

EFEITO DE EXTRATOS VEGETAIS E OLEOS ESSENCIAIS NO DESENVOLVIMENTO DE

Plutella xylostella (L.) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE).

Por

GUSTAVO NETO BANDEIRA

(Sob Orientação do Professor Cláudio Augusto Gomes da Câmara)

RESUMO

A família Brassicaceae é uma das mais economicamente importantes no mundo, tendo como sua principal praga a *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), que causa grandes danos à cultura chegando a atingir até 100% de perdas na produção. Tendo em vista a investigação de alternativas aos inseticidas sintéticos, as plantas medicinais tem sido alvo nos últimos anos na busca de compostos com propriedades inseticidas, repelentes, fumigante ou que atuem diretamente na interrupção dos ciclos biológicos de pragas, como a *P. xylostella*. Por outro lado, a literatura é escassa, quando se trata de estudos com o uso de óleos essenciais e extratos orgânicos para verificar seu potencial inseticida. Nesse sentido, as plantas medicinais escolhidas para realização da investigação do potencial inseticida foram: *Muntingia calabura*; *Piper marginatum*; *Citrus reticulata* x *Citrus sinensis*, *C. reticulata* Blanco e *Melaleuca leucadendra*. Os experimentos realizados com extratos e óleos das diferentes plantas selecionadas mostraram que as larvas de *P. xylostella* foi sensível a todos. Com relação ao extratos, o mais tóxico foi o extrato etanólico da flor, que promoveu 99,5% de mortalidade de larvas e uma CL_{50} estimada de 1,63 mg/mL. Na duração da fase larval, o extrato hexânico do fruto prolongou essa fase em 1,62 dias em relação ao controle e quanto à mortalidade da fase pupal, o extrato etanólico da flor inviabilizou completamente a emergência de adultos. As larvas de *P. xylostella* foi sensível a

todos os óleos testados. Os mais tóxicos foram os óleos de *Citrus* (CL₅₀ 0,55ppm para *C. reticulata* e CL₅₀ 0,78ppm para *C. sinensis* x *C. reticulata*). Quanto a duração da fase larval, o melhor resultado foi observado para o óleo de *C. reticulata* x *C. sinensis*, que apresentou um incremento de 2,2 dias com relação ao controle.

PALAVRAS CHAVES: *Plutella xylostella*, atividade inseticida, produtos naturais, extratos orgânicos, óleos essenciais

EFFECT OF PLANT EXTRACTS AND ESSENTIAL OILS ON *Plutella xylostella* (L.)
(LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE).

By

GUSTAVO NETO BANDEIRA

(Under the Direction of Professor Cláudio Augusto Gomes da Câmara)

ABSTRACT

The family Brassicaceae is one of the most economically important in the world, having as their main pest to *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), which causes great damage to the crop with up to 100% of yield losses. In order to investigate alternatives to synthetic insecticides, medicinal plants have been in recent years in search of compounds with insecticidal properties, repellent, fumigant or that act directly on the disruption of biological cycles of pests such as *P. xylostella*. Furthermore, the literature is scarce when it comes to studies with the use of essential oils and organic extracts to verify their potential insecticide. Accordingly, the medicinal plants chosen to carry out the research potential of the insecticide are the following families: Tiliaceae (*Muntingia calabura*) Piperaceae (*Piper marginatum*) Rutaceae (*Citrus reticulata* x *Citrus sinensis*, *C. reticulata* Blanco) and Myrtaceae (*Melaleuca leucadendron*). The bioassays carried out indicated that *P. xylostella* larvae were susceptible to all selected plant extracts and oils tested. Furthermore the extract etanolic of flowers (MCEFL) achieved 99.5% of larval mortality and a lethal concentration LC₅₀ estimated of 1.63 mg/mL. In addition the extract MCEFL caused 100% of pupal inviability on treated larvae. The development of larvae increased 1.62 days when being treated with the extract hexanic of fruits (MCHFR) compared to the untreated ones. *P. xylostella* was susceptible to all essential oils tested. Among the oils the most

toxic was those prepared from *Citrus* (LC₅₀ of 0.55ppm for *C. reticulata* and 0,78ppm for *C. sinensis* x *C. reticulata*). Also, the oil from *C. reticulata* x *C. sinensis* increased larval development in 2.2 days compared to the other oils and untreated larvae.

KEYWORDS: *Plutella xylostella*, insecticide activity, natural products, organic extracts, essential oils

EFEITO DE EXTRATOS VEGETAIS E OLEOS ESSENCIAIS NO DESENVOLVIMENTO DE

Plutella xylostella (L.) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE).

Por

GUSTAVO NETO BANDEIRA

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

JULHO - 2009

EFEITO DE EXTRATOS VEGETAIS E OLEOS ESSENCIAIS NO DESENVOLVIMENTO DE

Plutella xylostella (L.) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE).

Por

GUSTAVO NETO BANDEIRA

Comitê de Orientação:

Cláudio Augusto Gomes da Câmara - UFRPE

Reginaldo Barros - UFRPE

EFEITO DE EXTRATOS VEGETAIS E OLEOS ESSENCIAIS NO DESENVOLVIMENTO DE

Plutella xylostella (L.) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE).

Por

GUSTAVO NETO BANDEIRA

Orientador: _____
Cláudio Augusto Gomes da Câmara – UFRPE

Examinadores: _____
Reginaldo Barros - UFRPE

Clécio Souza Ramos - UFRP E

César Auguste Badji – UAG-UFRPE

DEDICATÓRIA

A minha família, principalmente meus pais, por me apoiarem em tudo o que eu fiz, assim como todos aqueles que me ajudaram direta ou indiretamente na realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao meu pai e minha mãe, como já foi dito antes, que sempre me apoiaram, assim como todos da minha família; minha irmã, meu irmão, sobrinho. E principalmente a Edla, que nos últimos anos, vem me acompanhando, me dando apoio e força para ser uma pessoa cada vez melhor.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES pelo suporte físico e financeiro.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Cláudio A. G. da Câmara, acreditando no meu potencial, e também todos os outros professores que me ajudaram, de alguma maneira, não só a realizar esse projeto, mas ter contribuído na conclusão deste curso.

Tenho muito que agradecer também ao Prof. Reginaldo Barros, que sempre me acolheu tão bem em seu laboratório, e sempre que possível (por ser vice-reitor era difícil falar com ele) me deu ótimos conselhos.

E agora agradeço aqueles que me ajudaram de maneira indireta a não só realizar esse trabalho, mas também em concluir o curso e à minha formação como um todo. Meus amigos, os quais me ajudaram no campo psicológico e emocional. Eles são Tony, Paulo Henrique, Jade, Fernandinho, Déa, Grillo, Leo Grillo, Celinha, Mila (e seu esposo, Jay), Bruno, Ceci, Michus, Lidi, Lili, Rose, André, Tatá, Cella, Vivian, Leo, George, Diana e Raony, Kirllian e Virginia.

“A infância é curta e a maturidade é eterna.”

Bill Watterson

SUMÁRIO

| | Páginas |
|---|---------|
| AGRADECIMENTOS | vii |
| LISTA DE TABELAS | viii |
| CAPÍTULOS | |
| 1 INTRODUÇÃO | 01 |
| LITERATURA CITADA | 12 |
| 2 EFEITO DE EXTRATOS ORGÂNICOS DO FRUTO E FLOR DE <i>Muntingia calabura</i> (TILIACEAE) SOBRE <i>Plutella xylostella</i> (L.) (LEPIDÓPTERA: PLUTELLIDAE)..... | 18 |
| RESUMO | 19 |
| ABSTRACT | 20 |
| INTRODUÇÃO | 21 |
| MATERIAL E MÉTODOS | 23 |
| RESULTADOS E DISCUSSÃO | 26 |
| LITERATURA CITADA..... | 30 |
| 3 EFEITO DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE QUATRO ESPÉCIES DE PLANTAS SOBRE A <i>Plutella xylostella</i> (L.) (LEPIDÓPTERA: PLUTELLIDAE) | 37 |
| RESUMO | 38 |
| ABSTRACT | 39 |
| INTRODUÇÃO | 40 |
| MATERIAL E MÉTODOS | 42 |

| | |
|------------------------------|----|
| RESULTADOS E DISCUSSÃO | 45 |
| AGRADECIMENTOS..... | 49 |
| LITERATURA CITADA..... | 49 |

CAPITULO 1

INTRODUÇÃO

A família Brassicaceae (crucíferas) é uma das mais importantes economicamente, com cerca de 2,2 milhões de hectares plantados anualmente no mundo. Várias espécies são cultivadas pra diversos fins, como alimentação, obtenção de óleos comestíveis e na ornamentação (Vickers *et al.* 2004). Há registros na literatura de ocorrência de várias pragas que atacam as crucíferas, tais como *Trichoplusia ni*, *Mamestra brassicae* e *Delia radicum* (Camargo 1992), com destaque para a *P. xylostella*.

Vários pesquisadores consideraram a *P. xylostella* (L.) como a principal praga da couve, repolho e outras brássicas, sua alta taxa de alimentação durante o período larval, causando grandes danos à cultura chegando a atingir até 100% de perdas na produção (Boiça Júnior *et al.* 2005, Hamilton *et al.* 2004, Castelo Branco & Gatehouse 2001; Barros *et al.* 1993). É considerado também um dos lepidópteros mais estudados e distribuídos pelo mundo, junto com a *Choristoneura fumiferana* (Clemens) (Lepidoptera: Tortricidae) e *Spodoptera frugiperda* JE Smith (Lepidoptera: Noctuidae) (Justus & Michell 1999). Na maioria das vezes, para seu controle, os agricultores utilizam intensivamente produtos químicos para minimizar os danos causados por essa praga (Sarfraz & Keddie 2004). Entretanto, os usos desses produtos, de forma indiscriminada, têm causado danos ao ecossistema devido à sua toxicidade, facilitando assim o surgimento de gerações de insetos mais resistente, e também afetado não só as pragas alvo como também espécies benéficas (Villas Boas *et al.* 1990, Gonçalves 1997, Torres 2000). Esses produtos, também têm possibilitado a contaminação das culturas com resíduos tóxicos prejudicando a saúde humana e animais de pequeno e médio porte (Oliveira *et al.* 1999).

A descoberta de novas substâncias com propriedades inseticidas de interesse econômico poderá trazer inúmeros benefícios à comunidade científica, principalmente pela contribuição ao conhecimento químico e botânico da biodiversidade disponível, e por fim, a descoberta de um produto ecologicamente viável, que possa ser utilizado no controle de pragas em geral e da *P. xylostella* em particular.

Sabe-se, que as plantas medicinais têm sido utilizadas como fonte na obtenção de novos inseticidas antes do advento dos inseticidas organossintéticos (Martins *et al.* 1998). Essas plantas se constituem em uma promissora e inesgotável fonte de produtos ou formulados com propriedades biológicas comprovadas. As principais formas de utilização e/ou avaliação do potencial inseticida dessas plantas podem ser por meio do preparo de pós de diferentes partes do vegetal; extratos aquoso e orgânico, óleos fixos e voláteis (óleo essencial), e de constituintes químicos fixos isolados de diferentes extratos, compostos estes pertencentes a várias classes químicas do metabolismo secundário, como por exemplo, substâncias que contêm nitrogênio, destacando-se os alcalóides, heterosídeos cianogênicos e glucosinolatos; compostos fenólicos (flavanóides, fenilpropanoides, taninos, etc) e terpenóides (mono, sesqui, di e triterpenos). Muitos desses compostos têm sido isolados e suas propriedades medicinais confirmadas (Di Stasi 1996). Nesse sentido, a investigação de alternativas aos inseticidas sintéticos, por meio de extratos orgânicos e aquosos e/ou de óleos fixos ou voláteis partir de plantas medicinais tem sido exhaustivamente investigado nos últimos anos e de acordo com Martins *et al.* (1998), essas plantas apresentam uma maior resistência às doenças e pragas o que facilita, em geral, seu cultivo em larga escala. Segundo Jbilou *et al.* (2006), os efeitos deletérios desses extratos podem ser devido a sua toxicidade (efeitos alelopáticos), inibição de crescimento, redução de fecundidade, fertilidade e repelência.

Os inseticidas botânicos apresentam inúmeras vantagens quando comparados como os inseticidas sintéticos. Por exemplo, são obtidos de recursos renováveis e são, em geral, rapidamente degradados não deixando resíduos em alimentos ou no meio ambiente (Bouda 2001). Por outro lado, o uso alternativo destes compostos requer um estudo sistematizado que preencha requisitos, tais como seletividade contra inimigos naturais, baixa toxicidade em mamíferos, biodegradabilidade e ausência de fitotoxicidade, além dos requisitos econômicos para que sua produção em alta escala seja viável (Vieira *et al.* 2001). Além dos estudos investigativos a partir de plantas com potencial inseticida com o uso de pó e extratos orgânicos como alternativa aos inseticidas sintéticos, os óleos essenciais têm atraído a atenção de pesquisadores, nos últimos anos, devido às suas atividades biológicas já comprovadas.

Para o controle alternativo de *P. xylostella*, com uso de inseticidas botânicos, existem uma grande quantidade de artigos publicados, nos últimos dez anos. Nesses artigos os diferentes autores reportaram o uso de extratos aquosos, orgânicos e/ou de substâncias puras obtidas a partir de diferentes organismos vivos, tais como, vegetais e microorganismos, com efeito, inseticida, causando mortalidade e deterrência de alimentação em larvas e repelência e infertilidade em adultos de *P. xylostella*.

Estudo fitoquímico dos rizomas de *alpinia galanga* resultou no isolamento do acetato de 1'-acetoxicavicol (I), o qual foi tóxico contra larvas de 3º instar de *P. xylostella*, cuja CL₅₀ estimada foi de 4,5 µg/ inseto (Dadang *et al.* 1998). Em outro estudo, Kim *et al.* (2002) reportou o isolamento de um derivado da adenosina a partir do corpo frugífero do fungo *Cordyceps militaris* Link. Esse derivado ao ser aplicado em *P. xylostella*, na concentração de 500 mg/l, promoveu 78 e 100% de mortalidade após 48h e 72h de, respectivamente.

Li *et al.* (2008) investigando propriedades inseticidas de extratos orgânicos de 48 plantas sobre *P. xylostella*, mostrou que dentre essas plantas, os extratos acetônicos de *Artemia annua*,

Euphorbia helioscopia L.; *Lagopisi supina* (Steph. Ex Willd) Ik. – Gal. ex Knorr; I Patrin. e *Humulus scandens* (Lour.) foram os mais ativos na concentração de 500g/L. Partição do extrato acetônico de *Xanthium sibiricum* com clorofórmio e submetido aos testes com *P. xylostella*, na concentração de 50g/L, promoveu a mortalidade em 24 horas de 88,33% e 91,67% em 48 horas.

A toxicidade de extratos de folhas, ramos e frutos de 18 espécies vegetais foi investigada por Boiça Junior *et al.* (2005) sobre larvas de *P. xylostella*. A maior atividade, que causou 100% de mortalidade foi observada para os extratos dos frutos das espécies *Enterolobium contortisilliquum*, *Nicotiana tabacum*, *Sapindus saponaria* e dos ramos de *Trichilia pallida*. Os extratos foliares de *T. pallida* (folhas) (93,8%), *Azadirachta indica* (89,6%), *Symphytum officinale* (77,1%), *Bougainvillea glabra* (72,9%), *Achillea millefolium* (70,8%) e *Chenopodium ambrosioides* (70,8%) também apresentaram toxicidades significativas.

Liu *et al.* (2007) investigando o potencial inseticida do extrato orgânico dos frutos de *Capsicum annuum* var. *annuum* sobre larvas de *P. xylostella*, observou que na concentração de 0,0625 g/mL foi deterrente de alimentação. Extratos etanólicos de *Annona glabra* mostraram ação deterrente de alimentação e mortalidade em baixas concentrações, com uma DL₅₀ de 0,4 µg/inseto (Ohsawa *et al.* 1991). Ainda relacionado ao potencial de deterrência de alimentação, agora com compostos puros isolados de espécies vegetais, Huang *et al.* (2008) reportou o isolamento de luteolina, stigmasterol, acacetina, 20-hidroxiecdisona de *Ajuga nipponensis*, e obteve para esses compostos, índice médio de deterrência de alimentação de 1935,02; 2515,94; 6589,58; e 287,58 µg/mL após 24h de aplicação, e 1853,20; 3812,24; 2581,43; 103,45 µg/mL após 48h de aplicação, respectivamente, contra larvas do 3^a instar de *P. xylostella*.

Outros terpenóides, pertencentes à classe dos triterpenóides foram também avaliados quanto ao potencial inseticida sobre *P. xylostella*. A azadiractina, um triterpeno limonoide, foi usado em testes em campo, na concentração de 0.005 mL/L repeliu em 78,3% de adultos (Hou *et al.* 2002).

Das folhas de *Barbarea vulgaris* foram isolados triterpenos, que ao serem aplicados em folhas de repolho na concentração de $0,18\mu\text{g}/\text{mm}^2$ e oferecidos às larvas de *P. xylostella*, apresentaram atividade de deterrença de alimentação (Shinoda *et al.* 2002).

Outra planta com propriedade deterrentes de alimentação, investigada por Ling *et al.* (2008), é *Monordica charantia*. Do extrato etanólico das folhas, foram isolados a monordicina I e II, cujos Bioensaios contra larvas do 1ª e 2ª instar de *P. xylostella*, mostraram índice médio de deterrência de alimentação de 144,08 e 168,42 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para monordicina I, enquanto que para II foi 76,69 e 116,24 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

A partir da resina obtida do eucalipto e pinheiro, resina essa conhecida por turpetina, Han *et al.* (2007) sintetizaram os terpenos, Nopol, Nopil propil éter e endo-isocamphanyl methanol propionate e avaliaram a deterrença de alimentação desses terpenos sobre larvas de 4º instar de *P. xylostella*. Esses compostos, na concentração de 0,01g/mL após 24h de exposição se mostraram bastantes ativos às larvas, com taxas de deterrência de alimentação de 98,33%, 99,80% e 100%, respectivamente.

A planta asiática, *Ginkgo biloba* L. reconhecida mundialmente pelos seus usos na medicina popular mundial foi investigada por Yang *et al.* (2008) quanto a toxicidade sobre larvas de *P. xylostella*. Estudo fitoquímico da fração ativa de *G. biloba* sobre *P. xylostella*, possibilitou o isolamento dos compostos ativos, bilobol e ácido ginkgólico. As CL_{50} estimadas para ambos os princípios ativos foram 2,0613 g/L, e 4.6002 g/L, respectivamente. Algumas substâncias encontradas em óleos essenciais podem atuar na biologia de insetos para promover a metamorfose prematura. Os constituintes químicos do óleo essencial do mentrasto (*Ageratum conyzoides*), precoceno I e precoceno II foram responsáveis pela metamorfose prematura em insetos (Bowers *et al.* 1976).

Compostos pertencentes à classe dos alcalóides também foram objeto de investigação para o controle de *P. xylostella*. Os alcalóides, pipemonalina e piperoctadecalidina isolados a partir de frutos *Piper Longum*, família Piperaceae, foram tóxicos às larvas de *P. xylostella* com as CL_{50} estimadas em 125 e 95,5 ppm, respectivamente. (Lee 2005). Alcalóides isolados a partir do rizoma de *Dioscorea hispida* demonstraram propriedades de deterrença de alimentação, na concentração entre 100 a 200 $\mu\text{g/mL}$, causando uma mortalidade entre 70 a 86% em larvas de *P. xylostella* (Bannag *et al.* 1997). Estudos testando a viabilidade de extratos vegetais em campo já foram investigados por meio de aspersão em plantio de couve de Bruxelas (*Brassica oleracea gemmifera*) (Verkerk & Wright 1993). Esses autores mostraram, com bioensaio de teste de imersão de disco de folha, que o extrato de sementes de Nim (AZT) foi três vezes mais eficiente do que o princípio ativo, azadiractina sintética (AZ), com uma CL_{50} estimada de 0,18 μg de AZ/mol contra larvas do 2º instar de *P. xylostella*. Em teste de campo, os autores observaram que utilizando o extrato de AZT com uma razão aproximada de 1 a 20g de AZ/ha, nas medidas: médio-volume (200L/há) e ultrabaixo-volume (1L/ha) pelo método de aspersão, a mortalidade de larvas de *P. xylostella* variou de 16-92% e 88 a 100%, respectivamente.

Por outro lado, a literatura é escassa, quando se trata de estudos com óleos essenciais para verificar seu potencial inseticida (Choi *et al.* 2005), no entanto, de acordo com o levantamento bibliográfico da ação desses óleos sobre *P. xylostella*, poucos são os trabalhos reportados na literatura.

Óleos essenciais são compostos voláteis obtidos de diversas partes de plantas por meio de hidrodestilação ou arraste à vapor d'água ou por prensagem de matrizes vegetais. Em sua maioria são constituídos de derivados de fenilpropanóides e de terpenóides, prevalecendo os últimos com cerca de 90%. Apresentam, normalmente, um ou dois compostos majoritários na sua constituição. São produzidos no metabolismo secundário das plantas, variando a intensidade e a composição de

acordo com a espécie e fatores ambientais, geralmente específicos para um determinado órgão e característico para o estágio de desenvolvimento da planta. Podem ser encontrados em pêlos glandulares (Lamainaceae), canais oleíferos (Apiaceae), bolsas lisígenas ou esquisolisígenas (Pinaceae, Rutaceae) e células parenquimáticas diferenciadas (Lauraceae, Piperaceae, Poaceae), e podem estar presentes em diferentes órgãos da planta, como flores, caules, raízes, frutos e folhas, entre outros (Simões & Spitzer 2004).

Recentemente, Zeng *et al.* 2008 mostraram que óleos essenciais de folhas de *Pogostemon cablin* possuem uma forte ação deterrente de alimentação sobre a *P. xylostella*, apresentando uma CL₅₀ de 104,28 µg/mL. Por outro lado, o óleo essencial de *Mikania micrantha* não foi tóxico à *P. xylostella*, mas apresentou uma forte ação deterrente de oviposição na concentração de 10µL por planta (Zhang *et al.* 2003).

Outro exemplo de ação sobre larvas de *P. xylostella* foi observado com *Chromolaena odorata*, uma erva daninha, muito comum no Sul da China. Seu óleo essencial apresentou significativo efeito de deterrência de oviposição contra *P. Xylostella* na dose de 20µL/planta (Ling *et al.* 2003).

Óleo de *Citrus* também tem sido usado na tentativa de minimizar os danos causados pela traça das crucíferas. Hou *et al.* 2002 investigaram a atividade inseticida de 27 óleos essenciais, entre estes, destacam-se os óleos das flores de *Citrus aurantium*, e frutos de *Sibana vulgaris* e *C. sinensis*, os quais apresentaram alta atividade deterrente de alimentação sobre laves de 3º instar de *P. xylostella*. Já Gao & Zhang (1997), investigaram a ação fumigante do óleo essencial de sementes de *Sabina vulgaris* Ant. e encontraram, para o óleo, uma CL₅₀ estimada de 9.74 mg/L contra lavar de *P. xylostella*.

Yi *et al.* (2007) testou 66 óleos essenciais comerciais, dentre eles, o óleo de *C. aurantium*, *Maleleuca alternifolia* e *M. viridiflora*, congêneres das espécies investigadas nesse trabalho,

contra larvas de 3º instar de *P. xylostella*. No entanto, os melhores resultados, para ação fumigante, foram obtidos para os óleos de *Mentha pulegium* (poejo), *Rosmarinus officinalis* (alecrim) e *Salvia officinalis* (erva santa) com valores estimados para CL₅₀ de 10,77 mg/filtro (filtro com 4,25cm de diâmetros), 15,14 mg/filtro e 15,15mg/filtro, respectivamente.

A busca por propriedades inseticidas em plantas medicinais tem crescido bastante nos últimos anos, tornando-se uma forma promissora na descoberta de novas espécies vegetais como agentes inseticidas. A hipótese de que o uso de extratos orgânicos e óleos essenciais de plantas medicinais, pertencentes a diferentes gêneros, por exemplo: *Calabura*, *Piper*, *Melaleuca* e *Citrus* como uma estratégia promissora para o controle de *P. xylostella* será investigada nesse trabalho.

Nesse sentido, as plantas medicinais escolhidas para realização da investigação do potencial inseticida pertencem às seguintes famílias: Tiliaceae (*Muntingia calabura*); Piperaceae (*Piper marginatum*); Rutaceae (*Citrus reticulata* x *Citrus sinensis*, *C. reticulata* Blanco) e Myrtaceae (*Melaleuca leucadendra*).

Calabura ou pau-seda, nome comum da espécie *Muntingia calabura*, pertence à família Tiliaceae. Outros nomes comuns para esta planta são: Jamaican cherry, Panama berry, Singapore cherry, Strawberry tree. É uma espécie nativa das Antilhas, que foi introduzida no Brasil pelo Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) em 1962 (Lopes Mora *et al.* 1999). Adaptou-se rapidamente ao nosso clima, e atualmente encontra-se espalhada em todo o território brasileiro. Embora não seja nativa da América do Sul, essa planta é bastante cultivada e utilizada em planejamento urbano na decoração de ruas, avenidas e praças no território brasileiro. É uma árvore de pequeno porte que apresenta rápido crescimento e intensidade de frutificação. Suas flores são pequenas e de coloração branca, bastante visitada por vários insetos polinizadores. Seus frutos são pequenos, vermelhos, redondos e muito doces, sendo ideal para pássaros e peixes, além de ser bastante apreciada por crianças, e usados na preparação de geléias. As infusões das folhas

são utilizadas na preparação de bebidas e bastante apreciadas como chás (Morton 1987). De acordo com o folclore peruano, essas infusões também são utilizadas para reduzir perturbações gástricas e o inchaço da próstata (Morton 1987).

As flores são utilizadas na medicina popular para aliviar dores de cabeça e os primeiros sintomas de resfriado e de acordo com Pio Correa 1984, possuem ação antiséptica e efeitos antiespasmódicos.

Alguns estudos fitoquímicos e biológicos de *M. calabura* podem ser encontrados na literatura reportando as propriedades antitumoral das folhas (Su *et al.* 2003) e raízes (Kaneda 1991). Uma outra propriedade já estudada é a antinoceptiva de extratos aquoso das folhas (Zakaria *et al.* 2006, Zakaria *et al.* 2007). Esses autores mostraram que esse extrato apresenta atividade antinoceptiva contra estímulos nocivos induzidos quimicamente e termicamente.

Kaneda *et al.* (1991) reportaram o isolamento de flavanóides a partir do extrato etéreo das raízes com atividade citotóxica. Através de um estudo biomonitorado, Su *et al.* (2003), isolaram flavanóides do extrato acetato de etila das folhas como princípios ativos. Até o momento, nenhum trabalho tem sido feito quanto ao estudo biológico de outras partes da planta, como, por exemplo, flores e frutos.

Piper marginatum Jacq. é um arbusto com cerca de 1,5 m, muito comum nas bordas das matas de vários biomas de Pernambuco. São conhecidas popularmente por Pimenta do Mato ou Capeba Cheirosa e são usadas na medicina popular como diurético, para aliviar dores estomacais e carminativo (Pio-Corrêa 1984). É também usada como agentes flavorizantes de alimentos e para o controle de pragas (Nair & Burke 1990, Estrela *et al.* 2006). Investigações preliminares de diferentes partes de espécies de *Piper* levaram ao isolamento de inúmeros constituintes ativos, incluindo alcalóides, fenilpropanóides, flavanóides e lignanas (Parmar *et al.* 1997).

Extratos da folha, do fruto e óleo essencial de *P. marginatum* apresentaram propriedades cercaricida (Frischkorn & Frischkorn 1978). A literatura também reporta investigações prévias da composição química do óleo essencial dessa planta (Da Silva *et al.* 1973, Ramos *et al.* 1986, Fongbe *et al.* 1976, Autran *et al.* 2009). Apesar do óleo essencial dessa planta ter sido anteriormente objeto de estudo químico e biológico, nenhuma pesquisa foi encontrada na literatura, até o presente momento, sobre o controle de *P. xylostella* com o óleo essencial das folhas.

Outras espécies que serão estudadas nesse trabalho pertencem ao gênero *Citrus*. Esse gênero é originário do sudeste tropical e subtropical da Ásia. No Brasil, as plantas cítricas foram inicialmente introduzidas na Bahia (Nordeste do Brasil) em meados do sec XVI pelos colonizadores portugueses (Moreira 1991). Atualmente, o Brasil é o maior produtor mundial de frutas cítricas com mais de 19 milhões de toneladas, sendo o Estado de São Paulo o principal pólo produtor, com quase 83% da produção nacional (Agrianual 2005). Basicamente, a citricultura brasileira é constituída por laranjas (58%), tangerinas (21%), limões (11%) e grapefruit ou pomelos (4%) (Pio Correia 2005). O consumo *in natura* dos frutos, bem como as preparações de bebidas refrescantes é mundialmente reconhecido. Embora o suco seja o principal produto comercial dessas frutas, o óleo das cascas é um dos produtos mais importantes da indústria de processamento. Óleos de *Citrus* são usados sozinhos ou em combinação com outros óleos como ingredientes flavorizantes em vários alimentos, doces e sorvetes, e também nas indústrias farmacêutica e de perfume (Cheng & Chou 1984). Óleos essenciais de espécies de *Citrus* têm sido reportados por terem propriedades inseticidas contra gama variada de artrópodes, particularmente de interesse na agricultura (Neves *et al.* 2009, Moravvej & Abbar 2008, Magdy & Samir 2008), medicina humana (Williamson *et al.* 2007, Furtado *et al.* 2005) e veterinária (Kim *et al.* 2004, Chungsamarnyart & Jansawan 1996). Porém, poucos trabalhos têm sido realizados em relação à

toxicidade de óleos essenciais de *Citrus* sobre a *Plutella xylostella*. (Hou *et al.* 2002, Yi *et al.* 2007).

Por último, tem a espécie *Melaleuca leucadendra*, que pertence à família Mirtaceae. Espécies desse gênero são conhecidas pela produção de óleo essencial e suas propriedades antisépticas, antimicrobiana, comumente usada na medicina popular. *Melaleuca leucadendra*, é uma espécie nativa da Austrália, com registro de ocorrência em regiões tropicais e subtropicais (Morais *et al.* 2001). Algumas espécies desse gênero são muito utilizadas, popularmente, como repelente de insetos e/ou como cosmético (Kitano *et al.* 1984). Embora a composição química do óleo essencial dessa espécie tenha sido estudada em detalhe (Silvestre *et al.* 2008, Silva *et al.* 2007, Pino *et al.* 2002; Brophy & Lassak 1988, Kitano *et al.* 1984), o mesmo não é observado para a atividade inseticida. Yatagai *et al.* (1998) relatou a atividade acaricida de óleos essenciais de folhas de seis espécies do gênero *Melaleuca* (*M. dealbata*, *M. symphyocarpa*, *M. argentea*, *M. acacoides*, *M. saligna* e *M. bracteata*) contra o acaro da poeira *Dermatophagoides pteronyssinus*, das espécies testadas a *M. bracteata* apresentou o melhor resultado, com mortalidade de 100% em uma concentração de 0,13 µg/cm² após 24h da aplicação do óleo.

A potencialidade de causar danos que a *P. xylostella* possui, somada ao fato que, cada vez mais, populações resistentes aos inseticidas sintéticos estão surgindo (Wu & Jieng 2002, Bhattacharya *et al.* 2002), tem levado pesquisadores de várias localidades do mundo a procurar por novas alternativas como fontes de compostos com potencial inseticida em espécies botânicas pertencentes a diferentes gêneros para o controle dessa praga.

Com base no que foi exposto até o momento, e levando em consideração os poucos trabalhos publicados reportando o potencial inseticida de óleos essenciais contra *P. xylostella*, o presente trabalho tem por objetivo avaliar o efeito inseticida dos extratos orgânicos da flor e fruto

de *M. calabura*, bem como de óleos essenciais de *Piper marginatum*, *Citrus reticulata* x *C. sinensis*, *C. reticulata* Blanco, e *Melaleuca leucadendra* sobre *P. xylostella*.

Literatura Citada

- Agriannual. 2005.** Anuário estatístico da agricultura brasileira. São Paulo, FNP Consultoria & Comércio, 320p.
- Banaag, A., H. Honda & T. Shono. 1997.** Effects of alkaloids from yam, *Dioscorea hispida* Schussel, on feeding and development of larvae of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae). Appl. Entomol. Zool. 32: 119-126.
- Barros, R. 1998.** Efeito de cultivares de repolho *Brassica oleracea* var. *capitata* (L.) na biologia da traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L., 1758) e do parasitóide *Trichogramma pretiosum* Riley 1879. Tese, Ribeirão Preto, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, 98p.
- Bhattacharya, R.C., N.Viswakarma, S.R. Bhat, P.B. Kirti & V.L. Chopra. 2002.** Development of insect-resistant transgenic cabbage plants expressing a synthetic CryIa(B) gene from *Bacillus thuringiensis*. Curr. Sci. 83: 146-150.
- Boiça Júnior, A.L., C.A.M. Medeiros, A.L. Torres & Chagas N.R. Filho. 2005.** Efeito de extratos aquosos de plantas do desenvolvimento de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) em couve. Arq. Inst. Biol. 72: 45-50.
- Bouda, H., L. A.Tapondjou, D.A. Fontem & M.Y.D. Gumedzoe. 2001.** Effect of essential oils from leaves of *Ageratum conyzoides*, *Lantana camara* and *Chromolaena odorata* on the mortality of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). J. Stor. Prod. Res. 37: 103-109.
- Bowers, W.S., T. Ohta, J.S. Cleere & P.A. Marsella. 1976.** Discovery on insect anti-juvenile hormones in plants. Science 193: 4253: 542-547.
- Brophy, J.J. & E.V. Lassak. 1988.** *Melaleuca leucadendra* L. leaf oil: two phenylpropanoid chemotypes. Flavour Fragr. J. 3: 43-46.
- Camargo, L.S. 1992.** As hortaliças e seu cultivo. 3ed. Campinas, Fundação Cargil, 252 p.
- Castelo Branco, M. & A. Gatehouse. 2001.** Survey of insecticide susceptibility in *Plutella xylostella* (L) (Lep.: Yponomeutidae) in the Federal District, Brazil. Neotrop. Entomol. 30:27-332.
- Cheng, Y. & C. Chou. 1984.** Composition of peel essential oils from eight citrus species. J. Chinese Chem. Soc. 31: 93-96.

- Choi W.I., S.G. Lee, H.M. Park & Y.J. Ahn. 2004.** Toxicity of plant essential oils to *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae). J. Econ. Entomol. 97: 553-558.
- Chungsamarnyart. N & W. Jansawan. 1996.** Acaricidal activity of peel oil of *Citrus* spp. on *Boophilus microplus*. Kaseisart J. Nat. Sci. 30: 112-117.
- Da Silva, M.L., J.G.S. Maia, J.C. Mourão, G. Pereira, M.C. Marx, O.R. Gottlieb & M.T. Magalhães. 1973.** Óleos essenciais da Amazônia. Acta Amaz. 3: 41.
- Dadang, R.S. & K. Ohsawa. 1998.** Lethal and antifeedant substance from rhizome of *Alpina galanga* SW (Zingiberaceae). Nippon Noyaku Gakkaishi 23: 304-307.
- Di Stasi, L.C. 1996.** Química de produtos naturais. p. 109-127. In Di Stasi, L.C. Plantas medicinais: arte e ciência - um guia de estudos multidisciplinar. Ribeirão Preto, Universidade Paulista Editora, 345 p.
- Estrela, J.L.V., M. Fazolin, V. Catani, M.R. Alécio & M.S. Lima. 2006.** Toxicidade de óleos essenciais de *Piper aduncum* e *Piper hispidinervum* em *Sitophilus zeamais*. Pesq. Agropecu. Bras. 41: 217-222.
- Ferreira, J.T.B., A.G. Correa & P.C. Vieira. 2001.** Produtos naturais no controle de insetos. São Carlos, Edufscar, 30p.
- Foungbe, S., F. Tillequin, M. Paris, H. Jacquemin & R.R. Paris. 1976.** A Piperaceae from Guiana, *Piper marginatum* Jacq. Ann. Pharm. Françaises 34: 339 - 343.
- Frischkorn, C. G. B. & H. E. Frischkorn. 1978.** Cercaricidal activity of some essential oils of plants from Brazil. Naturwissenschaften 65: 480 - 483.
- Furtado R.F., M.G.A. Lima, M.A. Neto, J.N.S. Bezerra & M.G.V. Silva. 2005.** Atividade larvicida de óleos essenciais contra *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). Neotrop. Entomol. 34: 843-847.
- Gao, C. & X. Zhang. 1997.** Fumigant insecticidal action of the essential oil from the seeds of the savin juniper (*Sabina vulgaris* ant.). Nanjing Nongye Daxue Xuebao 20: 50-53.
- Gonçalves, P. A. S. 1997.** Eficácia de inseticidas sintéticos e naturais no controle de tripses em cebola. Horti Bras. 15: 32-34.
- Hamilton, J.A., N.M. Endersby, P.M. Ridland, J. Zhang¹ & M. Neal. 2004.** Effects of cultivar on oviposition preference, larval feeding and development time of diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), on some *Brassica oleracea* vegetables in Victoria. Australian J. Entomol. 44: 284-287.
- Hou, Y., X. Pang & G. Liang. 2002.** Effect of azadirachtin against diamondback moth, *Plutella xylostella*. Kunchong Xuebao 45: 47-52.

- Hou, H., J. Feng, A. Chen & X. Zhang. 2002.** Studies on the bioactivity of essential oils against insects. *Tianran Chanwu Yanjiu Yu Kaifa* 14: 27-30.
- Huang, Z., F. C. Zhou, D. Xu, M. Afzal, M.H. Bashir, S. Ali & S. Freed. 2008.** Antifeedant activities of secondary metabolites from *Ajuga nipponensis* against *Plutella xylostella*. *Pakistan J. Bot.* 40: 1983-1992.
- Jbilou R., A. Ennabili, & F. Sayah. 2006.** Insecticidal activity of four medicinal plant extracts against *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *African J. Biotechnol.* 5: 36- 940.
- Justus, K.A. & B.K. Mitchell. 1999.** Reproductive morphology, copulation, and inter-population variation in the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). *Int. J. Insect. Morphol. Embryol.* 28: 231-244.
- Kaneda, N., J.M. Pezzouto, D.D. Soejarto, A.D. Kinghorn, N.R. Farnsworth, T. Santisuk, P. Tuchinda, J. Udchachon & V. Reutrakul. 1991.** Plant anticancer agents 48 new cytotoxic flavonoids from *Muntingia calabura* roots. *J. Nat. Prod.* 54:196-206.
- Kim S.I., J.H. Yi, J.H. Tak & Y.J. Ahn. 2004.** Acaricidal activity of plant essential oils against *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). *J. Vet. Parasitol.* 120: 297-304.
- Kitano, S., T. Iwasa, Y. Kigata, H. Sasaki, K. Suzuki & K. Hara. 1984.** Handbook of tropical plants and trees. Tokyo, Yokendo, 734 p.
- Lee, H. S. 2005.** Pesticidal constituents derived from piperaceae fruits. *Agric. Chem Biotechnol.* 48: 65-74.
- Li, M., X. Gao, Z. Gao, W. Zhao & Z. Sun. 2008.** Insecticidal activity of extracts from forty-eight plants including *Xanthium sibiricum* Patr. *Zhiwu Ziyuan Yu Huanjing Xuebao* 17: 33-37.
- Ling, B., M. Zhang & X. Pang 2003.** Biological activities of the volatile oil from *Chromolaena odorata* on fungi and insects and its chemical constituent. *Tianran Chanwu Yanjiu Yu Kaifa* 15: 183-187.
- Liu, S., M. Ji, L. Zhao, S. Wei, G. Wang, X. Li & L. Li. 2007.** Preliminary study on bioactivity of two plants extracts against three kinds of pests. *Xiandai Nongyao* 6: 27-29.
- Magdy I.E.M. & A.M.A. Samir. 2008.** Chemical composition and insecticidal potential of essential oils from Egyptian plants against *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Appl. Entomol. Zool.* 43: 599-607.
- Martins, J.E.C. 1998.** Plantas medicinais de uso na Amazônia; Belém, Centro de Estudos Jurídicos do Pará, 92p.

- Morais, A.A., H.S. Torquiho, M.C.B. Santos, R.O. Godoy & W.C. Melo 2001.** Estudo químico do óleo Essencial de *Melaleuca leucadendrom* L. (Mirtaceae). In: XI Jornada de Iniciação Científica da UFRRJ, Campus da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
- Moravvej G. & S. Abbar. 2008.** Fumigant toxicity of *Citrus* oils against cowpea seed beetle *Callosobruchus maculattus* (F.)(Coleoptera: Bruchidae). J. Biol. Sci. 11: 48-54.
- Moreira, C.S. & S. Moreira. 1991.** História da citricultura no Brasil. p. 1-18. In: Rodriguez, O., F.Viégas, J. Pompeu Júnior & A.A. Amaro. Citricultura brasileira. 2º ed. Campinas, Fundação Cargill. 492p.
- Morton, J.F. 1987.** Fruits of warm climates. Miami, 365 p.
- Nair, M.G. & B.A. Burke. 1990.** Antimicrobial *Piper* metabolite and related compounds Agric. Food Chem.38: 1093 - 1906.
- Oliveira, J.V., J.D. Vendramim & M.L. Haddad. 1999.** Bioatividade de pós vegetais sobre o caruncho do feijão em grãos armazenados. Rev. Agric. 74: 217-224.
- Ohsawa, K., S. Atsuzawa, T.Mitsui & I.Yamamoto. 1991.** Isolation and insectidal activity of three acetogenins from seeds of pond apple, *Annona glabra* L. Nippon Noyaku Gakkaishi 16: 93-96.
- Parmar, V.S., S.C. Jain, K.S. Bisht. R. Jain, P. Taneja, A. Jha, O.D. Tyagi, A.K. Prasad, J. Wengel, C.E. Olsen & P.M. Boll. 1997.** Phytochemistry of the genus *Piper*. Phytochemistry 46: 597-673.
- Pio, R.M., Figueiredo, J.O., Stuchi, E.S. & Cardoso, S.A.B. 2005.** Variedades De Copas De Citros.p. 37-60. In: Mattos Junior, D., R.M. Pio, J. D. De Negri & J. Pompeu Junior. Citros. Campinas, Instituto Agronômico e FUNDAG, 929p.
- Pio-Corrêa, M.; 1984.** Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro, Imprensa Nacional, 687p.
- Pino, J., A. Bello, A. Urquiola, J. Aguero & R. Marbot. 2002.** Chemical composition of cajuput oil (*Melaleuca leucadendra* L.) from Cuba. J. Essent. Oil Res. 14: 10-11.
- Ramos, L.S., M.L. da Silva, A.I.R. Luz, M.G.B. Zoghbi & J.G.S. Maia. 1986.** Essential oil of *Piper marginatum*. Nat. Prod. 49: 712 - 715.
- Sarfraz, M. & B.A. Keddie. 2005.** Conserving the efficacy of insecticides against *Plutella xylostella* (L.) (Lep., Plutellidae). J. Appl. Entomol. 129: 149-157.
- Shinoda, T., T. Nagao, M. Nakayama, H. Seriazawa, M. Koshika, H. Okabe & A. Kawai. 2002.** Identification of a triterpenoid saponin from a crucifer, *Babarea vulgaris*, as a feeding deterrent to the diamondback moth, *Plutella xylostella*. J. Chem. Ecol. 28: 587-599.

- Silva, C.J., L.C.A. Barbosa, U.R.A. Maltha, A.L. Pinheiro & F.M.D. Ismail. 2007.** Comparative study of the essential oils of seven *Melaleuca* (Myrtaceae) species grown in Brazil. *Flavour Fragr. J.* 22: 474-478.
- Simões, C.M. & V. Spitzer. 2004.** Óleos voláteis. P. 387-416. In: Simões, C. M. O., E. P.Schenkel, G. Gosmann, J. C. P. Mello, L. A. Mentz & P. R. Petrovick. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5. São Carlos, Ed. da UFSC, 1102p.
- Su, N., P.E. Jung, J.S. Vigo, J.G. Graham, F. Cabiess, H.H. Fong, J.M. Pezzuto & A.D. Kingorn. 2003.** Activity-guided isolation of the chemical constituents of *Muntingia calabura* using a quinone reductase induction assay. *Phytochemistry* 63: 335-341.
- Torres, A.L. 2000.** Efeito de extratos aquosos de plantas na biologia de *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lep.: Plutellidae). Dissertação de Mestrado em Fitossanidade, Recife, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 68p.
- Verkerk, R.H.J. & D.J. Wright. 1993.** Biological activity of neem seed kernel extracts and synthetic azadirachtin against larvae of *Plutella xylostella* L. *Pestic Sci.* 37: 83-91.
- Vickers, R.A., M.J. Furlong, A.White & J.K. Pell. 2004.** Initiation of fungal epizootics in diamondback moth populations within a large field cage: proof of concept of auto-dissemination. *Entomol. Exp. Appl.* 111: 7-17.
- Villas Boas, G.L., M. Castelo Branco & A.L. Guimarães. 1990.** Controle químico da traça das crucíferas no Distrito Federal. *Hortic. Bras.* 8: 10-11.
- Williamson E.M., C.M. Priestley & L.F. Burgess. 2007.** An investigation and comparison of the bioactivity of selected essential oils on human lice and house dust mites. *Fitoterapia* 78: 521-525.
- Wu, G. & S. Jiang 2002.** Field monitor of insecticide resistance and toxicological mechanism in *Plutella xylostella* (L.). China. *Zhiwu Baohu Xuebao* 29: 351-355.
- Yang, Z., Y. Deng, M. Hou, Y. Yu & Z. Kong. 2008.** Insecticidal ingredients of *Ginkgo biloba* L. Sarcotesta. *Ziran Kexueban* 26: 68-71.
- Yatagai, M., T.Ohira & K. Nakashima. 1998.** Composition, miticidal activity and growth regulation effect on radish seeds of extracts from *Melaleuca* species. *Biochem. Syst. Ecol.* 26: 713-722.
- Yi, C.G., M. Kwon, T.T. Hieu, Y.S. Jang & Y.J. Alun. 2007.** Fumigant toxicity of plant essential oils to *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidea) and *Costesia glomerata* (Hymenoptera: Braconidea). *Asia-Pacific Entpmol.* 10: 157-163.
- Zakaria, Z.A., M.R. Sulaiman, A.M. Mat Jais, M.N. Somchit, K.V. Jayaraman, G. Balakhrisan & F.C. Abdullah. 2006.** The antinociceptive activity of *Muntingia calabura*

aqueous extract and the involvement of L-arginine/nitric oxide/cyclic guanosine monophosphate pathway in its observed activity in mice. *Fundam. Clin. Pharmacol.* 20: 365–372.

Zakaria, Z.A., S. Mustapha, M.R. Sulaiman, A.M. Mat Jais, M.N. Somchit & F.C. Abdullah. 2007. The antinociceptive action of aqueous extract from *Muntingia calabura* leaves: the role of opioid receptors. *Med. Princ. Pract.* 16: 130-136.

Zeng, Q., Y. Cai, Z. Yan, X. Wang & Y. Wang. 2006. Studies on insecticidal activity and toxic component of essential oil from *Pogostemon cablin*. *Zhiwu Ziyuan Yu Huanjing Xuebao* 15: 21-25.

Zhang, M., B. Ling, C. Kong, X. Pang & G. Liang. 2003. Chemical components of volatile oil from *Mikania micrantha* and its biological activity on insects. *Yingyong Shengtai Xuebao* 14: 93-96.

CAPÍTULO 2

ATIVIDADE INSETICIDA DE EXTRATOS ORGÂNICOS DO FRUTO E DA FLOR DE *Muntingia calabura* L. (TILIACEAE) SOBRE *Plutella xylostella* (L.) (LEP.: PLUTELLIDAE)¹.

GUSTAVO N. BANDEIRA², CLÁUDIO A.G. DA CÂMARA² E REGIANDO BARROS³

² Laboratório de Produtos Naturais Bioativos, Departamento de Química, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, 52171-900 Recife, PE.

³ Departamento de Agronomia-Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, 52171-900 Recife, PE.

¹Bandeira, G.N., C.A.G.R. Camara & R. Barros. Atividade inseticida de extratos orgânicos do fruto e da flor de *Muntingia calabura* L. (Tiliaceae) no desenvolvimento de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). Pesquisa Agropecuária Brasileria.

RESUMO - A traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L.) é considerada uma das mais importantes pragas de plantios comerciais de brásicas do mundo. A procura por propriedades inseticidas em plantas medicinais tem crescido bastante nos últimos anos, tornando-se uma estratégia promissora na descoberta de novas espécies vegetais como agentes inseticidas. Nesse sentido, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de extratos hexânico (MCHFL e MCHFR) e etanólico (MCEFL e MCEFR) de flores e frutos de *Muntingia calabura* sobre o desenvolvimento larval de *P.xylostella* L através do método de imersão de disco de folhas. Os parâmetros biológicos avaliados foram: mortalidade, duração da fase larval e viabilidade pupal. Todos os extratos foram tóxicos, com destaque para o extrato MCEFL na concentração de 3 mg/mL, que promoveu 99,5% de mortalidade de larvas e CL₅₀ estimada de 1,63 mg/mL, seguidos, em ordem decrescente de atividade, pelos extratos MCHFR (CL₅₀ 5,11) e MCEFR (CL₅₀ 6,20 mg/mL), os quais não diferem estatisticamente entre si. Quanto a duração da fase larval, não houve diferença estatística entre os extratos de *M. calabura* e o controle, embora o extrato MCHFR (8,97 dias) tenha prolongado a fase larval em 1,62 dias em relação ao controle (7,35 dias). Quanto à mortalidade da fase pupal, apenas o extrato MCEFL na concentração de 3mg/mL inviabilizou completamente a emergência de adultos.

PALAVRAS-CHAVE: *Plutella xylostella*, *Muntingia calabura*, Extratos orgânicos, atividade inseticida

INSECTICIDAL ACTIVITY OF ORGANIC EXTRACT OF THE FRUITS AND FLOWERS OF
THE *Muntingia calabura* L. (TILIACEAE) AGAINST *Plutella xylostella* (L.) (LEP.:
PLUTELLIDAE).

ABSTRACT – The diomondback moth, *Plutella xylostella* (L.) is considered one of the most important pests of commercial plantations brásicas of the world. The demand for properties insecticides in medicinal plants has grown considerably in recent years, making it a promising strategy in the discovery of new plant species as insecticidal ativiecty. Accordingly, this study was to evaluate the effect of hexane extracts (MCHFL and MCHFR) and ethanol (MCEFL and MCEFR) of flowers and fruits of *Muntingia calabura* on the larval development of *P.xylostella* L by the leaf-dipping method. The biological evaluated parameters were: mortality, duration of the larval stage and pupal viability. All extracts were toxic, with the extract MCEFL the concentration of 3 mg / mL, which promoted 99.5% mortality of larvae and estimated LC50 of 1.63 mg / mL, followed in descending order of activity by MCHFR extracts (LC50 5.11) and MCEFR (LC50 6.20 mg / mL), which did not differ statistically among themselves. The duration of the larval stage, there was no statistical difference between the extracts of *M. calabura* and control, while the extract MCHFR (8.97 days) has extended the larval phase in 1.62 days in the control (7.35 days). As the pupal viability, only the extract MCEFL the concentration of 3mg/mL completely prevented the emergence of adults.

KEY WORDS: *Plutella xylostella*, *Muntigia calabura*, Organic extracts, insecticidal activity

Introdução

A traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae), é considerada uma das mais importantes pragas de plantios comerciais de crucíferas, causando danos diretos em cabeças de repolho com 100% de perdas (Barros *et al.* 1993, Castelo Branco & Gatehouse 2001).

A principal estratégia de controle dessa praga ainda é por meio do uso de inseticidas convencionais (Sarfraz & Keddie 2004), no entanto, seu uso indiscriminado tem agredido bastante o ecossistema, devido à elevada toxicidade, que tem afetado não só a praga alvo, como também, espécies benéficas. A utilização desses inseticidas tem facilitado o surgimento de gerações de insetos mais resistentes (Villas Boas *et al.* 1990, Gonçalves 1997, Torres 2000) e promovido a contaminação das culturas com resíduos tóxicos, colocando a saúde humana em risco (Oliveira *et al.* 1999). Como alternativa a esses inseticidas convencionais, plantas medicinais têm sido investigadas, com relatos de toxicidade em vários artrópodes, muito antes do advento dos inseticidas organossintéticos (Martins *et al.* 1998).

A busca por propriedades inseticidas em plantas medicinais tem crescido bastante nos últimos anos, tornando-se uma forma promissora na descoberta de novas espécies vegetais como agentes inseticidas. Recentemente, estudos com extratos orgânicos a partir de plantas com propriedades medicinais têm sido reportados na literatura revelando propriedades inseticidas, tais como, mortalidade (Boiça Junior *et al.* 2005, Li *et al.* 2008, Rani *et al.* 1999) e deterrência de alimentação (Liu *et al.* 2007, Zhang *et al.* 2007, Lee 2005, Yuan *et al.* 2004, Hou *et al.* 2002, Shinoda *et al.* 2002) em larvas, repelência (Verkerk & Wright 1991, Hou *et al.* 2002) e infertilidade em adultos de *P. xylostella* (Gu *et al.* 2004).

A potencialidade de causar danos que a *P. xylostella* possui, somada ao fato que, cada vez mais, populações resistentes aos inseticidas sintéticos estão surgindo (Wu & Jieng 2002, Bhattacharya *et al.* 2002), tem levado pesquisadores de várias localidades do mundo a procurar

por novas alternativas como fontes de compostos com potencial inseticida em espécies botânicas pertencentes a diferentes gêneros para o controle dessa praga. Entre as espécies que tem seu uso na medicina popular em várias locais do mundo, destaca-se *Muntingia calabura*, que pertence à família Tiliaceae.

Calabura ou pau-seda é a denominação popular, no Brasil, para espécie *M. calabura*. É uma planta nativa das Antilhas, que foi introduzida no Brasil pelo Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) em 1962 (Lopes Mora *et al.* 1999). Embora não seja nativa da América do Sul, essa planta é amplamente cultivada e utilizada em planejamento urbano na decoração de ruas, avenidas e praças em diferentes regiões do Brasil. Na medicina popular, as infusões das folhas são utilizadas para reduzir perturbações gástricas e o inchaço da próstata (Morton 1987). No Brasil, as flores são utilizadas, em forma de chá, para aliviar dores de cabeça e os primeiros sintomas do resfriado e possuem ação antiséptica e efeitos antiespasmódicos (Pio Correa 1984). Os frutos são bastante apreciados como alimento *in natura* ou utilizados na preparação de geléias.

Há relatos na literatura de estudos químicos e biológicos das folhas e raízes de *M. calabura*. Kaneda (1991) e Su *et al.* (2003) estudaram a propriedade antitumoral do extrato orgânico das raízes e folhas, respectivamente. Além dessa propriedade, o extrato das folhas apresentou propriedade antinoceptiva contra estímulos nocivos induzidos quimicamente e termicamente (Zakaria *et al.* 2006, Zakaria *et al.* 2007). Apesar de haver trabalhos publicados sobre a comprovação da eficácia, na medicina popular, dos extratos orgânico e/ou aquoso de folhas e flores de *M. calabura* (Kaneda *et al.* 1991, Zakaria *et al.* 2007, Su *et al.* 2003), nenhum registro foi encontrado, até o momento, na literatura referente à ação biológica de extratos orgânicos dos frutos e flores sobre *P. xylostella*, portanto, este trabalho tem como objetivo avaliar, em condições de laboratório, o efeito inseticida, de extratos hexânicos e etanólicos dos frutos e flores de *M. calabura* sobre larvas de *P. xylostella*.

Material e Métodos

Material Vegetal. Flores e frutos foram coletados no período da manhã em julho de 2008, no campus da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). A planta foi identificada pela Dra. Carmen Zickel da área de Botânica do Departamento de Biologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco e uma exsicata foi depositada no Herbário Vasconcelos Sobrinho do Departamento de Biologia da UFRPE sob o número 2816.

Obtenção dos Extratos. Ao todo foram preparados quatro extratos a partir de duas matrizes vegetais de *M. calabura*. Dois extratos das flores e dois dos frutos com propriedades lipofílica e hidrofílica. A técnica utilizada para obtenção dos extratos foi maceração à frio com solventes de diferentes polaridades: lipofílico (hexano) e hidrofílico (etanol). Flores (500g) foram secas à temperatura ambiente, trituradas, pesadas e submetidas às extrações sucessivas, inicialmente maceradas com hexano por três dias, sendo o solvente filtrado e evaporado à pressão reduzida a cada 24h. O extrato hexânico das flores obtido foi denominado de MCHF. Para obtenção do extrato etanólico das flores, utilizou-se a mesma matriz vegetal, que foi macerada com hexano. O mesmo procedimento foi usado para obtenção do extrato etanólico das flores e foi denominado de MCEFL. Os extratos hexânico e etanólico dos frutos foram extraídos pelo mesmo procedimento descrito acima para MCHFL e MCEF e foram denominados de MCHFR e MCEFR, respectivamente. Os extratos foram acondicionados em recipientes de vidro, pesados e estocados à 8° C até serem utilizados nos bioensaios. Os percentuais dos extratos foram calculados com base no peso fresco das matrizes vegetais e nos pesos dos extratos obtidos.

Criação de *P. xylostella*. A criação foi estabelecida a partir de pupas obtidas junto à criação-estoque mantidas no Laboratório de Biologia de Insetos da UFRPE, nas condições de temperatura de 25±2°C e umidade relativa de 70±15%, segundo metodologia descrita por Barros (1998).

Os adultos emergidos foram acondicionados em gaiolas plásticas teladas, contendo um recipiente com esponja embebida em água, cujo objetivo era manter a umidade relativa adequada para os insetos no interior da gaiola. Sobre a esponja foi colocado um disco de papel filtro (\varnothing 8,0cm) e sobre o mesmo, nas mesmas dimensões, um disco de folha de couve manteiga, *B. oleracea* var. *acephala*, para a realização das posturas. Os adultos foram alimentados com solução de mel a 10%, fornecida em espuma de poliuretano acoplada em um orifício circular na parte superior da gaiola. Diariamente, os discos de folha de couve com as posturas, foram transferidos para placas de Petri datadas, onde permaneceram até a eclosão das larvas. Em seguida, os discos contendo as larvas foram colocados em recipientes plásticos retangulares contendo folhas de couve manteiga, provenientes de cultivo orgânico, as quais serviram de alimento. As larvas permaneceram nestes recipientes, onde as folhas de couve eram trocadas diariamente até atingirem a fase de pupa, quando eram recolhidas em tubos de ensaio vedados com plástico de PVC contendo microorifícios para circulação de ar.

As pupas foram armazenadas sob temperatura ambiente até a emergência de novos adultos, os quais eram transferidos para as gaiolas anteriormente mencionadas dando origem a geração F1. Esse procedimento foi efetuado por sucessivas gerações, de modo a assegurar a quantidade de adultos necessários para a execução dos experimentos.

Bioensaios. Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Biologia de Insetos/Resistência de Plantas a Insetos do Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), com larvas de *P. xylostella* à $30 \pm 0,7^\circ\text{C}$, $67 \pm 2,7\%$ UR e fotofase de 12 horas. O método utilizado foi o de imersão de disco de folha adaptado de Park *et al.* (2002). Discos de folhas de couve manteiga (*Brassica oleracea* var. *acephala*) foram usadas nos experimentos como suporte dos extratos e alimento das larvas de *P. xylostella*. Os parâmetros avaliados foram: mortalidade, duração da fase larval e viabilidade pupal. Uma alíquota de 1g dos

extratos hexânico e etanólico das flores e frutos de *M. calabura* foi suspensa em 19,9mL de água destilada e 0,1mL do dispersante Tween 80. Essa solução foi agitada até a dissolução completa do extrato, em seguida, filtrada com papel de filtro Whatman No. 1, obtendo-se assim, a solução estoque para preparação das diferentes concentrações usadas nos bioensaios. A partir da solução estoque, foram feitas diluições para obtenção das soluções de imersão (50mL) nas concentrações desejadas. As concentrações utilizadas variaram de 0,5 mg/mL a 25 mg/mL. Dentro deste intervalo foram obtidas faixas mais estreitas de respostas para serem utilizadas na obtenção das concentrações letais médias (CL_{50}), no entanto, algumas concentrações foram suprimidas na análise de probitos para melhor se adequar ao modelo.

O bioensaio para avaliar a mortalidade, duração da fase larval e viabilidade pupal foi baseado no método descrito por Boiça Júnior *et al* (2005) com algumas modificações. Discos de folha de couve manteiga (*B. oleracea* var. *acephala*), proveniente de cultivo orgânico, com 8 cm de diâmetro foram imersas, por 10 seg, nas soluções de diferentes concentrações dos extratos MCHF, MCHFR, MCEF e MCEF. Após evaporação do solvente, por 1 h ao ar livre, os discos de folhas foram transferidos, individualmente, para placas de Petri de 9 cm de diâmetro, contendo no fundo, um disco de papel filtro (8cm) umedecido com água destilada. Em cada placa, foram confinadas, nos discos de folha, 10 lagartas recém-eclodidas (entre 0 e 12h de idade). As placas foram vedadas com 'filme' plástico transparente PVC para evitar fuga das larvas. Os testes foram conduzidos à temperatura de $30 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de $70\% \pm 10$ e fotofase de 12h. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 5 tratamentos e 3 repetições.

A avaliação do experimento foi iniciada 72h após a instalação e as demais com intervalo de 24h. Para avaliar a mortalidade e duração da fase larval, observou-se o número de lagartas sobreviventes em cada tratamento. Após a primeira avaliação, os discos de folha, não tratados, foram trocados em um intervalo de 48h até que as larvas atingissem o estágio de pupa. Nessa fase

do experimento, as larvas que se transformaram em pupas foram transferidas individualmente para placas de “Teste ELISA” para avaliação de sua mortalidade.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo método de Scott & Knott com intervalo de confiança a 95% de probabilidade, utilizando o programa SAS (SAS Institute, 2004) e também por meio de regressão de probit (Finney 1971), utilizando o programa Polo (LeOra Software 1987). Foram determinadas as CL_{50} (concentração que causa mortalidade de 50% da população) com os intervalos de confiança a 95% de probabilidade (Robertson & Preisler 1991).

Resultados e Discussão

Os rendimentos dos extratos hexânicos e etanólicos obtidos de *M. calabura*, variaram de acordo com a parte da planta e o tipo de solvente utilizado. Os maiores rendimentos foram observados para os extratos etanólicos da flor (MCEFL) com 45,1% e do fruto (MCEFR) com 25,0%, seguidos dos extratos hexânicos da flor (MCHFL) com 12,8% e do fruto (MCHFR) com 9,1%.

Todos os extratos testados foram tóxicos às larvas de *P. xylostella*. A toxicidade observada variou de acordo com a matriz vegetal e o solvente utilizado. As larvas de *P. xylostella* foram mais sensíveis aos extratos de MCEFL, que promoveu 99,57% de mortalidade, seguido por MCEFR (89,53%) e MCHFR (87,09%) (Tabela 1). Os valores estimados das CL_{50} para os extratos obtidos de *M. calabura* são mostrados na Tabela 2 com seus respectivos intervalos de confiança. Os valores da CL_{50} estimados para os extratos de MCHFR (CL_{50} 5,11 mg/mL) e MCEFR (CL_{50} 6,20 mg/mL), também não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade. Quanto ao potencial inseticida observados para os extratos e considerando as CL_{50} estimadas,

observou-se que o extrato MCEFL (1,63mg/mL) foi 11,2 vezes mais tóxico do que MCHFL (CL₅₀ 18,30 mg/mL), e 3 vezes mais tóxico do que os extratos dos frutos (MCEFR e MCHFR).

Extratos de diferentes espécies vegetais têm sido avaliados quanto a sua toxicidade contra larvas de *P. xylostella*. Em geral, os resultados obtidos para os extratos de *M. calabura* foram mais tóxicos, quando comparados aos reportados na literatura para extratos orgânicos (Li *et al.* 2008, Rani *et al.* 1999, Yang *et al.* 2008) e aquoso (Boiça Junior *et al.* 2005; Torres *et al.* 2001).

No presente estudo, as larvas de *P. xylostella* foram mais sensíveis ao extrato MCEFL na concentração de 3,0 mg/mL, que causou 99,57 % de mortalidade e uma CL₅₀ estimada de 1,63 mg/ml. Quantidades maiores de extratos das espécies: *Enterolobium contortisillidium* (fruto), *Nicotiana tabacum* (folha), *Sapindus saponaria* (fruto) e *Trichilia pallida* (ramos) foram utilizadas por Boiça Junior *et al.* (2005) para observar 100% de mortalidade larval, quando alimentadas por discos de couve (*B. oleracea* var. *acephala*) tratadas com 10% de extrato aquoso. O mesmo percentual de mortalidade foi observado por Torres *et al.* (2001) para extratos aquosos de sementes e casca de *Azadirachta indica* A. Juss. e *Aspidosperma pyrifolium* Mart., respectivamente.

Recentemente, Li *et al.* (2008) mostraram que a fração acetônica do extrato clorofórmico, na concentração de 50g/L, de *Xanthium sibiricum* promoveu 91,67% de mortalidade larval, ou seja, cerca de 15 vezes menos tóxica do que o extrato MCEFL.

Em outro estudo, Rani *et al.* (1999), observaram 100% de mortalidade com extrato etanólico dos ramos de *Melia azaderach* a uma concentração superior a utilizada no presente estudo, ou seja, 7,5% sobre larvas de *P. xylostella*.

Yang *et al.* (2008) reportaram a ação inseticida contra larvas de *P. xylostella* para dois constituintes químicos ativos isolados do fruto de *Ginkgo biloba*, cujas CL₅₀ estimadas para bilobol (CL₅₀ = 2,0613 g/L) e ácido ginkgólico (CL₅₀ = 4,6002 g/L) foram respectivamente 1,3 e

2,8 vezes maior do que a estimada pra o extrato MCEFL avaliado no presente trabalho. Em outro estudo, também com substâncias isoladas, Lee (2005) reportaram a ação inseticida sobre larvas de *P. xylostella* de dois constituintes químicos isolados a partir do fruto de uma Piperaceae (*Piper longum*): pipemonalina e piperoctadecalidina. As CL_{50} estimadas para estas substâncias foram 125 e 95,5 ppm, respectivamente. Embora essa atividade, pareça ser superior à observada para o extrato MCEFL, o grande número de substância que constitui os extratos de *M. calabura* usado nesse trabalho, provavelmente tenha interferido na atividade inseticida, minimizando a ação do princípio ativo e do extrato como um todo.

Em relação aos resultados da duração da fase larval, não houve diferença estatística entre os extratos de *M. calabura* e o controle, embora o extrato MCHFR (8,97 dias) tenha prolongado a fase larval em 1,62 dias em relação ao controle (7,35 dias) (Tabela 3). Apesar de os tratamentos não diferirem estatisticamente quanto à duração da fase larval, observou-se uma correlação direta ($r = 0,71$; $P < 0,05$) entre essa duração e a mortalidade de larvas, sendo que os extratos que causaram maior mortalidade, também causaram aumento na fase larval. Esse fato também foi observado por Boiça junior *et al.* (2005) e Torres *et al.* (2001). Uma explicação plausível para esse resultado está relacionada com a diminuição da alimentação das larvas, por existir possivelmente substâncias fagoinibidoras nos extratos (Hernandez & Vendramim 1997). Por fim, os resultados obtidos para os extratos de *M. calaburas* referentes à duração da fase larval foram inferiores àqueles reportados para extratos aquosos das plantas testadas por Boiça junior *et al.* (2005) e Torres *et al.* (2001).

Os resultados obtidos para mortalidade da fase pupal dos extratos de *M. calabura* são mostrados na Tabela 4, com ênfase para o extrato de MCEFL que inviabilizou completamente a emergência de adultos, seguido dos extratos MCHFR, MCEFR e MCHFL. Esses resultados estão de acordo com os reportados por Torres *et al.* (2001). Analisando se há alguma influência entre

esses dados com o da mortalidade larval, observou-se uma correlação direta entre eles ($r = 0,84$; $P < 0,05$). Ou seja, os extratos que causaram maior mortalidade, também causaram maior mortalidade da pupal. Por outro lado, uma fraca correlação inverça ($- 0,37$; $P < 0,05$) entre a mortalidade da fase pupal e a duração da fase larval foi observada. O aumento da fase larval quase não influencia a mortalidade da fase pupal.

Fatores fisiológicos para sobrevivência vegetal pode ser uma possível explicação para a menor atividade observada para os extratos dos frutos (MCHFR e MCEFR). No estágio de floração, a planta, provavelmente, produz mais substâncias ativas do que na frutificação. Nos frutos, as sementes já estão completando a sua maturidade fisiológica, não necessitando tanto de mecanismos de defesa contra herbivoria como nas flores, que sua persistência é essencial para a reprodução da planta.

Com relação aos resultados obtidos para os extratos avaliados nesse trabalho, com exceção do extrato MCHFL, que mostrou baixa toxicidade, sugerem que esses extratos são constituídos de substâncias bioativas, o que vem confirmar o efeito deletério dos mesmos sobre a traça. Por outro lado, nos vários parâmetros avaliados, verificou-se que, dentre as estruturas vegetais de *M. calabura* testadas, a maior eficiência foi constatada com extrato etanólico obtidos a partir das flores (MCEFL), vindo a seguir, em ordem decrescente de atividade inseticida, os extratos MCHFR e MCEFR. Estes dados indicam que é nas flores dessa planta que se concentra o ou os princípios ativos que atuam contra *P. xylostella*.

Os resultados desse estudo sugerem que o extrato MCEFL pode ser usado para o controle de larvas de *P. xylostella*. No entanto, para uso prático, uma avaliação de custo e benefícios são requeridos, bem como estudos fitoquímicos para o isolamento e identificação do(s) composto(s) responsáveis pela atividade inseticida, com realização de novos bioensaios com esses compostos

para comprovação da atividade observada no extrato bruto e preparação de formulados a partir de frações enriquecidas com o princípio ativo.

Literatura Citada

- Barros, R. 1998.** Efeito de cultivares de repolho *Brassica oleracea* var. *capitata* (L.) na biologia da traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L., 1758) e do parasitóide *Trichogramma pretiosum* Riley. 1879. Tese, Ribeirão Preto, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo. 98 p.
- Bhattacharya, R.C., N.Viswakarma, S.R. Bhat, P.B. Kirti & V.L. Chopra. 2002.** Development of insect-resistant transgenic cabbage plants expressing a synthetic cryII(B) gene from *Bacillus thuringiensis*. *Curr. Sci.* 83: 146-150.
- Boiça Júnior, A.L., C.A.M. Medeiros, A.L. Torres & Chagas N.R. Filho. 2005.** Efeito de extratos aquosos de plantas do desenvolvimento de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) em couve. *Arq. Inst. Biol.* 72: 45-50.
- Castelo Branco, M. & A. Gatehouse. 2001.** Survey of insecticide susceptibility in *Plutella xylostella* (L.) (Lep.: Yponomeutidae) in the Federal District, Brazil. *Neotrop. Entomol.* 30:27-332.
- Finney, D.J. 1971.** Probit analysis, Cambridge, Cambridge University Press, 337 p.
- Gonçalves, P. A. S. 1997.** Eficácia de inseticidas sintéticos e naturais no controle de tripes em cebola. *Hortic. Bras.* 15: 32-34.
- Gu, W., Y. He, T. He, X. Pang, & J. Xian, 2004.** Bioactivity of *Myoporum bontioides* extracts to *Plutella xylostella*. *Yingyong Shengtai Xuebao* 15: 1171 – 1173.
- Hernandez, R.C. & J.D. Vendramim. 1997.** Avaliação da bioatividade de extratos aquosos de Meliaceae sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). *Rev. Agric.* 72: 305 - 318.
- Hou, H., J. Feng, A. Chen & X. Zhang. 2002.** Studies on the bioactivity of essential oils against insects. *Tianran Chanwu Yanjiu Yu Kaifa* 14: 27-30.
- Kaneda, N., J.M. Pezzouto, D.D. Soejarto, A.D. Kinghorn, N.R. Farnsworth, T. Santisuk, P. Tuchinda, J. Udchachon & V. Reutrakul. 1991.** Plant anticancer agents 48 new cytotoxic flavonoids from *Muntingia calabura* roots. *J. Nat. Prod.* 54:196-206.
- Lee, H. S. 2005.** Pesticidal constituents derived from piperaceae fruits. *Agric. Chem Biotechnol.* 48: 65-74.

- LeOra Software. 1987.** POLO-PC: a user's guide to Probit Logit analysis. Leora Software, Berkely, CA.
- Li, M., X. Gao, Z. Gao, W. Zhao & Z. Sun. 2008.** Insecticidal activity of extracts from forty-eight plants including *Xanthium sibiricum* Patr. Zhiwu Ziyuan Yu Huanjing Xuebao 17: 33-37.
- Ling, B., M. Zhang & X. Pang 2003.** Biological activities of the volatile oil from *Chromolaena odorata* on fungi and insects and its chemical constituent. Tianran Chanwu Yanjiu Yu Kaifa 15: 183-187.
- Liu, S., M. Ji, L. Zhao, S. Wei, G. Wang, X. Li & L. Li. 2007.** Preliminary study on bioactivity of two plants extracts against three kinds of pests. Xiandai Nongyao 6: 27-29.
- Lopes Mora, W.L., D.R. Herbst & S.H. Sohmer. 1999.** Manual of the flowering plants of South America. Revised Edition. Santiago, University of Chile Press, 588p.
- Martins, J.E.C. 1998.** Plantas medicinais de uso na Amazônia; Belém, Centro de Estudos Jurídicos do Pará, 92p.
- Oliveira, J.V., J.D. Vendramim & M.L. Haddad. 1999.** Bioatividade de pós vegetais sobre o caruncho do feijão em grãos armazenados. Rev. Agric. 74: 217-224.
- Park, B., S. Lee, W. Choi, C. Jeong, C. Song & K. Cho. 2002.** Insecticidal and acaricidal activity of piperonaline and piperoctadecalidine derived from dried fruits of *Piper longum* L. Crop Prot. 21: 249-251.
- Pio-Corrêa, M.; 1984.** Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro, Imprensa Nacional. 687p.
- Rani, M., P. Suhag, R. Kumar, R. Singh & S.B. Kalidhar. 1999.** Chemical components and biological efficacy of *Melia azedarach* stems. J. Med. Aromat. Pl. Sci. 21: 1043-1047.
- Robertson, J.L. & H.K. Preisler. 1992.** Pesticide bioassays with arthropods. London, CRC Press, 123p.
- Sarfraz, M. & B.A. Keddie. 2005.** Conserving the efficacy of insecticides against *Plutella xylostella* (L.) (Lep., Plutellidae). J. Appl. Entomol. 129: 149-157.
- SAS institute. 2004.** OnlineDoc[®]. Version 8.01. Statistical analysis System Institute, Cary, NC.
- Shinoda, T., T. Nagao, M. Nakayama, H. Seriazawa, M. Koshika, H. Okabe & A. Kawai. 2002.** Identification of a triterpenoid saponin from a crucifer, *Babarea vulgaris*, as a feeding deterrent to the diamondback moth, *Plutella xylostella*. J. Chem. Ecol. 28: 587-599.

- Torres, A.L. 2000.** Efeito de extratos aquosos de plantas na biologia de *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lep.: Plutellidae). Dissertação de Mestrado em Fitossanidade, Recife, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 68p.
- Torres, A.L. R. & Barros & J.V. Oliveira. 2001.** Efeito de extratos aquosos de plantas do desenvolvimento de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). Neotrop. Entomol. 30: 151 - 156.
- Verkerk, R.H.J. & D.J. Wright. 1993.** Biological activity of neem seed kernel extracts and synthetic azadirachtin against larvae of *Plutella xylostella* L. Pestic. Sci. 37: 83-91.
- Villas Boas, G.L., M. Castelo Branco & A.L. Guimarães. 1990.** Controle químico da traça das crucíferas no Distrito Federal. Hortic. Bras. 8: 10-11.
- Wu, G. & S. Jiang 2002.** Field monitor of insecticide resistance and toxicological mechanism in *Plutella xylostella* (L.). China. Zhiwu Baohu Xuebao 29: 351-355.
- Yuan, J., L. Lu, B. Cong, Z. Zhang & F. Wang. 2004.** Biological activity of alkaloids from *Sophora flavescens* Ait to pests. Nongyao 43: 284-287.
- Zhang, M., B. Ling, C. Kong, X. Pang & G. Liang. 2003.** Chemical components of volatile oil from *Mikania micrantha* and its biological activity on insects. Yingyong Shengtai Xuebao 14: 93-96.

Tabela 1. Percentual de mortalidade larval de *Plutella xylostella* alimentadas com folhas de couve tratadas com extrato etanólico e hexânico da flor e fruto de *Muntingia calabura* em diferentes concentrações.

| Extrato | Concentração (mg/mL) | Mortalidade (%) ¹ | Espécie | Concentração (mg/mL) | Mortalidade (%) ¹ |
|---------|----------------------|------------------------------|---------|----------------------|------------------------------|
| MCEFL | Controle | 9,0 ± 1,21 a | MCEFR | Controle | 8,5 ± 0,89 a |
| | 0,5 | 27,9 ± 0,87 b | | 1,0 | 13,6 ± 0,87 b |
| | 1,0 | 48,7 ± 1,25 c | | 2,0 | 18,0 ± 1,00 b |
| | 1,5 | 63,0 ± 1,52 d | | 4,0 | 38,0 ± 1,76 c |
| | 2,0 | 91,8 ± 0,97 e | | 6,0 | 62,1 ± 1,52 d |
| | 3,0 | 99,6 ± 2,64 e | | 8,0 | 89,5 ± 2,01 e |
| MCHFL | Controle | 8,01 ± 2,91 a | MCHFL | Controle | 14,5 ± 2,01 a |
| | 2,5 | 11,1 ± 1,13 a | | 2,0 | 19,5 ± 2,50 b |
| | 5,0 | 18,1 ± 1,40 b | | 4,0 | 31,1 ± 3,29 c |
| | 10,0 | 27,6 ± 2,37 c | | 6,0 | 46,5 ± 2,91 c |
| | 15,0 | 40,8 ± 1,46 d | | 10,0 | 62,2 ± 2,65 d |
| | 25,0 | 71,6 ± 3,04 e | | 15,0 | 87,1 ± 2,87 e |

MCEFL = Extrato etanólico da flor; MCEFR = Extrato etanólico do fruto; MCHFL = extrato hexânico da flor; MCHFR = Extrato hexânico do fruto.

¹Médias seguidas pela mesma letra, no mesmo tratamento não diferem entre si pelo método de Scott & Knott a 5% de probabilidade.

Tabela 2. Concentração letal média (CL_{50}) e razão de toxicidade de extratos hexênico e etanólico de *Muntingia calabura* sobre larvas de *Plutella xylostella* alimentadas com folhas de couve tratadas com diferentes concentrações dos distintos extratos.

| Extrato | n | CL_{50} - mg/mL (I.C. a 95%) | Equação (I.C. 95% para β) | x^2 | P | RT |
|---------|-----|-----------------------------------|-------------------------------------|-------|------|-------|
| MCEFL | 480 | 1,6 (1,17 – 1,93) | $y = 2,73 + 3,57\log x$ | 5,72 | 0,88 | 11,23 |
| MCEFR | 480 | 5,1 (4,39 – 5,78) | $y = 3,50 + 1,24\log x$ | 4,43 | 0,79 | 3,58 |
| MCHFL | 480 | 18,3 (17,09 – 19,76) | $y = 5,30 + 3,19\log x$ | 3,02 | 0,77 | 1,00 |
| MCHFR | 480 | 6,2 (5,40 – 7,19) | $y = 4,21 + 2,92\log x$ | 4,25 | 0,75 | 2,95 |

MCEFL = Extrato etanólico da flor; MCEFR = Extrato etanólico do fruto; MCHFL = extrato hexênico da flor; MCHEFR = Extrato hexênico do fruto. n = Número de insetos testados, RT = Razão de toxicidade entre os extratos.

Tabela 3. Média da duração da fase larval de *Plutella xylostella* alimentadas com folhas de couve tratadas com extrato etanólico e hexânico da flor e fruto de *Muntingia calabura* em diferentes concentrações.

| Extrato | Concentração (mg/mL) | Duração larval (dias) | Extrato | Concentração (mg/mL) | Duração larval (dias) |
|---------|----------------------|-----------------------|---------|----------------------|-----------------------|
| MCEFL | Controle | 8,0 ± 1,41 a | MCEFR | Controle | 9,2 ± 1,76 a |
| | 0,5 | 8,3 ± 1,85 a | | 1,0 | 9,3 ± 1,78 a |
| | 1,0 | 7,8 ± 0,69 a | | 2,0 | 9,1 ± 0,68 a |
| | 1,5 | 7,3 ± 1,82 a | | 4,0 | 10,3 ± 1,19 a |
| | 2,0 | 7,5 ± 0,50 a | | 6,0 | 10,6 ± 0,27 a |
| | 3,0 | 8,6 ± 3,52 a | | 8,0 | 10,4 ± 0,75 a |
| MCHFL | Controle | 8,5 ± 0,31 a | MCHFL | Controle | 7,4 ± 3,01 a |
| | 2,5 | 7,8 ± 1,18 a | | 2,0 | 7,7 ± 2,11 a |
| | 5,0 | 8,5 ± 1,47 a | | 4,0 | 7,7 ± 1,23 a |
| | 10,0 | 9,1 ± 1,03 a | | 6,0 | 8,7 ± 0,53 a |
| | 15,0 | 8,9 ± 0,81 a | | 10,0 | 8,6 ± 0,74 a |
| | 25,0 | 9,4 ± 1,23 a | | 15,0 | 9,0 ± 1,12 a |

MCEFL = Extrato etanólico da flor; MCEFR = Extrato etanólico do fruto; MCHFL = extrato hexânico da flor; MCHFR = Extrato hexânico do fruto.

Médias seguidas pela mesma letra, no mesmo tratamento não diferem entre si pelo método de Scott & Knott à 5% de probabilidade.

Tabela 4. Mortalidade da fase pupal de *Plutella xylostella* alimentadas com folhas de couve tratadas com extrato etanólico e hexânicos da flor e do fruto de *Muntingia calabura* em diferentes concentrações.

| Extrato | Concentração (mg/mL) | Duração larval (dias) | Extrato | Concentração (mg/mL) | Duração larval (dias) |
|---------|----------------------|-----------------------|---------|----------------------|-----------------------|
| MCEFL | Controle | 12,4 ± 0,36 a | MCEFR | Controle | 2,3 ± 0,40 a |
| | 0,5 | 14,6 ± 0,76 a | | 1,0 | 4,8 ± 0,63 b |
| | 1,0 | 19,6 ± 2,05 a | | 2,0 | 5,4 ± 1,56 b |
| | 1,5 | 11,8 ± 0,67 a | | 4,0 | 5,2 ± 2,72 c |
| | 2,0 | 87,5 ± 1,72 b | | 6,0 | 2,5 ± 3,73 c |
| | 3,0 | 100,0 ± 3,89 c | | 8,0 | 24,5 ± 2,36 d |
| MCHFL | Controle | 11,5 ± 0,36 a | MCHFL | Controle | 12,4 ± 0,36 a |
| | 2,5 | 8,2 ± 0,64 a | | 2,0 | 13,6 ± 0,67 a |
| | 5,0 | 7,9 ± 1,67 a | | 4,0 | 20,0 ± 1,72 b |
| | 10,0 | 8,5 ± 2,68 a | | 6,0 | 27,8 ± 2,78 c |
| | 15,0 | 6,3 ± 3,7 a | | 10,0 | 52,5 ± 3,89 d |
| | 25,0 | 10,6 ± 2,82 a | | 15,0 | 61,4 ± 2,65 d |

MCEFL = Extrato etanólico da flor; MCEFR = Extrato etanólico do fruto; MCHFL = extrato hexânico da flor; MCHFR = Extrato hexânico do fruto.

¹Médias seguidas pela mesma letra, no mesmo tratamento não diferem entre si pelo método de Scott & Knott a 5% de probabilidade.

CAPITULO 3

ATIVIDADE INSETICIDA DE ÓLEOS ESSENCIAIS NO DESENVOLVIMENTO DE

Plutella xylostella L. (LEP.: PLUTELLIDAE)².

GUSTAVO N. BANDEIRA², CLÁUDIO A.G. DA CÂMARA² E REGIANDO BARROS³

² Laboratório de Produtos Naturais Bioativos, Departamento de Química, Universidade Federal

Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, 52171-900 Recife, PE.

³ Departamento de Agronomia-Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua

Dom Manoel de Medeiros, s/n, 52171-900 Recife, PE.

¹ Bandiera, G.N., C.A.G. Camara & R. Barros. Atividade insetisida de óleos essenciais no desenvolvimento de *Plutella xylostella* L. (Lepidóptera Plutellidae). Anais da Academia Brasileira de Ciências.

RESUMO - A potencialidade de causar danos que a *P. xylostella* possui, somada ao fato que, cada vez mais, populações resistentes aos inseticidas sintéticos estão surgindo, tem levado pesquisadores de várias localidades do mundo a procurar por novas alternativas aos inseticidas convencionais para o controle dessa praga. Nesse sentido, este trabalho teve como objetivo avaliar a ação de óleos essenciais da casca de *Citrus reticulata* x *C. sinensis*, *C. reticulata* e óleo da folha de *Piper marginatum* e *Melaleuca leucadendra* sobre o desenvolvimento larval de *P.xylostella* através do método de imersão de disco de folhas. Todos os óleos testados foram tóxicos às larvas de *P. xylostella*. O mais tóxico foram os óleos de *Citrus*, que causaram mortalidade acima de 85% com uma concentração menor (2ppm) do que as utilizadas para os óleos de *P.marginatum* (4ppm) e *M. leucadendra* (7ppm), que causaram mortalidade acima de 80%. As CL₅₀ estimadas para os de *Citrus* (0,55ppm para *C. reticulata* e CL₅₀ 0,78ppm para *C. sinensis* x *C. reticulata*) não diferem estatisticamente entre si. O mesmo foi observado entre os óleos de *P.marginatum* e *M. leucadendra*. Por outro lado, A CL₅₀ do óleo de *Citrus reticulata* foi cerca de 5 vezes menor do que a CL₅₀ estimada para o óleo de *M. leucadendra*. O melhor resultado observado para duração da fase larval foi para o óleo de *C. reticulata* x *C. sinensis*, que apresentou um incremento de 2,2 dias com relação ao controle, seguidos do óleo de *C. reticulata*, com 1,4 dias. Esses resultados mostram que os óleos obtidos da casca de *C. reticulata* e *C. sinensis* x *C. reticulata* são produtos em potencial que podem ser usados para o controle de larvas de *P. xylostella*.

PALAVRAS-CHAVE: Óleo essencial, *Citrus* sp, *Piper marginatum*, *Melaleuca leucadendra*, atividade inseticida, *Plutella xylostella*

INSECTICIDAL ACTIVITY OF ESSENTIAL OILS ON *Plutella xylostella* L. (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE).

ABSTRACT - The potential to cause damage to the *P. xylostella* has increased to the fact that, increasingly, people are resistant to synthetic insecticides, which has led researchers in several locations in the world to look for new alternatives to conventional insecticides to control this pest. Accordingly, this study was to evaluate the action of essential oils of the peel of *Citrus reticulata* x *C. sinensis*, *C. reticulata* and the leaf oil of *Piper marginatum* and *Melaleuca leucadendra* on the larval development of *P. xylostella* by the leaf-dipping method. All oils tested were toxic to larvae of *P. xylostella*. The most toxic were the oils of *Citrus*, which caused mortality above 85% with a lower concentration (2ppm) than those used for oil *P. marginatum* (4ppm) and *M. leucadendra* (7ppm), which caused mortality above 80%. The estimated LC50 for *Citrus* (*C. reticulata* to 0.55 ppm and 0.78 ppm LC50 for *C. sinensis* x *C. reticulata*) did not differ statistically among themselves. The same was observed between the oil and *P. marginatum* and *M. leucadendra*. Furthermore, the LC50 of the oil of *C. reticulata* was about 5 times lower than the LC50 estimate for the oil of *M. leucadendra*. The best result observed for the duration of the larval stage was for the oil of *C. reticulata* x *C. sinensis*, which showed an increase of 2.2 days with respect to the control, followed by oil *C. reticulata*, with 1.4 days. These results show that the oils from the peel of *C. reticulata* and *C. sinensis* x *C. reticulata* are the potential products that can be used to control larvae of *P. xylostella*.

KEY WORDS: Essential oil, *Citrus sp.*, *Piper marginatum*, *Melaleuca leucadendra*, Insecticidal activity, *Plutella xylostella*

Introdução

Vários pesquisadores consideraram a *P. xylostella* (L.) como a principal praga de brássicas do mundo. Essa praga destaca-se pela alta taxa de alimentação durante o período larval, causando grandes danos à cultura chegando a atingir 100% de perdas na produção (Boiça Júnior *et al.* 2005, Hamilton *et al.* 2004, Castelo Branco & Gatehouse 2001; Barros *et al.* 1993). É considerada também um dos lepidópteros mais estudados e distribuídos pelo mundo, junto com a *Choristoneura fumiferana* (Clemens) (Lepidoptera: Tortricidae) e *Spodoptera frugiperda* JE Smith (Lepidoptera: Noctuidae) (Justus & Michell 1999). Na maioria das vezes, com o intuito de minimizar os danos causados nas plantações, os agricultores fazem uso intensivo de inseticidas convencionais (Sarfraz & Keddie, 2004). Entretanto, a utilização desses produtos, de forma indiscriminada, tem causado danos ao ecossistema devido à sua toxicidade, que tem afetado não só as pragas alvo como também espécies benéficas, facilitando assim o surgimento de gerações de insetos mais resistentes (Villas Boas *et al.* 1990, Gonçalves, 1997, Torres, 2000). Esses produtos, também têm possibilitado a contaminação das culturas com resíduos tóxicos prejudicando a saúde humana (Oliveira *et al.* 1999).

Como alternativa a esses inseticidas, pesquisadores de várias partes do mundo têm avaliado produtos a partir de plantas medicinais para o controle de artrópodes. Essa estratégia tem se configurado como uma forma promissora na descoberta de novas espécies vegetais como agentes inseticidas. Além dos estudos investigativos a partir de plantas medicinais com potencial inseticida, utilizando pós e extratos orgânicos, óleos essenciais têm atraído à atenção de muitos pesquisadores devido às suas atividades biológicas já comprovadas (Di Stasi 1996). Plantas aromáticas podem ser uma fonte alternativa de inseticidas botânicos para ser usado no controle de pragas, devido o óleo essencial ser constituído por substâncias bioativas e serem usadas comumente como fragância, agentes flavorizantes, na conservação de alimentos e bebidas.

Embora a toxicidade de óleos essenciais tenha sido amplamente descrito por Isman (2000), pouco trabalho tem sido reportado em relação à toxicidade de óleos essenciais sobre *P. xylostella*.

Entre as plantas medicinais que se caracterizam pela produção de óleos essenciais e que são cultivadas no Nordeste brasileiro, destacam-se as espécies: *Piper marginatum* Jacq; *Melaleuca leucadendra* L.; *Citrus reticulata* Blanco e *C. sinensis* Osbeck x *C. reticulata* Blanco. Estas plantas são reconhecidas pela produção de óleos essenciais e seus usos na medicinal popular (Pio Correa 1987, Pino *et al.* 2002).

Essas espécies têm sido largamente estudadas quanto à composição e atividade biológica dos constituintes químicos fixos e voláteis. Apesar do óleo essencial de várias espécies de *Citrus* terem sido investigados com relação ao potencial inseticidas contra vários artrópodes, apenas o óleo *C. aurantium*, e *C. sinensis* foram avaliados, demonstrando para o óleo de *C. sinensis* atividade deterrente alimentar contra larvas de 3º *P. xylostella* (Hou *et al.* 2002, Yi *et al.* 2007). Até o momento não há registro na literatura avaliando a ação dos óleos essenciais da casca do fruto de *C. sinensis* x *C. reticulata* sobre *Plutella xylostella*.

As espécies *P. marginatum* Jacq. e *M. leucadendra* têm sido amplamente investigadas quanto a composição química do óleo essencial (Pino *et al.* 2002, Parmar *et al.* 1997), no entanto, nenhum estudo para avaliar a ação inseticida foi realizado, até o presente momento, com o óleo essencial das folhas sobre o controle de *P. xylostella*.

Como parte de um estudo sistemático da avaliação do potencial inseticida da flora nativa ou exótica do Nordeste, o presente trabalho tem por objetivo investigar a ação inseticida dos óleos essenciais de *Piper marginatum* Jacq; *Melaleuca leucadendra* L.; *Citrus reticulata* Blanco e *C. sinensis* Osbeck x *C. reticulata* Blanco sobre larvas de *P. xylostella*.

Material e Métodos

Coleta do Material Botânico. Com exceção das espécies de *Citrus* (*Citrus reticulata* Blanco e *Citrus sinensis* Osbeck x *Citrus reticulata* Blanco), que foram coletadas no Sítio Cigarra no município de Santana do Mandaú – Alagoas, e identificadas pela Dra. Suzene Izídio da Silva, as outras espécies (*Piper marginatum* Jarq., e *Melaleuca leucadendra* L.) foram coletadas no próprio campus da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) e identificadas pela Dra. Carmen Sílvia Zickel. Uma exsicata de cada material botânico coletado foi depositada no Herbário Vasconcelos Sobrinho do Departamento de Biologia da UFRPE sob o número 45870 (*P. marginatum*), 48489 (*M. leucadendra*), 48740 (*C. reticulata* x *C. sinensis*) e 48738 (*C. reticulata* *blanca*).

Obtenção dos Óleos Essenciais. A obtenção dos óleos foi realizada no Laboratório de Produtos Naturais Bioativos do Departamento de Química da UFRPE. Folhas de *P. marginatum* e *M. leucadendra* e casca do fruto de *C. reticulata* Blanco e *C. reticulata* x *C. sinensis* foram submetidas exaustivamente à técnica de hidrodestilação, por meio de um aparelho do tipo Clevenger para obtenção dos respectivos os óleos essenciais. O óleo obtido foi inicialmente separado da água por decantação, em seguida secos com sulfato de sódio anidro. Os óleos foram estocados em vidro âmbar e guardados no freezer até realização dos experimentos.

Criação de *P. xylostella*. A criação foi estabelecida a partir de pupas obtidas junto à criação-estoque mantidas no Laboratório de Biologia de Insetos da UFRPE, nas condições de temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e umidade relativa de $70 \pm 15\%$, segundo metodologia descrita por Barros (1998).

Os adultos emergidos foram acondicionados em gaiolas plásticas teladas, contendo um recipiente com esponja embebida em água, cujo objetivo era manter a umidade relativa adequada para os insetos no interior da gaiola. Sobre a esponja foi colocado um disco de papel filtro (\varnothing 8,0cm) e sobre o mesmo, nas mesmas dimensões, um disco de folha de couve manteiga, *B.*

oleracea var. *acephala*, para a realização das posturas. Os adultos foram alimentados com solução de mel a 10%, fornecida em espuma de poliuretano acoplada em um orifício circular na parte superior da gaiola. Diariamente, os discos de folha de couve com as posturas, foram transferidos para placas de Petri datadas, onde permaneceram até a eclosão das larvas. Em seguida, os discos contendo as larvas foram colocados em recipientes plásticos retangulares contendo folhas de couve manteiga, provenientes de cultivo orgânico, as quais serviram de alimento. As larvas permaneceram nestes recipientes, onde as folhas de couve eram trocadas diariamente até atingirem a fase de pupa, quando eram recolhidas em tubos de ensaio vedados com plástico de PVC contendo microorifícios para circulação de ar.

As pupas foram armazenadas sob temperatura ambiente até a emergência de novos adultos, os quais eram transferidos para as gaiolas anteriormente mencionadas dando origem a geração F1. Esse procedimento foi efetuado por sucessivas gerações, de modo a assegurar a quantidade de adultos necessários para a execução dos experimentos.

Bioensaios. Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Biologia de Insetos/Resistência de Plantas a Insetos do Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), com larvas de *P. xylostella* à $30 \pm 0,7^\circ\text{C}$, $67 \pm 2,7\%$ UR e fotofase de 12 horas. O método utilizado foi o de imersão de disco de folha adaptado de Park *et al.* (2002). Discos de folhas de couve manteiga (*Brassica oleracea* var. *acephala*) foram usadas nos experimentos como suporte dos óleos e alimento das larvas de *P. xylostella*. Os parâmetros avaliados foram: mortalidade, duração da fase larval. O volume das soluções etanólica para imersão dos discos foliares foi de 50mL e as concentrações dos óleos testados variaram de 0,1 a 7 ppm. O grupo controle foi constituindo apenas com álcool etílico P.A.. Dentro deste intervalo foram obtidas faixas mais estreitas de respostas para serem utilizadas na obtenção das

concentrações letais médias (CL_{50}), no entanto, algumas concentrações foram suprimidas na análise de probit para melhor se adequar ao modelo.

O bioensaio para avaliar a mortalidade, duração da fase larval foi baseado no método descrito por Boiça Júnior *et al.* (2005) com algumas modificações. Discos de folha de couve manteiga (*B. oleracea* var. *acephala*), proveniente de cultivo orgânico, com 8 cm de diâmetro foram imersas, por 10 seg, nas soluções de diferentes concentrações dos óleos essenciais. O solvente foi evaporado a temperatura ambiente por 1 h. Os discos de folhas foram transferidos, individualmente, para placas de Petri de 9 cm de diâmetro, contendo no fundo, um disco de papel filtro (8cm) umedecido com água destilada. Em cada sistema de placa de Petri, foram confinadas, 10 lagartas recém-eclodidas (entre 0 e 12h de idade). As placas foram vedadas com 'filme' plástico transparente PVC para evitar fuga das larvas. Os testes foram conduzidos à temperatura de $30 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de $70\% \pm 10$ e fotofase de 12h. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 6 (seis) tratamentos e 3 repetições.

A avaliação do experimento foi iniciada 72h após a instalação e as demais, com intervalo de 24h. Para avaliar a mortalidade e duração da fase larval, observou-se o número de lagartas sobreviventes em cada tratamento. Após a primeira avaliação, em um intervalo de 48h, os discos foliares tratados foram substituídos por outros não tratados até que as larvas atingissem o estágio de pupa.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo método de Scott & Knott com intervalo de confiança a 95% de probabilidade, utilizando o programa SAS (SAS Institute 2004), e também por meio de regressão de probit (Finney 1971), utilizando o programa Polo (LeOra Software 1987). Foram determinadas as CL_{50} (concentração que causa mortalidade de 50% da população) com os intervalos de confiança a 95% de probabilidade (Robertson & Preisler 1991).

Resultados e Discussão

Das espécies vegetais utilizadas para obtenção do óleo essencial, as do gênero *Citrus* foi a que forneceu maior rendimento do óleo. Ou seja, 1,37% para *C. reticulata* x *C. sinensis* e 2,04% para *C. reticulata*, seguidos das espécies *M. leucadendra* e *P. marginatum* com 0,18% 0,11%, respectivamente.

Investigações fitoquímicas relacionadas à identificação dos constituintes químicos dos óleos essenciais de *Citrus reticulata*, *C. sinensis* x *C. reticulata*, *P. marginatum* e *M. leucadendra* foram realizadas por Neves *et al.* (2009), Autran *et al.* (2009), e Silvestre *et al.* (2008), respectivamente. Os componentes majoritários identificados por esses autores são mostrados na Tabela 1.

As larvas de *P. xylostella* mostraram-se sensíveis para todos os óleos testados (Tabela 2). A maior atividade ficou por conta dos óleos da casca de *Citrus*, que causaram mortalidade acima de 85% com uma concentração menor (2ppm) do que as utilizadas para os óleos de *P. marginatum* (4ppm) e *M. leucadendra* (7ppm), que causaram mortalidade acima de 80%. A comparação entre as CL_{50} estimadas para esses dois grupos de óleos testados (óleos de *Citrus* e óleos de *P. marginatum* e *M. leucadendra*) mostra que houve diferença estatística entre os dois grupos (Tabela 3). Por outro lado, os intervalos de confiança entre as CL_{50} dos óleos das espécies do grupo dos *Citrus* (0,55ppm para *Citrus reticulata* e CL_{50} 0,78ppm para *C. sinensis* x *C. reticulata*) se sobrepõem. O mesmo foi observado para as CL_{50} obtidas para os óleos do outro grupo de espécies (1,92ppm para *P. marginatum* e 2,86ppm para *M. leucadendra*) (Tabela 3). Esses resultados mostram que os óleos de *Citrus* foram mais tóxicos do que os óleos de *P. marginatum* e *M. leucadendra*.

De acordo com a literatura, nenhum estudo foi encontrado, até o momento, reportando a atividade inseticida dos óleos essenciais das quatro espécies testadas sobre larvas de *P. xylostella*, no entanto, a atividade para óleos de espécies congêneres de *Citrus* e *Melaleuca* contra outros

artrópodes tem sido publicada, inclusive para larvas de *P. xylostella*. Por exemplo, dos poucos trabalhos encontrados na literatura, a grande maioria teve como objetivo avaliar a ação dos óleos na deterrência de alimentação e oviposição de larvas e adultos de *P. xylostella*, respectivamente (Zeng *et al.* 2006, Zhang *et al.* 2003, Ling *et al.* 2003, Hou *et al.* 2002, Gao & Zhang 1997). Apenas dois outros artigos reportam à toxicidade, mas empregam metodologias diferentes da utilizada no presente trabalho para avaliar a mortalidade larval de *P. xylostella* (Yi *et al.* 2007, Gao & Zhang 1997).

Utilizando o método de fumigação, Yi *et al.* (2007) realizaram testes com 66 óleos de várias espécies vegetais, incluindo, óleos de três congêneres utilizadas nesse trabalho: *C. aurantium*, *M. viridiflora* e *M. alternifolia*, sobre larvas 3º instar de *P. xylostella* em bioensaios com camara de fumigação. Na concentração de 50mg/papel de filtro (\varnothing 4,25cm), os óleos de *C. aurantium* e *M. alternifolia* mostraram mortalidades inferiores a 80%, enquanto que o óleo de *M. viridiflora* mostrou 100% de mortalidade e uma CL₅₀ estimada de 27,31 mg/filtro. Resultados melhores do que estes foram obtidos para óleos de outras espécies vegetais, *Mentha pulegium* (poejo), *Rosmarinus officinalis* (alecrim) e *Salvia officinalis* (erva santa), que tiveram as CL₅₀ estimadas em 10,77 mg/filtro, 15,14 mg/filtro e 15,15mg/filtro, respectivamente. Em outro estudo, também avaliando a ação fumigante, Gao & Zhang (1997) avaliaram a ação do óleo essencial de *Sabina vulgaris* para larvas de *P. xylostella* e obtiveram para o óleo testado uma CL₅₀ de 9,74 mg/L.

Uma comparação direta da potência da toxicidade sobre larvas de *P. xylostella*, observada para os óleos testados no presente trabalho com os resultados descritos na literatura não é possível devido ao fato de terem sido empregados métodos de avaliação e experimentais diferentes. A diferença dos métodos, toxicidade por fumigação e toxicidade de contato (imersão de disco foliar) é basicamente no modo como os óleos podem agir nas larvas. No primeiro método, o óleo age nas através dos vapores dos constituintes químicos, enquanto que no segundo método, usado no

presente trabalho, além dos vapores, as larvas são intoxicadas também pela ingestão das substâncias impregnadas nos discos foliares.

Essa observação explica por que as quantidades de óleo utilizadas na presente pesquisa foram relativamente inferiores, para promover uma maior mortalidade de larvas do que àquelas utilizadas nos experimentos de fumigação realizados por Yi *et al.* (2007) para óleos obtidos, principalmente das espécies congêneres de *Citrus* e *Melaleuca*. Em outro estudo, Gao & Zhang (1997) avaliando também a ação fumigante do óleo essencial obtido a partir das folhas de *Sabina vulgaris* sobre lavas de *P. xylostella*, estimou a CL_{50} para esse óleo como sendo 17,7 vezes maior do que a obtida, nessa pesquisa, para o óleo de *Citrus reticulata*.

Em relação aos resultados da duração da fase larval, o óleo de *P. marginatum* não mostrou diferença estatística entre os outros óleos e o controle. No entanto, os demais óleos atuaram no aumento da duração da fase larval, com destaque para o óleo de *C. reticulata* x *C. sinensis*, que apresentou um incremento de 2,2 dias com relação ao controle, seguidos do óleo de *C. reticulata*, com 1,4 dias (Tabela 4). Uma correlação direta ($r = 0,78$; $P < 0,05$) entre resultados obtidos para duração da fase larval e mortalidade foi observada, ou seja, os óleos que causaram maior mortalidade também promoveram aumento da fase larval. Esses dados estão coerentes com os reportados por Torres *et al.* (2001) e Boiça Junior *et al.* (2005), mas para extratos aquosos vegetais.

Os resultados deste estudo demonstraram que alguns dos óleos testados, como os de *Citrus* mostraram alta toxicidade de contato com larvas de *P. xylostella*, seguidos de *P. martiginatum* e *M. leucadendra*. Tanto na mortalidade quanto na duração da fase larval, os óleos de *Citrus* foram os que apresentaram os melhores resultados.

Os óleos testados no presente trabalho são basicamente constituídos por terpenóides (*Piper* sp., *Melaleuca* sp. e *Citrus* sp.) e benzenóides (*Piper* sp.) (Tabela 1). A atividade inseticida de

monoterpenóides e benzenóides, já tem sido reportada contra uma gama variada de artrópodes (Sarank & Tunc 1995, Isman 2000). A alta atividade inseticida observada para os óleos de *Citrus* no presente estudo, pode ser atribuída ao limoneno, que é o composto majoritário nos óleos de (*C. reticulata* e *C. sinensis* x *C. reticulata*) (Tabela 1), para o qual já existem na literatura dados que comprovam seu potencial inseticida para outros artrópodes (Lee *et al.* 2001, Lee *et al.* 2003; Garcia *et al.* 2005).

Esses resultados sugerem que os óleos obtidos da casca de *Citrus reticulata* e *Citrus sinensis* x *Citrus reticulata* são produtos em potencial que podem ser usados para o controle de larvas de *P. xylostella*.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq pela concessão da bolsa ao primeiro autor. A Cláudio Gomes da Câmara e Reginal Barros que colaboraram na realização deste trabalho.

Literatura Citada

- Autran, E.S., I.A. Neves, C.S.B. da Silva, G.K.N. Santos, C.A.G. da Câmara & D.M.A.F. Navarro. 2009.** Chemical composition, oviposition deterrent and larvicidal activities against *Aedes aegypti* of essential oils from *Piper marginatum* Jacq. (Piperaceae). Bior. Techn. 100:2284–2288.
- Barros, R. 1998.** Efeito de cultivares de repolho *Brassica oleracea* var. *capitata* (L.) na biologia da traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L., 1758) e do parasitóide *Trichogramma pretiosum* Riley. 1879. Tese, Ribeirão Preto, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo. 98 p.
- Boiça Júnior, A.L., C.A.M. Medeiros, A.L. Torres & Chagas N.R. Filho. 2005.** Efeito de extratos aquosos de plantas do desenvolvimento de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) em couve. Arq. Inst. Biol. 72: 45-50.

- Castelo Branco, M. & A. Gatehouse. 2001.** Survey of insecticide susceptibility in *Plutella xylostella* (L.) (Lep.: Yponomeutidae) in the Federal District, Brazil. *Neotrop. Entomol.* 30:27-332.
- Di Stasi, L.C. 1996.** Química de produtos naturais. p. 109-127. In Di Stasi, L.C. *Plantas medicinais: arte e ciência - um guia de estudos multidisciplinar.* Ribeirão Preto, Universidade Paulista Editora, 345 p.
- Finney, D.J. 1971.** Probit analysis, Cambridge, Cambridge University Press, 337 p.
- Gao, C. & X. Zhang. 1997.** Fumigant insecticidal action of the essential oil from the seeds of the savin juniper (*Sabina vulgaris* ant.). *Nanjing Nongye Daxue Xuebao* 20: 50-53.
- García, M., O.J. Donadel, C.E. Ardanaz, C.E. Tonn, & M.E. Sosa. 2005.** Toxic and repellent effects of *Baccharis salicifolia* essential oil on *Tribolium castaneum*. *Pest Manage. Sci.* 61: 612–618.
- Gonçalves, P. A. S. 1997.** Eficácia de inseticidas sintéticos e naturais no controle de tripes em cebola. *Hortic. Bras.* 15: 32-34.
- Hamilton, J.A., N.M. Endersby, P.M. Ridland, J. Zhang¹ & M. Neal. 2004.** Effects of cultivar on oviposition preference, larval feeding and development time of diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), on some *Brassica oleracea* vegetables in Victoria. *Australian J. Entomol.* 44: 284–287.
- Hou, H., J. Feng, A. Chen & X. Zhang. 2002.** Studies on the bioactivity of essential oils against insects. *Tianran Chanwu Yanjiu Yu Kaifa* 14: 27-30.
- Huang, Z., F. C. Zhou, D. Xu, M. Afzal, M.H. Bashir, S. Ali & S. Freed. 2008.** Antifeedant activities of secondary metabolites from *Ajuga nipponensis* against *Plutella xylostella*. *Pakistan J. Bot.* 40: 1983-1992.
- Isman, M. B. 2000.** Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Prot.* 19: 603-608.
- Jbilou R., A. Ennabili, & F. Sayah. 2006.** Insecticidal activity of four medicinal plant extracts against *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *African J. Biotechnol.* 5: 36- 940.
- Justus, K.A. & B.K. Mitchell. 1999.** Reproductive morphology, copulation, and inter-population variation in the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). *Int. J. Insect. Morphol. Embryol.* 28: 231-244.
- Kaneda, N., J.M. Pezzouto, D.D. Soejarto, A.D. Kinghorn, N.R. Farnsworth, T. Santisuk, P. Tuchinda, J. Udchachon & V. Reutrakul. 1991.** Plant anticancer agents 48 new cytotoxic flavonoids from *Muntingia calabura* roots. *J. Nat. Prod.* 54:196-206.

- Kim S.I., J.H. Yi, J.H. Tak & Y.J. Ahn. 2004.** Acaricidal activity of plant essential oils against *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). *J. Vet. Parasitol.* 120: 297-304.
- Kitano, S., T. Iwasa, Y. Kigata, H. Sasaki, K. Suzuki & K. Hara. 1984.** Handbook of tropical plants and trees. Tokyo. Yokendo 734 p.
- Lee, H. S. 2005.** Pesticidal constituents derived from piperaceae fruits. *Agric. Chem Biotechnol.* 48: 65-74.
- Lee, S., C.J. Peterson & J.R. Coats. 2003.** Fumigation toxicity of monoterpenoids to several stored product insects. *J. Stored Prod. Res.* 39: 77–85.
- Lee, B.H., W.S. Choi, S.E. Lee & B.S. Park. 2001.** Fumigant toxicity of essential oils and their constituent compounds towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.). *Crop Prot.* 20:317–320.
- LeOra Software. 1987.** POLO-PC: a user's guide to Probit Logit analysis. Leora Software, Berkely, CA.
- Li, M., X. Gao, Z. Gao, W. Zhao & Z. Sun. 2008.** Insecticidal activity of extracts from forty-eight plants including *Xanthium sibiricum* Patrin. *Zhiwu Ziyuan Yu Huanjing Xuebao* 17: 33-37.
- Ling, B., M. Zhang & X. Pang 2003.** Biological activities of the volatile oil from *Chromolaena odorata* on fungi and insects and its chemical constituent. *Tianran Chanwu Yanjiu Yu Kaifa* 15: 183-187.
- Liu, S., M. Ji, L. Zhao, S. Wei, G. Wang, X. Li & L. Li. 2007.** Preliminary study on bioactivity of two plants extracts against three kinds of pests. *Xiandai Nongyao* 6: 27-29.
- Magdy I.E. M. & Samir A.M.A. 2008.** Chemical composition and insecticidal potential of essential oils from Egyptian plants against *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Appl. Entomol. Zool.* 43: 599-607.
- Martins, J.E.C. 1998.** Plantas Mediciniais de uso na Amazônia; Belém, Centro de Estudos Jurídicos do Pará, 92p.
- Morais, A.A., Torquih, H.S., Santos, M.C.B., Godoy, R.O. & Melo, W.C. 2001.** Estudo Químico do Óleo Essencial de *Melaleuca leucadendrom* L. (Mirtaceae). In: XI Jornada de Iniciação Científica da UFRRJ, Campus da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
- Moravvej G. & S. Abbar. 2008.** Fumigant toxicity of *Citrus* oils against cowpea seed beetle *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). *J. Biol. Sci.* 11: 48-54.

- Moreira, C.S. & S. Moreira. 1991.** História da citricultura no Brasil. p. 1-18. In: Rodriguez, O., F.Viégas, J. Pompeu Júnior & A.A. Amaro. Citricultura brasileira. 2º ed. Campinas, Fundação Cargill. 492p.
- Morton, J.F. 1987.** Fruits of warm climates. Miami. 365 p.
- Nair, M.G. & B.A. Burke. 1990.** Antimicrobial *Piper* metabolite and related compounds Agric. Food Chem.38: 1093 - 1906.
- Neves, I.A., L.L.D. Silva, C.A.G. Camara, M.O.E. Schwartz & J.C.S. Oliveira. 2006.** Composição química do óleo essencial de *Piper marginatum* Jacq. (Piperaceae). 29º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, PN-215.
- Neves, I.A., R.C.S. Neves, M.M. Moraes, C.A. Gomes, P.S. Botelho, C.P. Araújo-Júnior & C.A.G. da Camara. 2009.** Atividade fumigante do óleo essencial de sete espécies de *Citrus* (Rutaceae) sobre *Tetranychus urticae* (ácaro rajado). 32º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, PN-137.
- Oliveira, J.V., J.D. Vendramim & M.L. Haddad. 1999.** Bioatividade de pós vegetais sobre o caruncho do feijão em grãos armazenados. Rev. Agric. 74: 217-224.
- Ohsawa, K., S. Atsuzawa, T.Mitsui & I.Yamamoto. 1991.** Isolation and insectidal activity of three acetogenins from seeds of pond apple, *Annona glabra* L. Nippon Noyaku Gakkaishi 16: 93-96.
- Park, B., S. Lee, W. Choi, C. Jeong, C. Song & K. Cho. 2002.** Insecticidal and acaricidal activity of piperonaline and piperoctadecalidine derived from dried fruits of *Piper longum* L. Crop Prot. 21: 249-251.
- Parmar, V.S., S.C. Jain, K.S. Bisht. R. Jain, P. Taneja, A. Jha, O.D. Tyagi, A.K. Prasad, J. Wengel, C.E. Olsen & P.M. Boll. 1997.** Phytochemistry of the genus *Piper*. Phytochemistry 46: 597-673.
- Pio, R.M., Figueiredo, J.O., Stuchi, E.S. & Cardoso, S.A.B. 2005.** Variedades De Copas De Citros.p. 37-60. In: Mattos Junior, D., R.M. Pio, J. D. De Negri & J. Pompeu Junior. Citros. Campinas, Instituto Agrônômico e FUNDAG, 929p.
- Pio-Corrêa, M.; 1984.** Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro, Imprensa Nacional. 687p.
- Pino, J., A. Bello, A. Urquiola, J. Aguero & R. Marbot. 2002.** Chemical composition of cajuput oil (*Melaleuca leucadendra* L.) from Cuba. J. Essent. Oil Res. 14: 10-11.
- Ramos, L.S., M.L. da Silva, A.I.R. Luz, M.G.B. Zoghbi & J.G.S. Maia. 1986.** Essential oil of *Piper marginatum*. Nat. Prod. 49: 712 - 715.

- Rani, M., P. Suhag, R. Kumar, R. Singh & S.B. Kalidhar. 1999.** Chemical components and biological efficacy of *Melia azedarach* stems. J. Med. Aromat. Pl. Sci. 21: 1043-1047.
- Robertson, J.L. & H.K. Preisler. 1992.** Pesticide bioassays with arthropods. London, CRC Press, 123p.
- Roel, A.R. 2001.** Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o desenvolvimento rural sustentável. Rev. Int. Desenv. Loc. 1: 43-50.
- Sarac, A. & I. Tunc. 1995.** Toxicity of essential oil vapours to stored product insects. Z. Pflanzenkrankh 102: 69-74.
- Sarfraz, M. & B.A. Keddie. 2005.** Conserving the efficacy of insecticides against *Plutella xylostella* (L.) (Lep., Plutellidae). J. Appl. Entomol. 129: 149-157.
- SAS institute. 2004.** OnlineDoc[®]. Version 8.01. Statistical analysis System Institute, Cary, NC.
- Shinoda, T., T. Nagao, M. Nakayama, H. Seriazawa, M. Koshika, H. Okabe & A. Kawai. 2002.** Identification of a triterpenoid saponin from a crucifer, *Babarea vulgaris*, as a feeding deterrent to the diamondback moth, *Plutella xylostella*. J. Chem. Ecol. 28: 587-599.
- Silva, C.J., L.C.A. Barbosa, U.R.A. Maltha, A.L. Pinheiro & F.M.D. Ismail. 2007.** Comparative study of the essential oils of seven *Melaleuca* (Myrtaceae) species grown in Brazil. Flavour Fragr. J. 22: 474-478.
- Silvestre, R.G., Neves, I.A., Moraes, M.M., Gomes, C.A., Nascimento, R.M., Araujo Jr., C. P. & Camara, C.A.G. 2008.** Atividade fumigante do óleo essencial de *Eugenia uvalha* Cambess. e *Melaleuca leucadendra* L. (Myrtaceae) contra o ácaro rajado. 31^o Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, QB-053.
- Torres, A.L. 2000.** Efeito de extratos aquosos de plantas na biologia de *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lep.: Plutellidae). Dissertação de Mestrado, Recife, Universidade Federal Rural de Pernambuco. 68p.
- Torres, A.L. R. & Barros & J.V. Oliveira. 2001.** Efeito de extratos aquosos de plantas do desenvolvimento de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). Neotrop. Entomol. 30: 151 - 156.
- Verkerk, R.H.J. & D.J. Wright. 1993.** Biological activity of neem seed kernel extracts and synthetic azadirachtin against larvae of *Plutella xylostella* L. Pestic Sci. 37: 83-91.
- Vickers, R.A., M.J. Furlong, A.White & J.K. Pell. 2004.** Initiation of fungal epizootics in diamondback moth populations within a large field cage: proof of concept of auto-dissemination. Entomol. Exp. Appl. 111: 7-17.
- Villas Boas, G.L., M. Castelo Branco & A.L. Guimarães. 1990.** Controle químico da traça das crucíferas no Distrito Federal. Hort. Bras. 8: 10-11.

- Williamson E.M., C.M. Priestley & L.F. Burgess. 2007.** An investigation and comparison of the bioactivity of selected essential oils on human lice and house dust mites. *Fitoterapia* 78: 521-525.
- Wu, G. & S. Jiang 2002.** Field monitor of insecticide resistance and toxicological mechanism in *Plutella xylostella* (L.). China. *Zhiwu Baohu Xuebao* 29: 351-355.
- Yang, Z., Y. Deng, M. Hou, Y. Yu & Z. Kong. 2008.** Insecticidal ingredients of *Ginkgo biloba* L. Sarcotesta. *Ziran Kexueban* 26: 68-71.
- Yi, C.G., M. Kwon, T.T. Hieu, Y.S. Jang & Y.J. Alun. 2007.** Fumigant toxicity of plant essential oils to *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidea) and *Costesia glomerata* (Hymenoptera: Braconidea). *Asia-Pacific. Entpmol.* 10: 157-163.
- Zeng, Q., Y. Cai, Z. Yan, X. Wang & Y. Wang. 2006.** Studies on insecticidal activity and toxic component of essential oil from *Pogostemon cablin*. *Zhiwu Ziyuan Yu Huanjing Xuebao* 15: 21-25.
- Zhang, M., B. Ling, C. Kong, X. Pang & G. Liang. 2003.** Chemical components of volatile oil from *Mikania micrantha* and its biological activity on insects. *Yingyong Shengtai Xuebao* 14: 93-96.

Tabela 1. Percentual dos compostos majoritários identificados nos óleos essenciais das espécies testadas sobre larvas de *P. xylostella*

| Composto | <i>Piper marginatum</i> | <i>Citrus reticulata</i> | <i>C. sinensis</i> x <i>C. reticulata</i> | <i>Melaleuca leucadendra</i> |
|-----------------------|-------------------------|--------------------------|--|------------------------------|
| (Z)-Asarone | 30,4 | | | |
| Álcool Patchouli | 16,0 | | | |
| Limoneno | | 80,2 | 62,2 | |
| Mirceno | | 6,7 | | |
| p-menta-2,4-(8)-dieno | | | 10,0 | |
| (E)Nerolidol | | | | 92,5 |

Tabela 2. Percentual Médio de Mortalidade larval de *P. xylostella* alimentadas com folhas de couve, tratadas com óleos essenciais de espécies dos gêneros *Melaleuca*, *Piper* e *Citrus* em diferentes concentrações.

| Espécie ¹ | Concentração (ppm) | Mortalidade (%) | Espécie | Concentração (ppm) | Mortalidade (%) |
|-----------------------|--------------------|-----------------|---|--------------------|-----------------|
| <i>M. leucadendra</i> | Controle | 5,8 ± 0,33 g | <i>P. marginatum</i> | Controle | 8,3 ± 0,35 f |
| | 0,5 | 15,7 ± 1,54 f | | 0,1 | 11,5 ± 1,38 f |
| | 1,0 | 29,5 ± 2,67 e | | 0,2 | 25,2 ± 2,61 e |
| | 2,0 | 40,5 ± 1,47 d | | 1,0 | 44,0 ± 2,63 d |
| | 4,0 | 57,7 ± 3,58 c | | 2,0 | 60,0 ± 1,89 c |
| | 6,0 | 67,5 ± 2,98 b | | 3,0 | 70,7 ± 3,34 b |
| | 7,0 | 80,2 ± 3,09 a | | 4,0 | 82,7 ± 2,98 a |
| <i>C. reticulata</i> | Controle | 4,2 ± 0,24 g | <i>C. reticulata</i> x <i>C. sinensis</i> | Controle | 3,2 ± 0,28 g |
| | 0,1 | 18,8 ± 1,48 f | | 0,1 | 19,9 ± 1,45 f |
| | 0,2 | 35,6 ± 1,68 e | | 0,2 | 33,5 ± 1,82 e |
| | 0,4 | 47,8 ± 2,01 d | | 0,4 | 49,0 ± 2,69 d |
| | 0,8 | 62,8 ± 2,93 c | | 0,8 | 60,0 ± 3,43 c |
| | 1,6 | 75,7 ± 3,09 b | | 1,6 | 77,0 ± 1,27 b |
| | 2,0 | 85,0 ± 1,98 a | | 2,0 | 89,5 ± 2,72 a |

¹Médias seguidas pela mesma letra, no mesmo tratamento, não diferem entre si pelo método de Scott & Knott a 5% de probabilidade.

Tabela 3. Concentração letal média (CL₅₀) e razão de toxicidade de óleos essenciais de *Melaleuca leucadendra*, *Piper marginatum*, *Citrus reticulata* e *Citrus reticulata* x *Citrus sinensis* sobre larvas de *Plutella xylostella* alimentadas com folhas de couve tratadas com diferentes concentrações.

| Óleo | <i>n</i> | CL ₅₀ - ppm (I.C. a 95%) | Equação (I.C. 95% para β) | <i>x</i> ² | P | RT |
|---|----------|--|------------------------------|-----------------------|------|------|
| <i>M leucadendra</i> | 600 | 2,9 (2,37 – 3,35) | $y = -0,799 + 1,946\log x$ | 4,62 | 0,75 | 1,00 |
| <i>P. marginatum</i> | 600 | 1,9 (1,45 – 2,39) | $y = -0,398 + 1,527\log x$ | 2,74 | 0,83 | 3,60 |
| <i>C. reticulata</i> | 600 | 0,6 (0,45– 0,65) | $y = 0,472 + 1,807\log x$ | 1,44 | 0,85 | 2,77 |
| <i>C. reticulata</i> x <i>C. sinensis</i> | 600 | 0,8 (0,59 – 0,97) | $y = 0,199 + 1,984\log x$ | 4,13 | 0,79 | 2,16 |

n = Número de insetos testados

RT = Razão de toxicidade entre os extratos.

Tabela 4. Duração da fase larval de *Plutella xylostella* alimentadas com folhas de couve tratadas com óleos essenciais de espécies dos gêneros *Melaleuca*, *Piper* e *Citrus* em diferentes concentrações.

| Espécie ¹ | Concentração (µL) | Duração (dias) | Espécie | Concentração (µL) | Duração (dias) |
|-----------------------|-------------------|----------------|---|-------------------|----------------|
| <i>M. leucadendra</i> | Controle | 8,4 ± 0,03 a | <i>P. marginatum</i> | Controle | 8,3 ± 0,15 a |
| | 0,5 | 8,2 ± 0,54 a | | 0,1 | 8,5 ± 0,28 a |
| | 1,0 | 8,1 ± 0,07 a | | 0,2 | 8,2 ± 0,13 a |
| | 2,0 | 8,2 ± 0,11 a | | 1,0 | 8,3 ± 0,22 a |
| | 4,0 | 8,5 ± 0,34 a | | 2,0 | 8,8 ± 0,12 a |
| | 6,0 | 8,7 ± 0,41 a | | 3,0 | 8,7 ± 0,10 a |
| | 7,0 | 9,2 ± 0,33 a | | 4,0 | 9,1 ± 0,67 a |
| <i>C. reticulata</i> | Controle | 8,7 ± 0,40 a | <i>C. reticulata</i> x <i>C. sinensis</i> | Controle | 8,5 ± 0,38 a |
| | 0,1 | 8,9 ± 0,22 a | | 0,1 | 8,8 ± 0,09 a |
| | 0,2 | 9,2 ± 0,37 a | | 0,2 | 9,8 ± 0,51 b |
| | 0,4 | 8,9 ± 0,04 a | | 0,4 | 9,7 ± 0,57 b |
| | 0,8 | 9,3 ± 0,23 a | | 0,8 | 9,7 ± 0,22 b |
| | 1,6 | 9,5 ± 0,44 a | | 1,6 | 10,7 ± 0,63 b |
| | 2,0 | 10,1 ± 0,27 b | | 2,0 | 10,3 ± 0,51 b |

¹Médias seguidas pela mesma, no mesmo tratamento, letra não diferem entre si pelo método de Scott & Knott a 5% de probabilidade.