Brasil, ocorre em todas as áreas de cultivo (SALINAS, 1984; CASTELO BRANCO & GUIMARÃES, 1990; LOGES, 1996). Dependendo da região e da época do plantio, reduz consideravelmente o valor comercial das plantas, especialmente o repolho (VILLAS BÔAS; CASTELO BRANCO; GUIMARÃES, 1990).

Dickson et al. (1990), relataram que o principal fator para a redução da produção das brássicas nos plantios comerciais em todas as regiões do mundo, ocorria pela frequente ação da traça-das-crucíferas, e atualmente, essa praga continua causando sérios prejuízos aos cultivos de brássicas pela sua ampla distribuição, como afirma Wu et al. (2012).

A traça-das-crucíferas causa danos graves ao limbo foliar, chegando a comprometer economicamente a cultura, ocorrendo em todas as regiões produtoras de brássicas do país apresentando picos populacionais maiores em períodos quentes e secos (CASTELO BRANCO et al., 2001).

Medeiros (2004) relatou que os maiores danos causados pela traça-das-crucíferas ocorrem na fase larval, após a eclosão, onde a lagarta recém eclodida penetra nas folhas. Nesta fase o controle é dificultado, já que ela se encontra protegida e 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 brócolis.

Considerada a praga chave entre as brássicas, foram verificadas perdas de até 60% no estado de São Paulo na produção de repolho (IMENES, 2002). Em ataques mais severos, pode ocorrer a inviabilização das áreas de cultivos (MORATÓ, 2000).

Furlong; Wright; Dossall (2013) relataram que os danos causados pela traça-das-crucíferas gera um prejuízo mundial de 4 a 5 bilhões de dólares anualmente, desses, 1,4

bilhões é referente ao controle dessa praga. Relataram também que a traça das-crucíferas é o lepidóptero com a maior distribuição geográfica.

Devido ao uso indevido de produtos químicos e até mesmo naturais, existem vários relatos onde a *P. xylostella* apresenta resistência a esses produtos. Furlong; Wright; Dossall (2013) relataram uma relação de trabalhos onde *P. xylostella* apresenta resistência, e elaboraram um resumo de todos os produtos, aos quais a traça já apresenta resistência. Dentre esses produtos, podem-se citar: os organofosforados, carbamatos, piretroides, dos grupos químicos, a azadiractina, como ingrediente ativo, e o Bt (*Bacillus thuringiensis*), dentre outros.

2.2.3 Métodos de controle

Dentre os métodos de controle de pragas apresentados por Gallo et al. (2002) estão os métodos legislativos, os mecânicos, culturais, métodos de controle por comportamento, controle biológico, método de controle autocida, controle químico e o método de resistência de plantas.

O método legislativo está relacionado em evitar a presença ou propagação da praga através da legislação, não viável para o Brasil, tendo em vista que a *P. xylostella*, se encontra disseminada por toda região (LOGES, 1996).

O método de controle mecânico, que consiste em catações manuais da praga também não se mostra viável para a *P. xylostella* em grandes propriedades. O método cultural conta com rotações de culturas, aração do solo, épocas de plantio, destruição de restos de culturas, dentre outras práticas que também não se apresenta muito viável para o controle de *P. xylostella*, pois esta apresenta alta capacidade de dispersão, adaptabilidade climática e ambiental. O mesmo pode ser dito sobre o método de controle físico, que utilizam para o controle de pragas o fogo, drenagem, inundações, armadilhas luminosas e temperatura, onde desses, o único viável é a armadilha luminosa, porém não existem muitos trabalhos sobre esse método. Porém, existem relatos do uso de irrigação no controle de *P. xylostella* no Havaí, que se dá pelo afogamento das lagartas, principalmente as mais jovens que são sensíveis, por aspersão (WATERHOUSE, 1987; GALLO et al., 2002; MAU & KESSIN, 2012).

Gallo et al. (2002) definem que o método de controle por comportamento se baseia no estudo fisiológico do inseto, utilizando assim o controle com hormônios. O método de controle biológico apresenta-se viável no controle de *P. xylostella*, onde se utiliza a regulação do número de plantas e inimigos naturais para o controle da praga. O método de controle autocida se baseia no emprego da técnica do inseto estéril e a manipulação genética de pragas, porém Furlong; Wright; Dossdall (2013) relataram que esse método não se mostrou eficaz no controle da *P. xylostella*.

Furlong; Wright; Dossdall (2013) relataram uma série de inimigos naturais já estudados que são eficazes no controle da traça-das-crucíferas. Dentre esses inimigos temos os grupos dos parasitoides, predadores, vírus, fungos patogênicos e bactérias.

Dentre as espécies de parasitoides que possuem potencialidade para o controle de *P. xylostella* tem-se *Diadegma semiclausum* (Hellén) (Hymenoptera: Ichneumonidae), que é parasitoide pupal e larval, *Diadromus collaris* (Gravenhorst) (Hymenoptera: Ichneumonidae), que é parasitoide pupal, *Cotesia vestalis* Haliday (Hymenoptera: Braconidae), que é um parasitoide larval, *Oomyzus sokolowskii* Kurdjumov (Hymenoptera: Eulophidae), que é um parasitoide larval-pupal, dentre muitos outros (FURLONG; WRIGHT; DOSDALL, 2013).

Quanto aos artrópodes predadores, Furlong; Wright; Dossdall (2013) relataram que não existem muitos trabalhos nessa área, o motivo dos artrópodes predadores não terem tanta atenção está relacionado com o fato da dificuldade de se avaliar ecologicamente a contribuição desses predadores no controle de *P. xylostella*.

Almeira (2009) relatou que o bicho-lixieiro, *Ceraeochrysa claveri* Navás (Neuroptera: Chrysopidae) alimentados com ovos e lagartas de *P. xylostella*, apresentaram melhor desenvolvimento em relação a outras dietas, mostrando assim a sua potencialidade no controle da *P. xylostella*. Já Sow (2013) mostrou que *O. sokolowskii* é eficiente no controle de *P. xylostella*, onde o controle se torna mais eficiente a medida que mais fêmeas são liberadas.

Furlong; Wright; Dossdall (2013) afirmaram que dentre os patógenos que atacam *P. xylostella*, tem-se *B. thuringiensis*, *Zoophthora radicans* Brefeld, *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok, e *Isaria farinosa* (Holmsk).

Ahmad (1999) identificou a CL₅₀ (Concentração necessária para matar 50% da população) de *B. thuringiensis* para 3 populações de *P. xylostella* variando de 31 a 83 ppm. Batta (2013) mostrou a eficiência de *M. anisopliae* com mortalidade de 87% das lagartas de *P. xylostella* em plantas tratadas contra 8% em plantas não tratadas com zero semana, enquanto

que com uma semana a mortalidade foi de 45% de mortalidade para as plantas tratadas e 12% para as não tratadas.

Estima-se que as perdas provocadas por pragas e doenças na agricultura mundial atinjam 37% da produção, das quais, cerca de 13% são devido aos insetos. Atualmente os métodos de controle concentram-se na utilização de agrotóxicos. Entretanto, há uma grande demanda por parte da sociedade pelo desenvolvimento de uma agricultura ecologicamente correta, que diminua o uso de produtos químicos, que não deixe resíduo indesejável no meio ambiente e nos alimentos, além de reduzir as intoxicações aos agricultores (SILVA-FILHO & FALCO, 2000).

Corrêa & Vieira (2007) relataram que os inseticidas mais utilizados são os baseados em organoclorados e/ou fosforados, que exterminam, indiscriminadamente, os insetos-praga e inimigos naturais. Outra desvantagem pelo uso desenfreado desses inseticidas está no fato de possibilitar que os insetos adquiram resistência a eles, necessitando assim de maiores concentrações e quantidades de aplicações, o que gera danos ecológicos e poluição do meio ambiente.

Segundo a FAO, o Brasil é o 3º maior consumidor de pesticidas no mundo, com um consumo de 21.544 toneladas de inseticidas no ano de 2001. No atual sistema de produção de alimentos, os fertilizantes sintéticos e pesticidas correspondem de 40 a 80% dos custos de produção. No período de 1976 a 1985, houve um crescimento de 500% no consumo de inseticidas, para um aumento de apenas 5% da produtividade. Esses dados demonstram aumento de populações de insetos resistentes e o crescente aumento nas concentrações e aplicações de inseticidas para o seu controle (CORRÊA & VIEIRA, 2007).

Como em quase todas as grandes culturas exploradas no Brasil, o controle de pragas das espécies de brássicas tem sido realizado principalmente com o uso de inseticidas sintéticos, sendo que Lara; Dal'acqua; Barbosa (1982) relataram a importância da substituição desse método devido ao fato das folhas das brassicáceas, por sua grande maioria, se tratarem de hortaliças que são consumidas principalmente *in natura*, o que ocasiona preocupações aos consumidores.

O uso de inseticidas, geralmente, é a forma mais empregada para o controle da praga, sendo o número de aplicações muito elevado, provocando a seleção de populações resistentes aos principais grupos de produtos. As classes de inseticidas geralmente utilizadas pelos agricultores incluem, organoclorados, organofosforados, carbamatos, piretroides (CASTELO

BRANCO & VILLAS BOAS, 1997; CASTELO BRANCO, 1998; LIU; SPARKS; CHEN, 2003; FURLONG; WRIGHT; DOSDALL, 2013), inseticidas microbianos à base de *B. thuringiensis* (LIU; TABABASHNIK; PUSZTAI-CAREY 1996; CAMPOS; CASTELO BRANCO; JUNQUEIRA, 1997; CASTELO BRANCO, 1999) e inseticidas de origem vegetal, principalmente à base de nim (*Azadirachta indica* A. Juss) (Meliaceae) (BANAAG; HONDA; SHONE, 1998; KUMAR; JAYAPPA; CHANDRASHEKARA, 2000; LIANG; CHEN; LIU, 2003).

No método de controle por resistência, Furlong; Wright; Dosdall (2013) afirmaram que a indução de formação de glicosinolato pela planta se mostra eficiente como deterrente alimentar, já que proporciona um sabor “picante” à planta. Outra alternativa, seria a supressão da produção de isotiocianatos, que é atraente e estimulante para a ovoposição, nas brássicas. Há também a alternativa de obtenção de brássicas Bt-transgênicas.

Hamilton et al. (2005), avaliaram quatro cultivares de couve (Grand Slam, Green Cornet, Savoy King e Warrior) e couve-flor (Avviso, Nautilus, Prestige e White Rock) e cinco de brócolis (Green Belt, Mascot, Shilo, Viper e Grand Mean) na preferência de ovoposição e de duração da fase larval e pupal da *P. xylostella*. O experimento mostrou que não houve preferência de ovoposição entre as variedades de couve-flor e brócolis, mas que a variedade de couve Savoy King foi a que apresentou maior número de ovos. Quanto à duração das fases, mostrou que a duração foi maior nessa mesma variedade.

2.3 Inseticidas de origem vegetal

2.3.1 Aspectos gerais

Segundo Corrêa & Vieira (2007), o panorama político global tem criado oportunidades para o desenvolvimento de inseticidas naturais, aqueles derivados de metabolismo secundário de outras plantas, dada a tendência econômica e a opinião pública que os produtos naturais são mais seguros que os sintéticos.

Para que um inseticida natural seja viável comercialmente, ele, além de eficaz, necessita ser seletivo contra inimigos naturais, possuir baixa toxicidade em mamíferos, ser

biodegradável, possuir uma fonte de matéria-prima abundante, menor custo e facilidade para padronização dos compostos ativos (CORRÊA & VIEIRA, 2007).

A utilização de produtos de origem vegetal para o controle de pragas e doenças na agricultura não é uma técnica recente, já que seu uso era comum, principalmente nos países tropicais, antes do advento dos produtos sintéticos. Com o surgimento destes compostos, então mais eficientes e de menor custo, os produtos de origem vegetal praticamente deixaram de ser usados. Entretanto, nos últimos anos, com o agravamento dos problemas provocados pelo uso dos produtos sintéticos, a pesquisa tem novamente se voltado para o estudo dos produtos vegetais, para atender às demandas provenientes, principalmente, do segmento representado pela agricultura orgânica (MARTINEZ, 2002).

O Brasil é considerado o país com a maior diversidade genética vegetal do mundo, com mais de 55 mil espécies catalogadas de um total estimado de 350 a 550 mil (GUERRA & NODARI, 2001).

As substâncias produzidas pelos vegetais podem ser divididas em dois grandes grupos: os primeiros, essenciais a todos os seres vivos, que são os metabólitos primários ou macromoléculas, estes, através de rotas biossintéticas diversas e muitas vezes desconhecidas, que originam à custa de energia, o segundo grupo de compostos químicos, os metabólitos secundários ou micromoléculas que geralmente apresentam estruturas complexas, baixo peso molecular e marcantes atividades biológicas (POSER & MENTZ, 2001).

Várias são as estratégias capazes de determinar a atividade de produtos naturais contra insetos, e o seu isolamento, em geral, inicia-se com extratos brutos das plantas preparados com diversos solventes orgânicos (hexano, diclorometano, acetato de etila, metanol, etanol) e água. Posteriormente, os extratos ativos são fracionados através dos vários métodos cromatográficos existentes e as frações obtidas são re-testadas, repetindo-se o processo até a obtenção do (s) composto (s) ativo (s) ou da mistura de compostos ativos. A escolha do bioensaio mais apropriado para determinar a atividade inseticida depende dos hábitos dos insetos-alvo (VIEIRA; FERNANDES; ANDREI, 2001).

Dentre as formas de obtenção de extratos vegetais as mais utilizadas são, a maceração (moe-se o material vegetal, seguido pela utilização de um solvente para extração dos princípios ativos), a infusão (onde água fervente é adicionada à parte vegetal), a decocção (ferve a água quando essa está em contato com a parte vegetal), a digestão (adiciona-se solvente e mantém sob temperatura de 40-60°C), a percolação (movimento e filtragem de

fluidos por materiais porosos) e destilação (vaporizar o líquido para depois condensá-lo e recolhê-lo em outro recipiente), sendo que o processo de percolação permite uma extração mais eficiente (REVISTA-FI, 2010).

Uma nova visão com relação ao controle dos insetos, associada ao conhecimento científico, conduziu a uma melhor observação dos mecanismos naturais de defesa. Hoje se entende melhor que o controle às pragas não pode ser realizado de forma unilateral. A busca por novos inseticidas constitui-se num campo de investigação aberto, amplo e contínuo. A diversidade de substâncias presentes na flora continua sendo um enorme atrativo na área de controle de insetos, principalmente, levando-se em consideração que apenas uma pequena parcela das plantas foi investigada com tal finalidade (SCHMALTZ; SANTOS; GUTERRES, 2005).

2.3.2 Uso de plantas com potencial de controle de *Plutella xylostella*

Torres; Barros; Oliveira(2001) avaliaram diferentes partes (folhas, ramos, casca, frutos e raízes) na concentração de 10% de 13 espécies vegetais no controle de *P. xylostella* e relataram que nove tratamentos diferiram da testemunha. Dentre esses tratamentos, a *Aspidosperma pyrifolium* Mart. (Apocynaceae), *A. indica* e uma formulação a base de nim apresentaram mortalidade de 100% da fase larval.

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

Medeiros; Boiça Junior; Torres (2005) constataram índices de deterrência de oviposição de até 100% da *P. xylostella* quando as folhas de couve foram tratadas com extratos de frutos de *S. saponaria*, e de *E. contortisilliquum* folhas de *Tradescantia pallida* (Commelinaceae).

Torres et al. (2006) verificaram efeitos tóxicos de extratos aquosos de amêndoas de *A. indica*, córtex do lenho de *A. pyrifolium* e frutos de *Melia azedarach* (Meliaceae) com uma concentração letal de 0,6%, 7,0 e 12,5% para a *P. xylostella*.

Vieira & Silva (2007) avaliaram a performance de extratos etanólicos de folhas e caules de 4 espécies de *Croton* sp. Benth (Euphorbiaceae) na mortalidade de *P. xylostella* em diferentes concentrações, observando que o aumento das concentrações causava uma maior mortalidade, que passava dos 90%.

Dequech et al. (2009) avaliaram extratos de *A. indica*, *M. azedarach* e *N. tabacum*, todos a 10% de concentração, na oviposição e mortalidade de *P. xylostella* e mostraram que os tratamentos diferiram da testemunha no total de ovos colocados pelas fêmeas nas folhas tratadas sem diferir entre si, e que na avaliação de mortalidade, os três tratamentos alcançaram valores de 75 a 100% de mortalidade não diferindo entre si ao final do experimento.

Sharma et al. (2012) avaliaram extratos de *Spilanthes acmella* L. (Asteraceae) obtidos de diferentes solventes (hexano, metano e acetato de etanol) na biologia de *P. xylostella* mostraram que em todos os casos obtiveram resultados promissores, com a CL_{50} de 1,5 $\mu\text{g/L}$ para o acetato e 5 $\mu\text{g/L}$ para os demais extratos.

2.4 Anonáceas

2.4.1 Importância econômica das Anonáceas

Segundo Lemos (2011), atualmente no Brasil, as anonáceas mais tradicionais são a graviola (*A. muricata*), a pinha (*Anonnanasquamosa*) e a atemóia (*A. squamosa* x *Anonnacherimola*). Dessas, existem cerca de 15 mil hectares cultivados no Brasil, sendo que em sua grande maioria, de pequenos agricultores de até 5 hectares e com baixo nível tecnológico, estão principalmente localizada na região Nordeste e Sudeste. Atualmente, toda a produção brasileira de anonáceas é comercializada para o consumo interno da fruta fresca e processada.

Braga Sobrinho (2010) afirma que as anonáceas englobam frutíferas de importância econômica para muitos países, como Chile, México, Venezuela, Austrália e Brasil. No Brasil, as anonáceas se encontram distribuídas do Norte do País até São Paulo, sendo que se espalhou

de forma mais abrangente na região semi-árida do Nordeste, onde a Bahia é o maior produtor de graviola, seguido por Pernambuco e Alagoas.

Estima-se que haja em torno de 10.000 hectares de pinha, 2.500 hectares de graviola, 1.000 de atemóia e 120 de cherimóia 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).

Segundo Braga Sobrinho (2010), em trabalho realizado pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), apesar de não haver dados estatísticos sobre a produção de graviola, sabe-se que a demanda pela fruta é crescente, tanto no mercado interno quanto no externo. Afirma também, que so no Estado de São Paulo existem cerca de 247mil pés de fruta-do-conde (pinha) e 105mil pés de atemóia. São Paulo, Bahia e Minas Gerais são os maiores produtores de anonáceas, principalmente de pinha e atemóia, com ofertas desses frutos durante o ano todo, onde São Paulo conta com 26% da produção de pinha e 47% da produção de atemóia, Bahia com 52% da produção de pinha e Minas Gerais com 37% da produção de atemóia na CEAGESP (Companhia de Entrepostos e Armazéns Gerais de São Paulo).

Originária da América Central, podendo ser encontrada praticamente em toda faixa equatorial do planeta, a graviola (*A. muricata*) foi introduzida no Brasil pelos portugueses no século XVI, e atualmente os maiores produtores desse fruto são Bahia e São Paulo (BRAGA SOBRINHO, 2010).

Sabe-se que nas indústrias de polpa, há o descarte da semente de graviola, sendo utilizada somente a polpa. Portanto, a semente de graviola se torna uma matéria prima de fácil acesso, grande quantidade e sem custo de aquisição. Uma vez comprovada sua eficiência no controle de pragas, se torna um inseticida botânico adequado à preservação do meio ambiente.

2.4.2 Anonáceas com ação inseticida

Além de sua importância na alimentação e na medicina popular, as anonáceas apresentam propriedades inseticidas. Segundo dados de Hernández & Angel (1997), tem-se reportado 29 espécies, em 14 gêneros de anonáceas com propriedades inseticidas,

principalmente uma espécie dos gêneros *Anaxagorea*, *Artabotrys*, *Cananga*, *Cleistopholis*, *Monodora*, *Oxandra*, *Pachypodanthium*, *Polyathia*, *Popowia*, *Xylopia*, *Asimina*, *Goniothalamus*, *Rollinia* e *Annona*.

Silva; Pereira; Bento (2007) ao avaliarem o efeito do extrato de *Annona coriacea* Mart. sobre a traça-do-tomateiro *Tuta absoluta* Meyrick, 1917 (Lepidoptera: Gelechiidae) nas concentrações de 0,5; 1,0; 2,0; 4,0 e 8,0%, observaram que a menor concentração causou uma mortalidade de 86,4% e que as demais concentrações causaram mortalidade de 100%.

Asmanizar & Idris (2012) avaliaram o extrato de *A. muricata* e *Jatropha curcas* (Euphorbiaceae) nas concentrações de 0,5; 1,0; 5,0; 10,0 e 20,0% contra o coleóptero de grãos armazenados *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1885 (Coleoptera: Curculionidae), porém, somente as maiores concentrações dos extratos (5,0; 10,0 e 20,0%) obtiveram mortalidade elevada.

Extratos de *A. coriacea*, também foram testados contra larvas do mosquito *Aedes aegypti* Linnaeus 1762 (Diptera: Culicidae) nas concentrações de 50 e 100 ppm, com avaliações semanais, e mostraram que o uso do extrato a 100 ppm acarreta uma mortalidade de 100% nas larvas aos 15 dias (DILL; PEREIRA; COSTA, 2012).

Ao avaliar o efeito do extrato de *Annona crassiflora* Mart. 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.

Gonzales-Esquinca et al. (2012) avaliaram três espécies de anonáceas (*A. muricata*, *A. diversifolia* e *A. lutescens* Saff) nas concentrações de 100µg.ml e 1000µg.ml com 24 e 72 horas e obtiveram resultados que mostram que com 72 horas houve uma maior mortalidade de larvas de *Anastrepha ludens* Loew (Diptera: Tephritidae) assim como com a maior concentração, com mortalidades de 74% para a graviola e 90% para as demais.

Khalequzzaman e Sultana (2006) obtiveram resultados satisfatórios ao avaliar extrato de *A. squamosa* no controle de *Tribolium castaneum* Herbst, 1797 (Coleoptera: Tenebrionidae), utilizando diversas formas para a obtenção do extrato e uma dose letal inferior a 0,03µg/cm² para todos eles.

Souza, Cordeiro e Pereira (2007) avaliaram a ação inseticida de extratos de *A. coriacea* sobre ninfas do percevejo verde *Dichelops melacanthus* (Dallas, 1851)

(Hemipetra: Pentatomidae), nas concentrações de 0,5 a 8,0% e mostraram que o extrato etanólico foi o mais eficiente com mortalidade acima de 80% para todas as concentrações.

2.4.3 O princípio ativo das anonáceas

Já foram isolados princípios ativos de importância inseticida em anonáceas, tanto em folhas quanto em frutos, sendo os mais importantes pertencentes aos grupos das acetogeninas e alcaloides (FANG et al., 1993; ZENG et al., 1996; HERNÁNDEZ & ANGEL, 1997; ZAFRA-POLO et al., 1998).

Inseticidas botânicos têm sido tradicionalmente preparados a partir de sementes de espécies de *Annona*. Investigações detalhadas na década de 80 mostraram o isolamento de um número de acetogeninas, responsáveis pela ação inseticida (ISMAN, 2006).

Segundo uma revisão sobre acetogeninas de anonáceas realizada por Rupprecht; Hui; McLoughlin (1990), a asimicina foi o primeiro exemplo de acetogenina com propriedades inseticidas, porém outras acetogeninas têm sido reportadas com essa atividade biológica como, bullatacina, annonina, annonacina, goniotalamicina e sylvaticina.

As propriedades biológicas de acetogeninas de anonáceas têm atraído a atenção de muitos pesquisadores bioquímicos, biólogos, botânicos, químicos, entomologistas, farmacologistas e fitoquímicos. As propriedades inseticidas das acetogeninas já estão bastante estabelecidas, porém tornam-se necessárias pesquisas para o desenvolvimento de formulações para adequação desse material como tática de controle num manejo integrado de pragas, segundo Alali; Liu; McLaughlin (1999).

“Acetogeninas são metabólitos secundários de ocorrência restrita à família Annonaceae, a qual compreende 130 gêneros e 2300 espécies. São policetídeos que compreendem uma série de substâncias com 35 ou 37 carbonos derivados de ácidos graxos de 32 ou 34 carbonos. Estes estão combinados com uma unidade de álcool 2-propanol formando uma γ -lactona α,β -insaturada terminal e com ciclizações frequentes para formar de um a três anéis tetraidrofurano ou tetrahidropirano no meio da cadeia alifática. Ocorre também a presença de ligações duplas, grupos hidroxilas, acetilas e carbonilas nas estruturas destes metabólitos” (CORRÊA & VIEIRA, 2007).

Até o ano de 2005, foram descritas mais de 400 estruturas diferentes de acetogeninas, as quais apresentam bastante interesse pelos pesquisadores por suas ações citotóxicas, antitumoral, antimalárica, antimicrobiana, parasiticida e pesticida (CORRÊA & VIEIRA, 2007)

Corrêa & Vieira (2007) relata que dentre as acetogeninas promissoras com atividade inseticida estão as asimicina, annonina e annonacina, e que elas possuem mecanismo de ação semelhante ao da rotenona, que atua através do bloqueio da produção de energia na mitocôndria de insetos e mamíferos.

Dentre as 3 acetogeninas, a asimicina se destaca por apresentar elevada atividade contra os besouros das espécies *Epicachna varvestis* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) e *Acalymma vittatum* (Coleoptera: Chrysomelidae), pulgões da espécie *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae), larvas das espécies *A. aegypti* e *Calliphora vicina* (Diptera: Calliphoridae) e nematoides da espécie *Caenorhabditis elegans* (Rhabditida: Rhabditidae). Testes com a asimicina mostraram que ela possui um maior potencial inseticida do que a rotenona e a peritrina, já que causou mortalidades de 100% para nematoides a 0,1 ppm, 100% para larvas de mosquito a 1 ppm, 100% para o pulgão do melão a 500 ppm e 70% para besouros a 10 ppm, enquanto que as rotenonas e piretrinas não apresentaram atividade nas mesmas concentrações. Devido a sua potencialidade como pesticida, em 1988 foi originada uma patente americana com a asimicina no controle de pragas (GONZALEZ-ESQUINCA et al., 2011)

A busca por extratos de plantas da família Annonaceae com atividade inseticida se mostra com uma atrativa alternativa aos inseticidas sintéticos, principalmente por apresentar em sua composição uma mistura complexa de substâncias ativas, diminuindo assim, a possibilidade do desenvolvimento de insetos resistentes.

2.5 Formulações de inseticidas

Os agrotóxicos são constituídos por uma vasta gama de compostos químicos ou biológicos com a função de exterminar, repelir ou controlarem processos específicos. A constituição básica dos agrotóxicos é formada pelo ingrediente ativo, o diluente e o aditivo. O ingrediente ativo corresponde a produtos químicos, na forma sólida ou líquida, que se encontra em pequenas porções nas formulações sendo o responsável pelo combate à praga ou doença que se deseja tratar. Sua concentração é expressa em gramas por litro do produto

comercial ou em porcentagem. O diluente ajuda a manter a dispersão e suspensão do ingrediente ativo. Sua presença aumenta a segurança no manuseio do pesticida, além de proporcionar uma repartição mais homogênea do ingrediente ativo no alvo a ser tratado. Os aditivos são substâncias que melhoram a eficiência do agrotóxico pela alteração de suas propriedades físicas, químicas e biológicas (SANTOS, 2000).

Geralmente, a aplicação direta do ingrediente ativo no ambiente não é adequada, sendo, portanto necessária uma forma conveniente para utilização efetiva e segura. A formulação do agrotóxico permite a união do ingrediente ativo com elementos inertes, de modo a obter uma concentração apropriada para manipulação, aplicação e dispersão do pesticida, além de melhorar a eficácia do produto contra a espécie alvo a ser controlada. Na maioria dos casos, os compostos que constituem os ingredientes inertes são mantidos em sigilo por parte dos fabricantes de pesticidas (COX, 1999).

Existem diversos tipos de formulações comercializadas e, em muitos casos, diferentes com o mesmo ingrediente ativo (SUCEN, 2000).

Existem dois tipos de formulações: as não comerciais e as comerciais. As formulações não comerciais equivalem aos produtos técnicos, que são substâncias obtidas diretamente da matéria prima por processos químicos, físicos ou biológicos, e aos produtos de padrão analítico, os quais são utilizados para controlar a qualidade das preparações formuladas (SUCEN, 2000).

As formulações comerciais são fabricadas sob as formas líquidas ou sólidas. As formulações líquidas são produzidas como soluções, emulsões ou suspensões, nas quais o ingrediente ativo é diluído em solventes adequados. As formulações sólidas são apresentadas na forma de pó, granulado ou isca, podendo ser aplicadas diretamente ou após processo de diluição (SUCEN, 2000).

As formulações voltadas para a comercialização são divididas em: formulações para diluição em água, para diluição em outros solventes e as de aplicação direta.

Segundo Gallo et al. (2002), dentre as formulações encontradas no mercado para o controle de pragas, têm-se o pó molhável, o pó solúvel, os produtos granulados, as soluções concentradas, os aerossóis, produtos gasosos, suspensões líquidas, pastas, microencapsulados e os concentrados emulsionáveis (também chamados de emulsão concentrada ou emulsões e dispersões aquosas).

2.5.1 Emulsão

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

Desta forma, para conseguir confeccionar emulsões estáveis é necessário adicionar excipientes conhecidos como agentes emulsificadores ou tensoativos. Uma emulsão estável é definida como um sistema que consegue manter, de maneira homogênea, suas gotículas ou glóbulos na fase contínua. O tensoativo, neste caso, é responsável por manter um filme entre as fases (entre as gotículas e a fase externa), exercendo assim uma barreira física que impede a coalescência que pode ser definida como a junção, a união de duas ou mais gotículas. Caso este filme possua cargas, é considerado que o agente emulsificador exerce, portanto, uma barreira química. As emulsões oleosas (concentrado emulsionável, emulsão de água em óleo e emulsão de óleo em água) são amplamente utilizadas na área farmacêutica e cosmética, mas, até o momento, não há muitos estudos que empregaram este tipo de tecnologia no combate às pragas agrícolas que acometem as diversas culturas existentes (SENHORINI, 2010).

Silva; Pereira; Bento, (2007) avaliaram três concentrações e emulsões elaboradas com óleo de nim no controle de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) obtendo mortalidade de 100% nas três concentrações (0,25; 0,5 e 1,0%).

2.5.2 Microencapsulamento

Os processos micro/nanotecnológicos vêm sendo aplicados, principalmente, na indústria farmacêutica e cosmética porque torna mais eficiente a veiculação de moléculas bioativas no organismo, bem como facilita a penetração desses compostos nas camadas mais profundas da pele, potencializando o efeito dos produtos. Para os fármacos já existem muitos estudos publicados. Por outro lado, já no campo dos cosméticos as informações são mais restritas, o que pode ser explicado por este uso mais recente (SCHMALTZ; SANTOS;

GUTERRES, 2005; NEVES, 2008). A aplicação da micro/nanotecnologia no controle de pragas agrícolas é muito incipiente, constituindo-se em um vasto campo a ser explorado.

O processo tecnológico responsável pela produção de micro/nanopartículas é conhecido como micro/nanoencapsulação. Este consiste em envolver, com um fino filme de uma matriz qualquer, pequenas gotículas de certa substância ativa, sendo esta chamada de núcleo (GHARSALLAOUI et al., 2007). Segundo Giunchedi & Conte (1995), o processo de nano/microencapsulação, para ser considerado ideal, tem que apresentar como características: simplicidade, reprodutibilidade, rapidez, facilidade em transpor à escala industrial, além de ser pouco dependente das características de solubilidade do princípio ativo e da matriz encapsulante em questão.

O desenvolvimento de vetores micro/nanoparticulados poliméricos, como sistemas de liberação modificada de produtos naturais (óleos vegetais com atividade inseticida comprovada, por exemplo) é uma alternativa promissora para promover o controle de população de pragas em geral, sem causar contaminação ambiental e toxicidade aos organismos não-alvo (BAJAPAI & GIRI, 2002).

Goertz (2000) relatou que a microencapsulação de defensivos apresentam vantagens quando comparado com outras formulações, pois além de serem mais seguros para o meio ambiente ao liberar o ingrediente ativo gradativamente, também é mais seguro para o trabalhador, que tem sua exposição com o produto minimizado.

A técnica de *spray drying* é uma técnica que vem sendo utilizada desde os anos 30, que consiste em homogeneizar a substância em uma solução aquosa ou dispersão que contenha o agente encapsulante que é atomizado em uma corrente de ar quente, onde então ocorre a evaporação do solvente e a rápida solidificação das gotículas (BRAGA, 2005). É uma técnica simples, rápida, com baixo custo e que não necessita eliminar resíduos de solventes (AFTABROUCHAD & DOELKER, 1992).

Para o emprego da técnica de *spray drying* é importante observar a temperatura de entrada e saída do ar, o fluxo de arraste, a geometria da câmara e a umidade (KISSELET al., 2006). Outra questão a ser observada é o calor, que pode afetar as propriedades de compostos termossensíveis, porém esse problema não se torna muito grave devido ao pequeno tempo que as partículas ficam em contato com esse calor (GIUNCHEDI & CONTE, 1995). No campo, a interferência do calor não é grande, uma vez que o ingrediente ativo, já se encontra envolto pela cápsula protetora.

Silva et al. (2005) avaliaram duas formas de microencapsulação, além de pó molhável e concentrado emulsionáveis de *A. indica* no controle de *S. frugiperda* a 1% para os microencapsulados e pó molhável, e 0,25; 0,5 e 1,0% para os concentrados, onde todos os tratamentos obtiveram mortalidade maior que 90%.

Kanis et al. (2012) testaram microcápsulas de *Copaifera multijuga* e *Capaifera reticulata* (Leguminosae), feitas com PEMA (Poli(acrilato de metilo)) e CA (acetato de celulosa) como polímeros, contra o mosquito *A. aegypti*, mostrando que o uso desses polímeros auxiliaram na dispersão do óleo favorecendo assim a uma maior mortalidade do inseto.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi conduzido no Laboratório de Entomologia: controle alternativo de pragase em casa-de-vegetação do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas, em Rio Largo,AL, de coordenadas geográficas 9° 27' 06'' S e 35° 49' 05'' O, entre o período de agosto de 2011 a julho de 2013.

3.1 Condução da cultura

Sementes de couveGeorgia, *B. oleracea* var. *acephala*, foram semeadas em casa-de-vegetação, em bandeja de isopor contendo substrato comercialBioplant® indicado para preparo de sementeira. Após 35 dias, as mudas foram transplantadas para local definitivo em canteiros de alvenaria preenchidos com mistura de terra preta e torta de filtro.Foram adotados tratos 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 transplântio.

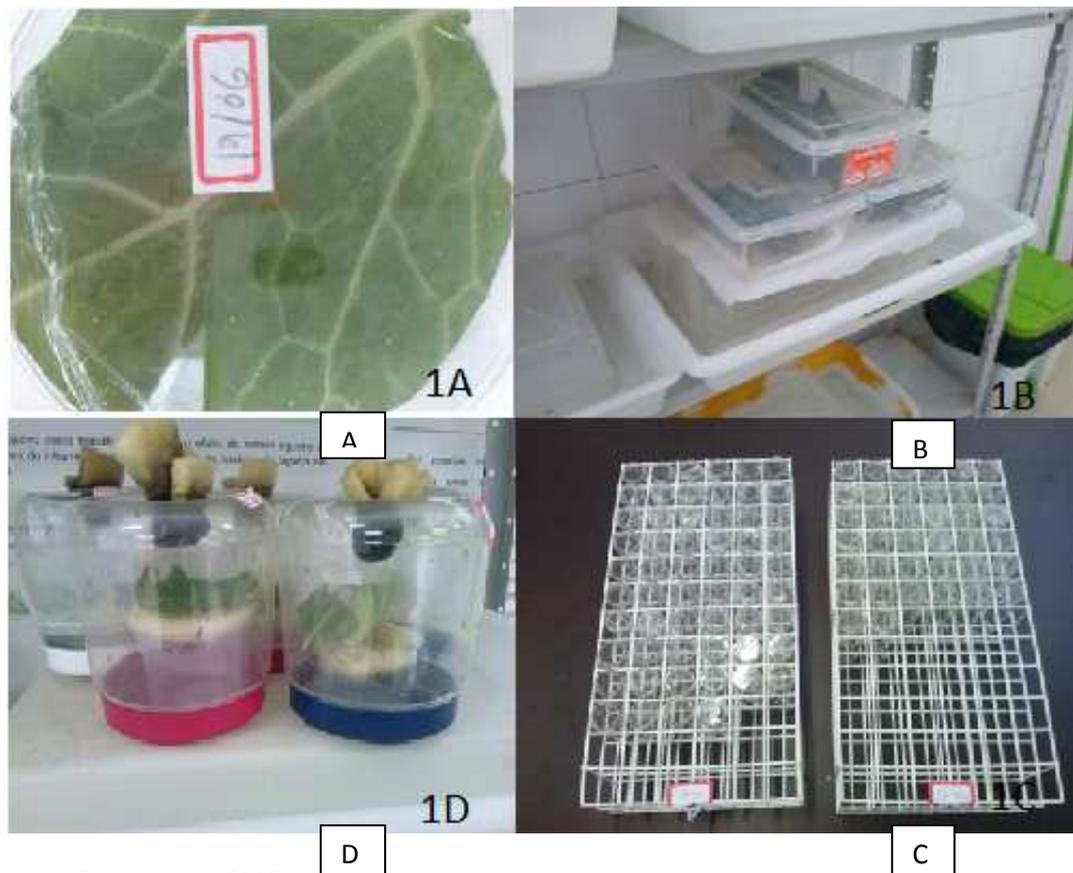
3.2 Criação de *Plutella xylostella*

A criação e multiplicação de *P. xylostella* foram realizadas no Laboratório de Entomologia: 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.

Após a emergência, os adultos eram liberados em gaiolas plásticas transparentes circulares (12cm de diâmetro x 15cm de altura) com abertura lateral fechada com tela antiafídeo (Figura 2-A). Em cada gaiola foi colocado um pote plástico coberto com espuma umedecida, sobre o qual, foi colocado um disco de folha de couve medindo 8 cm de diâmetro para servir de substrato à postura, no sentido de simular a folha em condições de campo, e uma esponja embebida com solução açucarada a 10%, na parte superior da gaiola, para alimentação dos adultos. Os discos de folhas eram substituídos diariamente, e mantidos em

placas de Petri de 8 cm de diâmetro até a eclosão das lagartas (Figura 2 -B).Lagartas recém eclodidas, oriundas de posturas realizadas em folhas de couve, foram transferidas para recipientes plásticos maiores (20 cm de comprimento x 10 cm de largura x 5cm de altura)contendo várias folhas de couve (Figura 2- C). As folhas foram trocadas diariamente 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), fechados com filme plástico transparente (Figura 2-D). Em cada recipiente foram realizados pequenos furos para que houvesse possibilidade de troca de ar. A cada 24 horas, após a emergência, os adultos foram transferidos para as gaiolas.

Figura 2 – Etapas da criação de *Plutella xylostella*. 1A – Gaiolas dos adultos. 1B – ovos da traça. 1C – lagartas nos potes. 1D – pupas retiradas dos potes.



Fonte: Autor, 2013

3.3 Obtenção das sementes e preparo dos extratos

As sementes de graviola foram obtidas no município de Anadia – AL, em fábrica de processamento de frutas para confecção de polpa de frutas. As sementes foram acondicionadas em sacos de papel Kraft e postas para secar em estufa com circulação de ar a uma temperatura de 60°C por 48 horas. Após a secagem total das sementes, realizou-se a moagem em moinho tipo Wiley para a obtenção do pó de baixa granulometria, que foi acondicionado em recipiente hermeticamente fechado devidamente identificado até o momento do preparo dos extratos.

Para o preparo do extrato aquoso o pó das sementes foi submetido à extração aquosa em percolador de aço inoxidável, onde a extração permaneceu em repouso por um período de 48 horas e foi filtrada e diluída para as concentrações desejadas.

No preparo do extrato orgânico primeiramente o pó da semente de graviola foi submetida à extração a frio com hexano [$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$] em percolador de aço inoxidável. Foram utilizados 5L de hexano em 2,3kg de pó. Essa extração permaneceu em repouso por um período de 72 horas e então, filtrada. O extrato foi submetido à evaporação do solvente com o auxílio de rotavapor a 50°C sob pressão reduzida. Após esse procedimento, o extrato hexânico foi colocado em frasco de vidro previamente pesado e etiquetado e acondicionado aberto para a evaporação máxima do solvente. Após a obtenção do extrato hexânico, sobre a torta resultante da extração com hexano, foi realizada a extração com etanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) seguindo a mesma metodologia anterior, só modificando o solvente, que foram 4,6L de etanol e o número de repetições, já que foi realizado apenas um ciclo para o extrato hexânico e três ciclos para o etanólico (as mesmas sementes foram utilizadas três vezes seguidas).

3.4 Experimentos com extratos aquosos e orgânicos da semente de *Annona muricata*

3.4.1 Determinação e efeito da CL_{50} e CL_{99} dos extratos da semente de *Annona muricata* na biologia de *Plutella xylostella*

Foram realizados pré-testes com os extratos aquoso e orgânicos (hexânico e etanólico) em diferentes concentrações para determinar valores próximos do Limite Superior (LS) e Limite Inferior (LI) dos extratos e assim observar qual extrato era mais viável.

Após a determinação dos limites todos os extratos foram solubilizados em água destilada, utilizando-se um solvente solubilizante, o dimetilsulfóxido (DMSO) a 1% (v/v), para obtenção das concentrações 0,0; 1,25; 2,5; 5,0; 10,0 e 20,0% para o extrato aquoso, 0,0; 0,01; 0,05; 0,1 e 0,2% para os extratos orgânicos hexânico e etanólico.

Inicialmente, foram obtidos discos de 8cm de diâmetro de folhas de couve. No tratamento com os extratos, os discos foliares foram imersos por 30 segundos, nas respectivas suspensões, conforme os procedimentos recomendados pelo Grupo Internacional das Associações Nacionais de Fabricantes de Produtos Agroquímicos (GIFAP) para lagartas que se alimentam de folhas de hortaliças (Guedes et al., 1995). Para o tratamento testemunha, os discos foram imersos em água destilada e DMSO a 1% pelo mesmo período.

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. Lagartas recém eclodidas foram colocadas em placas de Petri de 15cm de diâmetro, contendo um disco tratado sobre papel de filtro umedecido com água destilada, para manutenção da umidade, mantidos em laboratório (temperatura de $26 \pm 2^\circ\text{C}$, 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 tratadas.

Para determinada a CL_{50} e CL_{99} foram feitas aplicações das respectivas doses de cada tipo de extrato seguindo procedimento semelhante ao anterior. Nesse experimento, foram realizados 10 repetições por tratamento contendo seis lagartas em cada repetição. Como testemunha foram utilizados um tratamento sem nenhum produto, e um segundo tratamento padrão a base de Decis 25CE (deltametrina). 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, e pupal e longevidade de adultos.

O experimento foi conduzido sob delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos e cinco repetições para a determinação da concentração letal e subletal de cada

extrato. Foi utilizada a análise de Probit pelo programa computacional SAS para determinação da CL_{50} .

3.4.2 Efeito dos extratos de *Annona muricata* na fase embrionária de *Plutella xylostella*

Dois casais da traça-das-crucíferas com até 12 h de idade foram selecionados para a oviposição e colocados em gaiolas plásticas idênticas àsquelas da criação. Após 24 horas de exposição aos adultos, os discos foram retirados das gaiolas, selecionand-se discos que apresentavam um mínimo de 20 ovos. Realizou-se esse método, em vez do método seguido por Torres et al. (2006), onde cortavam-se os discos para que tivessem 20 ovos em cada repetição, porque, observou-se que com a diminuição do tamanho dos discos após o corte, os mesmos ressecavam mais rapidamente, o que poderiam prejudicar a eclosão das lagartas sem estar relacionado com os tratamentos. Em seguida, os ovos foram imersos nos extratos na concentração letal e sub letal (CL_{50}) de cada extrato vegetal, e na testemunha em água destilada, além do tratamento químico, realizado com o produto Decis 25 CE (deltametrina), na mesma concentração utilizada para o teste de não preferência para que houvesse uma padronização.

O delineamento foi inteiramente casualizado com 6 tratamentos e cinco repetições tendo cada uma um mínimo de 20 ovos da praga. Diariamente foi analisado o número de lagartas eclodidas, sendo confrontado com o número de ovos em que se observaram o córion transparente, indicativo de ter ocorrido a eclosão. Essas avaliações ocorreram durante oito dias e foram realizadas com o auxílio de umalupa estereoscópica de 10 vezes. A análise estatística foi realizada pela comparação de médias pelo teste de Tukey utilizando-se o programa estatístico ASSISTAT versão 7.5 (SILVA; AZEVEDO, 2009).

3.4.3 Teste de não preferência para oviposição de *Plutella xylostella*

Para os testes com chance de escolha, discos de folhas de couve ‘Georgia’ com 8 cm de diâmetro foram imersos nos extratos nas concentrações letal e subletal (CL_{50}) e no tratamento químico por 30 segundos e postos sobre papel toalha para secagem ao ar livre; em

seguida, divididos em partes, obtendo-se quatro círculos menores (com 2 cm de diâmetro) com dimensões semelhantes.

Discos retirados das mesmas folhas de couve foram imersos em 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 (um com a concentração subletal e outro com a concentração letal), outro um tratado com água destilada e um tratado com o químico DECIS 25EC (deltametrina). Esse conjunto foi colocado em gaiolas idênticas às utilizadas na criação de *P. xylostella*. Dois 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 tratamento químico utilizado nesse experimento foi o produto Decis 25CE (deltametrina), porém a concentração utilizada foi 1/3 menor que a recomendada (33mL para 100L de água), isso (deltametrina) porque o odor emanado do produto após a diluição recomendada era muito forte, e houve preocupação que tal concentração pudesse prejudicar ou até mesmo matar os adultos.

O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos (CL₅₀, CL₉₉, Químico e Testemunha) com 7 repetições para o experimento etanólico e para o hexânico. A análise foi feita por comparação de médias pelo teste de Tukey utilizando o programa ASSISTAT versão 7.5 (SILVA; AZEVEDO, 2013).

3.4.4 Efeito residual dos extratos de *Annona muricata* sobre *Plutella xylostella*

Para avaliar a persistência dos extratos de graviola nas concentrações letal e subletal (CL₅₀) foram realizados grupos de 4 plântulas que foram pulverizados com os respectivos extratos, na face superior ou inferior das folhas com diferentes intervalos de aplicação. As folhas do primeiro grupo de plântulas foram oferecidas a lagartas recém-eclodidas duas horas após a pulverização (dia zero), o segundo grupo dois dias após a pulverização e o terceiro quatro dias após a pulverização. Para o tratamento testemunha, as plantas foram pulverizadas com água destilada. Após três dias da montagem do experimento, foi avaliada a mortalidade

das lagartas. Todos os tratamentos continham Tween a 1% como espalhante adesivo, já que devido ao fato das plantas serem muito novas, a cerosidade das folhas era alta.

Os experimentos do efeito residual dos extratos foram em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial $(3 \times 2 \times 2) + 1$, ou seja, 3 intervalos de aplicação, 2 concentrações e 2 extratos + 1 testemunha. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey através do programa computacional ASSISTAT versão 7.5 (SILVA; AZEVEDO, 2013).

3.5. Experimentos com formulações dos extratos orgânicos da semente de *Annona muricata*

3.5.1 Preparo da emulsão

O preparo das emulsões, de água em óleo, foi realizado no Laboratório de Química da UFAL seguindo a metodologia descrita por Senhorini (2010), que consiste em misturar as fases aquosa e oleosa após um pré-aquecimento das duas fases a uma temperatura de 60°C, sendo que foram realizados testes sem a realização de um pré-aquecimento para observar se afetaria a estabilidade da emulsão. Antes da mistura das fases, elas receberam compostos para aumentar a estabilidade da emulsão. A fase oleosa recebeu o tensoativo monoésterato de sorbitano (Span) e a fase aquosa recebeu o componente hidrossolúvel monooleato de sorbitano (Tween). Foram testadas diferentes concentrações do Tween e do Span para verificar o tratamento com melhor estabilidade da emulsão. Também foram utilizados diferentes Tween's (componente hidrossolúvel), o Tween 80 e o Tween 40, enquanto que o Span (componente tensoativo) testado foi apenas o Span 20 (Tabela 1).

Tabela 1: Proporção de homogeneizadores utilizados para o preparo das emulsões dos extratos orgânicos da semente de *Annona muricata*

Emulsão	Span (g)	Tween (g)	Extrato (mL)	H₂O (mL)
1	4,0	1,0	10	85
2	3,5	1,5	10	85
3	3,0	2,0	10	85
4	0,0	5,0	10	85

Fonte: Adaptação de Senhorini (2010)

Após o preparo das emulsões em suas diferentes concentrações de Tween e Span com os extratos orgânicos hexânico e etanólico, as emulsões foram agitadas e colocadas em repouso em tubos de vidro para a observação da estabilidade no decorrer do tempo.

Outra emulsão foi realizada, utilizando-se, 20% de goma arábica sendo misturada em agitador por 5 minutos.

3.5.2 Microencapsulamento

A microencapsulação foi realizada no Laboratório de Farmácia da UFAL utilizando o aparelho de modelo BUCHI Mini Spray Dryer B-290 (Figura 3), selecionado para trabalhar a uma temperatura de entrada de 180°C, rotação 33 e velocidade de alimentação cinco. Foram realizadas duas formas de microencapsulação, a primeira utilizando 50mL de extrato orgânico, acrescido de 150mL de álcool etílico absoluto P.A e 150mL de água milli-q, misturado e, posteriormente adicionado aerosil (polímero) calculado a partir do peso de sólido contido em 1 mL do extrato. O peso de sólido no extrato foi realizado colocando 1 mL do extrato em estufa a 145°C por 4 horas e posteriormente pesado. A outra maneira foi realizando o microencapsulamento a partir de uma emulsão, substituindo apenas o aerosil por goma arábica a 20% e misturado.

Figura 3: Detalhe do Mini Spray Dryer B-290 (A) e seu recipiente de coleta (B)



Fonte: Autor, 2013

3.5.2.1 Determinação e efeito da CL₅₀ e CL₉₉ dos extratos da semente de *Annona muricata* microencapsulado na biologia de *Plutella xylostella*

Devido ao fato de ocorrerem perdas de extrato durante o processo de microencapsulação, foi decidido realizar um novo teste de CL₅₀, LI e LS para o microencapsulado. Esse experimento seguiu a metodologia dos demais experimentos de extrato aquoso e orgânico. As concentrações utilizadas foram de 0,01; 0,025; 0,05; 0,1 e 0,25% e um outro tratamento foi a testemunha que não foi tratada.

Discos de 8cm de diâmetro de folhas de couve foram imersos por 30 segundos, nas respectivas suspensões, para o tratamento testemunha, os discos foram imersos em água destilada pelo mesmo período.

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. Lagartas recém-eclodidas foram colocadas em placas de Petri de 15cm de diâmetro, contendo um disco tratado sobre papel de filtro umedecido com água destilada, para manutenção da umidade, acondicionados em laboratório (temperatura de $26 \pm 2^\circ\text{C}$, 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 tratadas.

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

O experimento seguiu o delineamento inteiramente casualizado e a estimativa da CL₅₀ foi realizada pela análise de Probit utilizando o programa computacional SAS (Statistical Analysis System, versão 9.3).

3.5.2.2 Efeito residual dos extratos microencapsulados de *Annona muricata* sobre *Plutella xylostella*

Para avaliar a persistência do microencapsulado, extrato etanólico de graviola e microencapsulado na concentração sub letal (CL_{50}) foi realizado grupos com 4 plantas que foram pulverizados com o extrato, na face superior ou inferior das folhas com diferentes intervalos de aplicação. As folhas do primeiro grupo de plântulas foram oferecidas a lagartas recém eclodidas duas horas após a pulverização (dia zero), o segundo grupo dois dias após a pulverização e o terceiro quatro dias após a pulverização. Para o tratamento testemunha, as plantas foram pulverizadas com água destilada. Após três dias da montagem do experimento, foi avaliada a mortalidade das lagartas.

O experimento do efeito residual dos extratos foi em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial $(3 \times 2) + 1$, ou seja, 3 intervalos de aplicação, 2 extratos + 1 testemunha. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey através do programa computacional ASSISTAT versão 7.5 (SILVA; AZEVEDO, 2013).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Experimentos com extratos aquosos e orgânicos da semente de *Annona muricata*

4.1.1 Determinação da CL₅₀ e CL₉₉ dos extratos aquosos e orgânicos da semente de *Annona muricata* para *Plutella xylostella*

A análise do extrato aquoso se ajustou com o modelo de Probit com o valor $dep=0,5972$. Esse resultado pode ser explicado pela função: $-0,6609 (\pm 0,3854) + 1,9254 (\pm 0,6808) \text{ LOG DOSE}$. Pela análise, o Limite Inferior (LI), a CL₅₀ e o Limite Superior (LS) IC₉₅ para o extrato aquoso da semente de graviola foram respectivamente 0,07275% (podendo variar entre 0,0001 e 0,3728), 2,3393% (podendo variar entre 0,6151 a 4,1755) e 35,223% (podendo variar entre 21,6433 e 87,05) (Tabela 2). Percebe-se que o LS não se enquadrou bem á realidade do experimento, já que a concentração 20% conseguiu matar todas as lagartas, porém a sua variação chegou bem próximo do resultado observado durante o experimento.

Tabela 2: Análise de Probit para os extratos aquoso, etanólico e hexânico da semente de *Annona muricata*

Extrato	GL	n ¹	CL ₅₀ (IC _{95%}) ³ (mL.mL ⁻¹)	X ²	p ⁴
Extrato Aquoso	4	50	2,33 (0,61 - 4,17)	1,03	0,59
Extrato Hexânico	5	60	0,02 (0,01 - 0,03)	2,12	0,82
Extrato Etanólico	5	60	0,01 (0,01 - 0,02)	0,38	0,98

* EP: Erro-padrão; CL: Concentração letal; X²: Qui-quadrado; DAA: Dias após aplicação.

¹ GL: Graus de liberdade.

² n: Número de insetos utilizados no teste.

³ IC: Intervalo de confiança.

⁴ P: Probabilidade > 0,05

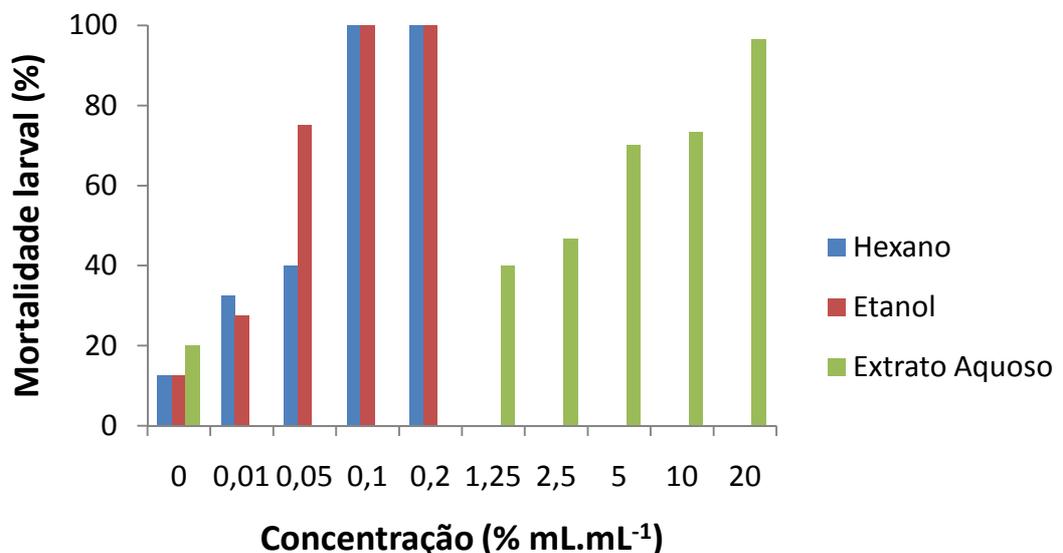
A ação inseticida de extratos aquosos de plantas no controle de *P. xylostella* já é conhecida na literatura tanto na oviposição (CHARLESTON; VET; DICKE, 2005; MEDEIROS; BOIÇA JÚNIOR; TORRES, 2005; TORRES et al., 2006; DEQUECH et al., 2009; JESUS et al., 2011) quanto no desenvolvimento (CHARLESTON; VET; DICKE, 2005; TORRES et al., 2006; JESUS et al., 2011; BOIÇA JÚNIOR et al., 2013).

Geralmente plantas extraídas com água necessitam de concentrações mais elevadas para ter uma atividade inseticida mais eficiente. Isto pode ser exemplificado com o nim onde Torres et al. (2006) encontraram uma CL_{50} de 0,6% de extratos aquosos na mortalidade de *P. xylostella*.

A análise do experimento do extrato hexânico se ajustou com o modelo de Probit com o valor de $p = 0,8318$. Esse resultado pode ser explicado pela função: $4,1728(\pm 0,9030) + 2,6091(\pm 0,6010) \text{ LOG DOSE}$. Na análise de Probit do extrato hexânico LC_{95} , o Limite Inferior (LI) apresentado foi de 0,0032% (podendo variar de 0,0004 a 0,0071), a CL_{50} foi de 0,0251% (podendo variar de 0,0148 a 0,0363) e o Limite Superior (LS) foi de 0,196% (podendo variar de 0,1052 a 0,8866) (Tabela 2).

É possível observar que a quantidade de extrato necessário para obter uma maior mortalidade é muito menor que o extrato aquoso, tornando assim o extrato hexânico mais eficiente do que o aquoso (Figura 4).

Figura 4: Mortalidade larval de *Plutella xylostella* em diferentes concentrações dos extratos aquoso, hexânico e etanólico da semente de *Annona muricata*



O extrato etanólico se ajustou com o modelo de Probit com o valor de $p = 0,9957$. Esse resultado pode ser explicado pela função: $5,4412(\pm 1,4097) + 2,9007(\pm 0,8280) \text{ LOG DOSE}$. A concentração do Limite inferior (LI) encontrada foi de 0,0021% (variando entre 0,0001 a 0,0051), a CL_{50} foi de 0,0133% (podendo variar de 0,0058 a 0,0199) e o limite superior (LS) foi de 0,0843 (variando entre 0,0464 e 0,5389) (Tabela 2).

A Figura 4 mostra a taxa de mortalidade larval à medida que há o aumento das concentrações dos extratos aquoso, etanólico e hexânico. Percebe-se que a CL_{50} e o Limite Superior podem ser observados na figura, e que se assemelham aos dados encontrados na análise de Probit.

A Tabela 3 faz um resumo da CL_{50} e do Limite Superior dos extratos aquoso, hexânico e etanólico e os seus devidos intervalos de confiança (IC), onde a partir da sobreposição desse intervalo é possível verificar se as concentrações nos diferentes extratos diferem entre si.

Tabela 3: Resumo da concentração letal e subletal dos extratos orgânicos e aquoso da semente de *Annona muricata* sobre a mortalidade de lagartas de *Plutella xylostella*

TRATAMENTO	CL_{50} (%)		LS (%)		X^2	P
	mL.mL	IC (95%)	mL.mL	IC (95%)		
Extrato Aquoso	2,3393	0,6151 - 4,1755	35,233	21,644 - 87,05	1,03	0,59
Extrato Hexânico	0,0251	0,0148 - 0,0363	0,196	0,1052 - 0,9966	2,12	0,82
Extrato Etanólico	0,0133	0,0058 - 0,0199	0,084	0,0464 - 0,5389	0,38	0,98

*CL: Concentração letal; LS: Limite Superior X^2 ; Qui-quadrado

IC: Intervalo de confiança.

P: Probabilidade > 0,05

Fonte: Autor, 2013.

Pode-se perceber a menor eficiência de extratos aquosos quanto a atividade inseticida pelo trabalho de Gonzalez-Esquinca et al. (2012), quando avaliaram extratos aquosos e etanólicos de anonáceas sobre larvas de mosca das frutas, *Anastrepha ludens* (Loew) (Diptera: Tephritidae), os quais observaram que os valores das concentrações letal e subletal dos extratos orgânicos eram menores que as do extrato aquoso. Da mesma forma como aconteceu no presente trabalho, onde ambos os extratos orgânicos apresentaram concentrações letal e subletal muito inferiores ao extrato aquoso.

Comparando as sobreposições do intervalo de confiança da CL_{50} , do Limite Inferior e do Limite Superior, dada pela análise de Probit, dos extratos orgânicos hexânico e etanólico percebe-se que eles não diferiram estatisticamente. Porém, a partir desses valores, quando comparado com os valores do extrato aquoso e extrato hexânico, nota-se que o extrato etanólico possui o mesmo efeito sobre a mortalidade da lagarta utilizando concentrações menores (Tabela 4).

Tabela 4: Comparação do limite inferior, superior e CL_{50} dos extratos aquoso, hexânico e etanólico da semente de *Annona muricata* sobre a mortalidade larval de *Plutella xylostella*

TRATAMENTO	LI (%) mL.mL	CL_{50} (%) mL.mL	LS (%) mL.mL
Extrato Aquoso	0,0727 a	2,3393 a	35,223 a
Extrato Hexânico	0,0032 a	0,0251 b	0,1960 b
Extrato Etanólico	0,0021 a	0,0133 b	0,0843 b

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

Fonte: Autor, 2013.

Esta diferença se deve ao fato de que a maior ou menor atividade de um extrato está associada ao tipo de solvente utilizado em sua preparação, outros fatores devem também ser levados em consideração, como a época, a parte do vegetal utilizada na preparação dos extratos ou mesmo as espécies de insetos utilizados no bioensaio (TRINDADE et al., 2000), mas no presente trabalho, apenas o solvente de extração é que foi modificado.

Essa necessidade de maiores concentrações do extrato hexânico está de acordo com resultados obtidos por outros autores que também observaram que extratos altamente apolares são menos eficientes do que aquele com polaridade intermediária, como o etanólico (ASCHER et al., 1984; ROEL et al., 2000). Borges et al. (2007) relataram, ao comparar extratos elaborados com diferentes solventes em ordem crescente de polaridade, que os preparados com solventes de menores polaridades apresentaram menores atividades.

Outro fator que pode influenciar o efeito inseticida do extrato é a época em que a parte vegetal foi coletada. Trindade et al. (2011), analisaram o efeito de extrato etanólico de folhas de *A. muricata* sobre *P. xylostella* e chegaram a conclusão de que o efeito inseticida sobre as lagartas da traça variaram em relação ao mês em que as folhas de graviola foram coletadas,

mostrando assim que a graviola acumula compostos secundários de forma diferenciada para cada época do ano, com um aumento desses compostos nos períodos de seca.

A parte da planta coletada também interfere sobre o efeito inseticida, como por exemplo, o extrato de *A.pyrifolium* estudados por Trindade et al.(2008) que, ao aplicarem o extrato etanólico da casaca do caule, da raiz e do fruto de *A. pyrifolium* sobre lagartas de *P. xylostella* determinaram que o extrato mais promissor para o controle da traça é o preparado a base da casca da planta, com uma mortalidade de 57% na dosagem de 5mg L⁻¹.

Outros autores também têm avaliado extratos de plantas obtidos a partir de solventes de diferentes polaridades, sobre diversas espécies de insetos. Khalequzzaman & Sultana (2006) ao avaliarem extratos de *A. squamosa* contra *T. castaneum* encontraram a dose subletal de 0,031µgcm², onde essa dose alterou dependendo da forma que o extrato foi obtido, do mesmo modo que no presente trabalho, em que os extratos tenham sido obtidos da mesma parte da planta, a sua forma de obtenção influenciou nos resultados.

Souza; Cordeiro; Pereira (2007) avaliaram três formas de obtenção de extrato (etanólico, hexânico e metanólico) de *A. coriacea* sobre ninfas *D. melacanthus* nas concentrações de 0,5; 1,0; 2,0; 4,0 e 8,0% e obtiveram resultados semelhantes, uma vez que os extratos etanólicos se mostraram mais eficientes que o hexânico, da mesma forma que ocorreu no presente experimento. Porém, foi necessária utilização de concentrações mais elevadas para causar maior mortalidade, mostrando assim, que as ninfas desse inseto são mais resistentes à ação da planta.

Bandeira (2009) demonstrou que todos os extratos do fruto e da flor de *Muntingia calabura* L. (Muntingiaceae) sobre a *P. xylostella* apresentaram toxidez às lagartas, porém os resultados variavam de acordo com a matriz vegetal e o solvente utilizado para a obtenção do extrato, sendo que o melhor resultado foi obtido com o extrato etanólico da flor com uma concentração subletal encontrada de 1,63mg/mL, ou seja, valores muito acima da encontrada com o extrato de *Annona*.

Yang; Deng; Hou (2008) encontraram a concentração subletal de dois constituintes químicos isolados de frutos de *Ginko biloba* (Ginkgoaceae) no controle de *P. xylostella*, o bilobol e o ácido ginkgólico com CL₅₀ respectivas de 2,06g/L e 4,6g/L, concentrações muito acima da encontrada no extrato de graviola para a mesma praga.

Lee (2005) também trabalhando com a mesma praga, encontrou a CL_{50} de dois constituintes químicos de *Piper longum*(Linn) (Piperaceae), os piperonalina com uma CL_{50} de 125ppm e o piperoctadecalidina com uma CL_{50} de 95,5ppm.

Kumar et al. (2010), observaram que o extrato etanólico de *A. squamosa* para *Sitophilus oryzae*(Linnaeus, 1763) (Coleoptera: Curculionidae) nas concentrações de 1 e 5% p/v causaram mortes de 100% em 39,6 e 14,5 minutos respectivamente. Percebe-se que as concentrações causaram 100% de mortalidade, diferenciando somente no tempo para que todos os insetos estivessem mortos. No presente trabalho, percebeu-se que ao utilizar concentrações acima de 1% do extrato de graviola, se etanólico ou hexânico nos pré-testes, houve mortalidade de 100% em período menor que 30 minutos, assemelhando-se assim com os resultados desses autores.

Pela menor eficiência do extrato aquoso, necessitando de uma grande quantidade de material vegetal para a obtenção da concentração letal, os próximos experimentos foram realizados apenas com os extratos orgânicos (hexânico e etanólico), pois esse experimento tinha a finalidade de selecionar o extrato mais promissor para o controle de *P. xylostella*.

4.1.2 Efeito da CL_{50} dos extratos da semente de *Annona muricata* na biologia de *Plutella xylostella*

Os extratos orgânicos de *A. muricata* e o tratamento químico afetaram a viabilidade larval de *P. xylostella* com percentuais em torno de 30%, diferindo estatisticamente no teste de Tukey ($F= 14,27$; $p<0,001$) da testemunha, que apresentou 80% de viabilidade mostrando que esses tratamentos foram mais expressivos na mortalidade das lagartas recém-eclodidas, tornando-as incapazes de passar para a fase de pupa.

A ação de extratos vegetais sobre a diminuição da viabilidade larval de *P. xylostella* também foi observada por alguns autores, como o trabalho de Silva et al. (2007) onde os extratos de diferentes espécies de *Croton*(Euphorbiaceae) apresentaram-se eficientes para o controle de *P. xylostella*, uma vez que, *Croton jacobinensis* (folha e caule), *Croton rhamnifolius* (folha e caule), *Croton sellowii* (folha e caule) e *Croton micans* (folha) nas maiores concentrações utilizadas ocasionaram mortalidades larvais de 95, 100, 100 e 95%, respectivamente. Como também, Jesus et al. (2011) relataram que as lagartas que se alimentaram de folhas de couve contendo o extrato de *A. indica* (nim) apresentaram alto

índice de mortalidade com poucas lagartas atingindo a fase de pupa, como também no extrato de *S. saponaria* (sabão de soldado) a viabilidade foi de apenas 40%. E no trabalho de Souza et al. (2011) avaliando extrato hexânico de *J. curcas* a 0,5% a viabilidade larval também foi afetada, pois apenas 11,0% das lagartas atingiram a fase de pupa, valor inferior ao registrado na testemunha com 80,0%.

Segundo Aguiar Menezes (2005), os extratos de nim atuam como inseticida, podem ser repelentes, ou ainda agem como antialimentar, inibindo o inseto a iniciar a alimentação, o que provavelmente ocorreu quando foi adicionado os extratos orgânicos de sementes de *A. muricata* e do produto químico às folhas de couve oferecidas às lagartas, causando uma alta mortalidade na fase inicial do inseto.

Para outros lepidópteros a ação de extratos vegetais na diminuição da viabilidade larval também foi observada, como no trabalho de Webber (2009) que estudou a ação de extratos etanólicos de barbatimão *Stryphnodendron coriaceum* (Benth.) (Fabaceae) sobre *S. frugiperda* que obteve valores da viabilidade larval de 0,0; 2,0 e 74,0% nas concentrações de 1,0; 2,0 e 4%, respectivamente.

A duração larval diferiu estatisticamente a 1% no teste de Tukey ($F=6,16$; $p<0,001$), como pode ser observado na Tabela 5, cujos tratamentos com os extratos etanólico e hexânico e o tratamento químico diferiram da testemunha, porém não diferiram entre si.

Tabela 5: Médias \pm DP da viabilidade e duração das fases larval e pupal e longevidade do adulto de *Plutella xylostella* tratadas com extratos orgânicos da semente de *Annona muricata*

	Viabilidade larval (%) \pm DP*	Duração larval (dias) \pm DP	Viabilidade pupal (%) \pm DP	Duração pupal (dias) \pm DP	Longevidade adulto (dias) \pm DP
Test.	81,6 \pm 09,45 a	7,1 \pm 0,45 a	83,8 \pm 12,86 ns	3,82 \pm 0,16 ns	3,95 \pm 0,51 a
Padrão	38,3 \pm 19,42 b	4,8 \pm 1,41 b	70,8 \pm 32,21 ns	3,18 \pm 1,20 ns	3,61 \pm 0,82 ab
Hexano	38,3 \pm 23,63 b	4,8 \pm 1,32 b	82,9 \pm 24,86 ns	3,75 \pm 0,35 ns	2,90 \pm 0,65 b
Etanol	31,6 \pm 21,44 b	5,0 \pm 1,78 b	58,3 \pm 37,88 ns	2,98 \pm 1,61 ns	2,85 \pm 0,49 b
CV%	29,42	24,52	31,3	28,73	9,89

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

*DP = Desvio Padrão

Ns = Não significativo

CV = coeficiente de variação

Fonte: Autor, 2013.

Essa duração larval mais curta se deu em detrimento a mortalidade das lagartas terem ocorrido logo no início do desenvolvimento, causando uma menor duração da fase, portanto, um resultado diferente do que geralmente é relatado nos estudos com plantas inseticidas, onde há uma tendência de prolongamento da fase larval (TORRES et al., 2001; TORRES et al., 2006; SILVA et al., 2007; SOUZA et al., 2011; JESUS et al., 2011) em razão da inibição alimentar ou deterrência alimentar dos extratos vegetais, além de outras ações (MORDUE, BLACKWELL & NISBET, 1993). Outra hipótese, relatada por Rodrigues et al. (2008) é que a redução dessa fase poderia ser uma forma utilizada pela praga para compensar as condições inadequadas da fonte de alimento, empurrando em menor tempo.

Segundo as discussões dos trabalhos de Torres et al. (2001; 2006), o prolongamento da fase larval de *P. xylostella*, adicionalmente à mortalidade da fase larval, mediante aplicação de extratos vegetais é muito importante em campo, pois aumentará o tempo de exposição da praga aos inimigos naturais, bem como o tempo médio de cada geração, reduzindo o crescimento populacional da praga. Porém, a ação inseticida apresentada pelos extratos orgânicos de *A. muricata*, como também se assemelhando ao tratamento químico, é mais eficiente, já que atua logo nas primeiras fases do inseto estudado, diminuindo seu ataque e contribuindo para o decréscimo das populações subsequentes (RODRIGUEZ & VENDRAMIM, 1996). No presente trabalho, o encurtamento da fase larval, se demonstra um fator favorável, uma vez que se percebe que as lagartas mudaram de fase sem uma quantidade suficiente de nutrientes, o que acarretou numa maior inviabilidade larval.

Roel e Vendramim (2000) testaram o efeito do extrato acetato de etila de *Trichila pallida* Swartz (Meliaceae) sobre *S. frugiperda* e concluíram que doses menores que não provocaram a mortalidade total, afetaram a sobrevivência e alongaram a fase larval do inseto. O que pode ser verificado na presente avaliação devido à baixa viabilidade apresentada em todos os tratamentos testados com a CL₅₀ que causou uma diminuição na duração larval.

A duração e viabilidade pupal não diferiram entre os tratamentos e a testemunha. Esse resultado está de acordo com diversas citações (ROEL et al., 2000; SILVA, 2007; MATOS et al., 2010), pois geralmente os maiores efeitos de ação das plantas inseticidas são verificados na fase larval, o que está de acordo com Torrecillas & Vendramim (2001). Estes autores, ao estudarem o efeito de extrato aquoso de ramos de *T. pallida* e de genótipos de milho sobre o desenvolvimento de *S. frugiperda*, observaram que os maiores efeitos observados na fase larval, se dão pelo fato de ser nessa fase que o inseto se alimenta, tornando-o mais exposto aos possíveis aleloquímicos presentes no genótipo resistente e na planta inseticida.

Quanto aduração pupal, não foram observadas diferenças significativas, durando, na média, três dias (Tabela 4). Sugere-se que o inseto, ao passar para o estágio de pupa, pode ser afetado pelo produto natural nas suas funções vitais, o que reflete no parâmetro mortalidade, porém não se notaram efeitos quanto ao tempo de desenvolvimento (CAMPOS & BOIÇA JUNIOR, 2012).

Na longevidade do adulto as médias foram menores para os tratamentos com os extratos etanólico e hexânico, 2,85 e 2,90, respectivamente, não diferindo do período de 3,61 dias do tratamento químico ($F=3,53$; $p=0,038$). A testemunha apresentou um período de longevidade de 3,95 dias não diferindo do tratamento químico.

Essa menor longevidade dos adultos nos tratamentos com os extratos etanólicos e hexânicos, pode estar relacionado ao menor consumo alimentar na fase larval comprometendo a melhor formação da pupa, pois pupas menores tem grande possibilidade de produzir adultos menores e mais fracos, com menor capacidade de competição para desenvolver as atividades vitais da espécie, como afirma Rodríguez & Vendramim (1997).

Neste trabalho não foi possível realizar a etapa de avaliação da fecundidade e fertilidade dos insetos, pois como poucos adultos foram formados nos tratamentos com baixa viabilidade larval, não foi possível formar os casais com repetições satisfatórias. Esta avaliação seria de grande importância, pois já é relatado na literatura que a deficiência nutricional e os distúrbios alimentares podem causar esterilidade dos insetos, podendo ocasionar a diminuição de gerações (ENGELMAN, 1998).

Torres et al. (2006), apresentaram resultados similares no controle de *P. xylostella* utilizando a concentração letal e subletal (CL_{50}) do extrato hexânico de amêndoas de *A. indica*, casca de *A. pyrifolium* e frutos de *M. azedarach*, onde as variáveis viabilidade larval e pupal, duração pupal e longevidade do adulto não diferiram entre os tratamentos. Somente a duração larval diferiu estatisticamente, onde houve um aumento da duração larval, que foi atribuído a um crescimento mais lento das lagartas devido a presença de inibidores de crescimento, deterrentes de alimentação ou substâncias tóxicas presentes nos extratos. Foi possível perceber que no experimento do trabalho citado acima e no presente experimento, o extrato afetou principalmente a fase larval, que entrou em contato com o produto, muito embora visivelmente haja diferença nos demais fatores.

4.1.3 Efeito dos extratos de *Annona muricata* na fase embrionária de *Plutella xylostella*

O experimento se mostrou diferente significativamente a 1% de probabilidade para o teste de Tukey ($F=8,77$; $p<0,001$). Somente o tratamento Etanol CL₉₉ diferir estatisticamente da testemunha, com menores valores na viabilidade dos ovos (Tabela 6).

Tabela 6: Viabilidade (%) \pm DP dos ovos de *Plutella xylostella* tratados com extratos orgânicos da semente de *Annona muricata*

Tratamentos	% Lagartas eclodidas \pm DP*
Testemunha	98,4 \pm 1,93 a
Padrão	95,4 \pm 9,01 a
Hexano CL ₅₀ ***	80,5 \pm 16,5 ab
Hexano CL ₉₉ ***	65,5 \pm 5,86 ab
Etanol CL ₅₀	82,1 \pm 10,6 ab
Etanol CL ₉₉	58,4 \pm 12,5 b
CV%**	13,11

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

***CL₅₀ e CL₉₉ = concentração letal que mata 50% e 99% dos indivíduos

Fonte: Autor, 2013.

O efeito de extratos vegetais na fase embrionária de lepidópteros é pouco conhecido, isso devido ao baixo ou nenhum efeito desses extratos sobre os ovos. Essa ineficiência dos extratos pode estar relacionada ao fato dos ovos possuírem uma camada lipídica ou cerosa na parte interna do córion, que reteria as substâncias tóxicas dos extratos. Logo, a ação ovicida dos extratos teria sua ação interferida pela forma e composição dos ovos dos insetos (SMITH & SALKELD, 1966; SCHMUTTERER, 1990).

Os efeitos de extratos de plantas na sobrevivência da fase embrionária de lepidópteros também são pouco conhecidos, em especial a ação ovicida dos compostos bioativos (TRINDADE et al., 2000). Machado; Silva; Oliveira (2007) destacaram que o efeito ovicida pode variar de acordo com a espécie do inseto e com as características das substâncias utilizadas. Porém, este mesmo autor menciona que plantas com atividade inseticida ocasionam baixo ou nenhum efeito sobre os ovos. Tal fato pode ser verificado no experimento realizado com os diferentes extratos aquosos de a 10% p/v de Erva de Santa Maria, *Chenopodium*

ambrosioides (Linnaeus) (Amaranthaceae), Eucalipto Cheiroso, *Corymbia citriodora* (Hill & Johnson) (Mrytaceae), Crisântemo, *Chrysanthemum leucanthemum* (Linnaeus) (Asteraceae) e *A. indica* (Nim) sobre a porcentagem de lagartas eclodidas de *S. frugiperda*, ou seja, não apresentaram ação ovicida (MAZZONETTO et al., 2013).

Porém, no presente trabalho houve uma inviabilidade dos ovos tratados com os extratos, mostrando assim que a ação ovicida depende do extrato, da concentração e das características dos ovos do inseto estudado, onde, nesse caso, percebe-se que os ovos da traça-das-crucíferas possuem características que favorecem a ação de produtos no embrião.

Torres et al. (2006) obtiveram dados semelhantes na avaliação da fase embrionária de *P. xylostella* quando os ovos foram submetidos a três extratos de plantas nas concentrações letal e subletal. Nesse experimento, a mortalidade da fase embrionária pelos extratos foi correlacionada com as concentrações dos mesmos, mostrando assim, que a ação ovicida aumenta à medida que se aumenta a concentração do extrato. Percebe-se que além do extrato, a concentração também influencia no embrião, onde no presente trabalho, a concentração letal do extrato etanólico foi mais eficiente do que a concentração subletal (CL₅₀).

Ainda segundo Torres et al. (2006), observações realizadas através de microscopia, verificaram microporos de 0,8 µm, que poderiam explicar a ação ovicida dos extratos, além da textura rugosa do córion que pode ser favorável para a fixação dos extratos. Portanto, no presente trabalho, um dos fatores que influenciaram na eficiência dos extratos foi a característica dos ovos da traça-das-crucíferas mostradas por este estudo.

Kumar (2009) observou que lagartas de *S. frugiperda* alimentadas com extrato de *A. squamosa* ovipositaram um maior número de ovos inviáveis ao completar o ciclo biológico. Esse trabalho mostra que além dos extratos afetarem a fase embrionária quando os ovos são tratados, existe também a possibilidade da fase embrionária ser afetada pelo maior número de ovos inviáveis colocados pelos adultos que foram submetidos a alimentos tratados quando lagartas. Essa avaliação não foi possível devido à alta inviabilidade larval e pupal, além de números inadequados de casais para esse experimento, problemas de delineamento experimental.

A ação ovicida para *P. xylostella* já foi relatada para inseticidas químicos, como no trabalho de Mohamoudvand; Garjan; Abbsipour (2011), que avaliou diferentes inseticidas para determinar o efeito ovicida sobre a *P. xylostella*, obtendo diferentes médias de inviabilidade para os diferentes produtos, podendo chegar a 100% para Spinosad e Pyridalyl.

Porém, essas médias variavam em função da concentração utilizada. Portanto, embora os produtos químicos tenham obtido uma mortalidade embrionária de 100%, essa média só foi obtida com concentrações maiores, acima da recomendada pelos produtos, pois geralmente, os produtos químicos são recomendados para a fase larval do inseto. Isto está de acordo com o resultado do produto químico utilizado nesse estudo, onde se obteve 95,4 % de ovos viáveis, pois foi utilizada a dose recomendada pelo fabricante, valendo lembrar, que foi utilizada 1/3 da concentração recomendada do produto. Provavelmente, o aumento da concentração dos extratos, acarretaria num aumento da inviabilidade de ovos.

Biermann et al. (2009) avaliaram extratos vegetais de várias espécies na concentração de 10% e produtos comerciais a base de nim a 1 e 5% sobre ovos de *Ascia monuste orseis* (Lepidoptera: Pieridae) obtendo inviabilidade larval de até 100% para o pó-de-fumo e 94% para os produtos comerciais. Embora, as inviabilidades dos ovos tenham sido maiores que os resultados obtidos no presente trabalho, as concentrações utilizadas também ultrapassam em muito, as concentrações usadas com o extrato da semente de graviola, mostrando assim, que, provavelmente, poderia atingir 100% de inviabilidade dos ovos caso aumenta-se sua concentração, sem necessariamente, ser uma concentração tão elevada como a utilizada.

Para estudos com ação ovicida sem ser com Lepidoptera também já é conhecido como no trabalho de Vasconcelo, Godim Júnior & Barros (2006), os quais avaliaram extratos aquosos de folha e semente de duas espécies vegetais sobre ovos de mosca branca *Bemisia tabaci* (Genn., 1889) biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae). Nesse experimento, a parte da planta utilizada influenciou na inviabilidade dos ovos. Enquanto que para *Leucaena leucocephala* (Lam.) (De Wit.) (Mimosidae) a melhor parte foi a semente com 60% de ovos inviáveis, e 10% quando se utilizou as folhas. Já para a *Sterculia foetida* L. (Sterculiaceae) a melhor parte vegetal foi a folha, com uma inviabilidade de ovos de 41% e apenas 8% quando utilizado as sementes. Ou seja, além da parte vegetal utilizada, a época de coleta e a forma de extração influenciam no efeito ovicida e inseticida do extrato vegetal.

Gonçales (2010), ao avaliar a ação ovicida de extratos aquosos e etanólicos de folhas e ramos de nim e cinamomo sobre *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Aleyrodidae), mostrou que apenas o extrato etanólico de cinamomo diferiu da testemunha com uma inviabilidade de ovos de 50%. Já a mortalidade de ninfas não diferiu em nenhum tratamento. Mostrando, assim como nesse experimento, que o extrato orgânico, consegue extrair de forma mais ampla, os compostos com ação ovicida.

4.1.4 Teste de não preferência para oviposição de *Plutella xylostella*

Foram realizados testes separados para o extrato etanólico e o hexânico, devido ao tamanho das gaiolas. O extrato etanólico diferiu a 1% de probabilidade no teste de Tukey, ($F=9,38$; $p<0,001$) eo hexânico a 5% ($F=3,43$; $p=0,032$). Nota-se que as porções das folhas de couve tratadas com os extratos apresentaram menores quantidades de ovos, mostrando assim, que os extratos, interferem na escolha de oviposição da traça-das-crucíferas, e que o aumento da concentração dos extratos proporcionou menores quantidades de ovos (Tabela 7).

Tabela 7: Média \pm DP de ovos de *Plutella xylostella* depositados em folhas de couve tratadas com extrato orgânico da semente de *Annona muricata*, da testemunha e do tratamento padrão.

Tratamento	Etanol	Hexano
	Nº ovos \pm DP*	Nº ovos \pm DP
Testemunha	23,0 \pm 12,5 a	21,8 \pm 15,1 a
Padrão	15,7 \pm 5,46 a	19,7 \pm 14,3 a
CL ₅₀ ***	21,0 \pm 7,93 a	11,0 \pm 9,83 ab
CL ₉₉ ***	2,28 \pm 3,09 b	3,71 \pm 6,1 b
CV%**	28,89	48,57

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

***CL₅₀ e CL₉₉ = concentração letal que mata 50% e 99% dos indivíduos

Fonte: Autor, 2013.

Torres et al. (2006), obtiveram resultados semelhantes com o número de ovos colocados por *P. xylostella* em folhas de couve tratadas com *A. pyrifolium*, *M. azedarach* e *A. indica*, onde a principal diferença entre os tratamentos está relacionada a concentração utilizada no controle (Letal e Subletal), relatando que tais resultados podem estar ligados com a ação repelente dos compostos ou pela irritabilidade causada nas fêmeas em contato com a superfícies tratadas. O mesmo pode ser observado com a concentração letal do presente trabalho, que tiveram uma média de ovos menores que 5.

Outro trabalho que mostra a deterrência de oviposição de *P. xylostella* quando as folhas foram tratadas com extratos é o de Dequech et al. (2009), ao avaliar a oviposição de *P.*

xylostella, com extratos de pó-de-fumo e cinamomo a 10% obtiveram uma deterrência de pelo menos 50% na oviposição das folhas tratadas em relação à testemunha. Já Charleston et al. (2005), avaliaram extrato de cinamomo e nim sobre a escolha de oviposição de *P. xylostella* mostrando 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 triquila sobre a preferencia 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.

Neiri et al. (2006), mostraram que o nim possui efeito de deterrência de oviposição sobre a mosca branca, 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%. Esses experimentos mostram que além de efeito inseticida, os extratos vegetais também podem ser viáveis como repelente de oviposição, fato comprovado no presente trabalho.

Medeiros;Boiça Junior;Torres (2005) avaliaram extratos de frutos de *S.saponaria* e de *E.contortisilliquum* e folhas de *Tradescantia pallida* (Commelinaceae) na concentração de 10% na repelência de oviposição da *P. xylostella*, obtendo repelência de oviposição de até 100%. Valores próximos podem ser observados com o uso da concentração letal do extrato etanólico da semente de graviola, em concentrações bem menores, que obteve repelência de oviposição de quase 100% para as concentrações letais de ambos os extratos, o aumento dessa concentração pode ocasionar uma deterrência de 100%.

Outro exemplo de efeito de repelência de oviposição é o experimento realizado por Jesus et al. (2011), observaram o efeito de quatro plantas inseticidas (nim, sabão de soldado, faveira e barbatimão) a 10% na oviposição de *P. xylostella*, onde a média total de ovos após 4 dias de análise foram respectivamente de 280,00; 313,33; 231,16 e 252,50, todas diferindo da testemunha, que teve uma média de 556,83, porém, sem diferirem entre si.

4.1.5 Efeito residual dos extratos de *Annona muricata* sobre *Plutella xylostella*

O experimento de persistência dos extratos orgânicos da semente de graviola diferiu estatisticamente na análise de variância, para os fatores tempo, concentração e tipo de extrato

a 1% de probabilidade ($p < 0,001$). Somente a interação tempo x concentração diferiu estatisticamente a 5% de probabilidade ($F=4,42$; $p=0,018$) como mostrado na Tabela 8. Percebe-se que, separadamente, o fator Tempo apresenta maior mortalidade com zero dias, diminuindo com o passar dos dias, a concentração letal ocasionou uma maior mortalidade em relação a subletal e que o extrato etanólico foi mais eficiente em relação ao Hexânico (Tabela 9).

A Tabela 8 mostra a interação do tempo com os extratos nas concentrações letais e subletais. É possível perceber que a mortalidade causada pela concentração letal apresentou médias que não diferiram entre si, mostrando assim que a concentração letal apresentou persistência até quatro dias após a aplicação. Já a concentração subletal, diferiu ao longo do tempo, com redução do efeito inseticida, mostrando assim que a concentração subletal apresentou uma persistência menor que a concentração letal. As duas concentrações não diferiram com zero dia, porém diferiram com dois e quatro dias.

Tabela 8: Média da mortalidade larval de *Plutella xylostella* para os fatores tempo de aplicação, concentração e ação do extrato da semente de *Annona muricata*

	Mortalidade ± DP (%) para o fator tempo	Mortalidade ± DP (%) para o fator concentração	Mortalidade ± DP* (%) para o fator extrato
0 dias	55,00 ± 19,3 a	CL₅₀ 38,33 ± 23,9 a	Hexano 35,83 ± 21,1 a
2 dias	48,12 ± 22,3 ab	CL₉₉ 56,25 ± 16,3b	Etanol 58,75 ± 17,1 b
4 dias	38,75 ± 23,1 b		
CV%	24,46	24,46	24,46

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

*DP = Desvio Padrao

CV = coeficiente de variação

Fonte: Autor, 2013.

Tabela 9: Média da mortalidade larval (%) de *Plutella xylostella* para a interação Tempo x Concentração da aplicação do extrato da semente de *Annona muricata*

Tempo	CL₅₀± DP	CL₉₉± DP
0 dias	53,75 ± 15,8 aA	56,25 ± 13,8 aA
2 dias	38,75 ± 23,2abB	57,50 ± 7,07 aA
4 dias	22,50 ± 24,1 bB	55,00 ± 20,6 aA
CV%		24,46

Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey

*DP = Desvio Padrao

CV = coeficiente de variação

Fonte: Autor, 2013.

A baixa persistência dos extratos vegetais apresenta-se como vantagem e ao mesmo tempo limitação do seu uso como planta inseticida. Devido às características de baixo impacto ambiental e de baixa toxicidade aos organismos benéficos e aos mamíferos, formas alternativas de prolongar o efeito dos princípios ativos são almejadas (FERREIRA, 2011).

Carvalho & Ferreira (1990) avaliaram a persistência de extrato de folhas e frutos de *M. azadarach* sobre adultos de *Diabrotica speciosa* Germar (Coleoptera: Chrysomelidae) em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) de 0 a 8 dias após a aplicação. Os resultados mostraram que houve persistência dos extratos mesmo com oito dias após a aplicação, com uma percentagem de área consumida menor que 1% para os tratamentos com 0 dias após a aplicação e de 22 e 36% para os extratos de folhas e frutos respectivamente oito dias após a aplicação em relação a testemunha (100%). Embora se justifique a utilização de extratos vegetais no controle de pragas devido ao fato de não permanecerem muito tempo no ambiente, sua permanência também não é tão reduzido, proporcionando assim um maior intervalo de tempo entre as aplicações do que o esperado. Os resultados se assemelham com os obtidos no presente trabalho uma vez que houve uma persistência mínima de quatro dias, e existe uma diminuição da eficácia com o passar dos dias.

Costa et al. (2010) avaliaram diferentes concentrações de nim (0,2, 1,5 e 5%) misturados com melão, sobre *S. frugiperda* com 1, 4, 8 e 12 dias após a aplicação. Os resultados mostraram que as três concentrações diferiram da testemunha nos quatro dias avaliados, sendo que no primeiro dia a mortalidade foi de 100%, aumentando com o tempo para 40, 54 e 82% (nas respectivas concentrações) no 12º dia após a aplicação. Mostrando

que assim como no presente trabalho, o fator tempo e concentração influenciaram estatisticamente nos resultados.

Dill; Pereira; Costa (2012) observaram o efeito residual de *A.coriceaei sobre A.aegypti* nas concentrações de 50 e 100ppm até 48 dias, sendo avaliadas com 1, 8, 15, 30 e 48 dias após a aplicação do extrato nos recipientes. Os resultados apontaram que na avaliação feita com 1 dia após a aplicação a mortalidade no extrato a 100ppm foi de 100% e a do 50ppm foi de aproximadamente 90%, não havendo diferença entre as concentrações entre a primeira e a segunda avaliação (8 dias). Notou-se também que houve uma redução da eficiência dos extratos gradativamente, sendo que com 30 dias a mortalidade foi de 53% para o extrato a 100ppm e 35% para o extrato a 50ppm. Finalizando o experimento com 48 dias, não houve diferença dos extratos com a testemunha. Percebe-se que a persistência do extrato variou em função do tempo e da concentração, da mesma forma que no presente trabalho.

Poucos estudos com extratos vegetais abordam o período de atividade inseticida desses produtos, não se conhecendo sua persistência no ambiente. A utilização de produtos vegetais oferece vantagens em relação aos impactos ambientais e à segurança alimentar, pois não deixam resíduos nos alimentos e são facilmente degradados. Entretanto, dada a menor persistência, tornam-se pouco eficientes como pesticida, devido à necessidade de repetidas aplicações. De acordo com SCHMUTTERER (1990), os produtos naturais possuem limitada persistência no ambiente, sendo que temperatura, umidade, raios ultravioleta, pH, chuva, entre outros, influenciam negativamente na sua atividade.

4.2 Experimentos com formulações dos extratos orgânicos da semente de *Annona muricata*

4.2.1 Emulsão

Sabe-se que o tensoativo Span 60 ou monoesterato de sorbitol, é um surfactante não iônico, utilizado na solubilização de óleos em água e o Tween 80 ou polissorbato 80, é também um surfactante não iônico. Ambos são bastante utilizados como estabilizantes em produtos alimentícios, farmacêuticos e cosméticos, com grande possibilidade, portanto, de

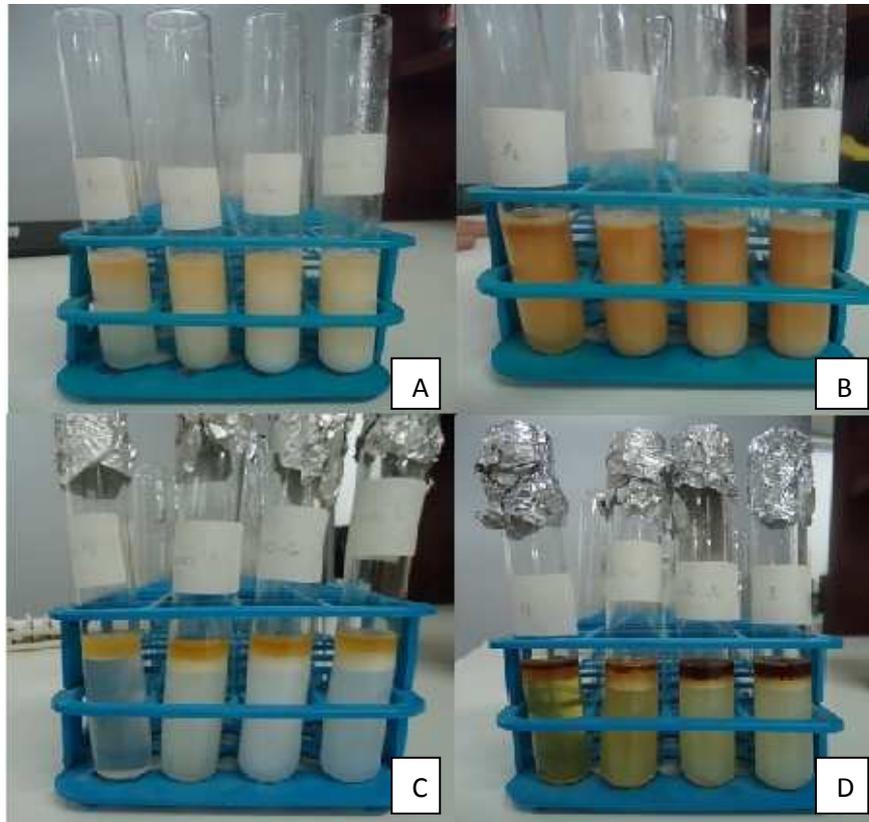
causarem pouca influência nos testes de toxicidade frente aos testes biológicos (SENHORINI, 2010).

A quantidade de cada extrato adicionado ao Span 60 e ao Tween 80 foi de 10 g, e, portanto, percebeu-se que nenhuma das emulsões se tornou estável por mais de 30 minutos, havendo a separação das fases com o passar do tempo (Figura 5). Desta forma, independente do extrato e da quantidade variável dos tensoativos houve sempre a separação das fases em menos de meia hora.

Essa instabilidade observada no presente trabalho foi totalmente diferente do que Senhorini (2010) encontrou no preparo das emulsões do óleo de *Carapa guianensis* Aubl. (Meliaceae) seguindo o mesmo protocolo, pois das quatro emulsões testadas (Tabela 1), apenas a emulsão 4 (a que não utilizou Span, e usou 5g de Tween) não estabilizou, separou as fases e se mostrou com grumos (aspecto de coalhada). Uma suposição do protocolo não ter se adequado ao estudo, é que Senhorini (2010) partiu do óleo puro de andiroba e no presente trabalho utilizaram-se frações oriundas de extração com solventes de polaridades diferentes, hexano (apolar) e etanol (polaridade intermediária), partindo, então, de extratos com característica oleosa, mas não óleo puro.

Essa característica de instabilidade das fases inviabiliza a utilização desse tipo de formulação, devido ao curto espaço de tempo, não dando tempo para sua aplicação pelo agricultor no campo.

Figura5: Separação das fases aos 15 minutos da emulsão dos extratos orgânicos da semente de *Annona muricata*. (A) Emulsão hexânica 0 min. (B) Emulsão etanólica 0 min. (C) Emulsão hexânica 15 min. (D) Emulsão etanólica 15 min.



Fonte: Autor, 2013.

O grande interesse neste tipo de formulação na área farmacêutica consiste em tornar alguns óleos minerais e vegetais, com propriedades terapêuticas e nutritivas, mais palatáveis, aumentando a aceitação pelo paciente (GENNARO, 2004). Quando os óleos estão na forma de pequenas gotículas possuem uma absorção aumentada, portanto, as emulsões oleosas são amplamente utilizadas na área farmacêutica e cosmética, mas, até o momento, não há muitos estudos que empregam esse tipo de tecnologia no combate as pragas (SENHORINI, 2010).

Trabalhos com a utilização de emulsões de nim já foram realizados, como no de Araújo Junior et al. (2009), os quais avaliaram a emulsão de Natuneem a 1 e 2% , com resultados de 81 e 90 % de mortalidade do pulgão *Lipaphis erysimi* (Kalt., 1843) (Hemiptera: Aphididae).

A segunda emulsão, onde foi utilizada somente a Goma Arábica, se apresentou estável por um período superior, e por tal motivo se mostrou viável sua preparação. Porém, a partir da emulsão conseguida, quando foi realizada a diluição para as concentrações adequadas (letal e

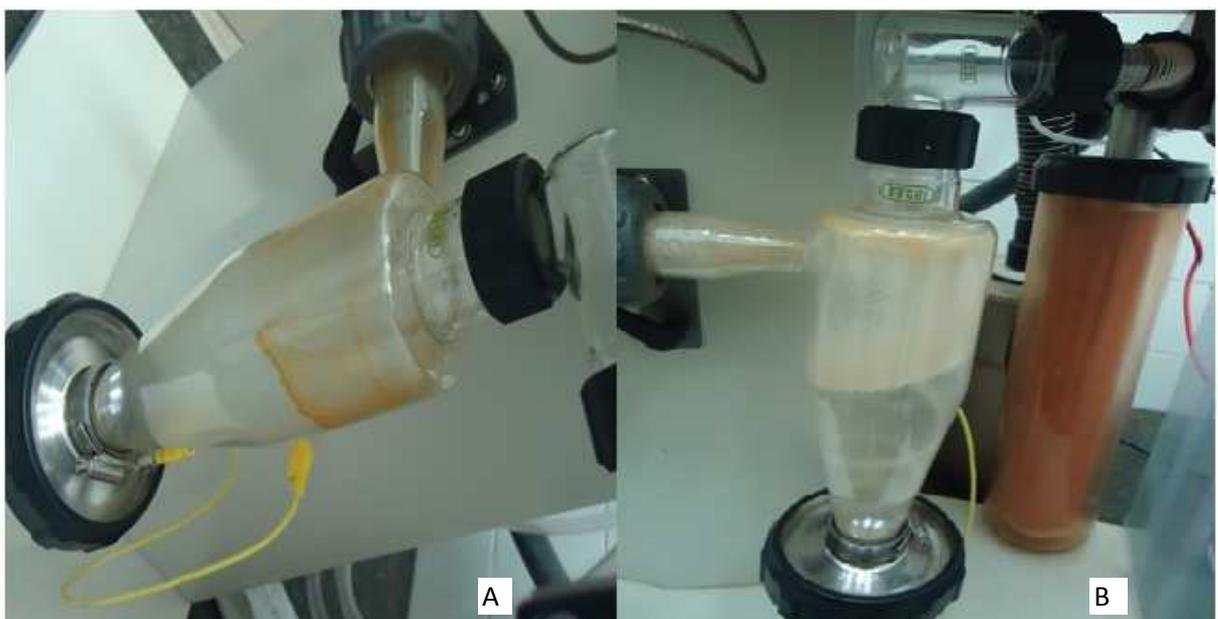
subletal), não se conseguiu estabilidade, e, portanto, não haveria diferença em realizar a diluição do extrato orgânico no momento da aplicação e a emulsão instável, necessitando assim, de mais estudos e diferentes técnicas para a obtenção de uma emulsão estável nas concentrações desejadas.

4.2.2 Microencapsulamento

Ao se tentar realizar o microencapsulamento do extrato orgânico adicionado com água milli-q + etanol + aerosil, o mesmo se mostrou ineficaz, já que não formou o pó (as microcápsulas contendo o ingrediente ativo), e continuou na forma líquida.

Na segunda tentativa, onde foi substituído o aerosil por goma arábica, houve a formação do pó, mostrando assim, que essa seria a forma viável de se realizar a microencapsulação do extrato orgânico etanólico de sementes de graviola (Figura 6A e 6B). A microencapsulação do extrato orgânico hexânico não ocorreu de forma correta e ela continuou na forma líquida nas duas tentativas. Acredita-se que esse extrato possua óleos essenciais, que dificultam seu microencapsulamento.

Figura 6: Microencapsulação do extrato etanólico da semente de *Annona muricata* com aerosil que permaneceu no estado líquido do extrato etanólico (A). Microencapsulação com goma arábica, que formou o pó do extrato etanólico (B).



4.2.2.1 Determinação da CL_{50} e CL_{99} do extrato etanólico da semente de *Annona muricata* microencapsulado para *Plutella xylostella*

A análise desse experimento se ajustou com o modelo de Probit com o valor de $p = 0,4841$. Esse resultado pode ser explicado pela função: $3,4306 (\pm 0,3916) + 2,1599 (\pm 0,2621)$ LOG DOSE. Pela análise de Probit, a concentração do limite inferior foi de 0,00216%, podendo variar entre 0,0008512 e 0,0039. A CL_{50} e o Limite Superior também foram encontrados e são, respectivamente, 0,0258% (variando entre 0,019 e 0,0329) e 0,30816% (variando entre 0,1944 e 0,6291) (Tabela 10).

Tabela 10: Análise de Probit do extrato etanólico da semente de *Annona muricata* microencapsulado

Extrato	GL	n ¹	$CL_{50}(IC_{95\%})^3$ (mL.mL ⁻¹)	$CL_{99}(IC_{95\%})^3$ (mL.mL ⁻¹)	X ²	p ⁴
Microencapsulado	4	50	0,025 (0,02 - 0,03)	0,3 (0,2 - 0,6)	17,5	0,48

* EP: Erro-padrão; CL: Concentração letal; X²: Qui-quadrado; DAA: Dias após aplicação.

¹ GL: Graus de liberdade.

² n: Número de insetos utilizados no teste.

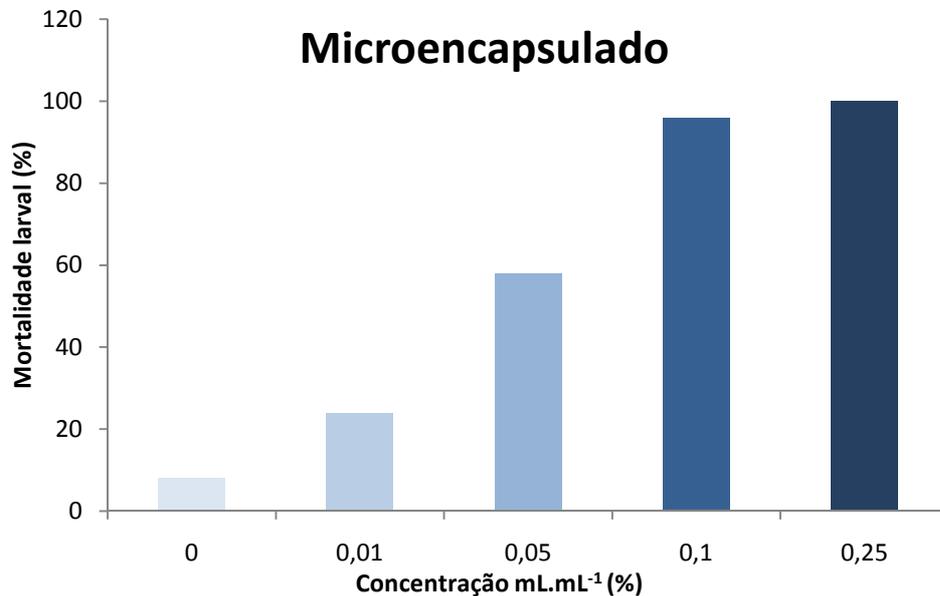
³ IC: Intervalo de confiança.

⁴P: Probabilidade > 0,05

Fonte: Autor, 2013.

Na Figura 7, é possível observar o aumento da taxa de mortalidade larval, à medida que há um aumento da concentração do microencapsulado.

Figura7: Mortalidade Larval de *Plutella xylostella* (%) em função da concentração do extrato etanólico da semente de *Annona muricata* microencapsulado



Fonte: Autor, 2013.

Quando se sobrepõe o intervalo de confiança dado pela análise de Probitda CL₅₀ e o Limite Superior do extrato etanólico com o do microencapsulado, pode-se perceber que os resultados se sobrepõem, mostrando assim que não diferiram estatisticamente entre si, como mostra a Tabela 11.

Tabela 11: Comparação do limite inferior, superior e subletal do extrato etanólico da semente de *Annona muricata* microencapsulado

TRATAMENTO	LI (%) mL.mL	CL ₅₀ (%) mL.mL	LS (%) mL.mL
Extrato etanólico	0,0021 ns	0,0133 ns	0,0843 ns
Microencapsulado	0,0021 ns	0,0258 ns	0,3081 ns

LI, CL₅₀, LS – Concentração para matar 10, 50 e 99% da população.

Ns – não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (p>0,005)

Fonte: Autor, 2013.

Os dados observados se assemelham com as concentrações letal e subletal encontrados com a aplicação do extrato etanólico da graviola em tratamento realizado anteriormente,

mostrando que ao microencapsular o extrato a ação inseticida não foi alterada. Esse mesmo comportamento foi observado por Marcomini (2009) ao avaliar nanoformulações de nim sobre *S. frugiperda*, o qual constatou mortalidades de 40 a 46% nas concentrações de 0,5 e 0,75g, assim como redução de peso das lagartas. Mostrando assim que a microencapsulação mantém o princípio ativo do extrato e o aumento da concentração do microencapsulado acarreta em maiores mortalidades, como visto no presente trabalho. E por Silva (2007), ao avaliar nanocápsulas e emulsão de nim a 1% sobre *S. frugiperda* constatou que houve mortalidade de 90 a 100% das lagartas em tempo inferior a seis dias. Embora as espécies analisadas sejam diferentes, percebe-se que o microencapsulado do extrato etanólico de graviola é mais eficiente no controle da traça-das-crucíferas do que o nim contra a lagarta-do-cartucho, por que a concentração é bem mais baixa.

Kanis et al. (2012) relataram que microencapsulados de *Copaiifera* sp. (Leguminosae) apresentaram redução de atividade no primeiro dia, porém a ação inseticida permaneceu acima dos 40% por 17 dias. A redução da atividade no primeiro dia pode ser explicada pelo fato do microencapsulado liberar o princípio ativo lentamente, diferentemente do extrato puro, onde o princípio ativo é liberado todo de uma só vez. No presente trabalho, a mortalidade das lagartas tratadas com o microcoencapsulado ocorreu distribuída no decorrer da avaliação, confirmando assim o princípio de liberação lenta do extrato.

4.2.2.2 Efeito da CL₅₀ e CL₉₉ do extrato etanólico da semente de *Annona muricata* microencapsulado na biologia de *Plutella xylostella*

Na presente avaliação, a duração (F=8,52; p<0,001) e viabilidade larval (F=20,72; p<0,001) diferiram significativamente a 1% de probabilidade no teste de Tukey, os demais parâmetros (viabilidade e duração pupal e longevidade dos adultos) não diferiram entre si, obtendo resultado semelhante ao encontrado quando utilizado a CL₅₀ do extrato etanólico (Tabela 12).

Tabela 12: Médias \pm DP da viabilidade e duração das fases larval e pupal e longevidade dos adultos de *Plutella xylostella* tratadas com extrato etanólico da semente de *Annona muricata* emicroencapsulado.

	Viabilidade larval (%) \pm DP	Duração larval (dias) \pm DP	Viabilidade pupal (%) \pm DP	Duração pupal (dias) \pm DP	Longevidade adulto (dias) \pm DP
Test.	83 \pm 14,1 a	7,7 \pm 0,66 a	83,94 \pm 16,1 ns	3,82 \pm 0,19 ns	3,21 \pm 0,39 ns
Padrão	35 \pm 16,5 b	5,8 \pm 1,31 b	82,91 \pm 26,7 ns	3,82 \pm 0,62 ns	3,07 \pm 0,73 ns
Micro.	38 \pm 23,9 b	5,8 \pm 1,46 b	79,16 \pm 27,7 ns	3,64 \pm 0,73 ns	2,76 \pm 1,00 ns
CV%	21,03	18,47	21,19	12,94	23,97

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

Ns= não significativo

*DP = Desvio Padrao

CV% = Coeficiente de variação

Fonte: Autor, 2013.

A viabilidade larval, com valores inferiores a 40% para o microencapsulado e o extrato etanólico (Tabela 12), foi mantido com o uso da formulação, mostrando que o microencapsulado não foi alterado em relação a sua capacidade de afetar o desenvolvimento de *P. xylostella*. Resultado semelhante foi encontrado por Ferreira; Vendramim; Forim (2012) de duas formulações NC40 aquoso e NC40 pó, de 22 nanoformulações de nim testadas contra *T. absoluta*, afetaram o desenvolvimento do inseto.

Esse comportamento de eficiência da formulação microencapsulada não foi observada por Marcomini (2009), ao testar seis nanoformulações do nim contra *S. frugiperda*, onde nenhuma afetou a viabilidade larval e pupal. Porém, com relação à duração larval, o autor encontrou um maior alongamento da fase larval com a dieta contendo as nanoformulações. Já no presente trabalho, o extrato microencapsulado de *A. muricata* não alongou a duração larval, com uma média de 5,8 dias, diferindo estatisticamente da testemunha com 7,7 dias (Tabela 12), porém causou uma diminuição na alimentação das lagartas (Figura 8).

Figura 8: Comparação alimentar de *Plutella xylostella* entre a testemunha (A) e a folha tratada (B) com a concentração subletal do extrato etanólico da semente de *Annona muricata* microencapsulado



Fonte: Autor, 2013.

Carvalho (2012) avaliou a eficácia de 19 nanoformulações a base de derivados de nim no controle de ninfas de *B. tabaci* biótipo B por meio da ação sistêmica do ingrediente ativo liberado. Duas nanoformulações foram selecionadas (NC L5-2 e NC L6-1) por causarem mortalidade semelhante ao do óleo comercial de nim. A ação sistêmica do óleo e das nanoformulações depende das condições ambientais em que são aplicadas e que as nanoformulações são bioativas por 30 dias após a aplicação.

4.2.2.3 Efeito residual do extrato microencapsulado de *Annona muricata* sobre *Plutella xylostella*

A análise fatorial do teste de efeito residual da concentração subletal do microencapsulado não diferiu para o fator tempo, e nem para o fator produto, mostrando assim, que embora o microencapsulado tenha obtido médias de mortalidades menores que o extrato etanólico puro, ele não difere estatisticamente do extrato ($p > 0.05$). Isso mostra que embora ocorram perdas da viabilidade durante o processo de microencapsulamento, essa perda não foi significativa, e é um processo viável para sua aplicação (Tabela 13).

Tabela 13: Mortalidade larval \pm DP (%) de *Plutella xylostella* em função dos dias após aplicação da CL₅₀ do extrato etanólico da semente de *Annona muricata* e seu microencapsulado

Tempo (dias)	Mortalidade	Produto	
0	42,5 ns	Extrato	41,16 ns
2	38,75 ns	Microencapsulado	38,83 ns
4	38,75 ns		
CV%			29,26

CV%= Coeficiente de variação

Ns=não significativo

Fonte: Autor, 2013.

A Tabela 14 confirma os resultados anteriores, uma vez que a interação tempo x produto não diferiu estatisticamente (pelo teste F $p > 0,05$). Por isso, é possível confirmar que além do microencapsulado não diferir da testemunha, ele possui persistência de pelo menos 4 dias, começando baixa, porém constante.

Quando se analisa teste de Tukey dos resultados obtidos pelo microencapsulado com a testemunha, percebe-se que o microencapsulado aplicado nos dias 0, 2 e 4 diferiram da testemunha a 5% de probabilidade, sem diferirem entre si ($F=5,53$; $p=0,0128$), mostrando assim, a persistência do microencapsulado de pelo menos quatro dias sobre a planta (Tabela 15).

Tabela 14: Interação fator Tempo x Produtos

Tempo (dias)	Extrato	Microencapsulado
0	47,5 ns ns	37,5 ns ns
2	42,5 ns ns	35,0 ns ns
4	42,5 ns ns	35,0 ns ns
CV%		29,24

CV%= Coeficiente de variação

Ns= não significativo

Fonte: Autor, 2013.

Essa baixa persistência do extrato microencapsulado pode estar relacionada ao pouco tempo de avaliação do experimento, que foi realizado apenas com quatro dias após a

inoculação das lagartas, podendo ser um tempo insuficiente para o polímero ter a capacidade liberar lentamente o princípio ativo de *A. muricata*, ou houve uma degradação lenta do polímero liberando pouca quantidade do composto, como foi observado por Marcomini (2009) com o uso de nanoformulação de nim contra *S. frugiperda*. Baseada nesta hipótese, torna-se necessário estudos futuros com outro polímero para avaliar essa melhor eficiência de liberação e no aumento de dias avaliados.

Tabela 15: Mortalidade larval \pm DP (%) de *Plutella xylostella* em função dos dias após aplicação da CL_{50} do microencapsulado

Tratamento	Mortalidade larval \pm DP (%)
Testemunha	5,00 \pm 5,47 a
0 dias	37,5 \pm 20,49 b
2 dias	35,0 \pm 16,73 b
4 dias	35,0 \pm 15,16 b
CV%	24,61

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

CV%= Coeficiente de variação

DP= Desvio padra

Fonte: Autor, 2013.

A encapsulação do extrato de *A. muricata* dentro de membrana ou paredes poliméricas pode melhorar a eficiência, pois nota-se que embora os resultados do microencapsulado tenham sido menores, eles não diferiram, e pode ainda auxiliar numa maior persistência do produto na planta. A membrana ou a parede polimérica protege o ingrediente ativo contra diversas reações, pode controlar a taxa de liberação dos compostos e prevenir as perdas de compostos voláteis, aumentando a sua estabilidade no ambiente. Além disso, a microencapsulação pode converter extratos líquidos em pó, que pode facilitar na manipulação e preparo da calda de aplicação no campo (RIYAJAN; SAKDAPIPANICH, 2009).

5. CONCLUSÕES

A avaliação dos diferentes extratos mostrou que o extrato etanólico causa uma maior mortalidade na traça-das-crucíferas, afetando a biologia do inseto ao aumentar a duração larval e diminuir a viabilidade pupal, além de se apresentar de forma repelente para a oviposição e um efeito residual de pelo menos 4 dias.

O desenvolvimento de uma formulação só se apresentou viável com o uso da tecnologia de microencapsulação, com resultados semelhantes aos encontrados com o extrato etanólico.

REFERÊNCIAS

AFTABROUCHAD, C., DOELKER, E. Preparation methods for biodegradable microparticles loades with water-soluble drugs. **STP Pharma Science**, v. 2, p. 365-380. 1992.

AGUIAR MENEZES, E.L.M. **Inseticidas Botânicos: Seus Princípios Ativos, Modo de Ação e Uso Agrícola**. Seropédica/RJ: Embrapa Agrobiologia. 2005. 58 p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos 205).

AHMAD, I. Dosage mortality studies with *Bacillus thuringiensis* and Neem extract on diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). **Indonesian Journal of Plant Protection**, v. 5, n. 2, p. 67-71, 1999.

ALALI, F.Q.; LIU, X. & McLAUGHLIN, J.L. Annonaceous acetogenins: recent progress. **Journal of Natural Products**, v. 62, n. 3, p. 504-540, 1999.

ALMEIDA, M. F.; BARROS, R.; GODIM JUNIOR, M.C.G.; FREITAS, S. Biologia de *Ceraeochrysa claveri* Navás (Neuroptera: Chrysopidae) predando *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). **Ciência Rural**. v. 39, n. 2, p. 313-318, 2009.

ARAÚJO JUNIOR, J.M.; MARQUES, E.J.; OLIVEIRA, J.V. Potencial de Isolados de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* e do Óleo de Nim no Controle do Pulgão *Lipaphis erysimi* (Kalt.) (Hemiptera: Aphididae). **Neotropical Entomology**, v. 38, n. 4, p. 520-525, 2009.

ASCHER, K.R.S.; ELIYAHU, M.; NEMNY, N.E.; MEISNER, J. Neem seed kernel extract as an inhibitor of growth and fecundity in *Spodoptera littoralis*. In: SCHMUTTERER, H. & ASCHER, K.R.S. (Eds.). Natural pesticides from the neem tree (*Azadirachta indica* A. Juss) and other tropical plants. **Proceedings of the neem conference**, 2., 1983. p. 331-344. 1984

ASMANIZAR, A. D.; IDRIS, A. B. Evolution of *Jatropha curcas* and *Annona muricata* seed crude extracts against *Sitophilus zeamais* infesting stored rice. **Journal of Entomology**, v. 9 n.1, p. 13-22, 2012.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DO COMÉRCIO DE SEMENTES E MUDAS. **Dados Socioeconômicos da cadeia produtiva de hortaliças do Brasil**. 2013. Disponível em: http://www.abccsem.com.br/docs/direitos_reservados.pdf. Acesso em; 4 jul 2013.

BAJPAI, A.K. & GIRI, A. Swelling dynamics of a macromolecular hydrophilic network and evaluation of its potential for controlled release of agrochemicals. **Reactive and Functional Polymer**, v. 53, pp. 125-141. 2002

BANAAG, A.B.; HONDA, H.; SHONE, T. Effects of non-alkaloid extracts from tropical yam, *Dioscorea hispida* against the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae). **Applied Entomology and Zoology**, v. 33, n. 3, p. 369-373, 1998.

BANDEIRA, G.N. **Efeito de extratos vegetais e óleos essenciais no desenvolvimento de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae)**. Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Entomologia Agrícola. UFRPE – Entomologia Agrícola. Recife – PE, 2009.

BATTA, Y.A. Efficacy of endophytic and applied *Metarhizium anisopliae* (Metch.) Sorokin (Ascomycota: Hypocreales) against larvae of *Plutella xylostella* L. (Yponomeutidae: Lepidoptera) infesting *Brassica napus* plants. **Journal homepage Crop Protection**. 2013.

BERTELS, A. Entomologia Agrícola Sul-Brasileira. **Ministério da Agricultura** Serie Didática n. 16. Rio de Janeiro. 458p. 1956.

BIERMANN, A.C.S.; PONCIO, S.; ROSALINO, P.K.; RIBEIRO, L.P.; DEQUECH, S.T.B. Ação de extratos vegetais sobre posturas de *Ascia monuste orseis* (LEPIDOPTERA: PIERIDAE). **V Encontro Internacional de Produção Científica Cesumar**. Maringá, Paraná. 27 a 30 de Outubro, 2009.

BIOCONTROLE. *Plutella xylostella*. 2013. Disponível em: <http://www.biocontrole.com.br/?area=pragas&id=16>. Acesso em: 4 jul 2013.

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

BOIÇA JUNIOR, A.L.; JANINI, J.C.; SOUZA, B.H.S.; RODRIGUES, N.E.L. Efeito de cultivares de repolho e doses de extratos aquosos de nim na alimentação e biologia de *Plutella xylostella* (Linnaeus) (Lepidoptera: plutellidae). **Bioscience Journal**, v. 29, n. 1, 2013.

BORGES, L.R.; ASTOFI, V.; MOSSI, A.J.; CANSIAN, R.L. Determinação de Atividades Biológicas em Extratos de Carqueja (*Baccharis trimera* (Less). D.C.). **Anais do VII Congresso de Ecologia do Brasil**, 23 a 28 de Setembro de 2007, Caxambu – MG.

BRAGA, G.K. **Determinação das especificações do processo de spray drying na obtenção de micropartículas biodegradáveis para a liberação sustentada de princípios ativos com aplicação odontológica.** Ribeirão Preto, Dissertação apresentada para obtenção de Grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas pela Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. 2005

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.

BUKOVINSZKY, T., POTTING, R.P.J., CLOUGH, Y., VAN LENTEREN, J.C., VET, L.E.M.. **The role of pre- and post-alighting detection mechanisms in the responses to patch size by specialist herbivores.** *Oikosv.* 109, 435–446. 2005

CAMPOS, A.P.; BOIÇA JUNIOR, A.L. Lagartas de *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH) (Lepidoptera: Noctuidae) submetidas a diferentes concentrações de óleo de nim. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 11, n. 2, p. 137-144, 2012.

CAMPOS, L.C.A.; CASTELO BRANCO, M. & JUNQUEIRA, A.M.R. Suscetibilidade de três populações de traça-das-crucíferas a *Bacillus thuringiensis*. **Horticultura Brasileira**, v. 15, n. 1, p. 40-42, 1997.

CARVALHO, S. M.; FERREIRA, D. T. Santa-Bárbara contra a vaquinha. **Tome Ciência**. v.2, p. 66, 1990.

CARVALHO, S.S. **Avaliação do efeito sistêmico de nanoformulações a base de derivados de nim *Azadirachta indica* A. Juss) sobre *Bemisia tabaci* (Genn.) biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae) em tomateiro.** Piracicaba, 2012. 78f. Dissertação de Mestrado- Escola Superior Luiz de Queiroz, 2012.

CASTELO BRANCO, M. & GUIMARÃES, A.L. Controle da traça das crucíferas em repolho, 1989. **Horticultura Brasileira**, v. 8, n. 1, p. 24-25, 1990.

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

CASTELO BRANCO, M.; GATEHOUSE, A. G. Insecticide resistance in *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae) in the Federal District, Brazil. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v26, n.1 p. 75-79, 1997.

CASTELO BRANCO, M; VILLAS BOAS, G. L. **Traça-das-crucíferas *Plutella xylostella* –** Artrópodes de importância econômica. Comunicado Técnico da Embrapa Hortaliças INSS 1414-9850 Dezembro 1997.

CHARLESTON, D. S.; KFIR, R.; VET, L.E.; DICKE, M. 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.

CHARLESTON, D. S.;KFIR, R.; VET, L.E.; DICKE, M. Impact of botanical pesticides derived from *Melia azedarach* and *Azadirachta indica* on the biology of two parasitoid species of the diamondback moth. **Biological Control** 33, p. 131-142, 2005.

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

COSTA, M. A.; VIANA, P.F.; RIBEIRO, P.E.A.; NUARTE, P.D. Persistência de extrato aquoso de folhas de nim em mistura com melão para o controle de *Spodoptera frugiperda*, no milho. **XXVIII Congresso Nacional de Milho e Sorgo**. Associação Brasileira de Milho e Sorgo, 2010.

COX, C. “INERT INGREDIENTS IN PESTICIDES: WHO’S KEEPING SECRETS?” **Journal of Pesticide Reform**, v. 19, n. 3, 1999.

DEQUECH, S.T.B.; EGEWARTH, R.; SAUSEN, C.D.; STURZA, V.S.; RIBEIRO, L.P. Ação de extratos de plantas na oviposição e na mortalidade da traça-das-crucíferas. **Ciência Rural**, v.39, n.2, p.551-554, mar. 2009.

DICKSON, M. H.; SHELTON, A. M., EIGENBRODE, S. D., VAMOSY, M. L., MORA, M. Selection for resistance to diamondback moth (*Plutella xylostella*) in cabbage. **Hortscience**, v. 25, n. 12, p. 1643-1646, 1990.

DILL, E. M.; PEREIRA, M. J. B.; COSTA, M. S. Efeito residual do extrato de *Annona coriácea* sobre *Aedes aegypti*. **Arquivo do Instituto de Biologia**, v. 79, n. 4, p. 595-601, 2012.

ECOLE, C. C.; ANJOS, N. A.; FILHO, M.M.; PICANÇO, M.C.. Determinação do número de ínstares larvais em *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae). **Acta Scientiarum**, v. 21 p. 331-335, 1999.

ENGELMAN, F. Reproduction in insects. In. HUFFAKER, C.B.; GUTIERREZ, A.P. (Eds.). **Ecological Entomology**. P. 123-158, 1998.

FANG, X.; RIESER, M.J.; GU, Z.; ZHAO, G.; McLAUGHLIN, J.L. Annonaceous acetogenins: an updated review. **Phytochemical Analysis**, v. 4, p. 27-48, 1993.

FERREIRA, F.T.R.; VENDRAMIM, J.D.; FORIM, M.R. Bioatividade de nanoformulações de nim sobre a traça-do-tomateiro. **Ciência Rural**, v. 42, n.8, p. 1347-1353, 2012.

FILGUEIRA, F. A. R. **Manual de Olericultura**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1982. 357p.

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

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

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

FOOD INGREDIENTS BRASIL. Extratos vegetais. **Revista Food Ingredients Brasil**, n. 11, p. 16-20. Disponível em: <http://www.revista-fi.com>. Acesso em: 20 de junho de 2013.

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.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BAPTISTA, G.C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIM, J.D.;

MARCHINI, L.C.; LOPES, J.R.S; OMOTO, C. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 902p.

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

GHARSALLAOUI, A.; ROUDAUT, G.; CHAMBIN, O.; VOILLEY, A.; SAUREL, R. Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. **Food Research Internatinal.**, vol. 40, p. 1107- 1121, 2007.

GIUNCHEDI, P.; CONTE, U. Spray-drying as a preparation method of microparticulate drug delivery systems: overview. **STP Pharma Science.**, vol. 5, p. 276-290, 1995.

GOERTZ, H.M. Controlled release technology, agricultura. In: Kirk-Othomer (Ed.) **Encyclopedia of Chemical Technology**, 4^o Edição. Hoth Wiley & Sons, Inc, pp. 251- 274. 2000.

GONÇALES, M.S. **Atividade ovicida e ninficida de diferentes extratos de meliáceas sobre a mosca-negra-dos-citros, *aleurocanthus woglumi* Ashby (Aleyrodidae) em condições de laboratório**. Monografia de conclusão de curso. Manaus 2010.89p.

GONZÁLEZ-ESQUINCA, A. R.; MERCEDES, L.L.-C.; GUZMÁN, M.A.S.; CHACÓN, I.C.; HERNANDEZ, G.L.; BRECEDA, S.F.; GERALDO, P.M. *In vitro* larvicial avaluation of *Annona muricara* L., *A. diversifolia* Saff. and *A. lutescens* Saff. extracts against *Anastrepha ludens* larvae (Diptera, Tephritidae). Redalyc – Scientific Information System. **Network of Scientific Journals from Latin America, the Caribbean, Spain and Portugal**. v.37, n. 4, Abril, 2012.

GONZALEZ-ESQUINCA, A.R.; LUNA-CAZÁRES, L.M.; GUTIÉRREZ-JIMÉNEZ, J.; GUZMÁN, M.A.S.; LÓPEZ, D.G.V. **Anonáceas: Plantas antigas, estudios recientes**. Colección Jaguar. UNICACH. 2011.

GUEDES, R.N.C.;LIMA, J.O.L.; SANTOS, J.P.; CRUZ, C.D. Resistence to DDT and pyrethroids in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* Motsch (Coleoptera: Curculionidae). **Journal Ecology Entomology**. v.31, p. 145-150, 1995.

GUERRA, M.P.& NODARI, R.O. Biodiversidade: aspectos biológicos, geográficos, locais e éticos. Cap.1 p. 140. In: SIMÕES, C.M.O.; SEBENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A. & PETROVICK, P.R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 3ed. 2001. 833p.

HAMILTON, A. J.; ENDERBY, N. M.; RIDLAND, P.M.; ZHANG, J.; NEAL, M. Effects of cultivar oviposition preference, larval feeding and development time of diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), on some *Brassica oleracea* vegetables in Victoria. **Australian Journal of Entomology** v. 44, n. 3, p. 284-287, 2005.

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

HERNANDÉZ, C.R.; ANGEL, D.N. **Anonáceas con propiedades insecticidas**. In: SÃO JOSÉ, A.R.; SOUZA, I.V.B.; MORAIS, O.M. & REBOUÇAS, T.N.H. Anonáceas produção e mercado (pinha, graviola, atemóia e cherimólia). p. 229-239, 1997.

IMENES, S.D.L.; CAMPOS, T.B.; RODRIGUES NETTO S.M.; BERGMANN, E.C. Avaliação da atratividade de feromônio sexual sintético da traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), em cultivo orgânico de repolho. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 69, n. 1, p. 81-84, 2002.

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

JESUS, F.G.; PAIVA, L.A.; GONÇALVES, V.C.; MARQUES, M.A.; BOIÇA JUNIOR, A.L. Efeito de plantas inseticidas no comportamento e biologia de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). **Arquivo do Instituto de Biologia**, v.78, n.2, p. 279-285, 2011..

KANIS, L.A.; PROOHIRO, J.S.; VIEIRA, E.S.; NASCIMENTO, E.P.; ZEPON, K.M.; SILVA, O.S. Larvicidal activity of *Copaifera* sp. (Leguminosae) oleoresin microcapsules against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) larvae. **Parasitol Research Journal**, v. 2, p. 48-51, 2012.

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

KISSEL, T. MARETSCHKEK, S., PACKHAUSER, C., SCHNIEDERS, J. e SEIDEL, N. Microencapsulation techniques for parenteral depot systems and their application in the pharmaceutical industry. In: Benita, S. Microencapsulation: methods and industrial application. **Boca Raton**, p.104. 2006

KUMAR, A.R.V.; JAYAPPA, J. & CHANDRASHEKARA, K. Relative insecticidal value: An index for identifying neem trees with high insecticidal yield. **Current Science**, v. 79, n. 10, p. 1474-1478, 2000.

KUMAR, J. A.; REKHA, T.; DEVI, S.S.; KANNAN, M.; JASWANTH, A.; GOPAL, V. Insecticidal activity of ethanolic extract of leaves of *Annona squamosa*. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v.2, n5, p. 177-180, 2010.

LARA, F. M.; DAL'ACQUA FILHO, A.; BARBOSA, J.C. Integração de variedade resistente de couve (*Brassica oleracea* var *acephala*) com casca de arroz, no controle de *Brevicoryne brassicae* (Linnaeus, 1758). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v.11, n.2, p.209-219, 1982.

LEE, H. S. Pesticidal Constituents Derived from Piperaceae Fruits. **Agricultural Chemical Biotechnology**, v.48, p. 65-74, 2005

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

LIANG, G.M.; CHEN, W. & LIU, T.X. Effects of three neem-based insecticides on diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). **Crop Protection**, v. 22, n. 2, p. 333-340, 2003.

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.

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

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

LOHR, B., GATHU, R. Evidence of adaptation of diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.), to pea, *Pisum sativum* L. **Insect Science**. Appl. v.22, p.161–174, 2002.

MACHADO, L.A.; SILVA, V.B.; OLIVEIRA, M.M. Uso de extratos vegetais no controle de pragas em horticultura. **O Biológico**, v. 69, p. 103-106, 2007.

MARCOMINI, A.M. **Bioatividade e efeito residual de nanoformulações de nim sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith)**. Piracicaba. 2009. Dissertação de Mestrado. Escola superior de Agricultura, Luiz de Queiroz. 2009. 83p.

MARTINELLI, S.; MONTAGNA, M.A.; PICINATO, N.C.; SILVA, F.M.A.; FERNANDES, O.A. Eficácia do indoxacarb para o controle de pragas em hortaliças. **Horticultura Brasileira**. Brasília, v.21, n.3, p.501-505, 2003.

MARTINEZ, S.S. **O nim** – *Azadirachta indica*: natureza, usos múltiplos, produção. Instituto Agrônômico do Paraná – IAPAR. Londrina, 2002. 142p.

MARTINS, L.R.; FARIAS, C.L.S.; CUNHA, D.D.; ALMEIDA, D.X.; NAVA, D.E.; MELO, M. 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.

MATOS, C.H.C.; OLIVEIRA, C.R.F.; SANTOS, M.P.F.; FERRAZ, C.S. Utilização de modelos didáticos no ensino de entomologia. **Revista de Biologia e Ciências da terra**, v.9, n.1, p.37-39, 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 15 de jun. 2012.

MAZZONETTO, F.; CORADINI, F.; CORBANI, R.Z.; DALRI, A.B. Ação de inseticidas botânicos sobre a preferência alimentar e sobre posturas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepdoptera: Noctuide) em milho. **EntomoBrasilis**.v.6, Abril, 2013.

MEDEIROS, C.A.M. **Efeito inseticida de extratos vegetais aquosos sobre *Ascisa monusteorseis* (Latreille) em couve (*Brassica oleracea* L. var. *acephala* DC.)**. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista 2004. 83p.

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

MEDEIROS, P. T.; DIAS, J.M.C.; MONNART, R.G.; SOUZA, N.S. Instalação e manutenção de criação massal da traça-das-crucíferas (*Plutella xylostella*). **Circular Técnico**, 29 da Embrapa INSS 1516 – 4349, Outubro 2003.

MOHAMOUDVAND, M.; GARJAN, A.S.; ABBASIPOUR, H. Ovicidal Effect of Some Insecticides on the Diamondback Moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae). **Chilean Journal of Agricultural Research**. v. 72, Junho, 2011.

MONNERAT, R. G., **Interrelations entre la teigne des cruciferes, *Plutella xylostella*, son parasitoide *Diadegma* SP. Et La bacterie entomopathogene *Bacillus thuringiensis* Berliner.** Tese de doutorado em Ciências Agrônomicas. 1995. 160p;

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

MORDUE, A. J.; BLACKWELL, A.; NISBET, C.J. Azadirachtin: an update. **Journal Insect of Physiology**, Exeter, v.39, p.903-924, 1993.

NERI, D.K.P.; GOÉS, G.B.; MARACAJÁ, P.B.; MEDEIROS, D.C.; NUNES, G.H.S. Efeito do extrato aquoso de nim sobre *Bemisia tabaci* Biótipo B (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae), em meloeiro. **Revista Verde**, Mossoró-RN, v.1, n.2, p.48-53, dezembro, 2006.

NEVES, K. Nanotecnologia em cosméticos. **Cosmetic & Toiletries**, 20, 22, 2008.

OLIVEIRA, A. C. **Suscetibilidade de populações da traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) a inseticidas.** Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Entomologia Agrícola. Recife – PE, 2009.

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

POSER, G.L.V. & MENTZ, L.A. **Diversidade biológica e sistemas de classificação.** In: SIMÕES, C.M.O.; SEBENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A. & PETROVICK, P.R. Farmacognosia da planta ao medicamento. 3ed. Rev. Porto Alegre 2001. 833p.

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

RAU, P., Método Biológico: Cultura da Couve de Folhas. **Revista Jardins**, Maio 2009.

REVISTA FI. Extratos Vegetais. **Food Ingredients Brasil**, n. 11, 2010. Disponível em www.revista-fi.com, acessado em 20 de julho de 2013.

RIYAJAN, S.; SAKDAPIPANICH, J.T. Development of a controlled release neem capsule with a sodium alginate matrix, crosslinked glutaraldehyde and coated with natural rubber. **Polymer Bulletin**, Berlin, 2009. Disponível em: <http://www.springerlink.com/> Acesso em: 15 agosto 2013.

RODRIGUES, S.R.; COUTINHO, G.V.; GARCEZ, W.S.; GARCEZ, F.R.; ZANELLA, D.P.F. Atividade inseticida de extratos etanólicos de plantas sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith) (Lepitopdera: Noctuidae). **Agrarian**, v. 1, n. 1, p. 133-144, 2008.

RODRÍGUEZ, H.C.; VENDRAMIM, J.D. Avaliação da bioatividade de extratos aquosos de Meliaceae sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). **Revista de Agricultura**, v. 72, p. 305-318, 1997.

ROEL A.R.; VENDRAMIM, J.D. Atividade tóxica de extratos orgânicos de *Trichiliapallida* (Swartz) (Meliaceae) sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 29, p. 799-808, 2000

ROEL, A.R.; VENDRAMIM, J.D.; FRIGHUETTO, R.T.S.; FRIGHUETTO, N. Efeito do extrato de acetato de etila de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) no desenvolvimento e sobrevivência da lagarta-do-cartucho. **Bragantia**, v. 59, n. 1, p. 53-58, 2000.

RUPPRECHT, J.K.; HUI, Y; McLAUGHLIN, J.L. Annonaceous acetogenins: a review. **Journal of Natural Products**, v. 53, n. 2, p. 237-278, 1990.

SALINAS, P.J. Studies on the behavior of the larvae of *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae), a world pest of cruciferous crops. Normal and spacing behavior. **Turrialba**. V. 34, n. 1, p. 77-84, 1984.

SANTOS, F. **Aplicação de pesticidas em agricultura**. Departamento de Fitotecnia e Engenharia Rural, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real.2000.

SAS[®] Statistical Analysis System, **SAS Institute Inc.**, 2003.

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

SCHMUTTERER, H. Insect growth-disrupting and fecundity-reducing ingredients from the neem and chynaberry trees. In: MORGAN, E.D.; MANDAVA, N.B. Handbook of Natural Pesticides: Volume III, Insect Growth Regulators, Part B. Washington: CRC, 1987. p. 119-167. SMITH, E.H.; SALKELD, E. H. The use and action of ovicides. **Annual Review of Entomology**, v.11, p.331-368, 1966.

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

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

SEPLANDE, Secretaria de Estado do Planejamento e do Desenvolvimento Econômico, Disponível em: www.planejamento.al.gov.br. Acessado em: 15 de janeiro de 2013

SHARMA, A.; KUMAR, V.; RATTAN, R.S.; KUMAR, N.; SINGH, B. Insecticidal toxicity of apilanthol from *Spilanthes acmella* Murr. against *Plutella xylostella* L. **Scientific Research - American Journal of Plant Sciences** 3, 1568-1572, 2012.

SILVA JÚNIOR, A.A. Repolho: Fitotecnia, Tecnologia Alimentar e Mercadologia. **EMPASC**, 198. 295 p. ilustr., 1987.

SILVA, A. D. **Ação inseticida de óleo de Nim, *Azadirachta indica* nas formulações de nanocápsula, pó molhável e concentrado emulsionável sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae)**. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Agronomia. Jabotical – SP. 2005

SILVA, A. P. T.; PEREIRA, M. J. B.; BENTO, L. F. Extrato etanólico da semente de aracitum (*Annona coriacea*) (Mart.) sobre a mortalidade da traça-do-tomateiro (*Tuta absoluta*). Resumos do V CBA – Manejo de Agroecossistemas Sustentáveis. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 2, n. 2, p. 1150-1153, 2007.

SILVA, C.G.V. **Bioatividade de extratos etanólicos de *Croton* sobre *Plutella xylostella* (L.) e ação fumigante e composição química de óleos essenciais de *Croton grevioides* (Baill.)**

sobre *Zabrotes subfasciatus* (Boheman). Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-graduação em entomologia Agrícola . UFRPE. 2007. 45f.

SILVA, F de A.S.; AZEVEDO, C.A.V.de A. ASSISTAT, **Assistência estatística**. Versão 7,5 beta 2013.

SILVA-FILHO, M.C. & FALCO, M.C. **Interação planta-inseto**. Adaptação dos insetos aos inibidores de proteinases produzidos pelas plantas. *Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento*, n. 12, p. 1-8, 2000. (Disponível em: www.biotecnologia.com.br/bio/12_h.htm, Acesso em 17de junho de 2013.

SMITH, E.H.; SALKELD, E. H. The use and action of ovicides. **Annual Review of Entomology**, v.11, p.331-368, 1966

SOUZA, E. M.; CORDEIRO, J. R.; PEREIRA, M. J. B. Avaliação da atividade inseticida dos diferentes extratos das sementes de *Annona coriacea* sobre *Dichelops melacanthus* (Dallas, 1851). Resumos do V CBA – Manejo de Agroecossistemas Sustentáveis. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 2, n. 2, p. 1150-1153, 2007.

SOUZA, P.V.; SILVA, D.A.; JESUS, F.G.; ARAÚJO, M.S. Atividade inseticida de extratos hexânicos de *Jatropha curcas* L. sobre população de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). In.**Anais do IX Seminário de Iniciação Científica**, VI Jornada de Pesquisa e Pós-Graduação e Semana Nacional de Ciência e Tecnologia. Universidade Estadual de Goiás. 2011. 4p.

SOW, G.; ARVANITAKIS, L.; NIASSY, S.; DIARRA, K.; BORDAT, D. Performance of the parasitoid *Oomyzus sokolowskii* (Hymenoptera: Eulophidae) on its host *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) under laboratory conditions. **International Journal of Tropical Insect Science**, v. 3, n. 1, p. 38-45, 2013.

SUPERINTENDÊNCIA DE CONTROLE DE ENDEMIAS (SUCEN). **MANUAL DE SEGURANÇA QUÍMICA E CONTROLE DE VETORES**, 2000. , Disponível em: <http://www.saude.sp.gov.br/resources/Sucen/arquivos-seguranca-do-trabalho/sequi3.pdf>. Acessoem: 11jul. 2013

TORRECILLAS, S.M.; VENDRAMIM J.D. Extratos aquosos de ramos de *Trichiliapallida* e o desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* em genótipos de milho. **ScientiaAgrícola**, v.58, n.1, p.27-31, 2001.

TORRES, A.L.; BOIÇA JUNIOR, A.L.; MEDEIROS, C.A.M.; BARROS, R. Efeito de extratos aquosos de *Azadirachta indica*, *Melia azedarach* e *Aspidosperma pyriformis* no desenvolvimento e oviposição de *Plutella xylostella*. **Bragantia**, v. 65, n. 3, p. 447-457, 2006.

TORRES, AL.; BARROS, R.; OLIVEIRA, J. V. Efeito de extratos aquosos de plantas no desenvolvimento de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). **Neotropical Entomology**, v.30, p. 151-156, 2001.

TRINDADE, R.C.P., MARQUES, I.M.R., XAVIER, H.S.; OLIVEIRA, J.V. Extrato metanólico da amêndoa da semente de nim e a mortalidade de ovos e lagartas da traça-do-tomateiro. **Scientia Agrícola**, v. 57, p. 407-413, 2000.

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

TRINDADE, R.C.P.; SILVA, P.P.; ARAÚJO-JUNIOR, J.X.; LIMA, I.S.; PAULA, J.E.; SANT'ANA, A.E.G. Mortality of *Plutella xylostella* larvae treated with *Aspidosperma pyriformis* ethanol extracts. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, n.12, p. 1813-1816, dez. 2008.

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

VASCONCELO, G.J.N.; GODIN JUNIOR, M.C.G.; 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, out. 2006.

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

VIEIRA E SILVA, C.G. **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)**. Dissertação. Recife –PE. Julho, 2007.

VIEIRA, P.C.; FERNANDES, J.B. & ANDREI, C.C. **Plantas inseticidas**. Cap. 34, p. 751-766. In: SIMÕES, C.M.O.; SEBENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ,

L.A. & PETROVICK, P.R. Farmacognosia da planta ao medicamento. 3ed. Rev. Porto Alegre / 2001. 833p.

VILLAS BÔAS, G.L.; CASTELO BRANCO, M. & GUIMARÃES, A.L. Controle químico da traça das crucíferas no Distrito Federal. **Horticultura Brasileira**, v. 8, n. 2, p. 10-11, 1990.

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

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

WATSON, L.; DALLWITZ, M.J. **The families of flowering plants**: descriptions, illustrations, identification, and information retrieval. 1992. Version: 10th April 2008. Disponível em: <http://delta-intkey.com>. Acessado em 06 de maio de 2013.

WEBBER, G.L. **Efeito de extratos de barbatimão *Stryphnodendron coriaceum* (Benth.) na biologia de *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae)**. Dissertação de Mestrado. UFPI. 95f. 2009.

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

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

ZAFRA-POLO, M.C.; FIGADRE, B.; GALLARDO, T.; TORMO, J.R.; CORTES, D. Natural acetogenins from annonaceae, synthesis and mechanisms of action. **Phytochemistry**, v. 48, n. 7, p. 1087-1117, 1998.

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

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

ZENG, L.; YE, Q; OBERLIES, N.H., SHI, G.; GU, Z.; HE, K.; McLAUGHLIN. Recent advances in annonaceous acetogenins. **Natural Product Reports**, v. 13, n. 4, p. 275-306, 1996.