**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Bioatividade de nanoformulações de nim e extratos de outras
Meliaceae e a sua interação com agentes de controle biológico
visando ao controle de *Tuta absoluta* (Meyrick)
(Lepidoptera: Gelechiidae)**

Fátima Teresinha Rampelotti Ferreira

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em
Ciências. Área de concentração: Entomologia

**Piracicaba
2011**

Fátima Teresinha Rampelotti Ferreira
Bacharel em Ciências Biológicas – Ênfase em Biotecnologia

**Bioatividade de nanoformulações de nim e extratos de outras Meliaceae e a sua
interação com agentes de controle biológico visando ao controle de
Tuta absoluta (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae)**

Orientador:
Prof. Dr. **JOSÉ DJAIR VENDRAMIM**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em
Ciências. Área de concentração: Entomologia

Piracicaba
2011

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - ESALQ/USP**

Ferreira, Fátima Teresinha Rampelotti

Bioatividade de nanoformulações de nim e extratos de outras Meliaceae e sua interação com agentes de controle biológico visando ao controle de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) / Fátima Teresinha Rampelotti Ferreira. -- Piracicaba, 2011.
176 p. : il.

Tese (Doutorado) -- Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2011.

1. Controle biológico 2. Fungos entomopatogênicos 3. Insetos parasitoides
4. Nanotecnologia 5. Plantas produtoras de pesticida 6. Rutales 7. Tomate 8. Traças 9. Vírus
I.Título

CDD 632.78
F383b

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

*Ao meu amado esposo **Anderson**
e aos nossos filhos,
que já amo desde sempre...
Ofereço*

*Aos meus queridos pais
Eliomar e Teresa
Por serem a base de tudo e sempre acreditarem em mim
Aos meus irmãos **Marcelo e Fabiane**
Pela família que somos
Dedico*

AGRADECIMENTOS

“A vida que Deus nos dá, traz consigo tudo o que precisamos aprender, não há de que reclamar; é preciso agradecer e semear sempre novos campos acende abundantemente vamos colher”. Então, agradeço...

Primeiramente a DEUS, por esta vida e todas as experiências que vivi e ainda irei viver. Agradeço a Ele por todas as oportunidades, por reconhecê-las e poder apreender sempre com minhas escolhas. Ainda agradeço pela proteção e todas as bênçãos recebidas!!!

À família...

Aos meus pais *Eliomar* e *Teresa*, por tudo... Pelo amor incondicional, pelo apoio, pelos estímulos e força sempre. Pela educação e ensinamentos para vida, pelas pessoas que são e por tudo que fizeram por mim! Eu amo vocês! Obrigada pai e obrigada mãe!

À minha irmã *Fabiane*, minha *FDFS*, minha linda. Pela alegria de viver, pelo desprendimento e por me incentivar sempre e por tudo que aprendemos uma com a outra. Eu amo você!

Ao meu irmão *Marcelo*, meu manusco. Por me mostrar que as coisas podem ser diferentes do que pensamos e pelo exemplo de vida e profissionalismo. Pelo silêncio, fundamental em alguns momentos. Eu amo você!

Ao meu amado e querido esposo *Anderson*, pelo amor, pelo incentivo, pela força para ultrapassar barreiras e por compartilhar comigo suas alegrias e conquistas! Pelo exemplo de luta diante de tantas dificuldades, você merece tudo o que conquistou!!! Pela paciência durante o tantos finais de semana avaliando experimentos, pela atenção e ajuda nestes e nos outros dias. Não há palavras para expressar minha gratidão, agradeço a Deus sempre por você existir e pela família que formamos... Amooooooo você!!!

Aos meus cunhados *Clederson, Kaira, Juliana e Peterson*, pela amizade e incentivo sempre e pelos momentos compartilhados. Em especial ao Clederson e à Kaira por estarem perto e sempre disponíveis para ajudar, pelo carinho
Ao Sr. *Antonio* e Sra. *Nedi* pelos incentivos e pela força... por me receberem como família e pelo Anderson...

À *Vó Selma* e ao *Vô Reivaldy* pelo amor, pelas orações e pelo incentivo. Por serem pessoas iluminadas e pelo exemplo de luta e perseverança diante das dificuldades da vida

Aos meus tios, especialmente à tia Salete, pela alegria de ser família, pelos momentos compartilhados e pelo amor

Aos meus primos, que são muitos, mas que tem, cada um, um lugar no meu coração! Agradeço especialmente a *Sandra, Léia, Déia, Camilinha, Sérgio, Giulia*, pelos incentivos e por encher de alegria minha vida

Aos mestres...

Ao professor **Djair**, pelo exemplo de profissionalismo e de pessoa. Muito obrigada pelos ensinamentos para a **profissão** e para **vida**. Obrigada por me receber no laboratório e pela liberdade de criar e pensar. Especialmente, agradeço toda sua ajuda e discernimento em perceber os momentos difíceis e me ajudar a superá-los. Essa conquista também é sua

Aos professores do PPG Entomologia, Drs. José Roberto Postali Parra, Fernando Luis Cònsoli, José Mauricio Simões Bento, Wesley Augusto Conde Godoy, Roberto Antonio Zucchi, Celso Omoto, Ítalo Delalibera Jr., Pedro Yamamoto, Luis Carlos Marchini, Evoneo Berti Filho e João Roberto Spotti Lopes por compartilharem seus conhecimentos entomológicos

A todos aqueles professores e outros profissionais, em especial, ao Dr. Noldin, Dr. Honório, Dr. Fernando Tcacenco e Profa. Laura por tudo que me ensinaram lá no início, quando o doutorado era um sonho. Obrigada pelo exemplo de profissionalismo

Aos amigos...

À minha querida amiga ~~Maruska~~ e ao ~~Júnior~~, pela alegria e por sempre estarem perto de mim, pela amizade...

À minhas queridas amigas ~~Mônica~~ e ~~Angelina~~ pelo convívio durante esses anos e pela amizade que levo, pelas conversas, pelo ombro amigo, hehehe!!!

À ~~Lorena~~, por todos os abraços, sempre fortalecedores, pelo seu exemplo de paz de espírito

Ao amigo ~~Rafael~~, pelo convívio, pelo incentivo e auxílio nas análises estatísticas

Aos amigos e queridos vizinhos ~~Eli~~ e ~~Altair~~ pelos incentivos e amizade

A ~~TODOS~~ colegas do laboratório de Resistência de Plantas e Plantas Inseticidas pelo convívio e companheirismo: Ana Paula, Angelina, Cia, Cristina, Eliane, Leandro, Márcio, Marcos, Paulo, Sheila, Mônica, Rafael, Kaira, Gerane e Jaci

Aos colegas do Departamento de Entomologia e Acarologia, pelas experiências compartilhadas. Em especial a Cris, Érika, Karina, Nádia e Aloísio.

Ainda agradeço...

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudos

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” ESALQ/USP, especificamente ao Departamento de Entomologia e Acarologia, pela oportunidade de aperfeiçoamento profissional

À Empresa Dupont do Brasil, pelo fornecimento da população inicial de *Tuta absoluta*, que permitiu o desenvolvimento de todo este trabalho

À empresa Dalneen, pelo fornecimento do óleo de nim utilizado nos experimentos

À UFSCar, pelo auxílio nas “questões químicas” e em especial ao Dr. Moacir Rossi Forim, pela produção das nanoformulações, pelas quantificações de azadiractina e pelos conhecimentos compartilhados

Ao Laboratório de Patologia de Artrópodes e Controle Microbiano, em especial ao Prof^o Ítalo, ao Gabriel e a Solange, pelo espaço concedido e auxílio nos bioensaios com entomopatógenos

Ao laboratório de Biologia de Insetos, em especial ao Prof^o Parra, ao Aloísio e à Sandra, pelo espaço e auxílio no bioensaio com parasitoide

Aos funcionários Marta, Carol, Regina, Edilene, Carlos, Sra. Silvia, Cirlene, Carlinhos, Dino e Willian. Em especial a Marinéia, pelo auxílio nas análises estatísticas

A todas as pessoas que direta ou indiretamente estiveram envolvidas nesse trabalho e torceram por mim: obrigada pelas dicas, amizade, críticas e elogios

“Um guerreiro da luz nunca esquece a gratidão. Durante a luta foi ajudado pelos anjos; as forças celestiais colocaram cada coisa no seu lugar e permitiram que ele pudesse dar o melhor de si. Por isso, quando o sol se põe, ajoelha-se e agradece o Manto protetor à sua volta. Sua gratidão, porém, não se limita ao mundo espiritual; ele jamais esquece os amigos, porque o sangue deles se misturou ao seu no campo de batalha. Um guerreiro da luz não precisa que lhe recorde a ajuda dos outros; ele se lembra sozinho, e divide com eles a recompensa”.

(Do livro “Manual do Guerreiro da Luz” – Paulo Coelho)

*“Acredite firmemente no seu gênio criador
Na força ativa da mente
Nas maravilhas do amor
Quem recebe de nascença
Uma cabeça que pensa
Um coração para amar
É feliz por toda vida
Tem riqueza garantida
Tem tudo o que desejar”*
(Dinamor)

SUMÁRIO

RESUMO.....	15
ABSTRACT.....	17
LISTA DE FIGURAS.....	19
LISTA DE TABELAS.....	23
1 INTRODUÇÃO.....	29
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	33
2.1 Aspectos da cultura do tomate	33
2.2 Considerações gerais sobre <i>Tuta absoluta</i>	34
2.2.1 Características morfológicas	34
2.2.2 Aspectos biológicos	34
2.2.3 Distribuição geográfica	39
2.2.4 Hospedeiros e danos	40
2.2.5 Controle	41
2.3 Considerações gerais sobre plantas inseticidas	45
2.3.1 Bioatividade de extratos de meliáceas sobre Lepidoptera, com ênfase a plantas dos gêneros <i>Trichilia</i> , <i>Toona</i> e <i>Guarea</i>	46
2.3.2 Bioatividade de extratos de meliáceas sobre <i>T. absoluta</i>	49
2.3.3 Limitações ao uso de plantas inseticidas	51
2.4 A nanotecnologia no controle de insetos-praga	53
2.5 Interações de métodos de controle no manejo de <i>T. absoluta</i>	56
2.5.1 Entomopatógenos	57
2.5.2 Parasitoides	61
3 MATERIAL E MÉTODOS	65
3.1 Cultivo das plantas de tomate	65
3.2 Criação de <i>Tuta absoluta</i> (Meyrick)	66
3.3 Seleção de nanoformulações de nim promissoras para controle de <i>T. absoluta</i>	66
3.3.1 Estimativa da CL ₅₀ para a formulação padrão de óleo de nim	66
3.3.2 Seleção das nanoformulações de nim mais promissoras	67
3.4 Seleção de extratos de Meliaceae promissores para controle de <i>T. absoluta</i>	70

3.4.1 Coleta das plantas e preparação dos pós vegetais	70
3.4.2 Estimativa da CL ₅₀ para o extrato etanólico de <i>T. ciliata</i>	70
3.4.3 Preparo dos extratos de Meliaceae	71
3.4.4 Bioensaio de seleção dos extratos mais promissores	72
3.5 Bioensaios com nanoformulações de nim e extratos de outras Meliaceae mais promissores	72
3.5.1 Efeito sobre a preferência para oviposição.....	73
3.5.2 Efeito sobre ovos	74
3.5.3 Efeito sobre o desenvolvimento e a longevidade	74
3.6 Avaliação da forma de aplicação de nanoformulações de nim e extratos de outras Meliaceae.....	75
3.6.1 Efeito de contato	75
3.6.1.1 Superfície tratada	75
3.6.1.2 Aplicação tópica	75
3.6.2 Efeito translaminar	76
3.6.2 Efeito sistêmico	76
3.7 Avaliação do efeito residual de nanoformulações de nim e extratos de outras Meliaceae.....	77
3.8 Seletividade de nanoformulações de nim e extratos de outras Meliaceae a dois entomopatógenos e sua interação visando ao controle de <i>T. absoluta</i>	78
3.8.1 Seletividade de nanoformulações de nim e de extratos de outras Meliaceae ao fungo <i>Beauveria bassiana</i>	78
3.8.2 Seletividade de nanoformulação de nim e de extrato de <i>Toona ciliata</i> ao granulovirus <i>PhopGV</i>	80
3.8.3 Interação de nanoformulação de nim e de extrato de <i>Toona ciliata</i> com dois entomopatógenos visando ao controle de <i>T. absoluta</i>	80
3.9 Seletividade de nanoformulação de nim e de extrato de <i>T. ciliata</i> ao parasitoide de ovos <i>Trichogramma pretiosum</i> Riley.....	81
3.9.1. Suscetibilidade de adultos de <i>T. pretiosum</i> nas gerações maternal e F1	81
3.9.2. Suscetibilidade dos estágios imaturos de <i>T. pretiosum</i>	82
3.10 Análises estatísticas	83

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	85
4.1 Seleção de nanoformulações de nim promissoras para o controle de <i>Tuta absoluta</i> (Meyrick)	85
4.1.1 Estimativa da CL ₅₀ para a formulação padrão de óleo de nim	85
4.1.2 Seleção das nanoformulações de nim mais promissoras	86
4.2 Seleção de extratos de Meliaceae promissores para o controle de <i>T. absoluta</i>	91
4.2.1 Estimativa da CL ₅₀ para o extrato etanólico de <i>Toona ciliata</i>	91
4.2.2 Seleção dos extratos mais promissores	93
4.3 Bioensaios com nanoformulações de nim e extratos de outras Meliaceae mais promissores	97
4.3.1 Efeito sobre a preferência para oviposição.....	97
4.3.2 Efeito sobre ovos	99
4.3.3 Efeito sobre o desenvolvimento e a longevidade.....	100
4.4 Avaliação da forma de aplicação das nanoformulações de nim e extratos de outras Meliaceae.....	107
4.4.1 Efeito de contato	107
4.4.1.1 Superfície tratada	107
4.4.1.2 Aplicação tópica	109
4.4.1.3 Considerações sobre bioensaios de efeito de contato	111
4.4.2 Efeito translaminar	112
4.4.3 Efeito sistêmico	117
4.5 Avaliação do efeito residual das nanoformulações de nim e extratos de outras Meliaceae.....	122
4.6 Seletividade de nanoformulações de nim e extratos de outras Meliaceae a dois entomopatógenos e sua interação visando ao controle de <i>T. absoluta</i>	131
4.6.1 Seletividade de nanoformulações de nim e de extratos de outras Meliaceae ao fungo <i>Beauveria bassiana</i> (Bals.) Vuill.....	131
4.6.2 Seletividade de nanoformulação de nim e de extrato de <i>T. ciliata</i> ao granulovírus <i>PhopGV</i>	136
4.6.3 Interação de nanoformulação de nim e de extrato de <i>T. ciliata</i> com dois entomopatógenos visando ao controle de <i>T. absoluta</i>	137

4.7 Seletividade de nanoformulação de nim e de extrato de <i>T. ciliata</i> ao parasitoide de ovos <i>Trichogramma pretiosum</i> Riley	143
4.7.1. Suscetibilidade de adultos de <i>T. pretiosum</i> nas gerações maternal e F1	143
4.7.2 Suscetibilidade dos estágios imaturos de <i>T. pretiosum</i>	146
5 CONCLUSÕES	151
REFERÊNCIAS	153

RESUMO

Bioatividade de nanoformulações de nim e extratos de outras Meliaceae e a sua interação com agentes de controle biológico visando ao controle de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae)

A bioatividade de nanoformulações de nim e de extratos de outras Meliaceae foi avaliada, em tomateiro, em laboratório e em casa de vegetação, visando ao controle de *Tuta absoluta* (Meyrick). Inicialmente foram testadas 22 nanoformulações (incluindo nanocápsulas e nanoesferas) e os extratos em hexano, em diclorometano e em etanol de folhas e ramos de *Trichilia pallida* Swartz, *Trichilia catigua* A. Juss, *Trichilia clausenii* C. DC, *Guarea guidonia* (L.) Sleumer e *Toona ciliata* M. Roemer. O óleo de nim Organic Neem® também foi utilizado nos bioensaios com as nanoformulações e como controle foram utilizadas água destilada e/ou acetona. A partir desses bioensaios, selecionaram-se as nanoformulações NC40 aquoso e NC40 pó (NC40=nanocápsulas de poli-β-hidroxibutirato) e os extratos etanólicos de *T. ciliata* e de *T. catigua*, que foram avaliados em relação ao efeito sobre o desenvolvimento e longevidade do inseto e em relação aos modos de ação (translaminar, sistêmico e de contato) e ao poder residual. O efeito dos tratamentos selecionados sobre os entomopatógenos *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Photorhizma operculella* granulovírus (*PhopGV*) foram avaliados *in vitro* e *in vivo*, respectivamente. A seguir, foi avaliada a possível interação dos derivados vegetais com os entomopatógenos. Finalmente, foi avaliada a seletividade ao parasitoide de ovos *Trichogramma pretiosum* Riley, segundo as recomendações da IOBC. Os resultados obtidos demonstraram que, entre os tratamentos testados, constatou-se bioatividade com oito nanoformulações e com os extratos de *G. guidonia* em diclorometano; *T. ciliata* em hexano, em diclorometano e em etanol; *T. catigua* em hexano, em diclorometano e em etanol; *T. clausenii* em etanol e *T. pallida* em hexano. A fase do inseto mais afetada foi a larval, no entanto a oviposição das fêmeas foi diminuída quando as plantas foram tratadas com o extrato etanólico de *T. ciliata*. Constatou-se efeito translaminar e sistêmico para as nanoformulações e para o óleo de nim. A ação de contato variou com o modo de exposição e com a idade das lagartas. O efeito residual do óleo de nim e da nanoformulação NC40 aquoso foi de sete dias, enquanto para NC40 pó foi de três dias. As nanoformulações e os extratos etanólicos de *T. ciliata* e de *T. catigua* foram compatíveis com o fungo e com o granulovírus. Quando os entomopatógenos foram misturados aos derivados vegetais observou-se que o nim reduziu drasticamente a sobrevivência larval na mistura com os dois entomopatógenos, sendo o maior efeito causado pelo derivado vegetal. Na mistura dos entomopatógenos com o extrato de *T. ciliata*, observou-se maior redução da sobrevivência larval com *PhopGV*. No bioensaio de seletividade a *T. pretiosum*, constatou-se que apenas o óleo de nim afetou a capacidade de parasitismo, sendo levemente nocivo. Para NC40 aquoso e extrato de *T. ciliata* não foram constatados efeitos sobre o parasitismo e sobre o desenvolvimento do parasitoide.

Palavras-chave: Plantas inseticidas; Nim; Traça-do-tomateiro, Nanotecnologia; *Beauveria bassiana*; Granulovírus; *Trichogramma pretiosum*

ABSTRACT

Bioactivity of neem nanoformulations and extracts of other Meliaceae and their interactions with biological control agents aiming to control *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae)

The bioactivity of neem nanoformulations and extracts of other Meliaceae was evaluated in tomato plants in the laboratory and in greenhouse aiming to control *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917). Initially, 22 nanoformulations were tested (including nanocapsules and nanospheres) in addition to the hexane, dichloromethane and ethanol extracts of leaves and branches of *Trichilia pallida* Swartz, *Trichilia catigua* A. Juss, *Trichilia clausenii* C. DC, *Guarea guidonia* (L.) Sleumer and *Toona ciliata* M. Roemer. The neem oil Organic Neem[®] was also used in the bioassays with the nanoformulations and distilled water and/or acetone were used as controls. From these bioassays the aqueous NC40 and powdered NC40 (NC40 = Poly- β -hydroxybutyrate nanocapsules) nanoformulations as well as the ethanolic extracts of *Toona ciliata* and *Trichilia catigua* were selected. These treatments were evaluated regarding their effect on insect development and longevity, mode of action (translaminar, systemic and contact) and residual action. The effects of the selected treatments on the entomopathogens *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and *Phthorimaea operculella* granulovirus (*PhopGV*) were evaluated *in vitro* and *in vivo*, respectively. Then the possible interaction between plant derivatives and entomopathogens was evaluated. Finally, a selectivity bioassay to the egg parasitoid *Trichogramma pretiosum* Riley was evaluated according to IOBC recommendations. The results obtained demonstrate that among these treatments eight nanoformulations and the extracts of *G. guidonia* in dichloromethane; *T. ciliata* in hexane, dichloromethane and ethanol; *T. catigua* in hexane, dichloromethane and ethanol; *T. clausenii* in ethanol and *T. pallida* in hexane showed bioactivity on the insect. The most affected insect stage was the larva, but oviposition was reduced when these plants were treated with *T. ciliata* ethanolic extract. The nanoformulations and neem oil presented translaminar and systemic effect. Contact action varied with exposure mode and caterpillar age. The residual effect of neem oil and aqueous NC40 nanoformulations was seven days while for powdered NC40 was three days. The nanoformulations and the ethanolic extracts of *T. ciliata* and *T. catigua* were compatible with the fungus and the granulovirus. When the entomopathogens were mixed to the plant derivatives, neem drastically reduced larval survival in the mixture with both entomopathogens and the plant derivative produced a greater effect than the entomopathogen. In the mixture of entomopathogens with *T. ciliata* extract there was a greater reduction of larval survival with *PhopGV*. In the *T. pretiosum* selectivity bioassay only the neem oil was slightly harmful and affected parasitism capacity. For aqueous NC40 and *T. ciliata* extract no effects over parasitism or parasitoid development were seen.

Keywords: Insecticide plants; Neem; Tomato leaf miner; Nanotechnology; *Beauveria bassiana*; Granulovirus; *Trichogramma pretiosum*

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Espécies de Meliaceae utilizadas para preparo de extratos orgânicos utilizados nos bioensaios. A= *Guarea guidonia*; B= *Toona ciliata*; C= *Trichilia claussenii*; D= *Trichilia catigua*; E= *Trichilia pallida* 71
- Figura 2 - Curva concentração-resposta (log da concentração em mg/g) para lagartas de *Tuta absoluta* alimentadas com folíolos de tomateiro tratados com diferentes concentrações de óleo de nim. Mortalidades esperadas e observadas são representadas por linha e pontos, respectivamente. 5 probits= 50 % mortalidade. 25 ± 2 °C; 50 ± 10 % UR; fotofase: 14 h 86
- Figura 3 - Curva concentração-resposta (log da concentração em mg/g) de lagartas de *Tuta absoluta* alimentadas com folíolos de tomateiro tratados com diferentes concentrações de extrato etanólico de *Toona ciliata*. Mortalidades esperadas e observadas são representadas por linha e pontos, respectivamente. 5 probits= 50 % mortalidade. 25 ± 2 °C; 50 ± 10 % UR; fotofase: 14 h 92
- Figura 4 - Cromatografia de camada delgada dos extratos orgânicos das cinco meliáceas. Solvente de arraste hexano: acetona (5:3). 1: *Guarea guidonia* - hexano, 2: *G. guidonia* – diclorometano, 3: *G. guidonia* – etanol, 4: *Trichilia pallida* – hexano, 5: *T. pallida* – diclorometano, 6: *T. pallida* – etanol, 7: *Trichilia claussenii* – hexano, 8: *T. claussenii* – diclorometano, 9: *T. claussenii* – etanol, 10: *Trichilia catigua* – hexano, 11: *T. catigua* – diclorometano, 12: *T. catigua* – etanol, 13: *Toona ciliata* – hexano, 14: *T. ciliata* – diclorometano, 15: *T. ciliata* – etanol. A: triterpenos, B: cumarinas, C: flavonoides, D: açúcares 95
- Figura 5 - Média ± erro padrão do número de ovos de *Tuta absoluta* no terço superior de plantas de tomateiro tratadas com nanoformulações de nim e com extratos de outras Meliaceae, em teste com chance de escolha. 25 ± 2 °C; 50 ± 10 % UR; fotofase: 14 h. Colunas com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05)..... 97

- Figura 6 - Média $\pm$ erro padrão do número de ovos de *Tuta absoluta* no terço superior de plantas de tomateiro tratadas com nanoformulações de nim e com extratos de outras Meliaceae, sem chance de escolha. 25 $\pm$ 2 °C; 50 $\pm$ 10 % UR; fotofase: 14 h. Colunas com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)..... 98
- Figura 7 - Curvas de sobrevivência para lagartas de *Tuta absoluta* em folíolos de tomateiro tratados com nanoformulações de nim e extratos de outras Meliaceae. 25 $\pm$ 2 °C; 50 $\pm$ 10 % UR; fotofase: 14 h 102
- Figura 8 - Curvas de sobrevivência de lagartas de *Tuta absoluta* expostas à superfície tratada por nanoformulações de nim e extratos de outras Meliaceae. 25 $\pm$ 2 °C; 50 $\pm$ 10 % UR; fotofase: 14 h 108
- Figura 9 - Curvas de sobrevivência de lagartas de *Tuta absoluta* submetidas à aplicação tópica de nanoformulações de nim e extratos de outras Meliaceae. 25 $\pm$ 2 °C; 50 $\pm$ 10 % UR; fotofase: 14 h 110
- Figura 10 - Curvas de sobrevivência de lagartas de *Tuta absoluta* alimentadas com folhas de tomateiro com a superfície adaxial tratadas com nanoformulações de nim e extratos de outras Meliaceae. 35 $\pm$ 3,8 °C; 37 $\pm$ 21 % UR e luminosidade de 37.526 $\pm$ 12.339 lux 113
- Figura 11 - Tamanho de minas causadas por *Tuta absoluta* em folhas de tomateiro com a superfície adaxial tratadas com nanoformulações de nim e com extratos de outras Meliaceae, oito dias após o tratamento. A=*Toona ciliata*, B=*Trichilia catigua*, C= NC40 aquoso, D= NC40 pó, E=óleo de nim, F=controle água. 35 $\pm$ 3,8 °C; 37 $\pm$ 21 % UR e luminosidade de 37.526 $\pm$ 12.339 lux 116
- Figura 12 - Curvas de sobrevivência de lagartas de *Tuta absoluta* alimentadas com folhas de tomateiro tratadas com nanoformulações de nim. A= Aplicação via solo; B= Aplicação via pulverização foliar. 35 $\pm$ 3,8 °C; 37 $\pm$ 21 % UR e luminosidade de 37.526 $\pm$ 12.339 lux 118

- Figura 13 - Curvas de sobrevivência de lagartas de *Tuta absoluta* alimentadas com folhas de tomateiro aos zero, três e sete dias após a pulverização (DAP) com nanoformulações de nim e extratos de outras Meliaceae. A=óleo de nim; B=NC40 aquoso; C=NC40 pó; D=*Trichilia catigua*; E=*Toona ciliata*. DAP= dias após a pulverização. $35 \pm 3,8$ °C; 37 ± 21 % UR e luminosidade de 37.526 ± 12.339 lux 125
- Figura 14 - Curvas de sobrevivência de lagartas de *Tuta absoluta* alimentadas com folhas de tomateiro tratadas com nanoformulação de nim, óleo de nim, extrato de *Toona ciliata* ou misturas destes com *Beauveria bassiana* ou *PhopGV*. $35 \pm 3,8$ °C; 37 ± 21 % UR e luminosidade de 37526 ± 12339 lux 139
- Figura 15 - Curvas de sobrevivência de fêmeas de *Trichogramma pretiosum* expostas a nanoformulação de nim, óleo de nim e extrato de *Toona ciliata*. A=imediatamente após o tratamento dos ovos. B=24 h após o tratamento dos ovos. 25 ± 2 °C; 60 ± 10 % UR; fotofase: 14 h 144

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Nanoformulações de nim e extratos de outras Meliaceae selecionados como promissores para o controle de <i>Tuta absoluta</i>	73
Tabela 2 - Entomopatógenos utilizados nos bioensaios de seletividade e interação com nanoformulação de nim e extrato de Meliaceae	78
Tabela 3 - Média $\pm$ erro padrão da mortalidade de lagartas de <i>Tuta absoluta</i> alimentadas, durante 10 dias, com folíolos de tomateiro tratados com diferentes concentrações de óleo de nim. 25 $\pm$ 2 °C; 50 $\pm$ 10 % UR; fotofase: 14 h	86
Tabela 4 - Média $\pm$ erro padrão da mortalidade de lagartas de <i>Tuta absoluta</i> alimentadas, durante 10 dias, com folíolos de tomateiro tratados com nanoformulações de nim em cápsulas de PCL e PHB. 25 $\pm$ 2 °C; 50 $\pm$ 10 % UR; fotofase: 14 h	87
Tabela 5 - Média $\pm$ erro padrão da mortalidade de lagartas de <i>Tuta absoluta</i> alimentadas, durante 10 dias, com folíolos de tomateiro tratados com nanoformulações de esferas de PCL e PHB. 25 $\pm$ 2 °C; 50 $\pm$ 10 % UR; fotofase: 14 h	88
Tabela 6 - Média $\pm$ erro padrão da mortalidade de lagartas de <i>Tuta absoluta</i> alimentadas, durante 10 dias, com folíolos de tomateiro tratados com nanoformulações de cápsulas e esferas de PMMA, PCL e β -Ciclodextrina. 25 $\pm$ 2 °C; 50 $\pm$ 10 % UR; fotofase: 14 h	89
Tabela 7 - Percentagem média $\pm$ erro padrão da mortalidade de lagartas de <i>Tuta absoluta</i> alimentadas, durante 10 dias, com folíolos de tomateiro tratados com nanoformulações de cápsulas de PHB. 25 $\pm$ 2 °C; 50 $\pm$ 10 % UR; fotofase: 14 h	89
Tabela 8 - Média $\pm$ erro padrão da mortalidade de lagartas de <i>Tuta absoluta</i> alimentadas, durante 10 dias, com folíolos de tomateiro tratados com diferentes concentrações do extrato etanólico de <i>Toona ciliata</i> . 25 $\pm$ 2 °C; 50 $\pm$ 10 % UR; fotofase: 14 h	93

Tabela 9 - Rendimento de extratos orgânicos de meliáceas submetidas ao processo de extração por maceração na proporção de 1:10 (pó vegetal:solvente). 25 ± 2 °C; 50 ± 10 % UR; fotofase: 14 h	94
Tabela 10 - Média ± erro padrão da mortalidade de lagartas de <i>Tuta absoluta</i> alimentadas, durante 10 dias, com folíolos de tomateiro tratados com extratos orgânicos de Meliaceae. 25 ± 2 °C; 50 ± 10 % UR; fotofase: 14 h	96
Tabela 11 - Média ± erro padrão da viabilidade de ovos de <i>Tuta absoluta</i> tratados com nanoformulações de nim e extratos orgânicos de outras Meliaceae em diferentes períodos de desenvolvimento. 25 ± 2 °C; 50 ± 10 % UR; fotofase: 14 h	100
Tabela 12 - Média ± erro padrão do tempo letal (TL ₅₀) de lagartas de <i>Tuta absoluta</i> alimentadas com folíolos de tomateiro tratados com nanoformulações de nim e extratos de outras Meliaceae. 25 ± 2 °C; 50 ± 10 % UR; fotofase: 14 h	102
Tabela 13 - Médias ± erro padrão da duração da fase larval, peso de pupas, razão sexual, duração da fase pupal, período de L1 a adulto e longevidade de adultos de <i>Tuta absoluta</i> provenientes de lagartas alimentadas com folíolos de tomateiro tratados com nanoformulações de nim e extratos de outras Meliaceae. 25 ± 2 °C; 50 ± 10 % UR; fotofase: 14 h	106
Tabela 14 - Média ± erro padrão do tempo letal (TL ₅₀) de lagartas de <i>Tuta absoluta</i> expostas à superfície tratada por nanoformulações de nim e extratos de outras Meliaceae. 25 ± 2 °C; 50 ± 10 % UR; fotofase: 14 h	108
Tabela 15 - Média ± erro padrão do tempo letal (TL ₅₀) de lagartas de <i>Tuta absoluta</i> submetidas à aplicação tópica de nanoformulações de nim e extratos de outras Meliaceae. 25 ± 2 °C; 50 ± 10 % UR; fotofase: 14 h	110

Tabela 16 - Média $\pm$ erro padrão do tempo letal (TL ₅₀) de lagartas de <i>Tuta absoluta</i> alimentadas com folhas de tomateiro com a superfície adaxial tratadas com nanoformulações de nim e extratos de outras Meliaceae. 35 $\pm$ 3,8 °C; 37 $\pm$ 21 % UR e luminosidade de 37.526 $\pm$ 12.339 lux	113
Tabela 17 - Médias $\pm$ erro padrão da duração da fase larval, peso de pupas, razão sexual, duração da fase pupal, período de L1 a adulto e longevidade de adultos de <i>Tuta absoluta</i> provenientes de lagartas alimentadas com folhas de tomateiro com a superfície adaxial tratadas com nanoformulações de nim e extratos de outras Meliaceae. 35 $\pm$ 3,8 °C; 37 $\pm$ 21 % UR e luminosidade de 37.526 $\pm$ 12.339 lux	116
Tabela 18 - Média $\pm$ erro padrão do tempo letal (TL ₅₀) de lagartas de <i>Tuta absoluta</i> alimentadas com folhas de tomateiro tratadas com nanoformulações de nim. 35 $\pm$ 3,8 °C; 37 $\pm$ 21 % UR e luminosidade de 37.526 $\pm$ 12.339 lux	118
Tabela 19 - Médias $\pm$ erro padrão da duração da fase larval, peso de pupas, razão sexual, duração da fase pupal, período de L1 a adulto e longevidade de adultos de <i>Tuta absoluta</i> provenientes de lagartas alimentadas com folíolos de plantas de tomateiro tratadas com aplicação via solo de nanoformulações de nim. 35 $\pm$ 3,8 °C; 37 $\pm$ 21 % UR e luminosidade de 37.526 $\pm$ 12.339 lux	121
Tabela 20 - Médias $\pm$ erro padrão da duração da fase larval, peso de pupas, razão sexual, duração da fase pupal, período de L1 a adulto e longevidade de adultos de <i>Tuta absoluta</i> provenientes de lagartas alimentadas com folíolos de plantas de tomateiro tratadas com aplicação via pulverização foliar de nanoformulações de nim. 35 $\pm$ 3,8 °C; 37 $\pm$ 21 % UR e luminosidade de 37.526 $\pm$ 12.339 lux	121

Tabela 21 - Média $\pm$ erro padrão do tempo letal (TL ₅₀) de lagartas de <i>Tuta absoluta</i> alimentadas com folhas de tomateiro aos zero, três e sete dias após a pulverização (DAP) com nanoformulações de nim e extratos de outras Meliaceae. 35 $\pm$ 3,8 °C; 37 $\pm$ 21 % UR e luminosidade de 37.526 $\pm$ 12.339 lux	126
Tabela 22 - Médias $\pm$ erro padrão da duração da fase larval, peso de pupas, razão sexual, duração da fase pupal, período de L1 a adulto e longevidade de adultos de <i>Tuta absoluta</i> provenientes de lagartas alimentadas com folhas de tomateiro aos zero, três e sete dias após a pulverização (DAP) com a nanoformulação de nim NC40 pó. 36 $\pm$ 0,56 °C; 30 $\pm$ 3,40 % UR e luminosidade de 34.230 $\pm$ 6.658 lux	129
Tabela 23 - Médias $\pm$ erro padrão da duração da fase larval, peso de pupas, razão sexual, duração da fase pupal, período de L1 a adulto e longevidade de adultos de <i>Tuta absoluta</i> provenientes de lagartas alimentadas com folhas de tomateiro aos zero, três e sete dias após a pulverização (DAP) com o extrato de <i>Toona ciliata</i> . 36 $\pm$ 0,56 °C; 30 $\pm$ 3,40 % UR e luminosidade de 34.230 $\pm$ 6.658 lux	129
Tabela 24 - Médias $\pm$ erro padrão da duração da fase larval, peso de pupas, razão sexual, duração da fase pupal, período de L1 a adulto e longevidade de adultos de <i>Tuta absoluta</i> provenientes de lagartas alimentadas com folhas de tomateiro aos zero, três e sete dias após a pulverização (DAP) com o extrato de <i>Trichilia catigua</i> . 36 $\pm$ 0,56 °C; 30 $\pm$ 3,40 % UR e luminosidade de 34.230 $\pm$ 6.658 lux	130
Tabela 25 - Médias $\pm$ erro padrão de crescimento vegetativo, esporulação e viabilidade de conídios de <i>Beauveria bassiana</i> mantidos em contato com extratos de outras Meliaceae. 25 $\pm$ 2 °C; 50 $\pm$ 10 % UR; fotofase: 14 h	132

Tabela 26 - Médias $\pm$ erro padrão de crescimento vegetativo, esporulação e viabilidade de conídios de <i>Beauveria bassiana</i> mantidos em contato com nanoformulações de nim. 25 ± 2 °C; 50 ± 10 % UR; fotofase: 14 h	132
Tabela 27 - Valores de toxicidade (T) e índice biológico (IB) e classificação da toxicidade de extratos de outras Meliaceae e nanoformulações de nim com <i>Beauveria bassiana</i>	133
Tabela 28 - Média $\pm$ erro padrão do tempo letal (TL ₅₀) de lagartas de <i>Tuta absoluta</i> alimentadas com folhas de tomateiro tratadas com nanoformulação de nim, óleo de nim, extrato de <i>Toona ciliata</i> ou misturas destes com <i>Beauveria bassiana</i> ou <i>PhopGV</i> . $35 \pm 3,8$ °C; 37 ± 21 % UR e luminosidade de 37526 ± 12339 lux	140
Tabela 29 - Média $\pm$ erro padrão do tempo letal (TL ₅₀) de fêmeas de <i>Trichogramma pretiosum</i> expostas a nanoformulação de nim, óleo de nim e extrato de <i>Toona ciliata</i> . 25 ± 2 °C; 60 ± 10 % UR; fotofase: 14 h	144
Tabela 30 - Redução do parasitismo (%) e da emergência de adultos (%) de <i>Trichogramma pretiosum</i> em ovos de <i>Anagasta kuehniella</i> submetidos ao contato com nanoformulação de nim, óleo de nim e extrato de <i>Toona ciliata</i> . 25 ± 2 °C, 60 ± 10 % UR; fotofase: 14 h	145
Tabela 31 - Redução na emergência (RE %) de adultos de <i>Trichogramma pretiosum</i> em ovos do hospedeiro <i>Anagasta kuehniella</i> contendo o parasitoide em diferentes estágios de desenvolvimento por ocasião do contato com nanoformulação de nim, óleo de nim e extrato de <i>Toona ciliata</i> . 25 ± 2 °C; 60 ± 10 % UR; fotofase: 14 h...	146
Tabela 32 - Redução de parasitismo da geração F1 de <i>Trichogramma pretiosum</i> oriunda de ovos contendo o parasitoide em diferentes estágios de desenvolvimento por ocasião do contato com nanoformulação de nim, óleo de nim e extrato de <i>Toona ciliata</i> . 25 ± 2 °C; 60 ± 10 % UR; fotofase: 14 h	146

1 INTRODUÇÃO

O amplo crescimento da população mundial e os avanços tecnológicos têm ocasionado a supressão dos ecossistemas naturais existentes no planeta. A agricultura como fonte de subsistência para a população utiliza tecnologias que objetivam altas produtividades e bom controle fitossanitário. No entanto, devido aos problemas ocasionados pelo uso dos agrotóxicos de maneira indiscriminada é preciso que cada setor da agricultura reveja seus métodos de controle de pragas e doenças, buscando entender as possíveis causas do surgimento do alto desequilíbrio biológico em monocultivos intensivos.

Essa busca tem se tornado cada vez mais intensa, de forma que todos os órgãos competentes vinculados à agricultura e baseados numa nova proposta para o manejo integrado de pragas (MIP) têm buscado definir estratégias para garantir a produção de alimentos e minimizar os prejuízos causados pela presença de pragas e doenças nas lavouras.

A cultura do tomate constitui-se numa das mais importantes solanáceas cultivadas no Brasil, tanto no cultivo convencional como no protegido (ALVARENGA, 2004). Os avanços tecnológicos permitiram uma grande expansão das áreas cultivadas e, conseqüentemente, o surgimento de pragas e doenças de difícil controle. O tomate apresenta-se como cultivo de alto risco, devido aos sérios problemas fitossanitários e que acarretam um grande número de aplicações de agrotóxicos para garantir a produtividade das lavouras (PRATISSOLI et al., 2005).

Tuta absoluta (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae), conhecida popularmente como traça-do-tomateiro, é o principal inseto-praga da cultura, causando sérios prejuízos devido aos danos diretos e indiretos que ocasiona à cultura durante todo o seu ciclo. O difícil controle e os grandes prejuízos resultantes de seu ataque têm determinado a aplicação de inseticidas em grandes proporções. Nesse sentido, novas estratégias integradas ao controle químico são almejadas para diminuir o número de pulverizações, o aparecimento de populações resistentes e os problemas de contaminação ambiental e dos operadores, garantindo o controle eficiente do inseto (BOGORNÍ; CARVALHO, 2006).

Plantas inseticidas, nesse contexto, podem se constituir numa alternativa viável para o controle de insetos (VENDRAMIM, 1997). A utilização de extratos vegetais iniciou-se na agricultura de subsistência, no século passado, onde os produtores utilizavam extratos de diferentes espécies vegetais para proteger plantas e grãos durante o armazenamento. No entanto, com o surgimento do DDT passou-se a utilizar maciçamente inseticidas sintéticos. Hoje, com o aumento da preocupação ambiental, novos estudos têm sido realizados buscando-se viabilizar a aplicação de extratos vegetais no controle de insetos-praga de importância para a agricultura.

As pesquisas visando à utilização de extratos vegetais para controle de *T. absoluta* iniciaram-se na década de 90, no século passado, quando Ferracini et al. (1991, 1993) realizaram trabalhos pioneiros avaliando o efeito de meliáceas sobre esse inseto. Trabalhos realizados no Laboratório de Plantas Inseticidas do Departamento de Entomologia e Acarologia da ESALQ/USP, com aplicação de extratos de *Trichilia* spp. (VENDRAMIM; THOMAZINI, 2001, CUNHA et al., 2005, 2006), *Melia azedarach* L. (BRUNHEROTTO; VENDRAMIM, 2001) e *Azadirachta indica* A. Juss. (GONÇALVES-GERVÁSIO; VENDRAMIM, 2004a, 2007; BRUNHEROTTO; VENDRAMIM; ORIANI, 2010) têm objetivado obter subsídios para controle desse inseto por meio de plantas inseticidas. Nesses trabalhos, extratos brutos ou em frações foram testados quanto ao efeito inseticida sobre larvas e ovos, bem como, buscaram demonstrar o modo de ação desses extratos.

Bioensaios preliminares realizados no referido Laboratório pela autora desse trabalho mostraram que extratos de *Toona ciliata* M. Roemer, *Trichilia clausenii* C. DC e *Trichilia catigua* A. Juss são promissores no controle de *T. absoluta*.

A comprovação do efeito de plantas inseticidas é uma realidade. No entanto, a baixa estabilidade, a degradação e a concentração insuficiente dos ingredientes ativos nesses extratos vegetais são apontadas como limitações para o uso desses bioinseticidas pelos produtores.

Dentro das perspectivas para desenvolvimento de moléculas estáveis e com alto efeito sobre organismos-alvo, a biotecnologia tem se apresentado como importante ferramenta, considerando sua aplicação no desenvolvimento de cultivares transgênicas, estudos moleculares e, mais recentemente, no desenvolvimento de ingredientes ativos

em escala nanométrica, uma realidade nas grandes multinacionais que trabalham com inseticidas sintéticos.

A utilização da nanotecnologia no desenvolvimento de partículas agrotóxicas apresenta vantagens quanto à aplicação desses produtos, sendo mais estáveis e menos contaminantes no ambiente. Portanto, a nanotecnologia pode ser aplicada na criação de materiais funcionais, dispositivos e sistemas através do controle da matéria na escala de nanômetros, implicando em sistemas que apresentem novos fenômenos e propriedades, que são dependentes do tamanho, como a superplasticidade devido à alta área superficial dessas partículas (DURÁN; AZEVEDO, 2007). Dessa forma, a nanotecnologia poderá garantir uma maior estabilidade dos compostos provenientes de plantas com atividade inseticida, aumentando seu potencial de controle e o seu efeito residual.

O nim (*A. indica*) é uma das plantas mais estudadas em todo mundo e devido suas características inseticidas sobre diferentes grupos de artrópodes tem-se avaliado sua aplicação sobre insetos-praga (MARTINEZ, 2002). Diante disso, o desenvolvimento de uma formulação estável otimizaria a implantação de manejos com a pulverização desse bioinseticida, caracterizando um insumo ambientalmente correto e reduzindo o número de pulverizações necessárias para controle do inseto.

Estudos para avaliar o potencial de controle e o efeito residual de formulações nanoencapsuladas de nim, bem como extratos de outras plantas pouco exploradas até o momento, sobre *T. absoluta* poderiam garantir um melhor controle desse inseto na cultura do tomate, já que, as formulações nanoencapsuladas seriam mais estáveis, potencializando o efeito das moléculas sobre o inseto-alvo e não atingindo organismos não alvo, como inimigos naturais da praga de interesse.

Reconhecidamente, *T. absoluta* possui muitos inimigos naturais (DESNEUX et al., 2010), entre eles patógenos, parasitoides e predadores. Como o uso de plantas inseticidas vem aumentando nos últimos anos e sua inserção em programas de MIP já é uma realidade, a segurança dos extratos vegetais para os inimigos naturais também se tornou uma questão discutível.

Dentro da proposta de MIP, para *T. absoluta*, a rotação de inseticidas para evitar a resistência e o uso do controle biológico é preconizada (VILLAS BÔAS; BRANCO;

MEDEIROS, 2005). O uso de entomopatógenos tem se mostrado eficiente e sua utilização em estratégias integradas ao controle químico têm possibilitado o aumento da eficiência de controle. De acordo com Castiglioni-Rosales (2001), a aplicação de entomopatógenos associados ao controle químico poderá implicar na redução nas doses aplicadas, diminuindo o efeito desses produtos sintéticos no ambiente e sobre organismos não alvo.

Buscando implementar uma importante ferramenta para programas de manejo integrado na cultura do tomate, o presente trabalho buscou avaliar a bioatividade de nanoformulações de nim e de extratos de outras Meliaceae visando ao controle de *T. absoluta*. Adicionalmente, buscou-se identificar e caracterizar o modo de ação e o poder residual dessas plantas inseticidas, bem como avaliar a seletividade e a interação deles com dois entomopatógenos e um parasitoide de ovos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Aspectos da cultura do tomate

O tomate (*Solanum lycopersicum* L.) teve sua origem na região andina, estendendo-se do Equador até o Norte do Chile e, supostamente, foi domesticado no México. No entanto, a difusão pelo mundo se deu através dos colonizadores europeus. Apesar de ser consumido pelos astecas no centro de origem, foram os europeus que, primeiramente, utilizaram o tomate como planta ornamental e somente, em 1554, passaram a utilizá-lo na alimentação, tornando-se amplo o seu consumo. No Brasil, a introdução do tomate se deu com os imigrantes e o consumo foi difundido após a 1ª Guerra Mundial (ALVARENGA, 2004).

O tomate é uma das principais hortaliças cultivadas no mundo, seja em cultivo convencional ou protegido. No Brasil, ocupa o segundo lugar na área plantada de solanáceas perdendo apenas para a cultura da batata. Os principais estados brasileiros produtores de tomate são Goiás, São Paulo e Minas Gerais, além de algumas regiões do Espírito Santo (CANÇADO JR. et al., 2003). Segundo os autores, a extensão da área cultivada, a produção e a produtividade têm aumentado nos últimos anos.

O sucesso da cultura está atrelado aos grandes avanços tecnológicos que possibilitam melhorias de cultivares e do sistema de cultivo (SUINAGA et al., 2003). Apesar de a cultura estar cada vez mais tecnificada, sua importância na agricultura familiar é bastante significativa, já que a maior parte da produção é oriunda de propriedades pequenas e que utilizam a mão-de-obra familiar para obter o sustento.

Atualmente, o tomate é considerado cultura de alto risco, devido sua alta suscetibilidade ao ataque de pragas e doenças (LOOS et al., 2004), o que acarreta na utilização de grandes investimentos no controle fitossanitário. Ataques da mosca-branca *Bemisia tabaci* (Gennadius) biótipo B (CANÇADO JR. et al., 2003) e da traça-do-tomateiro *Tuta absoluta* (Meyrick) (SILVA et al., 2000) têm afetado constantemente a cultura, reduzindo a produção ou aumentando os custos de controle. O aumento na incidência de *T. absoluta* nas áreas de tomate é registrado desde 1980 e atualmente

essa traça é considerada o principal inseto-praga da cultura, provocando perdas expressivas e intensificando o uso de inseticidas.

2.2 Considerações gerais sobre *T. absoluta*

2.2.1 Características morfológicas

T. absoluta, popularmente conhecida como traça-do-tomateiro, é um microlepidóptero cujos adultos apresentam cor cinza-prateada e aproximadamente 1 cm de envergadura, que têm comportamento crepuscular-noturno-auroral, permanecendo na face inferior das folhas do tomateiro durante o dia (QUIROZ, 1976; COELHO FRANÇA, 1987; SOUZA; REIS, 1992; SILVA; CARVALHO, 2004). O abdome da fêmea é mais robusto que o do macho (HAJI et al., 1988). As antenas são filiformes e nos machos mais largas que nas fêmeas (COELHO; FRANÇA, 1987).

Os ovos são branco-brilhantes ou amarelo-claros, tornando-se avermelhados ou marrons, próximo à eclosão da lagarta. As lagartas de 1º ínstar são verde-claras, tem a cabeça maior que o corpo. Já lagartas dos ínstaes posteriores apresentam coloração verde, intensificada à medida que as lagartas crescem. A pré-pupa apresenta cor verde-escura e uma faixa longitudinal dorsal rósea a avermelhada e mede aproximadamente 9 mm de comprimento (QUIROZ, 1976; COELHO; FRANÇA, 1987).

As pupas são obteatas de coloração marrom-amarelada (SILVA; CARVALHO, 2004). É nessa fase que, normalmente, se faz a separação dos sexos, sendo observado nas fêmeas que o cremaster invagina-se, formando dois lóbulos e no macho ele dá origem ao orifício anal. O poro genital no macho localiza-se no 9º segmento abdominal e na fêmea está entre 8º e 9º segmentos (QUIROZ, 1976; COELHO; FRANÇA, 1987).

2.2.2 Aspectos biológicos

O inseto é multivoltino e o ciclo de desenvolvimento é dependente das condições ambientais. As médias de desenvolvimento são 76 dias a 14 °C, 40 dias a 20 °C e 23

dias a 27 °C (BARRIENTOS et al., 1998), podendo ser definidas, dessa forma, as constantes térmicas para esse inseto.

Estudos de biologia da traça-do-tomateiro sob diferentes condições de temperatura e sobre hospedeiro natural demonstraram que a espécie apresenta quatro instares larvais. Giustolin, Vendramim e Parra (2002) observaram que a alteração do genótipo de tomateiro e da temperatura de criação não afeta o número de instares, constatando, para todas as condições descritas, quatro picos de frequência e aumento da largura das cápsulas cefálicas à medida que a lagarta trocava de instar. Num trabalho mais recente, Bogorni e Carvalho (2006) confirmaram o número de quatro instares por meio da medição do comprimento do corpo e da medição das cápsulas cefálicas. Com base no comprimento do corpo, observaram que as lagartas criadas na cultivar Carmen (tomate longa vida) tendem a ser maiores que aquelas obtidas nas cultivares Empire e Santa Clara. Já com base na medição das cápsulas cefálicas, observaram que não há diferenciação entre as cultivares e que o número de instares concorda com aqueles encontrados por outros autores.

De acordo com a literatura, a duração e a viabilidade da fase larval são influenciadas principalmente pela temperatura na qual as lagartas se desenvolvem, sendo essa fase retardada em temperaturas baixas (QUIROZ, 1976; IMENES et al., 1990) e acelerada em temperaturas altas (COELHO; FRANÇA, 1987; FERNÁNDEZ; MONTAGNE, 1990, MIHSFELDT; PARRA, 1999, GIUSTOLIN; VENDRAMIM; PARRA, 2002). O alimento também pode influenciar diretamente no desenvolvimento dos insetos, como mostra trabalhos realizados por Imenes et al. (1990) e Bogorni e Carvalho (2006).

Bogorni e Carvalho (2006) determinaram a duração de cada instar para três cultivares de tomate observando, nas condições de 25 ± 1 °C, 65 ± 10 % UR e 12 h de fotofase, que os quatro instares duraram 3,15; 2,50; 2,34 e 3,10 dias, com 2,10 dias para fase de pré-pupa, totalizando 13,1 dias para a fase larval. Coelho e França (1987) observaram alguns valores diferentes daqueles encontrados por Bogorni e Carvalho (2006), apesar de o método utilizado para determinação dos instares ter sido similar nos dois trabalhos.

Bogorni e Carvalho (2006) obtiveram viabilidade da fase larval em torno de 80 %, mas viabilidades mais baixas podem ser encontradas na literatura em trabalhos realizados a 20 °C e onde há manipulação das lagartas para medição das cápsulas cefálicas (GIUSTOLIN; VENDRAMIM; PARRA, 1995; HAJI et al., 1988). Quando a temperatura é elevada a 25 °C e se evita a manipulação, tem-se observado que a viabilidade larval sobe para 64-88 % (ANGEL, 1988; FERNÁNDEZ; MONTAGNE, 1990; GIUSTOLIN; VENDRAMIM, 1994; BOGORNI; CARVALHO, 2006).

A fase de pupa dura em torno de 7 dias (VARGAS, 1970; FERNÁNDEZ; MONTAGNE, 1990; GIUSTOLIN; VENDRAMIM, 1996; BOGORNI, 1999; BOGORNI; CARVALHO, 2006) e geralmente com viabilidade acima de 80 % à temperatura de 25 °C (COELHO; FRANÇA, 1987; FERNÁNDEZ; MONTAGNE, 1990; IMENES et al., 1990; GIUSTOLIN; VENDRAMIM, 1994). Em temperaturas baixas há prolongamento da fase de pupa que pode se estender a 19 dias (QUIROZ, 1976). Quando a pupação não ocorre no solo, usualmente são construídos casulos.

Bogorni e Carvalho (2006) avaliaram a duração da fase pupal para machos e fêmeas de *T. absoluta* observando que para fêmeas a duração dessa fase é menor que nos machos e que as pupas alimentadas com a cultivar Santa Clara são menores que aquelas obtidas nas cultivares Empire e Carmen. Quanto à razão sexual, os autores observaram a proporção de 1 macho por 1,8 fêmea, em média, corroborando dados já encontrados por outros autores (HAJI et al., 1988; FERNÁNDEZ; MONTAGNE, 1990).

A longevidade dos adultos varia entre os sexos, sendo que as fêmeas vivem mais que os machos (COELHO; FRANÇA, 1987; ANGEL, 1988; HAJI et al., 1988; GIUSTOLIN; VENDRAMIM, 1996). Giustolin e Vendramim (1996) encontraram 11,1 e 16,7 dias para fêmeas e machos, respectivamente, para adultos alimentados com folhas de tomateiro na fase larval. Para indivíduos acasalados, foram obtidos valores de 16,4 dias para machos e 17,8 dias para fêmeas e para não acasalados de 12,3 e 16,8 dias, respectivamente (ANGEL, 1988). Fernández e Montagne (1990) encontraram longevidades de 26,5 e 23,2 dias para machos e fêmeas, respectivamente, valores inferiores aos registrados por Imenes et al. (1990) que obtiveram 34,7 e 36,5 dias, respectivamente, para fêmeas e machos alimentados com solução de mel a 10 %. Também, Bogorni e Carvalho (2006) encontraram valores de longevidade maiores que

20 dias para adultos obtidos em três cultivares de tomate e observaram que a longevidade dos machos é maior que a das fêmeas, oposto ao encontrado na maioria dos trabalhos (COELHO; FRANÇA, 1987; ANGEL, 1988; HAJI et al., 1988; GIUSTOLIN; VENDRAMIM, 1996). A longevidade é um parâmetro bastante variável e dependente de diversos fatores, sendo a temperatura um dos principais (RÁZURI; VARGAS, 1975; BOGORNÍ; CARVALHO, 2006).

A cópula é realizada nas primeiras horas da manhã (6-7 h), com início da atividade de dispersão por volta das 5 h. O comportamento de cópula não foi registrado durante a noite. Cada fêmea copula uma vez e de forma contínua, podendo atingir até 4 h e 45 min. Os ovos são colocados geralmente 24 h após a cópula, indistintamente em relação à face do folíolo, podem ser colocados individualmente ou em grupos pequenos (QUIROZ, 1976; COELHO; FRANÇA, 1987; FERNÁNDEZ; MONTAGNE, 1990; IMENES et al., 1990; UCHÔA-FERNANDES et al., 1995). Os ovos são preferencialmente depositados nas folhas superiores (HAJI et al., 1988; LABORY et al., 1999; PRATISSOLI et al., 2003) e as lagartas encontradas nos folíolos medianos (TORRES et al., 2001). Já Leite et al. (1995) e Picanço et al. (1995) observaram maior concentração de posturas no terço mediano da planta. Num trabalho de amostragem de *T. absoluta* para determinação do nível de dano econômico, Gomide, Vilela e Picanço (2001) observaram que o método de avaliar o terço superior da planta é o melhor.

Os períodos de pré-oviposição, oviposição e pós-oviposição duram em média 1 a 4; 3 a 22 e 2,9 a 3,6 dias, respectivamente (COELHO; FRANÇA, 1987; HAJI et al., 1988; FERNÁNDEZ; MONTAGNE, 1990; IMENES et al., 1990; BOGORNÍ, 1999; BOGORNÍ; CARVALHO, 2006). A fecundidade varia de 40 a 350 ovos para condições controladas de criação. O alimento fornecido para os adultos (solução de mel a 10 %) ou para as lagartas (dieta artificial e folhas de tomateiro, por exemplo) influencia a fecundidade. Assim como os outros parâmetros da biologia de *T. absoluta*, estes também variam de acordo com a condição ambiental de criação do inseto.

O período de incubação dos ovos varia de 4 a 7 dias, no entanto valores de 4 e 5 dias são comumente encontrados na literatura (BOGORNÍ, 1999; COELHO; FRANÇA, 1987; FERNÁNDEZ; MONTAGNE, 1990; HAJI et al., 1988; IMENES et al., 1990). Bogorni e Carvalho (2006) encontraram períodos de incubação em torno de 4,2 dias

para ovos oriundos de insetos criados em três cultivares de tomateiro. Ao analisar a viabilidade dos ovos para três cultivares de tomateiro, Bogorni e Carvalho (2006) observaram viabilidade média de 89 %. A temperatura é um fator limitante para a viabilidade, sendo que, a 27 °C, Haji et al. (1988) constataram viabilidade de 44 % para ovos de *T. absoluta*.

Para as condições de campo Haji et al. (1988) constataram que a precipitação foi o fator que mais influenciou a população de *T. absoluta*. Segundo os autores, o efeito da chuva ou da irrigação por aspersão afeta a viabilidade de ovos, visto que estes são, geralmente, depositados no dossel superior da planta. Bacci (2006) avaliou o efeito da fenologia da planta, dos efeitos climáticos, da mortalidade natural e da utilização de inseticidas na variação sazonal da população de *T. absoluta* e constatou que o declínio da população estava correlacionado com o aumento da mortalidade natural e o efeito direto e indireto da chuva.

O ciclo biológico completo de *T. absoluta* é de, aproximadamente, 40 dias, podendo, no entanto, variar em função das condições ambientais a que o inseto é submetido. Estudos realizados no Chile mostraram ciclos de até 77 dias a 14 °C, 39,8 dias a 19,7 °C e 23,8 dias a 27,1 °C (BARRIENTOS et al., 1998). Trabalhos realizados por Giustolin, Vendramim e Parra (1995) e Mihsfeldt e Parra (1999) demonstraram que, apesar de ser viável a criação dos insetos em dieta artificial, esta não permite o desenvolvimento de todo potencial obtido quando se utiliza a dieta natural.

A sobrevivência dos insetos durante períodos de inverno se dá na forma de ovos, pupas e adultos (EUROPEAN AND MEDITERRANEAN PLANT PROTECTION ORGANIZATION - EPPO, 2005). De acordo com Barrientos et al. (1998), as larvas não entram em diapausa enquanto houver alimento disponível, podendo ocorrer de 10 a 12 gerações por ano na América do Sul. Em ensaios de laboratório foi possível manter larvas a 4 °C por várias semanas (VERCHER; CALABUIG; FELIPE, 2010). De acordo com este trabalho, desenvolvido para condições do Mediterrâneo, adultos foram detectados durante todo ano, sendo que as pupas podem se manter no solo ou em casulos nas plantas ou restos de cultura.

2.2.3 Distribuição geográfica

T. absoluta encontra-se distribuída em toda América do Sul, tendo sido registrada na Venezuela, Colômbia, Chile, Bolívia, Argentina, Peru, Uruguai e Brasil (POVOLNY, 1975; CARBALL et al., 1981; MUSZINSKI; LAVENDOWSKI; MASCHIO, 1982; SOUZA; REIS, 1986). Segundo García e Espul (1982), o inseto foi introduzido na Argentina através do Chile em 1964, estando ausente nas regiões andinas acima de 1000 m, onde baixas temperaturas limitam o desenvolvimento (EPPO, 2005). Na Ásia, a incidência é incerta, embora haja um registro não confirmado de ataque no Japão (Clarke, 1962). Nos EUA, ainda não foi registrada a ocorrência de *T. absoluta*, região em que *Keiferia lycopersicella* (Walshingham) e *Phthorimaea operculella* (Zeller) são pragas importantes na cultura do tomate (SANNINO; NICODEMO, 1979; JUVICK et al., 1982; EBORA; EBORA; STICKLEN, 1994; POUEY; CHIRINOS; RIVERO, 1994). Assim, em razão da semelhança entre essas três espécies de microlepidópteros, erros de identificação poderiam estar mascarando o registro de ocorrência de *T. absoluta* (ECOLE et al., 1999).

Até 2006, não havia registro da ocorrência de *T. absoluta* na Europa. De acordo com Urbaneja et al. (2007), no entanto, problemas nos órgãos de inspeção fitossanitária permitiram a entrada de frutos contendo o inseto na província de Castellón de La Plana na Espanha. De acordo com os autores, considerando-se a capacidade de propagação da praga, há uma preocupação crescente em controlar esse inseto. A partir da Espanha, onde sérios prejuízos foram registrados, em 2007, em casas de vegetação, ocorreu, em 2008 e 2009, a disseminação do inseto para a França, Grécia, Portugal, Marrocos, Algéria, Tunísia e Itália. Em 2008, na Itália, as cinco principais regiões produtoras de tomate, Ligúria, Sicília, Sardenha, Calábria e Campânia, apresentaram infestações por *T. absoluta*. Apesar de algumas confusões com *K. lycopersicella*, novas áreas de infestação são registradas frequentemente na EPPO. Em 2010, novos registros na Alemanha, Chipre, Romênia, Bulgária, Turquia, Lituânia e no Oriente Médio (Bahrain e Kuwait), foram publicados (KILIÇ, 2010; EPPO, 2010; OSTRAUKAS; IVINSKIS, 2010). Segundo dados recentes (DESNEUX et al., 2010), até mesmo em

países muito frios da Europa, onde se trabalha com cultivo protegido, há registros da ocorrência de *T. absoluta*.

No Brasil, a primeira ocorrência de *T. absoluta* foi registrada em 1979 no litoral paranaense sobre tomate (MUSZINSKI; LAVENDOWSKI; MASCHIO, 1982); no ano seguinte foi relatada em Jaboticabal, SP, por Moreira, Lara e Churata-Masca (1982). Nos anos seguintes espalhou-se para outros estados como Espírito Santo (SCARDINI; FERREIRA; GALVEAE, 1983), Rio de Janeiro (GONÇALVES; OLIVEIRA; LIMA, 1983), Bahia (HAJI, 1982; MORAES; NORMANHA FILHO, 1982), entre outros estados, acreditando-se que atualmente esteja espalhada por todo território nacional. Como a ocorrência de *T. absoluta* foi registrada em vários locais em períodos muito curtos pode-se inferir que o inseto já estava presente no Brasil bem antes desses relatos. Esse aspecto poderia estar relacionado ao fato de ocorrerem confusões quanto à identificação de *T. absoluta* e *P. operculella* (GONÇALVES-GERVÁSIO et al., 1999; NAKANO; PAULO, 1983).

2.2.4 Hospedeiros e danos

A traça-do-tomateiro tem preferência por plantas hospedeiras da família das solanáceas, sendo o tomateiro o hospedeiro preferencial e no qual sua importância como praga é maior. Entre as demais solanáceas que podem ser hospedeiras de *T. absoluta* tem-se: a batata (*Solanum tuberosum* L.), o fumo (*Nicotiana tabacum* L.), a maria-pretinha (*Solanum nigrum* L.), o joá-bravo (*Solanum aculeatissimum* Jacq.), *Solanum bonariense* L., *Solanum elaeagnifolium* L., *Solanum muricatum* L., *Solanum puberulum* Nutt. ex Seem, *Solanum saponaceum* Dunal, *Solanum sisymbriifolium* Lam., entre outras espécies (VARGAS, 1970; POVOLNY, 1975; DESNEUX et al., 2010). Desneux et al. (2010) citam espécies do gênero *Datura* como potenciais hospedeiras para o inseto. Segundo os autores, desde a entrada do inseto na Europa, novas plantas têm sido registradas como hospedeiras, havendo relatos de ocorrência até em leguminosas como o feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) (EPPO, 2009).

No Brasil, tem-se relato da sua ocorrência em tomateiro, sendo encontrada ocasionalmente em batata e solanáceas silvestres como maria-pretinha e joá-bravo, as quais servem de hospedeiros alternativos durante as entressafras (FRANÇA; CASTELO BRANCO, 1992; SOUZA; REIS, 1992).

Os danos são ocasionados durante todo ciclo da cultura e atingem folhas, brotações, flores, hastes e frutos. O comportamento alimentar das lagartas é minador, ou seja, galerias são formadas devido à utilização do mesófilo foliar como alimento; dessa forma é possível, ao final da fase larval, observar locais transparentes nas folhas, os quais consistem apenas das epidermes. As galerias são irregulares e podem apresentar regiões necróticas. Os danos provocados nas brotações levam à má formação das hastes. Além disso, ocorrem ataques às flores e aos frutos verdes, depreciando-os para o consumo (BAHAMONDES; MALLEA, 1969; COELHO; FRANÇA, 1987; HAJI et al., 1989; FERNÁNDEZ; MONTAGNE, 1990; UCHÔA-FERNANDES et al., 1995). Segundo EPPO (2005), o ataque aos frutos pode provocar danos diretos e indiretos, já que após a entrada da lagarta no fruto, depreciando-o para consumo (dano direto), as aberturas deixadas pelos insetos funcionam como portas de entrada para fitopatógenos (dano indireto). Em batata, observa-se apenas ataque na parte aérea das plantas, não ocorrendo desenvolvimento nos tubérculos (CAFFARINI et al., 1999; NOZT, 1992).

Seja para consumo *in natura* ou para indústrias de processamento os danos ocasionados pelo inseto podem ocasionar perdas de 80-100 % (APABLAZA, 1992).

2.2.5 Controle

Há diversas formas para controlar *T. absoluta*, mas atualmente o controle se restringe basicamente à aplicação de inseticidas químicos. O alto potencial reprodutivo e os danos ocasionados por esse inseto tornam o método químico o controle preconizado na cultura, já que o hábito minador, a existência de populações resistentes e o ciclo de vida curto tornam o controle do inseto difícil e dispendioso. Muitas vezes, por essas causas, até mesmo o controle químico é ineficiente, garantindo a

permanência de infestações (BOGORNÍ; CARVALHO, 2006) e tornando os custos de produção onerosos e as perdas bastante significativas (PICANÇO et al., 2004).

O manejo de *T. absoluta* iniciou-se pelo uso de inseticidas organofosforados na década de 70, sendo substituídos gradualmente por piretroides e outros inseticidas. Atualmente, a maioria dos inseticidas utilizados são piretroides (SILVÉRIO et al., 2009). Contudo, o aumento na incidência de populações resistentes e a crescente demanda por produtos mais sustentáveis têm levado à busca por estratégias integradas para o manejo de insetos-praga.

A partir da metade do século XX, com a chamada Revolução Verde, surgiu a necessidade de se atentar para os problemas ocasionados pelo uso demasiado de agrotóxicos na agricultura, devido à contaminação ambiental, presença de resíduos nos alimentos, efeitos prejudiciais sobre organismos benéficos e o aparecimento de populações resistentes (MENEZES, 2005). Foi nesse período, que a implementação de programas de MIP (manejo integrado de pragas) começou a receber incentivos, para substituir ou minimizar os problemas ocasionados pelo uso de produtos sintéticos (KOGAN, 1998).

O controle de insetos é muitas vezes realizado de maneira não planejada e dentro de um sistema convencional. Picanço et al. (2004) avaliaram o impacto do uso de faixas circundantes de *Crotalaria juncea* L., guandu, milho e sorgo na cultura do tomate com a aplicação planejada de inseticidas químicos tomando por base níveis de controle. Os autores constataram que a adoção das medidas propostas reduz em 25 a 75 % o número de aplicações anteriormente realizadas para controle dos insetos. Segundo França e Castelo Branco (1992), o controle da *T. absoluta*, no Distrito Federal, onerou o custo de produção em até 12 %, podendo ocasionar para as condições de altas populações da praga queda de até 25 % da produção.

Villas-Bôas, Branco e Medeiros (2005) apresentaram uma tabela com produtos (princípios ativos dos inseticidas) registrados para controle de *T. absoluta*. Entre as limitações da adoção do controle químico como único método de controle da traça destacam-se: poucos produtos com a eficiência desejada, a alta frequência de aplicação, o alto custo dos inseticidas, o lento desenvolvimento de novos produtos

químicos, o risco de contaminação ambiental e o surgimento de populações resistentes do inseto (FRANÇA, 1993).

Villas-Bôas, Branco e Medeiros (2005) apresentaram alguns aspectos novos para o manejo de *T. absoluta* como a rotação de inseticidas de grupos químicos diferentes e o uso de *Trichogramma pretiosum* Riley para liberações semanais nas lavouras. No cultivo protegido diversas práticas podem ser utilizadas para reduzir as infestações pelo inseto. Segundo Medeiros et al. (2005), as características do cultivo protegido associadas a boas medidas de controle físico, práticas culturais, monitoramento populacional, controle biológico e controle químico emergencial podem favorecer o sucesso de programas de MIP para esse sistema de cultivo.

Picanço et al. (2004) sugerem que a adoção do MIP, além de reduzir custos, pode favorecer o incremento de populações de inimigos naturais como parasitoides e predadores. A fauna benéfica na cultura do tomate é muito grande, e pode ser utilizada no manejo integrado de pragas. Gravena (1984) citou a presença de 14 espécies de insetos predadores (representantes de nove famílias) e aranhas (representantes de quatro famílias), número superior aos encontrados por Bergmann et al. (1984) (sete espécies) e por Bergmann et al. (1988) (11 espécies). Desneux et al. (2010) apresentam uma revisão bastante detalhada para espécies de inimigos naturais (parasitoides e predadores) que podem ser importantes no controle de *T. absoluta* na Europa. Nesse mesmo trabalho, os autores apresentam listas para espécies de inimigos naturais incidentes na América Latina.

Entre os parasitoides existem vários trabalhos mostrando sua eficiência no controle de *T. absoluta*, sendo *T. pretiosum* a mais comumente encontrada (OATMAN, 1970), embora outros parasitoides sejam relatados (BERGMANN et al., 1984, 1988; DESNEUX et al., 2010). Esses estudos indicaram que a entomofauna do tomateiro é rica, entretanto são necessários mais estudos para identificar as espécies de insetos benéficos que poderão ser usadas como agentes de controle biológico de *T. absoluta*.

O controle microbiano tem se mostrado eficiente e sua utilização em estratégias integradas ao controle químico têm possibilitado o aumento da eficiência de controle. Giustolin et al. (2001a, 2001b) relataram o uso de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Bacillus thuringiensis* Berliner var. *kurstaki* no controle de *T. absoluta*. Recentemente,

Mascarin et al. (2010) demonstraram o efeito de granulovírus e Batalla-Carrera, Morton e Pinoet (2010) avaliaram a eficácia de nematoides entomopatogênicos sobre o inseto. De acordo com Castiglioni-Rosales (2001), a aplicação de entomopatógenos associados ao controle químico poderá propiciar a redução nas doses aplicadas, diminuindo o efeito desses produtos sintéticos no ambiente e sobre organismos não alvo.

Evitar plantio durante o ano todo e o escalonamento de plantios podem reduzir os danos ocasionados por *T. absoluta* (HAJI, 1989, 1992). Além desses aspectos, a utilização de cultivares adaptadas às regiões de cultivo, rotação de culturas, controle de plantas daninhas, inspeções periódicas e a rotação de produtos químicos utilizados também contribuem para evitar infestações (FRANÇA et. al., 2000). Haji et al. (1988) verificaram que a irrigação por aspersão proporcionou menores populações da praga na cultura do tomate, quando comparada com a irrigação localizada.

Quanto à utilização de cultivares resistentes, Ventura (1992) sugere que a resistência de plantas é uma opção efetiva para o MIP. Lourenção et al. (1984) e França et al. (1984) detectaram algumas fontes de resistência em espécies de *Lycopersicon* (= *Solanum*), como *L. peruvianum* (L.) Mill., *L. hirsutum* Dunal var. *glabratum*, *L. hirsutum* Dunal var. *typicum* e *L. pennelli* Mill.. Gilardón et al. (2001) ressaltam a importância da capacidade das plantas superiores em sintetizarem metabólitos tóxicos com ação antibiótica ou deterrente sobre herbívoros. Os mesmos autores observaram que a presença de tricomas não acarreta em diferenças na oviposição de *T. absoluta*, apesar de os metabólitos secretados por eles terem efeito sobre o desenvolvimento larval do inseto (GIUSTOLIN; VENDRAMIM, 1994). A ação de 2-TD (2-tridecanona) alonga as fases larval e pupal e reduz a viabilidade larval, o peso de pupas e a fecundidade das fêmeas, estando ligado à resistência por antibiose e antixenose (GIUSTOLIN; VENDRAMIM, 1994; GONÇALVES-GERVÁSIO et al., 1999; LEITE et al., 1999).

O monitoramento ou controle de insetos com uso de feromônio sintético vem crescendo dentro dos programas de manejo de insetos-praga (VILELA, 1992). Ferrara et al. (2001) avaliaram o efeito do feromônio sintético de *T. absoluta* e observaram bons resultados. Michereff Filho et al. (2000) avaliaram o efeito do feromônio na interrupção

de acasalamentos; no entanto, segundo os autores, os resultados negativos podem estar ligados ao fato de que as doses e a composição do feromônio não tenham sido capazes de impedir os acasalamentos e que a migração de fêmeas copuladas para a área experimental possa ter mascarado os resultados.

Além dessas estratégias, o uso de plantas inseticidas e de agentes de controle biológico, que eram empregados antes do surgimento dos agrotóxicos sintéticos, ressurgiu para compor novas estratégias, mais seguras, dentro de propostas de MIP, visando uma maior sustentabilidade dos sistemas agrícolas.

2.3 Considerações gerais sobre plantas inseticidas

A utilização de extratos vegetais para controle de insetos-praga iniciou-se no século passado antes do advento do DDT, sendo essa utilização substituída pelo uso de inseticidas sintéticos. No entanto, devido ao aumento da preocupação ambiental e visando práticas para solucionar problemas ocasionados pela contaminação de operadores e consumidores, bem como problemas de resistência de insetos e perda de eficiência de controle dos inseticidas químicos, novos estudos têm buscado viabilizar o uso de extratos de plantas com atividade inseticida sobre insetos-praga de importância agrícola (VENDRAMIM, 1997).

Entre as plantas com atividade inseticida, *N. tabacum* (Solanaceae), *Ryania speciosa* Vahl. (Flacuartiaceae), *Schoenocaulon officinale* Lind (Liliaceae), *Chrysanthemum cinerariaefolium* Vis. (Asteraceae), *Derris* spp. e *Lanchocarpus* spp. (Fabaceae) foram as primeiras a ser utilizadas (LAGUNES; RODRÍGUEZ, 1989). Entre as plantas mais estudadas atualmente para obtenção de inseticidas botânicos estão as meliáceas como nim (*Azadirachta indica* A. Juss), cinamomo (*Melia azedarach* L.) e espécies do gênero *Trichilia* (GONÇALVES-GERVÁSIO, 2003).

Nesse sentido, estudos visando avaliar o efeito de plantas inseticidas sobre insetos-praga vêm sendo desenvolvidos, buscando-se identificar plantas e partes destas que possam desempenhar eficiente controle de insetos como *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith), *T. absoluta*, *Bemisia tabaci* (Gennadius) e outras pragas (BRUNHEROTTO; VENDRAMIM, 2001; BOGORNÍ; VENDRAMIM, 2005; PROCÓPIO

et al., 2003; TAVARES; VENDRAMIM, 2005; CUNHA et al., 2006; GONÇALVES-GERVÁSIO; VENDRAMIM, 2004b, 2007; BRUNHEROTTO; VENDRAMIM; ORIANI, 2010).

2.3.1 Bioatividade de extratos de meliáceas sobre Lepidoptera, com ênfase a plantas dos gêneros *Trichilia*, *Toona* e *Guarea*

A família Meliaceae é uma das famílias botânicas mais exploradas, quanto ao potencial para descoberta de novas moléculas com atividade inseticida. Essa importância está relacionada principalmente ao nim (*A. indica*), que concentra a maioria dos estudos realizados no mundo. Essa família apresenta 51 gêneros e aproximadamente 500 espécies espalhadas pela região Neotropical (PENNINGTON; STYLES, 1975).

Os metabólitos secundários das meliáceas podem apresentar diferentes atividades, como inseticida, antifúngica, antibacteriana, antiviral, anti-helmíntica. O principal grupo de moléculas isolado de meliáceas são os limonoides, como a azadiractina do nim. Há registros de mais de 400 espécies de insetos afetadas por limonoides provenientes de diferentes meliáceas (CHAMPAGNE et al., 1992; MARTINEZ, 2002; ROCHA, 2004).

O gênero *Trichilia* tem sido bastante explorado quanto à obtenção de compostos ou extratos com atividade inseticida. Entre as propriedades biológicas podem-se encontrar na literatura as atividades antiviral, analgésica, inseticida e reguladora do crescimento (SIMMONDS et al., 2001). Cunha (2004) apresenta uma extensa revisão sobre os estudos com espécies de *Trichilia*, tanto no âmbito nacional como no internacional, incluindo trabalhos realizados com extratos brutos e/ou frações de extratos.

Rodríguez-Hernández e Vendramim (1996, 1997) avaliaram a bioatividade de 11 meliáceas sobre *S. frugiperda* demonstrando que, dependendo da espécie e do órgão da planta utilizado, podem-se observar variações no controle do inseto, destacando-se os extratos de folhas de *Trichilia pallida* Swartz e de *M. azedarach* e de ramos de *Cabralea canjerana* (Vell.) Mart., como os mais eficientes.

Num trabalho associando o uso de *T. pallida* e genótipos de milhos resistentes, Vendramim e Torrecillas (1998) observaram que os efeitos sobre *S. frugiperda* foram variáveis em função do genótipo e da concentração do extrato. Roel et al. (2000 a e b), também trabalhando com essa espécie, avaliaram extratos de *T. pallida* em solventes orgânicos, constatando que extratos acetônicos são mais eficientes que extratos metanólicos e que o extrato em acetato de etila de folhas e de ramos causaram 100 % de mortalidade larval para concentrações iguais ou superiores a 0,05 %.

Bogorni (2003) avaliou no campo o efeito de meliáceas em comparação ao inseticida lufenuron no controle de *S. frugiperda*, observando maior eficiência de *Trichilia pallens* C. DC. em comparação às outros derivados vegetais e menor que a exercida pelo inseticida sintético.

Xie et al. (1994) verificaram os efeitos regulador de crescimento e anti-alimentar do limonoide hirtina de *Trichilia hirta* L. sobre duas espécies de lepidópteros. Matos et al. (2009) testaram a atividade inseticida de extratos hexânicos, metanólicos e hidrometanólicos de frutos de *Trichilia catigua* A. Juss e de *Trichilia elegans* A. Juss sobre larvas de *S. frugiperda* e constataram que extratos hexânicos e metanólicos de *T. elegans* causaram 100 % de mortalidade na concentração de 0,1 % para lagartas submetidas ao extrato hidrometanólico, o que poder estar relacionado a alterações hormonais do processo da ecdise.

Bogorni e Vendramim (2005) compararam a eficiência de extratos aquosos de ramos e de folhas de seis espécies de *Trichilia* com o extrato aquoso de sementes de nim sobre *S. frugiperda*. Em todas as espécies testadas, pelo menos uma das estruturas (ramos ou folhas) afetou o desenvolvimento do inseto. O extrato de folhas de *T. pallens* causou mortalidade larval semelhante à causada pelo extrato de nim. Os extratos de ramos de *T. pallens*, e de ramos e de folhas de *T. pallida*, embora menos eficientes, também reduziram a sobrevivência e o peso larval de *S. frugiperda*. Esses autores avaliaram o efeito de extratos aquosos de ramos e folhas de seis espécies de *Trichilia* na sobrevivência, duração e peso de lagartas e de pupas de *S. frugiperda*, e constataram que os extratos de ramos de *T. pallida* e de folhas de *T. pallens* ocasionaram as maiores mortalidades da fase larval (BOGORNI; VENDRAMIM, 2005).

Wheeler et al. (2001) realizaram um *screening* com extratos metanólicos de seis espécies de *Trichilia* visando encontrar atividade inseticida sobre *Spodoptera litura* (F.), e obtiveram como mais eficiente o extrato de *Trichilia americana* (Sessé & Moc.) T.D. Penn., sendo o menor efeito obtido com *Trichilia glabra* L.

Simmonds et al. (2001) isolaram de raízes de *T. pallida* três tetranortriterpenoides que demonstraram atuar como deterrente alimentar sobre *Spodoptera littoralis* (Boisduval), *Spodoptera exigua* (Hübner), *Heliothis virescens* (Fabricius) e *Helicoverpa armigera* (Hübner).

Tandon, Mittal e Pant (2009) avaliaram os extratos hexânicos e acetônicos sobre o lepidóptero *Spilosoma obliqua* Walker e observaram que o extrato em acetona exerceu maior inibição reguladora de crescimento do que o extrato hexânico, provocando alterações morfogênicas e diversos efeitos adversos como prolongamento das fases larval e pupal, além de afetar a taxa de emergência de adultos e a fecundidade.

Wheeler e Isman (2001), ao estudarem o extrato metanólico de ramos de *T. americana*, constataram forte efeito deterrente alimentar e regulador de crescimento dessa planta sobre *S. litura*. Nakatani et al. (1985) relataram atividade fagodeterrente do extrato em éter de casca da raiz de *Trichilia roka* Chiov. como fagodeterrente a *Spodoptera eridania* (Cramer) e *S. littoralis*.

Doe et al. (2005) constataram que o extrato metanólico de folhas e de casca de *Trichilia cuneata* Radlk. contém compostos que inibem as atividades mitocondriais e de peroxidação lipídica. Eldeen, Van Heerden e Van Staden (2007), estudando o efeito de um composto obtido do extrato de acetato de etila de folhas de *Trichilia dregeana* Sond., constataram atividade inibitória da enzima acetilcolinesterase.

No que se refere aos extratos de *Toona ciliata* M. Roemer, a bioatividade parece estar associada aos limonoides cedrelona e toonacilina (OIANO-NETO et al., 1995, 1998). A ação fagodeterrente sobre *S. litura* já foi comprovada tanto para cedrelona (KOUL, 1983) como para toonacilina (GOVINDACHARI et al., 1995).

Perez et al. (2010a) avaliaram o desenvolvimento de *Hypsipyla grandella* (Zeller) sobre folhas de *T. ciliata* obtendo mortalidades de 80 a 100 % do inseto, sendo que resultados semelhantes foram obtidos ao se aplicar o extrato cru de *T. ciliata* sobre

folhas de *Cedrela odorata* L. (suscetível a *H. grandella*). Além disso, os mesmos autores, em outro trabalho, conseguiram conferir resistência a *C. odorata* e *Swietenia macrophylla* King contra *H. grandella* ao enxertarem essas duas espécies vegetais sobre plantas de *T. ciliata* (PEREZ et al., 2010b).

Para o gênero *Guarea* poucos relatos são encontrados. Pereira Junior et al. (1993) isolaram o protolimonoide 7-O-acetilchisocheton A e testaram sua atividade biológica sobre *Urbanus acawoios* (Williams) e observaram que os insetos que conseguem completar o desenvolvimento apresentam deformações, em razão, possivelmente, do efeito regulador de crescimento do referido protolimoide.

Rodríguez-Hernández e Vendramim (1996) avaliaram o efeito de extratos aquosos de folhas e ramos de 11 espécies de Meliaceae, entre elas *Guarea guidonia* (L.) Sleumer, *Guarea kunthiana* A. Juss e *Guarea macrophylla* Vahl. sobre o desenvolvimento de *S. frugiperda* constatando que nenhuma das três plantas apresentou efeito deletério ao inseto. Em outro *screening*, dessa vez testando somente extratos aquosos de ramos das meliáceas acima sobre *S. frugiperda*, os autores testaram novamente as espécies *G. guidonia* e *G. kunthiana*, obtendo resultados semelhantes (RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ; VENDRAMIM, 1997), evidenciando que extratos aquosos de ramos e folhas dessas plantas não contêm compostos tóxicos para *S. frugiperda*.

Jimenez et al. (1998) testaram a atividade inseticida dos limonoides 21 α -acetilmelianone, melianodiol e melianone extraídos de sementes de *G. grandiflora* e comprovaram sua atividade sobre o desenvolvimento larval de *Ostrinia nubilalis* (Hübner).

2.3.2 Bioatividade de extratos de meliáceas sobre *T. absoluta*

Em relação a *T. absoluta*, Ferracini et al. (1991, 1993) desenvolveram os primeiros trabalhos buscando avaliar a atividade inseticida de meliáceas sobre esse inseto. Os autores avaliaram diversas plantas e extratos acetônicos e etanólicos e observaram mortalidades de 88 % para extratos de *M. azedarach* aos quatro dias após a aplicação (FERRACINI et al., 1991). Ao avaliarem o efeito de extratos aquosos e

acetônicos, observaram mortalidades de 52 e 62 %, respectivamente (FERRACINI et al., 1993). Em estudos com óleo de amêndoas de nim que foram pulverizados sobre ovos e lagartas de *T. absoluta*, verificou-se que ovos tratados com concentrações de 62,5 a 1000 mg/l tiveram prolongamento do período de incubação, viabilidade menor e que a mortalidade de lagartas foi de 100% para as diferentes concentrações testadas (TRINDADE et al., 2000).

Brunherotto e Vendramim (2001) avaliaram o efeito de extratos de nim e *M. azedarach* sobre *T. absoluta*, observando que os extratos de nim apresentaram maior efeito sobre o inseto do que aqueles de *M. azedarach*, no entanto extratos de todas as partes desta planta afetaram o desenvolvimento do inseto, sendo folhas mais eficientes que frutos verdes, seguidos de ramos e frutos maduros.

Espécies de *Trichilia* spp. têm sido avaliadas sobre *T. absoluta* e tem-se observado efeito de extratos aquosos de ramos e de folhas sobre o desenvolvimento do inseto. Vendramim e Thomazini (2001) observaram que extratos de folhas são mais prejudiciais ao inseto do que extratos de ramos, reduzindo a viabilidade larval. Em trabalho anterior, Thomazini, Vendramim e Lopes (2000) já tinham demonstrado que extratos aquosos de *T. pallida* afetaram o desenvolvimento de *T. absoluta*, principalmente na fase larval.

Cunha et al. (2006) ressaltam que a avaliação de frações de extratos de plantas pode proporcionar fontes de substâncias, com efeito inseticida significativo sobre insetos. Os autores avaliaram o efeito de frações de *T. pallens* sobre lagartas de *T. absoluta* e observaram que, das frações obtidas, a aquosa a 0,1 % do extrato em diclorometano foi considerada a mais promissora. Cunha et al. (2005) avaliaram também o efeito de frações do extrato orgânico em diclorometano de *T. pallida*, observando resultados parecidos.

Segundo Gonçalves-Gervásio e Vendramim (2004b, 2007), o hábito minador das lagartas de *T. absoluta* pode ser um obstáculo no uso de inseticidas botânicos e, dessa forma, os autores buscaram avaliar se a ação dos extratos de nim é de contato, sistêmica ou translaminar. Os autores concluíram que os compostos inseticidas de extratos de sementes de nim são capazes de penetrar os mesófilos foliares, que os mesmos apresentaram efeito sistêmico, e que também, tem ação de contato já que

provocam mortalidades significativas quando aplicados topicamente sobre as lagartas. Gonçalves-Gervásio (2003) apresenta uma extensa revisão sobre o modo de ação da azadiractina, o principal componente inseticida dos extratos de nim. Martinez (2002) ressalta que a azadiractina atua de modo dose-dependente, podendo ter efeitos antialimentar e inibidor do crescimento com relação ao tamanho e idade do inseto. Entre os efeitos ocasionados pelo nim nos insetos, pode-se citar: efeito deterrente, regulador do crescimento, sobre a reprodução, de repelência, além de outras mudanças fisiológicas e comportamentais causadas sobre os insetos (MARTINEZ, 2002).

Testando o efeito de NeemAzal® T/S (azadiractina 1 %), produto comercial à base de nim, sobre *T. absoluta*, Bogorni et al. (2004a, 2004b) constataram que concentrações de 0,4 % do produto ocasionaram 90 % de mortalidade das lagartas. Entretanto, ao avaliarem o efeito residual do produto em casa de vegetação constataram que o referido produto foi eficiente apenas até o segundo dia após a aplicação.

2.3.3 Limitações ao uso de plantas inseticidas

As plantas inseticidas se constituem em plantas que durante o processo evolutivo desenvolveram a capacidade de sintetizar substâncias químicas úteis na sua defesa contra o ataque de insetos (WIESBROOK, 2004). Entre as vantagens do uso dessas plantas no controle dos insetos, estão a substituição ao uso de inseticidas sintéticos, a ação rápida, a baixa a moderada toxicidade a mamíferos, a seletividade aos insetos benéficos, a fitotoxicidade reduzida, o baixo custo e a disponibilidade. Quanto às desvantagens, incluem-se a necessidade do uso de sinergistas, a baixa persistência, o modo de ação geralmente não sistêmico, a carência de pesquisas, o suprimento de matéria prima e a dificuldade para obter registros (BUSS; PARK-BROWN, 2005; KATHRINA; ANTONIO, 2004; WIESBROOK, 2004).

A baixa persistência apresenta-se como vantagem e ao mesmo tempo desvantagem do uso de plantas inseticidas. Devido às características de baixo impacto ambiental e de baixa toxicidade aos organismos benéficos e aos mamíferos, formas de

prolongar o efeito dos princípios ativos dessas plantas são almejadas. Dessa forma, o uso de sinergistas é uma estratégia adotada para prolongar o efeito dos compostos.

Trabalhos realizados com extratos aquosos ou orgânicos de várias plantas inseticidas, entre elas o nim, mostraram que o efeito residual da azadiractina é muito baixo, cerca de dois dias após a aplicação (BOGORNİ et al., 2004a). Dessa forma, a baixa estabilidade, a degradação e a concentração insuficiente dos ingredientes ativos nos extratos vegetais podem ser limitações para que os produtores os aceitem para substituição dos inseticidas sintéticos. A azadiractina, principal componente do nim, por exemplo, apresenta diversas oxidações biossintéticas que tornam a molécula muito reativa e, por isso, muito suscetível à degradação. Com exposição à luz do sol, Scott e Kaushik (2000) observaram uma meia vida da azadiractina de 36 a 48 h. Já em aplicações no solo, os tempos para azadiractina desaparecer, na temperatura de 25 °C, foram de 20 e 31,5 dias para solo não autoclavado e autoclavado, respectivamente (STARK; WALTER, 1995). A atividade da azadiractina pode ser reduzida 60 % após quatro horas de exposição ao sol (MARTINEZ, 2002; CORREIA et al., 2009).

Caboni et al. (2006) avaliaram a degradação da azadiractina (formulação Oikos®) em laboratório e determinaram uma meia vida de 0,8 dias. Os autores determinaram que a luz (ou radiação solar) é o principal responsável pela degradação do composto. Ao avaliarem o composto isolado, observaram uma meia vida de 13,2 h, ou seja, cinco vezes maior que o produto comercial formulado, o que sugere que os componentes da formulação poderiam aumentar a degradação da azadiractina, catalisando reações dentro da embalagem do produto comercial. Caboni et al. (2006) verificaram redução de 90 % na quantidade de azadiractina em frutos de oliveira três dias após a aplicação e observaram que aos sete dias nenhum resíduo foi detectado por cromatografia líquida e espectrofotometria de massa.

Thoeming, Draeger e Poehling (2006) avaliaram a persistência da azadiractina e do 3-tigloy-azadiractol em plantas de feijão visando o controle do tripes *Frankliniella occidentalis* (Pergande) e observaram que as quantidades de azadiractina e de 3-tigloy-azadiractol decaíram exponencialmente no solo e que foi baixa a absorção pela planta. Aos 14 dias de avaliação não detectaram resíduos dos compostos na maioria das partes da planta.

Sarais et al. (2009) avaliaram a persistência de duas formulações de nim em frutos de pêssago e detectaram que a formulação comercial testada apresentou mais resíduos que a formulação experimental, mas esta apresentou maior estabilidade que a comercial.

Outro entrave ao uso de inseticidas botânicos é a falta de reprodutibilidade da eficácia do inseticida que está diretamente relacionada com a concentração dos compostos ativos. A análise de produtos comerciais à base de nim (nacionais e importados) tem mostrado que os teores de azadiractina variam muito, sendo que os produtos nacionais apresentam menor quantidade do composto quando comparado aos produtos importados. De acordo com Forim¹ os produtos importados passam por sistemas de produção com maior controle de qualidade e são submetidos a processos de enriquecimento.

Essas limitações demonstram as barreiras que o setor de produção e comercialização de produtos naturais têm enfrentado e mostram a necessidade de novas pesquisas para o desenvolvimento de produtos estáveis e que carreguem propriedades sustentáveis para uso no manejo de insetos-praga.

Atualmente, as novas tecnologias disponíveis no mercado permitem o desenvolvimento de moléculas mais estáveis e menos tóxicas para uso no controle de insetos-praga. A biotecnologia tem se apresentado como importante ferramenta, vista sua aplicação no desenvolvimento de cultivares transgênicas, estudos moleculares e mais, recentemente, no desenvolvimento de ingredientes ativos em escala nanométrica.

2.4 A nanotecnologia no controle de insetos-praga

A nanotecnologia refere-se ao uso de matéria em escala nanométrica, considerando que um nanômetro corresponde à milionésima parte de um milímetro (GRUPO ETC, 2005). Ela compreende a grande revolução do século XXI e, apesar de passar despercebida pela maioria das pessoas, sua importância já é evidente na engenharia de materiais, informática, medicina e defesa e a sua aplicação na agricultura e na alimentação vem crescendo aceleradamente. Estudos na indústria

¹ FORIM, M.R. Universidade Federal de São Carlos – UFSCar.

farmacêutica iniciaram-se na década de 70 (ROSEN; ABRIBAT, 2005); no entanto, na agricultura, apenas recentemente se têm formulações com base na nanotecnologia, podendo-se citar, entre elas, alguns inseticidas e fertilizantes.

A formulação de agrotóxicos em escala nanométrica, segundo o Grupo ETC (2005), apresenta a vantagem de se poder manipular em que condições o ingrediente ativo é liberado, aumentar a solubilidade, reduzir o contato dos ingredientes ativos com os trabalhadores rurais, prorrogar a validade das patentes, além das vantagens ambientais. Portanto, a nanotecnologia pode ser aplicada na criação de materiais funcionais, dispositivos e sistemas através do controle da matéria na escala de nanômetros, implicando em sistemas que apresentem novos fenômenos e propriedades, que são dependentes do tamanho, como a superplasticidade devido à alta área superficial dessas partículas (DURÁN; AZEVEDO, 2007).

Visando uma agricultura sustentável, o uso da nanotecnologia para preparo de insumos agrícolas ambientalmente corretos pode assegurar obtenção de moléculas estáveis e seguras, facilitando seu uso no controle de pragas e sua aceitação pelos produtores. Conhecendo o baixo efeito residual do nim e a possibilidade de proteger a molécula de azadiractina em biopolímeros, será possível aperfeiçoar seu uso, produzindo formulações, com efeito prolongado e com baixo custo ambiental, já que os polímeros são biodegradáveis. Para a agricultura orgânica, o uso de uma formulação nanoencapsulada permitirá a redução no número de aplicações, assegurando o controle e também uma possível redução da concentração das doses aplicadas.

Multinacionais como Bayer Crop Science e Syngenta têm utilizado essa tecnologia no desenvolvimento de moléculas de inseticidas químicos visando obter produtos que causem menor impacto ambiental e possam ser empregados em doses mais baixas, além de manterem maior efeito residual. Segundo Sasson et al. (2007), os benefícios do uso de agrotóxicos em formulações nanoencapsuladas são a maior eficácia, o aumento da área de superfície e mobilidade, a indução de atividade sistêmica e a menor toxicidade devido à ausência de solventes orgânicos.

Apesar de a utilização da nanotecnologia na agricultura ser nova, diante dos resultados obtidos para outras áreas, como medicina e informática, pode-se esperar que o uso dessa tecnologia como ferramenta para otimizar o desenvolvimento de

formulações mais estáveis a partir de extratos de plantas inseticidas, contribuirá para ampliar as perspectivas de uma agricultura sustentável e mais segura para produtores e consumidores. Considerando a importância dos extratos de nim e sua ampla utilização em todo mundo nas mais diferentes culturas, a utilização dos processos de encapsulação em escalas nanométricas permitirá obter formulações mais estáveis no controle de insetos-praga de importância na agricultura.

Dessa forma, a obtenção de produtos naturais com maior estabilidade e solubilidade e que apresentem a capacidade de controlar a liberação do ingrediente ativo propiciaria produtos ambientalmente corretos e que possuam propriedades semelhantes aos inseticidas químicos.

As nanopartículas podem ser definidas como partículas poliméricas coloidais contendo compostos ativos e podem ser classificadas em duas categorias: nanocápsulas e nanoesferas (GRUPO ECT, 2005).

Nanocápsulas são vesículas com um invólucro polimérico disposto em torno de um núcleo oleoso e as nanoesferas não apresentam óleo em sua composição, sendo formadas por uma matriz polimérica onde o composto bioativo fica disperso ou adsorvido pelo polímero (MAGENHEIM; BENITA, 1991; SCHAFFAZICK et al., 2003).

Segundo Charcosset e Fessi (2005), as nanopartículas podem ser formadas por diferentes métodos. Atualmente, esses sistemas podem ser formados com base na polimerização de monômeros dispersos ou por dispersão de polímeros pré-formados. Contudo, independentemente do método de preparação, os produtos obtidos são suspensões coloidais aquosas. A deposição interfacial de polímero pré-formado, seguida da evaporação do solvente é o método mais usado e nesse caso a separação das fases é induzida pela adição da solução do polímero em um não solvente para o mesmo.

Para que ocorra a manutenção das propriedades ambientais de um produto contendo nanopartículas, é de fundamental importância que os elementos usados em sua preparação apresentem características compatíveis com o objetivo do produto. Um dos principais elementos usados para obtenção de nanopartículas é o polímero, o qual deve ser biodegradável, ou seja, após a degradação do mesmo não se observa resíduos no ambiente.

Poliésteres alifáticos são os polímeros biodegradáveis mais utilizados para obtenção de nanopartículas. Entre eles podem-se citar os copolímeros de lactato e glicolato (PLA, PGA, PLGA), a poli- ϵ -caprolactona (PCL) e os polihidroxicanoatos (PHAs). O PHB (poli- β -hidroxibutirato) é um PHA produzido pela bactéria *Cupriavidus necator* Makkar e Casida, que possui alta degradabilidade no ambiente e, por isso, tem sido bastante utilizado na indústria de embalagens, na agricultura, em áreas médicas e em sistemas de liberação de drogas (ROSA; PENTEADO; CALIL, 2000). O PCL é um poliéster biocompatível degradado por muitos microrganismos. Entre outros polímeros utilizados em nanoproductos, inclui-se o polimetacrilato de metila ou polimetilmetacrilato (PMMA) que apresenta propriedades como transparência e baixa densidade, excelentes para obtenção de produtos, além de degradar-se facilmente sob calor (ARISAWA; BRILL, 1997).

Considerando a importância da planta de nim e dos esforços para obtenção de produtos estáveis e com maior aceitação no mercado, a nanotecnologia, através do encapsulamento de compostos ativos presentes na planta, constitui uma área de pesquisa promissora, conforme resultados preliminares obtidos por Marcomini (2009) que observou bioatividade de formulações encapsuladas de óleo de nim sobre lagartas de *S. frugiperda*.

2.5 Interações de métodos de controle no manejo de *T. absoluta*

Dentro da proposta de MIP, para *T. absoluta*, a rotação de inseticidas para evitar a resistência e o uso do controle biológico tem aumentado. O uso de entomopatógenos, parasitoides e/ou predadores tem se mostrado eficiente e sua utilização em estratégias integradas ao controle químico têm possibilitado o aumento da eficiência de controle. De acordo com Castiglioni-Rosales (2001), a aplicação de entomopatógenos associados ao controle químico poderá permitir a redução nas doses aplicadas, diminuindo o efeito desses produtos sintéticos no ambiente e sobre organismos não alvo.

Apesar de a compatibilidade entre o uso de plantas inseticidas e o uso de agentes de controle biológico ter sido ainda pouco explorada, alguns trabalhos têm mostrado

variações de resposta. No entanto, dentro das formas de manejo integrado de *T. absoluta* (VILLAS-BÔAS; BRANCO; MEDEIROS, 2005) pode-se citar a rotação de inseticidas de grupos químicos diferentes e a utilização de controle biológico, através de liberações semanais de *T. pretiosum* nas lavouras. De acordo com Medeiros et al. (2005), o controle biológico com *T. pretiosum* e *B. thuringiensis* tem assegurado uma redução de custo em 80 %, quando comparado ao sistema convencional.

Considerando os resultados para uso de plantas inseticidas e controle biológico separadamente, a integração desses métodos de controle, dentro de uma proposta de MIP, poderia fornecer subsídios para um manejo sustentável de *T. absoluta*.

2.5.1 Entomopatógenos

O uso de entomopatógenos pode ser uma ferramenta útil no controle de *T. absoluta*. Trabalhos realizados em laboratório mostraram a possibilidade de utilizar fungos entomopatogênicos no controle de ovos desse inseto, com obtenção de mortalidades de 60 e 80 % para isolados de *B. bassiana* e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin, respectivamente (RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ; GERDING; FRANCE, 2006a). Rodríguez-Hernández, Gerding e France (2006b) avaliaram o efeito dos isolados testados em ovos, sobre lagartas de *T. absoluta*, constatando até 90 % de mortalidade em condições de laboratório para os mesmos isolados.

Giustolin et al. (2001c) avaliaram o efeito de *B. bassiana* sobre *T. absoluta* criada em genótipos de tomateiro e observaram que a aplicação do fungo sobre o genótipo resistente apresenta efeito sinérgico na redução da sobrevivência larval, além de constatarem que a suscetibilidade das lagartas é maior nos primeiros ínstares.

Giustolin et al. (2001a e 2001c) avaliaram, também, o efeito associado de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Btk) e genótipos de tomate sobre o desenvolvimento de *T. absoluta*. Segundo os autores, a presença de metabólitos secundários das plantas pode influenciar no desenvolvimento do inseto e do entomopatógeno, no entanto não observaram efeitos adversos dos aleloquímicos produzidos pelos genótipos de tomate sobre a eficácia de Btk. Efeitos antagônicos não foram observados para nenhum dos ínstares avaliados. De acordo com Berenbaum (1988), se o patógeno é mais resistente

que o inseto ao aleloquímico que está sendo produzido pela planta, a patogenicidade do entomopatógeno poderá ser maior na presença desses compostos.

A interação entre Btk e genótipos de tomateiro é dependente da idade das lagartas de *T. absoluta*. O efeito do genótipo foi maior que do entomopatógeno, no entanto a aplicação de Btk em genótipos resistentes e suscetíveis aumentou a eficiência de controle do inseto (GIUSTOLIN et al., 2001a,c). Btk foi testado em experimentos de laboratório (MARQUES; ALVES, 1996) e campo (SOUZA; REIS, 1992, IMENES et al., 1994). Em laboratório observou-se que a média de mortalidade das lagartas de 3º e 4º ínstar foi superior àquela observada para as lagartas de 1º e 2º ínstar e que o aumento da mortalidade está relacionado à movimentação das lagartas, o que estaria facilitando a contaminação (MARQUES; ALVES, 1996).

Em trabalho recente foi observado o efeito de um granulovírus sobre *T. absoluta* (MASCARIN et al., 2010). O vírus que foi utilizado em bioensaio de laboratório é proveniente de *P. operculella*, sendo denominado *Phthorimaea operculella* granulovírus (*PhopGV*). Mascarin (2009) apresenta uma revisão sobre a ocorrência e eficiência desse patógeno para *P. operculella*. Considerando que *T. absoluta* pertence à mesma família que *P. operculella*, o efeito de *PhopGV* foi avaliado sobre *T. absoluta*. Segundo Mascarin et al. (2010), *T. absoluta* é mais suscetível ao *PhopGV* do que *P. operculella*. Os resultados obtidos demonstraram que a razão de suscetibilidade foi de 10 vezes, ou seja, com base no valor da CL₅₀, *T. absoluta* é 10 vezes mais suscetível que *P. operculella* a *PhopGV*, caracterizando um promissor agente de controle para *T. absoluta*.

No entanto, a utilização de entomopatógenos dentro de programas de manejo de insetos-praga precisa considerar a compatibilidade desses agentes com os outros métodos de controle, principalmente o uso de inseticidas, herbicidas e fungicidas (CLARK; CASAGRANDE; WALLACE, 1982). As interações entre fungos entomopatogênicos e produtos fitossanitários podem ser positivas, com ação sinérgica ou aditiva, ou negativas, quando um dos componentes da interação é afetado, geralmente o patógeno (SILVA; NEVES; SANTORO, 2005). Diante desses aspectos, considerar a compatibilidade entre os fungos e os agrotóxicos em agroecossistemas,

onde fungos são importantes ferramentas no manejo do inseto-praga, garante a conservação desses organismos no ambiente.

A compatibilidade entre o fungo e agrotóxicos tem sido demonstrada em estudos realizados para culturas como cana-de-açúcar (COSTA et al., 2004), alface e crisântemo (LOUREIRO et al., 2002), café (ANDALÓ et al., 2004), arroz (RAMPELOTTI-FERREIRA et al., 2006, 2007, 2010), entre outras. Em trabalho específico com inseticidas observou-se que o controle do inseto-praga foi ainda mais eficiente, já que o agrotóxico desempenha sua capacidade estressora sobre o inseto, facilitando a ação rápida e fácil dos fungos entomopatogênicos (BATISTA FILHO; ALMEIDA; LAMAS, 2001).

De acordo com Valadares-Inglis et al. (2002), a sobrevivência dos propágulos dos fungos é altamente dependente da temperatura, umidade e composição do solo. Os autores ressaltam também que em ambientes agrícolas a exposição freqüente dos entomopatógenos aos agrotóxicos reduz a sobrevivência dos propágulos presentes no solo ou sobre cadáveres de hospedeiros, prejudicando o estabelecimento da relação patógeno/hospedeiro e a manutenção de epizootias. Jaramillo et al. (2005) avaliaram o efeito combinado de imidacloprid e *M. anisopliae* sobre *Cyrtomenus bergi* Froeschner em condições de laboratório e de casa de vegetação, constatando que a mortalidade para os tratamentos contendo fungo + baixas doses de imidacloprid poderia ser uma importante ferramenta no MIP desse inseto-praga. Batista Filho, Almeida e Lamas (2001) citam que a aplicação de tiametoxam não interfere no potencial de inóculo de bactérias e fungos entomopatogênicos. Neves et al. (2001) avaliaram o efeito de inseticidas neonicotinoides sobre *B. bassiana*, *M. anisopliae* e *Paecilomyces* sp. (= *Isaria* sp.) e concluíram que os inseticidas são compatíveis na maioria dos casos com os fungos nas formulações e doses testadas, sugerindo sua utilização no MIP.

No entanto, estudos complementares precisam ser realizados para avaliar se a compatibilidade se mantém durante o contato contínuo do fungo com o inseticida. Rampelotti-Ferreira et al. (2010) avaliaram o efeito de agrotóxicos utilizados na cultura do arroz sobre a viabilidade de esporos de *M. anisopliae* obtidos de colônias mantidas em meio de cultura puro e contendo os respectivos produtos nas doses recomendadas e observaram que para alguns herbicidas e inseticidas houve efeito negativo sobre o

fungo e que, ao compararem o resultado da viabilidade dos esporos, detectaram que para alguns produtos houve redução da viabilidade dos conídios após o contato prolongado com o agrotóxico.

Castiglioni-Rosales (2001) apresenta uma revisão sobre a compatibilidade de fungos entomopatogênicos com inseticidas utilizados no controle de cupins, ressaltando a importância da compatibilidade desses microrganismos com produtos obtidos de plantas com atividade inseticida. Segundo o autor, a combinação de inseticidas com entomopatógenos pode incrementar o controle do inseto-praga de interesse. Ações sinérgicas podem ser observadas para cupins, por exemplo, onde os inseticidas podem afetar a resistência comportamental desses insetos, afetando seus hábitos de limpeza e, conseqüentemente, favorecer o crescimento do fungo.

O efeito de óleos vegetais foi avaliado sobre a produção de conídios de fungos entomopatogênicos. Aguda, Rombach e Shepard (1986) verificaram efeitos prejudiciais de óleo de nim sobre *M. anisopliae* nas concentrações que esse óleo é aplicado em casa de vegetação e campo. A presença de aleloquímicos em substratos como cutículas do inseto ou folhas pode impedir a sobrevivência dos conídios dos fungos (VEGA et al., 1997).

Trabalhos realizados por Devi e Prasad (1996), Rodríguez et al. (1997) e Gupta, Paul e Sharma (1999) avaliaram a compatibilidade de extratos de plantas inseticidas com fungos entomopatogênicos. Para *Nomuraea riley* (Farlow) Devi e Prasad (1996) não detectaram efeitos negativos de extratos de *A. indica*, *M. azaderach* e outras plantas sobre o fungo. Avaliações do efeito de extratos aquosos de sementes de nim associados ao fungo *B. bassiana* no controle de *Hypothenemus hampei* (Ferrari) mostraram que, o referido extrato é compatível com o fungo, não afetando a germinação dos conídios e o crescimento micelial. No entanto, em trabalhos realizados por Hirose et al. (2001), foi observado que o óleo de nim causou a redução do diâmetro de colônias para isolados de *B. bassiana* e *M. anisopliae*, sendo *B. bassiana* mais afetado.

Gupta, Paul e Sharma, 1999), comparando sete formulações comerciais e extratos alcoólicos ou aquosos de folhas, de casca do caule e de torta da planta de nim quanto à compatibilidade com *B. bassiana*, observaram que três formulações

comerciais e o extrato aquoso de torta de nim inibiram o crescimento micelial; outras duas formulações e o extrato alcoólico de torta de nim não tiveram nenhum efeito sobre o fungo; e duas formulações comerciais e os extratos aquosos e alcoólicos de folhas de nim tiveram efeito estimulante sobre o fungo.

Dessa forma, visando à utilização de *B. bassiana* e sua aplicação juntamente a novas formulações de nim para o controle de *T. absoluta*, testes de compatibilidade são necessários para estabelecer estratégias de manejo que englobem essas duas alternativas de controle, contribuindo para o MIP na cultura do tomate.

2.5.2 Parasitoides

Uma grande variedade de parasitoides de ovos, larvas e pupas de *T. absoluta* é citada na literatura (DESNEUX et al., 2010), sendo que as espécies reportadas estão restritas a algumas áreas ou amplamente distribuídas pela América do Sul.

Entre os parasitoides de ovos, espécies das famílias Encyrtidae (RIPA; ROJAS; VELASCO, 1995; COLOMO; BERTA; CHOCOBAR, 2002), Eupelmidae (OATMAN; PLATNER, 1989) ou Trichogrammatidae (BOTTO et al., 2000; COLOMO; BERTA; CHOCOBAR, 2002) são as mais abundantes. Contudo, o complexo de espécies do gênero *Trichogramma* associado a *T. absoluta* é muito diverso, sendo relatadas no mínimo 10 espécies para a América do Sul (DESNEUX et al., 2010). Muitas dessas espécies são criadas massalmente para liberações dentro de programas de controle biológico inundativo.

O controle de *T. absoluta* utilizando espécies de *Trichogramma* está documentado na Argentina (BOTTO et al., 2000; RIQUELME; BOTTO, 2003), no Brasil (VILLAS BÔAS; FRANCA, 1996; HAJI, 1997, 2002; PARRA; ZUCCHI, 2004), no Chile (ESTAY; BRUNA, 2002) e na Colômbia (NAVARRO, 1988; VALLEJO, 1999). As espécies criadas com maior sucesso são *Trichogramma nerudai* Pintureau e Gerding, *Trichogramma bactrae* Nagaraja, *Trichogramma exiguum* Pinto e Platner e *T. pretiosum*.

Segundo Parra e Zucchi (2004), 87 % de parasitismo de ovos de *T. absoluta* por *T. pretiosum* foi observado em casa de vegetação e a associação com *B. thuringiensis*

propicia uma estratégia de controle viável e potencial para manejo do inseto em cultivo protegido (MEDEIROS et al., 2009). Apesar do sucesso observado no Brasil, a ineficiência de controle também é reportada, por exemplo, no Chile, onde com liberações periódicas em casa de vegetação, foi observado uma taxa de parasitismo entre 1,5 e 6,7 % (JIMENEZ et al., 1998; TACO et al., 1998).

Além dos parasitoides de ovos, espécies capazes de utilizar larvas como hospedeiro são citadas, entre elas membros das famílias Bethylidae, Braconidae, Eulophidae, Ichneumonidae e Tachinidae. Contudo, representantes da família Braconidae e Eulophidae são mais abundantes e têm sido usados com sucesso no controle biológico de *T. absoluta*. As espécies mais comumente encontradas nas regiões produtoras de tomate são *Pseudapanteles dignus* (Mues.) (Braconidae) e *Dineulophus phthorimaeae* De Santis (Eulophidae) (BERTA; COLOMO, 2000). Desneux et al. (2010) apresentam uma extensa revisão sobre as espécies de parasitoides larvais potenciais para o controle de *T. absoluta* na América do Sul. Devido à crescente preocupação com o controle dessa praga na Europa, na revisão citada por Desneux et al. (2010), os autores listam espécies potenciais para o controle do inseto no Mediterrâneo.

Pouco se sabe sobre a interação entre métodos de controle, dificultando consideravelmente a possibilidade de implantação do MIP.

O efeito de inseticidas botânicos sobre parasitoides também é pouco conhecido. Gonçalves-Gervásio e Vendramim (2004a) avaliaram extratos de *T. pallida* e *A. indica* sobre *T. pretiosum* e observaram que o parasitoide foi sensível ao extrato de nim a 10 % e não teve o parasitismo afetado quando os ovos do hospedeiro foram tratados com extrato de *T. pallida*.

Klemm e Schmutterer (1993) avaliaram o efeito de óleo de nim sobre *Trichogramma principium* em laboratório e *T. pretiosum* em campo, observando que ovos de *Plutella xylostela* (L.) tratados com esse óleo não afetaram o parasitismo.

O efeito no parasitismo de *T. pretiosum* foi avaliado sobre ovos de *Helicoverpa zea* (Boddie) tratados com produto comercial à base de nim, não observando efeito negativo sobre o parasitoide (CANO; GLADSTONE, 1994). Hohmann et al. (2002) demonstraram que ovos tratados com óleo de nim a 15 % reduziram drasticamente o

parasitismo de *T. pretiosum*, contudo concentrações mais baixas do óleo não afetaram a capacidade de parasitismo. Raguran e Singh (1999), avaliando o efeito de óleo de nim sobre *Trichogramma chilonis* Ishii, constataram efeito deterrente para oviposição e alimentação do parasitoide.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os bioensaios foram realizados em condições de laboratório e casa de vegetação com o objetivo de avaliar a bioatividade de nanoformulações de nim e de extratos de outras Meliaceae, bem como sua interação com agentes de controle biológico sobre *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae). Os bioensaios foram desenvolvidos nas dependências do Laboratório de Plantas Inseticidas, com exceção daqueles envolvendo entomopatógenos e daqueles envolvendo o parasitoide *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) que foram desenvolvidos, respectivamente, no Laboratório de Patologia e Controle Microbiano de Insetos e no Laboratório de Biologia de Insetos, todos eles pertencentes ao Departamento de Entomologia e Acarologia da ESALQ/USP, em Piracicaba/SP.

A criação de *T. absoluta* e todos os bioensaios de laboratório foram mantidos à temperatura de 25 ± 2 °C, UR de 70 ± 10 % e 14 h de fotofase, com exceção daqueles envolvendo o parasitoide, em que a UR foi de 60 ± 10 %, sendo mantidas as demais condições. Para bioensaios de casa de vegetação a temperatura, a umidade relativa e a luminosidade foram mensuradas diariamente, sendo que os valores médios durante o período de experimentação foram $35 \pm 3,8$ °C, 37 ± 21 % UR e luminosidade de 37.526 ± 12.339 lux.

3.1 Cultivo das plantas de tomate

Para a criação da traça do tomateiro, plantas de tomateiro da cv. Santa Clara foram cultivadas em bandejas alveoladas, utilizando PlantMax[®] (Hortaliças – Eucatex) como substrato, e mantidas em casa de vegetação. Cerca de 10 dias após a emergência, as plântulas eram transferidas para vasos com capacidade de sete litros contendo o referido substrato misturado à vermiculita na proporção de 2:1. As folhas dessas plantas foram utilizadas para a criação dos insetos e, também, nos bioensaios de laboratório ou de casa de vegetação.

3.2 Criação de *T. absoluta*

A criação foi iniciada a partir de lagartas e pupas obtidas na empresa Dupont do Brasil. Para isso, prepararam-se caixas plásticas cobertas por tecido *voil*, nas quais eram colocadas as folhas contendo pupas e lagartas e, sobre estas, folhas novas de tomateiro com o pecíolo envolto em algodão hidrófilo.

A cada dois dias folhas novas eram introduzidas nas caixas para que as lagartas continuassem seu desenvolvimento, sendo retiradas aquelas folhas muito danificadas, as quais eram colocadas em gaiolas de emergência de adultos. Esse método tem sido usado para criação de *T. absoluta*, visto que o inseto migra das folhas muito danificadas para folhas novas, sem que seja necessária a transferência manual. As folhas danificadas, contendo pupas, eram acondicionadas em gaiolas teladas para emergência dos adultos.

Com os adultos obtidos montavam-se gaiolas de postura, contendo plantas ou folhas de tomate. Nessas gaiolas os adultos recém-emergidos eram liberados sem considerar o sexo do inseto. As plantas ou folhas eram mantidas por 48 h dentro das gaiolas de postura e posteriormente transferidas para gaiolas de desenvolvimento.

A vistoria da criação era realizada diariamente e o cultivo de plantas de tomateiro em casa de vegetação era acompanhado de modo a atender a demanda nos bioensaios.

3.3 Seleção de nanoformulações de nim promissoras para controle de *T. absoluta*

3.3.1 Estimativa da CL_{50} para a formulação padrão de óleo de nim

A formulação de nim Organic Neem[®] (Dalquim Indústria e Comércio Ltda, Itajaí, SC), inicialmente com teor de azadiractina conhecido (773 mg/L) foi testada nas concentrações de 0; 0,015; 0,03; 0,06; 0,12; 0,24 e 0,48 % do óleo comercial em água destilada, as quais foram pulverizadas com auxílio de uma pistola tipo gravidade (Arprex[®] modelo 5, 20/30 lb/pol2 com bico de 0,8 mm) adaptada como microatomizador, sobre folhas de tomateiro. Após eliminação do excesso de umidade, os folíolos tiveram

o pecíolo envolvido por algodão hidrófilo umedecido com água destilada. Cada unidade experimental (UE) constou de uma placa plástica de 6 cm de diâmetro x 2 cm de altura, na qual foi colocado o folíolo tratado e quatro lagartas recém-eclodidas de *T. absoluta*. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com sete tratamentos e quatro repetições (sete UE/repetição), totalizando 112 indivíduos por tratamento.

As avaliações foram diárias, até o 10º dia após o tratamento, para determinar o número de lagartas mortas. Foram realizados testes preliminares com a referida formulação para estimar as concentrações básicas do produto que provocam a mortalidade larval de 95 % e a mortalidade semelhante à obtida no controle (água destilada). Com base nessas concentrações, foram estabelecidas as concentrações a serem testadas, através da fórmula (FINNEY, 1971):

$$q = \sqrt[n+1]{\frac{a_n}{a_1}}, \text{ onde: } q = \text{razão de progressão geométrica (p.g.)}; n = \text{número de}$$

concentrações a extrapolar; a_n = limite superior da p.g. (concentração que provoca mortalidade de cerca de 95 %, estimada por meio de teste preliminar); a_1 = limite inferior da p.g. (concentração que provoca mortalidade semelhante ao controle, estimada por meio de teste preliminar).

3.3.2 Seleção das nanoformulações de nim mais promissoras

As nanoformulações foram obtidas no Laboratório de Produtos Naturais da UFSCar/SP, pelo método de deposição de polímeros pré-formados (FESSI et al., 1989). Devido ao grande número de nanoformulações a serem testadas, as mesmas foram agrupadas em diferentes bioensaios utilizando como principal critério a forma do nanoencapsulado. Dessa forma, realizaram-se bioensaios com nanoformulações em cápsulas e outros com nanoformulações em esferas. No total foram testadas 22 nanoformulações em quatro bioensaios (Quadro 1). Em cada bioensaio foi incluído o óleo de nim comercial Organic Neem® e água destilada (controle).

Com base na CL_{50} estimada (0,2 % ou 1,31 mg/l de azadiractina) no bioensaio anterior prepararam-se soluções de cada formulação na mesma concentração. Cada formulação foi pulverizada sobre folhas de tomateiro através de uma pistola tipo

gravidade. Após a eliminação do excesso de umidade, os folíolos tiveram o pecíolo envolvido por algodão umedecido em água destilada e colocados dentro de placas plásticas com 6 cm de diâmetro e 2 cm de altura (UE). Sobre cada folíolo foram liberadas quatro lagartas recém-eclodidas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro repetições (sete UE/repetição), totalizando 112 indivíduos por tratamento. As avaliações foram diárias, até o 10^o dia após o tratamento, para determinar o número de lagartas mortas.

Código	Descrição das nanoformulações	Teor de AZ* (mg/L)
NCL12	Nanocápsulas de PCL + óleo e extratos de nim	692,5
NCL13	Nanocápsulas de PHB + óleo e extratos de nim	741,4
NCL14	Nanocápsulas de PCL/PHB + óleo e extratos de nim	685,0
NCL15	Nanocápsulas de PCL + oleato de isodecila	0
NCL16	Nanocápsulas de PHB + oleato de isodecila	0
NCL17	Nanocápsulas de PCL/PHB + oleato de isodecila	0
NSL12	Nanoesferas de PCL + óleo e extratos de nim	672,1
NSL13	Nanoesferas de PHB + óleo e extratos de nim	600,2
NSL14	Nanoesferas de PCL/PHB + óleo e extratos de nim	563,7
NSL15	Nanoesferas de PCL + oleato de isodecila	0
NSL16	Nanoesferas de PHB + oleato de isodecila	0
NSL17	Nanoesferas de PCL/PHB + oleato de isodecila	0
NS38	Nanoesferas de PMMA (0,25 g) + óleo e extratos de nim + Tween – em suspensão aquosa	51,1
NS38	Nanoesferas de PMMA (0,25 g) + óleo e extratos de nim + Tween – em pó	20,8
PB	PMMA em suspensão aquosa	0
NC50	Nanocápsulas de PCL (0,25 g) + oleato de isodecila	0
NS40	Nanoesferas de PCL (0,25 g)	0
OP	Óleo comercial Organic Neem em pó	540,0
R 01	Extrato de óleo em pó (0,1 mg) + óleo de nim (0,5 g) + solução β -Ciclodextrina (3,0 mL) (a) + tensoativo Renex 40 (0,08 g)	898,1
R 02	Extrato de óleo em pó (0,1 mg) + óleo de nim (0,5 g) + solução β -Ciclodextrina (3,0 mL) (b) + tensoativo Renex 40 (0,08 g)	875,0
NC40	Nanocápsulas de PHB (0,25 g) + óleo e extratos de nim + Tween – em suspensão aquosa	473,5
NC40	Nanocápsulas de PHB (0,25 g) + óleo e extratos de nim + Tween – em pó	19,75

AZ=azadiractina. PCL=Poli- ϵ -caprolactona, PHB=Poli- β -hidroxibutirato, PMMA=polimetilmetacrilato. *Quantificação realizada à época de instalação de cada bioensaio (FORIM et al., 2010)

Quadro 1 - Descrição das nanoformulações de nim, com os respectivos teores de azadiractina, testadas sobre lagartas de *Tuta absoluta*

3.4 Seleção de extratos de outras Meliaceae promissores para controle de *T. absoluta*

3.4.1 Coleta das plantas e preparação dos pós-vegetais

A coleta de folhas e ramos de meliáceas foi realizada no campus da ESALQ (22° 42'S e 47° 37'O), entre março e abril, em plantas adultas de cinco espécies: i) *Trichilia pallida* Swartz, ii) *Trichilia catigua* A. Juss, iii) *Trichilia clausenii* C. DC, iv) *Guarea guidonia* (L.) Sleumer, e, v) *Toona ciliata* M. Roemer (Figura 1).

Após a coleta, as plantas foram levadas ao laboratório para secagem. Inicialmente, foi feita a triagem do material coletado para retirada de folhas danificadas e organismos presentes, como líquens, insetos e outras impurezas. O material foi mantido, por 72 h, em estufa com circulação de ar, regulada a 40 °C.

A moagem foi realizada em moinho de facas, utilizando peneira de 1 mm. Os pós obtidos foram colocados em frascos de vidro cobertos por papel alumínio e armazenados em temperatura ambiente.

3.4.2 Estimativa da CL₅₀ para o extrato etanólico de *T. ciliata*

A CL₅₀ para bioensaios com extratos orgânicos foi estimada utilizando-se um extrato etanólico de *T. ciliata*, planta que, em bioensaio preliminar, mostrou efeito promissor sobre lagartas neonatas de *T. absoluta*. O extrato utilizado foi obtido a partir de extração em Soxhlet e evaporação rotativa a 40 °C (BEZERRA-SILVA et al., 2010). Seis concentrações desse extrato foram preparadas: 0,125; 0,25; 0,5; 1; 2; e 4 % de extrato em acetona as quais foram pulverizadas com auxílio de uma pistola tipo gravidade. Dois controles foram estabelecidos: acetona pura e água destilada.

As avaliações foram diárias, até o 10º dia após o tratamento, para determinar o número de lagartas mortas. O delineamento experimental foi igual àquele utilizado no bioensaio de estimativa de CL₅₀ para óleo de nim.

Figura 1 - Espécies de Meliaceae utilizadas para preparo de extratos orgânicos utilizados nos bioensaios. A= *Guarea guidonia*; B= *Toona ciliata*; C= *Trichilia clausenii*; D= *Trichilia catigua*; E= *Trichilia pallida*

3.4.3 Preparo dos extratos de Meliaceae

Os extratos foram preparados pelo processo de maceração por meio da imersão de 100 g do pó composto por folhas + ramos de cada espécie em um litro de solvente, ou seja, utilizou-se uma proporção 1:10 (pó vegetal:solvente).

Os solventes utilizados foram: hexano, diclorometano e etanol. A escolha desses solventes foi determinada pela escala de polaridade dos mesmos, sendo hexano o mais apolar, diclorometano de polaridade intermediária e etanol o mais polar entre os solventes utilizados.

O pó foi imerso no solvente e agitado durante 10 minutos na capela ficando em repouso por 12 h, sendo após esse período a solução filtrada em papel filtro. A solução filtrada de cada solvente foi acumulada e posteriormente levada a um sistema de

evaporação rotativa a 40 °C para concentração do extrato numa única amostra. O pó que ficava sobre o papel filtro era devolvido para o frasco de maceração e recebia mais solvente.

Esse processo foi repetido quatro vezes para cada solvente, sendo que a mesma amostra de pó foi submetida aos três solventes, visando retirar compostos em faixas de polaridades diferentes, facilitando futuros fracionamentos para identificação de compostos inseticidas. Ao final de todo o processo, o extrato obtido foi transferido para uma placa de Petri média (9 cm) de vidro, anteriormente pesada, sendo mantida na capela por 15 dias. Portanto, ao final de toda a extração, obtiveram-se 15 extratos (cinco plantas e três solventes) para serem testados sobre a traça-do-tomateiro, em condições de laboratório. Para cada extrato foi calculado o rendimento em função da amostra inicial de pó vegetal utilizada.

3.4.4 Seleção dos extratos mais promissores

Soluções na concentração de 1 % (massa/volume) (CL_{50} estimada para o extrato etanólico de *T. ciliata*) foram preparadas utilizando os extratos previamente obtidos, totalizando 15 tratamentos (cinco plantas e três solventes). Os extratos foram dissolvidos em acetona pura e aplicados sobre folíolos de tomateiro cv. Santa Clara com auxílio de pistola tipo gravidade. Utilizaram-se dois controles: água e acetona. Após a eliminação do excesso de umidade foram montadas unidades experimentais como no bioensaio para seleção de nanoformulações de nim. As avaliações foram diárias, até o 10º dia após o tratamento, para determinar o número de lagartas mortas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 15 tratamentos + controles com quatro repetições (sete UE/repetição), totalizando 112 indivíduos por tratamento.

3.5 Bioensaios com nanoformulações de nim e extratos de outras Meliaceae mais promissores

Com base nos resultados obtidos nos bioensaios de seleção, as nanoformulações de nim e os extratos selecionados foram: NC40 em suspensão

aquosa e em pó e os extratos etanólicos de *T. ciliata* e *T. catigua*. As nanoformulações NC50 aquoso e NC50 pó (sem nim) também foram incluídas em alguns dos bioensaios como controles para NC40 aquoso e NC40 pó, respectivamente (Tabela 1).

Tabela 1 - Nanoformulações de nim e extratos de outras Meliaceae selecionados como promissores para o controle de *Tuta absoluta*

Nanoformulações/Extratos	Concentração utilizada (%)
NC40 suspensão aquosa	0,2
NC40 pó	0,2
NC50 suspensão aquosa*	0
NC50 em pó*	0
Óleo de nim	0,2
<i>Toona ciliata</i> - etanol	1
<i>Trichilia catigua</i> - etanol	1

*Tratamentos utilizados como controles para as nanoformulações contendo nim

3.5.1 Efeito sobre a preferência para oviposição

O efeito dos tratamentos selecionados (Tabela 1) sobre a preferência de oviposição de adultos de *T. absoluta* foi avaliado em testes com e sem chance de escolha. No bioensaio com chance de escolha, plantas de tomateiro com 30 dias de idade foram pulverizadas com soluções de cada tratamento, obedecendo a CL₅₀, utilizando pistola tipo gravidade. Após a eliminação do excesso de umidade, as mesmas foram colocadas dentro de uma gaiola telada (90 cm x 70 cm), na qual foram liberados dois casais recém-emergidos por tratamento. Assim, obedecendo ao delineamento em blocos (cinco blocos) com sete tratamentos + dois controles (água e acetona), liberaram-se 18 casais de *T. absoluta*. Os casais foram obtidos de criação mantida no laboratório, onde após a pupação foi realizada a separação por sexo dos indivíduos, segundo Coelho e França (1987).

No bioensaio sem chance de escolha foram utilizados os mesmos tratamentos do bioensaio com chance, exceto pela exclusão de NC50 aquoso e NC50 pó, que não apresentaram diferença de preferência de oviposição quando comparados ao controle no bioensaio anterior. Da mesma forma que nos bioensaios com chance de escolha, plantas de tomateiro foram pulverizadas e, após a eliminação do excesso de umidade, cada planta foi colocada em uma gaiola tipo PET, na qual foram liberados dois casais

de *T. absoluta* recém-emergidos. O delineamento experimental foi em blocos casualizados (10 blocos) com cinco tratamentos + controle água:acetona (1:1). A utilização desse controle ocorreu por não haver diferenças entre os dois controles no bioensaio com chance de escolha.

Para ambos os bioensaios (com e sem chance de escolha) os adultos foram mantidos em contato com os tratamentos por cinco dias. Findo esse período as plantas foram retiradas da(s) gaiola(s) e o número de ovos, na segunda e na terceira folhas, foi computado.

3.5.2 Efeito sobre ovos

Soluções dos tratamentos (Tabela 1) na concentração da CL₅₀ foram pulverizadas com pistola tipo gravidade sobre ovos de *T. absoluta* em diferentes idades. Para isso, folíolos de tomateiro tiveram o pecíolo envolvido com algodão umedecido e foram colocados dentro de uma gaiola de adultos por 24 h para se obterem posturas em três idades distintas: 24, 48 e 72 h. Esse procedimento foi realizado pois a manipulação dos ovos poderia inviabilizá-los, contudo o número de ovos por folíolo foi computado. Após a pulverização, os folíolos foram colocados em placas de Petri e mantidos em laboratório para aguardar a eclosão das lagartas e, assim, determinar o efeito dos tratamentos sobre a viabilidade dos ovos. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco repetições. Dois controles foram utilizados: água e acetona.

3.5.3 Efeito sobre o desenvolvimento e a longevidade

Os tratamentos contidos na Tabela 1, exceto os controles NC50 aquoso e NC50 pó, foram pulverizados sobre plantas de tomateiro através de uma pistola tipo gravidade. Após a secagem, folíolos tiveram o pecíolo envolvido por algodão umedecido em água destilada e colocados dentro de placas plásticas com 6 cm de diâmetro e 2 cm de altura.

Avaliações diárias foram realizadas para observação da mortalidade até que as lagartas sobreviventes pupassem. No final da fase larval, as pupas foram retiradas das

folhas e individualizadas para avaliação dos seguintes parâmetros: duração das fases larval e pupal, peso de pupas, razão sexual, período de L1 (lagarta neonata) a adulto e longevidade. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos e quatro repetições (sete UE/repetição). Como controle foi utilizada a mistura água:acetona (1:1) pela mesma razão exposta no item 3.5.1.

3.6 Avaliação da forma de aplicação de nanoformulações de nim e extratos de outras Meliaceae

3.6.1 Efeito de contato

3.6.1.1 Superfície tratada

Placas de Petri com 9 cm de diâmetro foram pulverizadas com soluções de cada tratamento (Tabela 1), sendo levadas ao laboratório para evaporação do solvente. Aproximadamente 150 lagartas neonatas da traça-do-tomateiro foram colocadas na região central de cada placa com auxílio de um pincel. Após 30 minutos, as lagartas foram transferidas para folíolos de tomateiro, não tratados, em unidades experimentais constituídas por placas plásticas com 6 cm de diâmetro e 2 cm de altura. Avaliações diárias de mortalidade foram realizadas até o sexto dia. O experimento foi inteiramente casualizado com sete tratamentos e quatro repetições (sete placas por repetição), totalizando 112 indivíduos por tratamento. Os controles água e acetona foram utilizados.

3.6.1.2 Aplicação tópica

Lagartas com seis dias após a eclosão foram tratadas através da aplicação tópica na região dorsal, de 0,5 µl das soluções de cada um dos tratamentos (Tabela 1), com auxílio de micropipeta. Após a aplicação, as lagartas foram transferidas para unidades experimentais como no bioensaio anterior. Avaliações diárias de mortalidade foram realizadas até o sexto dia. O delineamento experimental foi inteiramente

casualizado com sete tratamentos e quatro repetições (sete placas por repetição), totalizando 112 indivíduos por tratamento. Os controles água e acetona foram utilizados.

3.6.2 Efeito translaminar

Plantas de tomateiro tiveram a terceira folha a partir do ponteiro da planta marcada, engaiolada e infestada com lagartas neonatas. Vinte e quatro horas após a liberação das lagartas as folhas contendo as lagartas foram pulverizadas com soluções dos tratamentos constantes da Tabela 1, exceto os controles NC50 aquoso e NC50 pó. Como controle foi utilizada a mistura água:acetona (1:1).

A concentração dos tratamentos foi aumentada para cinco vezes o valor estimado da CL_{50} em laboratório. Isso foi feito porque tinha sido verificado, através de um bioensaio preliminar em casa de vegetação, que ao se usar a CL_{50} estabelecida no laboratório, os tratamentos não tinham sido eficientes.

O delineamento foi inteiramente casualizado com seis tratamentos e seis repetições totalizando 100 indivíduos por tratamento. As plantas foram mantidas em casa de vegetação, avaliando-se a cada dois dias a mortalidade larval. Ao final da fase larval, as pupas foram retiradas das folhas e individualizadas para avaliação dos mesmos parâmetros mencionados no item 3.5.3.

3.6.3 Efeito sistêmico

Para avaliação dessa forma de aplicação foram utilizados apenas os tratamentos contendo nim. Como no trabalho de Bezerra (2009), com *Bemisia tabaci* biótipo B, não tinha sido observado efeito sistêmico de extratos de *T. ciliata* e, também em razão do grande volume de extrato necessário para este bioensaio, decidiu-se não incluir no mesmo os extratos de *T. ciliata* e de *T. catigua*.

Para avaliar o efeito sistêmico utilizaram-se os tratamentos aplicados em cinco vezes o valor da CL_{50} , com base na justificativa mencionada no bioensaio anterior.

Duas vias de contaminação das plantas foram testadas: via solo e via foliar.

Na contaminação via solo, 50 ml de solução dos tratamentos (NC40 aquoso, NC40 pó e óleo de nim) foram despejados na base do caule de cada planta. No dia seguinte, a terceira folha a partir do ponteiro de cada planta foi marcada e protegida com gaiola tipo *voil*. Em cada folha foram liberadas 20 lagartas neonatas (quatro ou cinco lagartas por folíolo). O tratamento controle utilizado recebeu 50 ml de água.

Na contaminação via foliar, plantas de tomateiro tiveram a quarta folha marcada e pulverizada com soluções dos mesmos tratamentos empregados na contaminação via solo. Vinte e quatro horas após a aplicação, 20 lagartas neonatas (quatro ou cinco lagartas por folíolo) foram liberadas na terceira folha a partir do ponteiro da planta, estando essa folha localizada na lateral ascendente daquela que foi pulverizada. As plantas foram mantidas em casa de vegetação, avaliando-se a cada dois dias a mortalidade larval.

Para os dois casos utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos e seis repetições, sendo cada planta de tomateiro uma repetição. No final da fase larval, as pupas foram retiradas das folhas e individualizadas para avaliação dos mesmos parâmetros mencionados no item 3.5.3.

3.7 Avaliação do efeito residual de nanoformulações de nim e extratos de outras Meliaceae

Folhas de plantas de tomateiro com aproximadamente 30 dias de idade foram pulverizadas em três épocas (zero, três e sete dias antes da infestação com lagartas de *T. absoluta*), com soluções das nanoformulações de nim e dos extratos de Meliaceae em concentrações cinco vezes aquela utilizada no bioensaio de laboratório (Tabela 1). Como controle foi utilizada a mistura água:acetona (1:1). Em cada época as soluções eram preparadas e após a pulverização as plantas contendo a folha pulverizada eram mantidas em casa de vegetação até a liberação das lagartas.

Após a última pulverização as folhas pulverizadas de todas as épocas de aplicação foram protegidas com gaiola tipo *voil* e infestadas com 20 lagartas neonatas, constituindo três tratamentos representando as infestações aos zero, três e sete dias após a pulverização (DAP), além do tratamento controle. As avaliações da mortalidade

larval foram realizadas a cada dois dias. No final da fase larval, as pupas foram retiradas das folhas e individualizadas para avaliação dos mesmos parâmetros mencionados no item 3.5.1.3. O delineamento foi inteiramente casualizado em esquema fatorial (cinco tratamentos x três épocas de pulverização) com seis repetições, sendo cada planta uma repetição.

3.8 Seletividade de nanoformulações de nim e extratos de outras Meliaceae a dois entomopatógenos e sua interação visando ao controle de *T. absoluta*

Os entomopatógenos utilizados nos bioensaios foram escolhidos segundo resultados obtidos em trabalhos anteriores onde *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Phthorimaea operculella* granulovírus (*PhopGV*) mostraram-se eficientes no controle de *T. absoluta* (Tabela 2).

Tabela 2 - Entomopatógenos utilizados nos bioensaios de seletividade e interação com nanoformulação de nim e extrato de Meliaceae

Agente microbiano	Isolado	Hospedeiro original	Local de coleta	Trabalhos com <i>Tuta absoluta</i>
<i>Beauveria bassiana</i>	ESALQ-447	<i>Solenopsis invicta</i> (Hymenoptera: Formicidae)	Cuiabá, MT, Brasil	Giustolin et al. (2001b)
<i>PhopGV</i>	Não codificado	<i>Phthorimaea operculella</i> (Lepidoptera: Gelechiidae)	Piracicaba, SP, Brasil	Mascarin et al. (2010)

3.8.1 Seletividade de nanoformulações de nim e de extratos de outras Meliaceae ao fungo *B. bassiana*

As colônias do isolado 447 de *B. bassiana* foram obtidas a partir de repiques do fungo mantido na micoteca do laboratório de Patologia de Artrópodes e Controle Microbiano, ESALQ/USP. O meio de cultura utilizado foi batata-dextrose-água (BDA) e a incubação foi a 25±1 °C com 12 h de fotofase por oito dias. Utilizando os resultados obtidos nos bioensaios de seleção, selecionaram-se os extratos de *T. ciliata* em diclorometano, de *T. ciliata* em etanol, de *T. claussenii* em etanol, de *T. catigua* em diclorometano, de *T. catigua* em etanol, as nanoformulações NC40 aquoso e NC40 pó e o óleo de nim. Os controles água, acetona, NC50 aquoso e NC50 pó foram utilizados.

Para determinar o efeito dos tratamentos sobre o fungo foram avaliados os parâmetros crescimento vegetativo, esporulação e viabilidade de conídios.

Para o crescimento vegetativo, soluções de cada tratamento, na concentração da CL₅₀, foram misturadas em meio BDA fundido, sendo vertidos 20 ml em cada placa. O fungo foi inoculado com agulha de platina, em três pontos equidistantes por placa, totalizando quatro placas por tratamento. Foram obtidas 12 colônias e após seleção aleatória, oito foram utilizadas para avaliar o crescimento vegetativo, através de duas medições transversais (cm). Seis dessas colônias foram selecionadas para determinar a esporulação. Para tanto, recortaram-se as colônias com bisturi, transferindo-as para tubos contendo 10 ml de solução estéril de Tween 80 (0,1 %), e agitando-as para facilitar a retirada dos conídios da superfície do meio. A contagem de conídios foi realizada em microscópio óptico na câmara de Neubauer (400X).

O valor de T, cuja fórmula é $T = (20[CV] + 80[ESP])/100$, foi utilizado para determinar o índice de toxicidade de agrotóxicos sobre *B. bassiana* (ALVES et al., 1998). O índice biológico de toxicidade proposto por Rossi-Zalaf et al. (2008) também foi utilizado, visando comparar os valores de toxicidade com e sem a inclusão da germinação dos conídios no cálculo. A fórmula do índice biológico proposto por ROSSI-ZALAF et al. (2008) é: $IB = 47[CV] + 43[ESP] + 10[GERM]/100$, onde IB = índice biológico, CV = porcentagem de crescimento vegetativo da colônia em relação ao controle, ESP = porcentagem de esporulação das colônias, e, GERM = porcentagem de germinação dos conídios em 24 h. De acordo com a fórmula, o produto pode ser classificado como: tóxico (IB entre 0 e 41), moderadamente tóxico (IB entre 42 e 66) e compatível (IB acima de 66).

Para avaliação do efeito sobre a germinação dos conídios, estes foram obtidos em meio BDA puro e submetidos ao contato com os extratos. Para tanto, preparou-se uma suspensão de 10^7 conídios/ml em água estéril com Tween 80 (0,1 %) contendo o tratamento em sua respectiva CL₅₀. Essa suspensão foi mantida sob agitação por uma hora, à temperatura ambiente. Utilizaram-se 100 µl para inocular em meio BDA com auxílio da alça de vidro (Drigalsky). Após o período de incubação determinou-se a germinação dos conídios segundo a metodologia descrita por Neves et al. (2001).

3.8.2 Seletividade de nanoformulação de nim e de extrato de *Toona ciliata* ao granulovírus *PhopGV*

Suspensões do granulovírus com 1×10^6 CO/ml (corpos de oclusão por ml) foram preparadas a partir da maceração de lagarta contaminada, mantida em *freezer*, em solução de água e Tween 20 (1 %). Após o preparo, alíquotas de 50 ml foram separadas e a cada uma acrescentado um dos extratos obedecendo a concentração da CL₃₀ pré-estabelecida. Considerando que o bioensaio com vírus foi realizado *in vivo*, a utilização da CL₃₀ garantiu um menor efeito dos tratamentos (nanoformulação de nim e extrato de Meliaceae) sobre as lagartas, permitindo observar se o vírus infectou as lagartas.

As suspensões foram pulverizadas em folhas de tomateiro, seguindo a metodologia dos ensaios anteriores. Ao final da fase larval as lagartas foram individualizadas e a confirmação da contaminação feita por análise em lâmina no microscópio óptico.

3.8.3 Interação de nanoformulação de nim e de extrato de *Toona ciliata* com dois entomopatógenos visando ao controle de *T. absoluta*

Soluções ou suspensões foram aplicadas em uma folha de planta de tomateiro com 30 dias de idade, com pistola tipo gravidade, utilizando os seguintes tratamentos: 1= extrato de *T. ciliata* + *B. bassiana*; 2= extrato de *T. ciliata* + *PhopGV*; 3= extrato de *T. ciliata*; 4= nanoformulação NC40 aquoso + *B. bassiana*; 5= NC40 aquoso + *PhopGV*; 6= NC40 aquoso, 6= óleo de nim + *B. bassiana*; 7= óleo de nim + *PhopGV*; 8= óleo de nim; 9= *B. bassiana*; 10= *PhopGV*; 11= controle água. Após a eliminação do excesso de umidade, 20 lagartas neonatas foram inoculadas nos folíolos da folha tratada e uma gaiola tipo *voil* foi usada para proteção dessa folha. As plantas foram mantidas em casa de vegetação. As avaliações da mortalidade larval foram realizadas a cada dois dias.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 11 tratamentos e seis repetições, sendo cada planta de tomateiro uma repetição.

3.9 Seletividade de nanoformulação de nim e de extrato de *T. ciliata* ao parasitoide de ovos *Trichogramma pretiosum* Riley

3.9.1. Suscetibilidade de adultos de *T. pretiosum* nas gerações maternal e F1

A população de *T. pretiosum* foi obtida da criação de manutenção do Laboratório de Biologia de Insetos, ESALQ/USP, a qual é mantida sobre ovos do hospedeiro alternativo *Anagasta kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidade).

Os bioensaios foram realizados oferecendo-se às fêmeas do parasitoide, ovos de *A. kuehniella*, tratados com: 1, extrato de *T. ciliata*; 2, extrato de *T. catigua*; 3, NC40 aquoso; 4, NC40 pó; 5, óleo de nim, 6, água; 7, acetona nas concentrações da CL₅₀, imediatamente (0 h) e 24 h após o tratamento.

Assim, fêmeas do parasitoide recém-emergidas foram coletadas e, em seguida, individualizadas em tubos de vidro devidamente identificados e com gotículas de mel em suas paredes (para alimentação das fêmeas) e tampados com filme de polietileno.

Ovos inviabilizados (em ultravioleta) de *A. kuehniella* foram aderidos, utilizando-se goma arábica, nas extremidades de cartelas de cartolina azul (3,0 x 0,5 cm), correspondendo a 0,25 cm² (125 ovos em média), para posterior tratamento.

As cartelas foram tratadas por meio de imersão durante cinco segundos nas soluções dos tratamentos e em seguida, as mesmas foram mantidas em temperatura ambiente por uma hora para eliminação do excesso de umidade sobre a superfície dos ovos. Esses ovos foram oferecidos às fêmeas por um período de 24 h. Após o referido período, as cartelas contendo ovos foram transferidas para novos tubos para aguardar a emergência dos parasitoides. As fêmeas foram mantidas em tubo com gotícula de mel e a mortalidade foi anotada diariamente. Cada tratamento constou de 15 repetições (cada repetição foi representada por uma fêmea) num delineamento experimental inteiramente casualizado.

Para testar a viabilidade de F1, 15 fêmeas emergidas de cada tratamento foram isoladas, sendo adotado procedimento semelhante ao anterior, porém sem o tratamento dos ovos.

Os parâmetros avaliados foram: capacidade de parasitismo, determinado através da contagem do número de ovos escurecidos do hospedeiro; longevidade das fêmeas (geração maternal), registrando-se o número de indivíduos mortos diariamente; porcentagem de emergência (número de ovos com orifício em relação ao número de ovos parasitados); razão sexual; deformação de adultos e capacidade de parasitismo da geração F1.

Para avaliação do índice de toxicidade dos inseticidas botânicos ao parasitoide *T. pretiosum* foram utilizadas as recomendações do grupo de trabalho da IOBC (*International Organization for Biological Control*) (Koppert, Biological Systems). De acordo com Hassan (1988) o índice determina que o agrotóxico (produto) é: inócuo (seletivo) quando há menos de 30 % de redução da capacidade de parasitismo; levemente nocivo quando há de 30 a 79 % de redução da capacidade de parasitismo; moderadamente nocivo quando há de 80 a 99 % de redução da capacidade de parasitismo; e, nocivo quando há mais de 99 % de redução da capacidade de parasitismo.

3.9.2. Suscetibilidade dos estágios imaturos de *T. pretiosum*

Após a emergência dos parasitoides, foram oferecidas cartelas contendo aproximadamente 250 ovos do hospedeiro alternativo (0,5 cm²) na proporção de 1 fêmea do parasitóide por 10 ovos do hospedeiro, por um período de 24 h.

Assim, ovos de *A. kuehniella* contendo o parasitoide em diferentes idades de desenvolvimento (0-24, 72-96 e 168-192 h) foram submetidos aos diferentes tratamentos, representando cada intervalo de tempo um bioensaio. Essas idades correspondem aos períodos de ovo-larva (0-24 h); pré-pupa (72-96 h) e pupa (168-192 h). Em cada bioensaio foram avaliadas 15 repetições, sendo cada repetição composta por uma cartela de 0,5 cm² contendo ovos do hospedeiro alternativo.

Os procedimentos de tratamento dos ovos e de avaliação da F2 foram semelhantes aos descritos no experimento com adultos.

Os parâmetros avaliados foram: porcentagem de emergência (número de ovos com orifício em relação ao número de ovos parasitados) e capacidade de parasitismo da geração F2.

Para avaliação do índice de toxicidade dos inseticidas botânicos ao parasitoide *T. pretiosum* foram utilizadas as mesmas recomendações do item anterior.

3.10 Análises estatísticas

Para as estimativas de CL_{50} do óleo de nim e do extrato etanólico de *T. ciliata*, foi utilizada a análise de probit (FINNEY, 1971), usando o programa PoloPlus 1.0 (LEORA SOFTWARE, 2003).

Para os demais experimentos, inicialmente foram utilizados os testes de Shapiro Wilk e Bartlett para aferir a normalidade e a homocedasticidade dos dados, respectivamente. O teste de Tukey foi utilizado para o contraste de médias. Quando os dados não apresentaram distribuição normal foi utilizado o teste não paramétrico Kruskal-Wallis (KRUSKAL; WALLIS, 1952), realizando posteriormente a análise de comparação múltipla de Kruskal-Wallis. O software estatístico R foi utilizado para essas análises (PROGRAMA R, 2008).

As análises de sobrevivência de Kaplan-Meier foram feitas com o uso do software SPSS (SPSS, v.17.0.0., 2008), com comparações pareadas pelo teste de log-rank (Mantel-Cox) a $p < 0,05$ para verificar as diferenças entre os grupos de tratamentos (KAPLAN; MEIER, 1958). Os gráficos para sobrevivência foram gerados no software SPSS (SPSS, v.17.0.0., 2008).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Seleção de nanoformulações de nim promissoras para o controle de *Tuta absoluta* (Meyrick)

4.1.1 Estimativa da CL₅₀ para a formulação padrão de óleo de nim

Através dos dados obtidos neste bioensaio, estimou-se que a CL₅₀ do óleo de nim (Organic Neem®) para lagartas de *T. absoluta* foi 0,20 % do produto comercial, com coeficiente angular de $2,10 \pm 0,30$, $\chi^2=2,74$, heterogeneidade de 0,69 e 4 graus de liberdade (Figura 2). A mortalidade média para cada concentração testada pode ser observada na Tabela 3. A quantificação de azadiractina, feita por ocasião da instalação do experimento, permite afirmar que a concentração (0,20 %) que controlou 50 % da população de lagartas de *T. absoluta*, nas condições testadas, corresponde a 1,31 mg/L de azadiractina.

Marcomini (2009), utilizando a mesma formulação de óleo de nim, estimou a CL₅₀ de 0,74 % em dieta artificial e 0,64 % em plantas de milho para lagartas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). Os maiores valores de CL₅₀ estimados para *S. frugiperda* em comparação àquele estimado para *T. absoluta*, se deve, ao menos em parte, ao maior tamanho das lagartas. Isso, por outro lado, demonstra a importância de se fazerem estimativas para a espécie em estudo, em vez de se estabelecer a concentração a ser usada com base em extrapolações.

Figura 2 - Curva concentração-resposta (log da concentração em mg/g) para lagartas de *Tuta absoluta* alimentadas com folíolos de tomateiro tratados com diferentes concentrações de óleo de nim. Mortalidades esperadas e observadas são representadas por linha e pontos, respectivamente. 5 probits= 50 % mortalidade. 25 ± 2 °C; 50 ± 10 % UR; fotofase: 14 h

Tabela 3 - Média $\pm$ erro padrão da mortalidade de lagartas de *Tuta absoluta* alimentadas, durante 10 dias, com folíolos de tomateiro tratados com diferentes concentrações de óleo de nim. 25 ± 2 °C; 50 ± 10 % UR; fotofase: 14 h

Concentrações (%)	Mortalidade (%)
0 (controle água)	$8,0 \pm 0,68$
0,015	$12,0 \pm 0,75$
0,030	$18,0 \pm 0,24$
0,060	$25,0 \pm 0,80$
0,120	$38,0 \pm 0,77$
0,240	$68,0 \pm 0,93$
0,480	$80,0 \pm 0,66$

4.1.2 Seleção das nanoformulações de nim mais promissoras

Conforme mencionado no item Material e Métodos, a seleção de nanoformulações de nim foi realizada em bioensaios separados. Para todos os bioensaios de seleção das nanoformulações (quatro no total) foi utilizada, como base para os cálculos, a CL_{50} estimada (0,20 %) no item 4.1.1, considerando para isso a quantidade de azadiractina de cada nanoformulação (Quadro 1).

No primeiro bioensaio (Tabela 4), a maior mortalidade (38,7 %) foi observada na nanoformulação de cápsulas de PHB (NCL13), a qual não diferiu do controle óleo de nim (36,0 %), mas foi superior aos valores registrados no controle água (7,2 %) e nos demais tratamentos, com exceção das nanoformulações de cápsulas de PCL (NCL12) e de PCL/PHB (NCL14), que propiciaram mortalidades intermediárias (20,7 % e 17,1 %, respectivamente), as quais não diferiram de nenhum dos tratamentos.

Nos tratamentos NCL15, NCL16 e NCL17, que não continham nim na sua composição, observaram-se mortalidades de 12,6 e 13,5 %, inferiores às registradas para as nanoformulações equivalentes contendo nim (Tabela 4). Os referidos tratamentos causaram mortalidades similares àquela observada no controle água. Esse resultado demonstra a inocuidade dos polímeros PCL e PHB utilizados nas nanoformulações sobre o inseto, podendo-se dessa forma descartar a possibilidade de esses polímeros estarem influenciando os resultados obtidos para as nanoformulações que continham nim.

Tabela 4 - Média $\pm$ erro padrão da mortalidade de lagartas de *Tuta absoluta* alimentadas, durante 10 dias, com folíolos de tomateiro tratados com nanoformulações de nim em cápsulas de PCL e PHB. 25 $\pm$ 2 °C; 50 $\pm$ 10 % UR; fotofase: 14 h

Tratamentos	Descrição	Mortalidade (%)
NCL13	Nanocápsulas de PHB ¹ + óleo e extratos de nim	38,7 $\pm$ 12,85 a
Óleo de nim	Organic Neem	36,0 $\pm$ 9,80 a
NCL12	Nanocápsulas de PCL ² + óleo e extratos de nim	20,7 $\pm$ 14,53 ab
NCL14	Nanocápsulas de PCL/PHB + óleo e extratos de nim	17,1 $\pm$ 15,00 ab
NCL16	Nanocápsulas de PHB + oleato de isodecila	13,5 $\pm$ 10,57 b
NCL17	Nanocápsulas de PCL/PHB + oleato de isodecila	13,5 $\pm$ 19,44 b
NCL15	Nanocápsulas de PCL + oleato de isodecila	12,6 $\pm$ 7,26 b
Água	Controle	7,2 $\pm$ 5,00 b

¹PHB= Poli- β -hidroxibutirato, ²PCL= Poli- ϵ -caprolactona. Médias seguidas da mesma não diferem significativamente pelo teste de Tukey (p<0,05)

No segundo bioensaio (Tabela 5), os tratamentos contendo nanoformulações propiciaram mortalidades (variáveis entre 20,7 e 37,8 %) inferiores à observada para o controle óleo de nim (70 %), as quais, por outro lado, não diferiram do valor constatado no controle água (22,5 %). No entanto, ao término do período de avaliação (10º dia) foi observado que nos tratamentos com nanoformulações contendo nim, embora os dados

de peso não tenham sido analisados estatisticamente, as lagartas tenderam a apresentar tamanhos inferiores em comparação aos tratamentos com nanoformulações sem o nim e ao controle água. Dessa forma, é possível inferir que, embora os tratamentos contendo nim não tenham reduzido a sobrevivência larval, eles afetaram o desenvolvimento do inseto.

Tabela 5 - Média $\pm$ erro padrão da mortalidade de lagartas de *Tuta absoluta* alimentadas, durante 10 dias, com folíolos de tomateiro tratados com nanoformulações de esferas de PCL e PHB. 25 $\pm$ 2 °C; 50 $\pm$ 10 % UR; fotofase: 14 h

Tratamentos	Descrição	Mortalidade (%)
Óleo de nim	Organic Neem	70,3 $\pm$ 4,56 b
NSL12	Nanoesferas de PCL ¹ + óleo e extratos de nim	37,8 $\pm$ 5,90 a
NSL14	Nanoesferas de PCL/PHB + óleo e extratos de nim	37,8 $\pm$ 3,99 a
NSL16	Nanoesferas de PHB + oleato de isodecila	33,3 $\pm$ 4,23 a
NSL13	Nanoesferas de PHB ² + óleo e extratos de nim	33,3 $\pm$ 3,11 a
NSL17	Nanoesferas de PCL/PHB + oleato de isodecila	24,3 $\pm$ 6,23 a
Água	Controle	22,5 $\pm$ 3,50 a
NSL15	Nanoesferas de PCL + oleato de isodecila	20,7 $\pm$ 4,83 a

¹PCL= Poli- ϵ -caprolactona, ²PHB= Poli- β -hidroxibutirato. Médias seguidas da mesma não diferem significativamente pelo teste de comparação múltipla de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$)

No terceiro bioensaio (Tabela 6), as mortalidades causadas pelos tratamentos NS38 em pó (93,5 %) e óleo de nim em pó (OP) (90,7 %) não diferiram dos registrados com o óleo de nim (86,6 %). NS38 em suspensão aquosa (62,5 %), R01 (53,7 %) e R02 (49,5 %) causaram mortalidades inferiores ao óleo de nim e superiores ao controle água (2,0 %).

Os tratamentos NC50 e PB, que não causaram mortalidade de lagartas foram retirados da análise, com o intuito de melhorar a distribuição dos dados na análise estatística.

No quarto bioensaio (Tabela 7), as mortalidades causadas pela nanoformulação NC40 em suspensão aquosa e pelo controle óleo de nim foram semelhantes (99,7 e 99,6 %) e superiores ao valor registrado com o uso da nanoformulação NC40 pó (71,9 %), sendo que esses três tratamentos diferiram do controle água (6,2 %).

Tabela 6 - Média $\pm$ erro padrão da mortalidade de lagartas de *Tuta absoluta* alimentadas, durante 10 dias, com folíolos de tomateiro tratados com nanoformulações de cápsulas e esferas de PMMA, PCL e β -Ciclodextrina. 25 ± 2 °C; 50 ± 10 % UR; fotofase: 14 h

Tratamentos	Descrição	Mortalidade (%)
NS38	Nanoesferas de PMMA ¹ (0,25 g) + óleo e extratos de nim + Tween em pó	93,5 $\pm$ 1,31 e
OP	Óleo comercial Organic Neem em pó	90,7 $\pm$ 14,16 de
Óleo de nim	Organic Neem	86,6 $\pm$ 13,17 e
NS38	Nanoesferas de PMMA (0,25 g) + óleo e extratos de nim + Tween - suspensão aquosa	62,5 $\pm$ 6,30 cd
R01	Extrato de óleo em pó (0,1 mg) + Óleo de Nim (0,5 g)+Solução β -Ciclodextrina (3,0 ml) (a) + Tensoativo Renex 40 (0,08 g)	53,7 $\pm$ 0,54 cd
R02	Extrato de óleo em pó (0,1 mg) + Óleo de Nim (0,5 g)+Solução β -Ciclodextrina (3,0 ml) (b) + Tensoativo Renex 40 (0,08 g)	49,5 $\pm$ 5,92 bc
NS40	Nanoesferas de PCL ² (0,25 g)	21,1 $\pm$ 5,60 ab
PB	PMMA - solução aquosa	-
NC50	Nanocápsulas de PCL (0,25 g) + oleato de isodecila	-
Água	Controle	2,0 $\pm$ 0,38 a

¹PMMA= polimetilmetacrilato, ²PCL= Poli- ϵ -caprolactona. Médias seguidas da mesma não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

Tabela 7 - Média $\pm$ erro padrão da mortalidade de lagartas de *Tuta absoluta* alimentadas, durante 10 dias, com folíolos de tomateiro tratados com nanoformulações de cápsulas de PHB. 25 ± 2 °C; 50 ± 10 % UR; fotofase: 14 h

Tratamentos	Descrição	Mortalidade (%)
NC40	Nanocápsulas de PHB ¹ (0,25 g) + óleo e extratos de nim + Tween - suspensão aquosa	99,7 $\pm$ 0,33 c
Óleo de nim	Organic Neem	99,6 $\pm$ 0,38 c
NC40	Nanocápsulas de PHB (0,25 g) + óleo e extratos de nim + Tween - em pó	71,9 $\pm$ 7,00 b
Água	Controle	6,2 $\pm$ 2,95 a

¹PHB= Poli- β -hidroxibutirato. Médias seguidas da mesma não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

Considerando os resultados obtidos nos quatro bioensaios, foi possível observar que as maiores mortalidades foram obtidas com as nanoformulações NC40 em suspensão aquosa (99,7 %) e em pó (71,9 %) (Tabela 7) e com a NS38 em pó (93,5 %) (Tabela 6). Além de a mortalidade causada por essas nanoformulações ter sido significativamente diferente da registrada no controle água, observou-se que em seus

respectivos controles (nanoformulações contendo apenas os polímeros PHB ou PMMA) a mortalidade não diferiu em relação ao controle água, o que demonstra sua inocuidade para *T. absoluta*.

Essas diferenças de mortalidade quando se comparam as diferentes nanoformulações testadas podem ter ocorrido devido à forma das nanopartículas, já que foram testadas nanoformulações compostas por cápsulas e esferas, as quais são caracterizadas basicamente pela presença e ausência do núcleo oleoso, respectivamente. As nanocápsulas apresentam menor diâmetro que as nanoesferas e o ingrediente ativo (nesse caso a azadiractina) é liberado todo de uma vez, quando há o rompimento da cápsula que recobre o núcleo oleoso. Já nas nanoesferas o ingrediente ativo fica sobreposto nas camadas do polímero, sendo liberado gradualmente, quando o mesmo é degradado. Portanto, relacionando os resultados encontrados com a composição de cada nanopartícula presente nas diferentes nanoformulações e considerando a inocuidade do polímero foi possível observar que tanto nanocápsulas como nanoesferas contendo ou não tiveram efeito sobre *T. absoluta*.

Por serem menores que as nanoesferas, espera-se que a liberação do ingrediente ativo das nanocápsulas seja mais rápida e que o efeito sobre o inseto fique restrito ao momento de rompimento da cápsula. Já para as nanoesferas o efeito poderia ser observado por maior período, pois o ingrediente ativo está disposto em camadas intercaladas do polímero, sendo liberado à medida que o polímero é degradado. Assim, embora tenham modo de ação distintos, ambas as formas de encapsulamento podem ser interessantes para a proteção de plantas contra o ataque de insetos-praga, podendo ser utilizadas juntas.

Relacionando os resultados entre NC40 em suspensão aquosa e em pó observa-se que a maior mortalidade foi observada com a nanoformulação em suspensão aquosa. Segundo Forim², o processo de retirada da água remove a azadiractina livre na suspensão, já que a eficiência de encapsulamento não atinge 100 %. Dessa forma, moléculas de azadiractina permanecem livres na suspensão e podem afetar o inseto. Isto explicaria o menor efeito da nanoformulação em pó, onde, durante o processo de secagem, a maior parte da azadiractina livre é perdida. Em contrapartida, uma

² FORIM, M.R. Universidade Federal de São Carlos – UFSCar.

nanoformulação em pó pode ser mais estável durante o armazenamento, já que a presença de água poderia catalisar reações de hidrólise entre os componentes da nanoformulação.

Marcomini (2009) realizou bioensaios de seleção para nanoformulações de nim em dieta artificial e em folhas de milho. Em dieta artificial, foi constatado apenas redução de peso das lagartas não sendo observadas diferenças entre a mortalidade obtida para as nanoformulações e o controle água. Já nos bioensaios com folhas de milho foi observado que, além da redução de peso, as formulações em nanocápsulas de PCL e PMMA e em nanoesferas de PHB propiciaram mortalidades superiores a 40 % e diferiram do controle água. Segundo a autora, o uso de folhas de milho propiciou maior eficiência das nanoformulações em comparação ao uso de dieta artificial, estando esse efeito relacionado às condições ambientais que favoreceriam a degradação das nanopartículas, e a conseqüente liberação do ingrediente ativo. Para a nanoformulação NC40, eficiente no controle de *T. absoluta* no presente trabalho, não foram observados valores significativos de mortalidade para lagartas de *S. frugiperda* alimentadas com folhas de milho tratadas tanto com a nanoformulação em suspensão aquosa quanto em pó, contudo, reduções de peso foram constatadas (MARCOMINI, 2009). Os efeitos diferentes observados sobre *T. absoluta* e *S. frugiperda* podem ter ocorrido devido a diferentes fatores, como o tamanho desses insetos, por exemplo. Isso reforça a importância de estudos espécie-específicos para a seleção de produtos ou tecnologias a serem preconizados no manejo desses insetos.

Assim, de acordo com os resultados obtidos, as nanoformulações NC40 aquoso e em pó foram selecionadas para os demais bioensaios deste trabalho.

4.2 Seleção de extratos de Meliaceae promissores para o controle de *T. absoluta*

4.2.1 Estimativa da CL₅₀ para o extrato etanólico de *Toona ciliata*

Através dos dados obtidos neste bioensaio, a CL₅₀ do extrato etanólico de *T. ciliata* para lagartas de *T. absoluta* foi 1,1 %, com coeficiente angular de $2,07 \pm 0,21$, $\chi^2=2,21$ e 4 graus de liberdade (Figura 3). A mortalidade média para cada concentração

testada pode ser observada na Tabela 8. A mortalidade observada no controle acetona foi similar àquela do controle água, demonstrando que esse solvente, utilizado para dissolver o extrato, não afetou as lagartas.

O valor de CL_{50} obtido neste bioensaio é quase cinco vezes inferior ao obtido por Cunha (2004) que, também trabalhando com *T. absoluta*, estimou uma CL_{50} de 4,9 %, ao utilizar o extrato em diclorometano de folhas de *T. pallida*. Considerando-se que a quantidade de extrato é um fator limitante para bioensaios com plantas inseticidas, o extrato de *T. ciliata*, por apresentar um menor valor estimado de CL_{50} , permite melhor otimização de material vegetal em comparação a *T. pallida*, visando ao controle de *T. absoluta*. Assim, como o observado na estimativa de CL_{50} para o óleo de nim, os resultados observados para extratos orgânicos apresentam interação espécie-específica, ressaltando-se a importância de bioensaios de estimativa da CL_{50} para extratos orgânicos e o inseto-alvo em estudo.

Figura 3 - Curva concentração-resposta (log da concentração em mg/g) de lagartas de *Tuta absoluta* alimentadas com folíolos de tomateiro tratados com diferentes concentrações de extrato etanólico de *Toona ciliata*. Mortalidades esperadas e observadas são representadas por linha e pontos, respectivamente. 5 probits= 50 % mortalidade. 25 ± 2 °C; 50 ± 10 % UR; fotofase: 14 h

Tabela 8 - Média $\pm$ erro padrão da mortalidade de lagartas de *Tuta absoluta* alimentadas, durante 10 dias, com folíolos de tomateiro tratados com diferentes concentrações do extrato etanólico de *Toona ciliata*. 25 ± 2 °C; 50 ± 10 % UR; fotofase: 14 h

Concentrações (%)	Mortalidade (%)
0 (Controle água)	$7,6 \pm 3,37$
0 (Controle acetona)	$8,3 \pm 6,14$
0,1250	$12,8 \pm 3,82$
0,2500	$16,4 \pm 2,42$
0,5000	$26,7 \pm 1,50$
1,0000	$55,5 \pm 1,32$
2,0000	$73,6 \pm 1,72$
4,0000	$87,9 \pm 2,84$

4.2.2 Seleção dos extratos mais promissores

O rendimento dos extratos após o processo de extração e secagem foi bastante variável intra e inter-espécies vegetais. Os maiores rendimentos foram obtidos para o extrato em etanol de *T. catigua* (10,4 %) e para o extrato em hexano de *T. ciliata* (8,75 %), enquanto o menor rendimento (1,99 %) foi observado para o extrato em hexano de *T. catigua* (Tabela 9). O rendimento da maioria dos extratos ficou na faixa de 2 a 4 %.

A diferença de rendimento pode ser explicada pela capacidade de extração de cada solvente utilizado relacionado com a polaridade dos compostos presentes nos pós vegetais (Figura 4).

De acordo com os resultados obtidos para as espécies estudadas e comparando os rendimentos obtidos por outros autores observou-se que o método de extração, o solvente e a estrutura da planta utilizada influenciam no rendimento. Por exemplo, Cunha (2004) obteve rendimentos de 2,8 e 1,4 % para extratos aquosos liofilizados de folhas e de ramos de *T. pallida*, respectivamente. Esse mesmo autor, utilizando o método de maceração com os solventes hexano, diclorometano e metanol, obteve, respectivamente, os rendimentos de 4,0, 1,7 e 3,1 % para folhas de *T. pallida*. Os valores obtidos por Cunha (2004) para maceração com solventes orgânicos (exceto pela água) são semelhantes aos encontrados neste trabalho.

Utilizando o extrator de Soxhlet, Bezerra-Silva et al. (2010) obtiveram um rendimento maior para folhas de *T. pallida* (8,1 %) e *T. ciliata* (7,0 %) com o solvente diclorometano. Os autores observaram que extratos de ramos renderam menos que o

de folhas para todas as espécies utilizadas. No entanto, esse maior rendimento poderia estar relacionado ao fato que massas de pó independentes foram utilizadas para obtenção de cada extrato, diferentemente do utilizado neste trabalho, onde a mesma massa foi submetida aos três solventes.

A importância de utilizar solventes com diferentes polaridades está no fato que os compostos com atividade inseticida podem variar quanto à polaridade entre as plantas. Ao observar a Figura 4, fica evidente a diversidade de compostos presentes dentro de cada planta e entre elas. Apesar de pouco preciso o método de cromatografia em camada delgada permitiu separar alguns grupos químicos onde reconhecidamente estão compostos com atividade inseticida, como triterpenos e cumarinas.

Tabela 9 - Rendimento de extratos orgânicos de meliáceas submetidas ao processo de extração por maceração na proporção de 1:10 (pó vegetal:solvente). 25 ± 2 °C; 50 ± 10 % UR; fotofase: 14 h

Extratos	Solventes	Rendimento (%)
<i>Guarea guidonia</i>	Hexano	2,87
	Diclorometano	2,25
	Etanol	3,06
<i>Toona ciliata</i>	Hexano	8,75
	Diclorometano	2,62
	Etanol	3,62
<i>Trichilia catigua</i>	Hexano	1,99
	Diclorometano	2,13
	Etanol	10,40
<i>Trichilia clausenii</i>	Hexano	4,99
	Diclorometano	4,94
	Etanol	5,66
<i>Trichilia pallida</i>	Hexano	2,14
	Diclorometano	2,49
	Etanol	4,97

Figura 4 - Cromatografia de camada delgada dos extratos orgânicos de cinco meliáceas. Solvente de arraste hexano:acetona (5:3). 1= *Guarea guidonia* - hexano, 2= *G. guidonia* - diclorometano, 3= *G. guidonia* - etanol, 4= *Trichilia pallida* - hexano, 5= *T. pallida* - diclorometano, 6= *T. pallida* - etanol, 7= *Trichilia clausenii* - hexano, 8= *T. clausenii* - diclorometano, 9= *T. clausenii* - etanol, 10= *Trichilia catigua* - hexano, 11= *T. catigua* - diclorometano, 12= *T. catigua* - etanol, 13= *Toona ciliata* - hexano, 14= *T. ciliata* - diclorometano, 15= *T. ciliata* - etanol. A= triterpenos, B= cumarinas, C= flavonoides, D= açúcares

A diferença de mortalidade em função dos solventes e das espécies de plantas pode ser observada na Tabela 10. Os extratos que proporcionaram mortalidades larvais que diferiram do controle água foram: *T. clausenii* em etanol (73,2 %), *T. ciliata* em diclorometano (72,9 %), em etanol (51,8 %) e em hexano (38,5 %), *T. catigua* em diclorometano (71,2 %), em etanol (65,3 %) e em hexano (63,9 %), *G. guidonia* em diclorometano (40,3 %) e *T. pallida* em hexano (35,8 %). Levando-se em conta os três solventes utilizados, *T. catigua* foi a espécie vegetal que propiciou as maiores eficiências. Não foram observadas diferenças nas mortalidades obtidas nos controles água e acetona, o que também foi constatado por Cunha (2004), evidenciando, nos dois trabalhos, que a acetona utilizada para a ressuspensão dos extratos não afetou a sobrevivência das lagartas.

No que se refere a *T. pallida*, as mortalidades constatadas com os extratos em hexano (35 %) e em diclorometano (33 %) foram superiores àquelas encontradas por Cunha et al. (2005) que obtiveram valores de 11 e 17 %, respectivamente, para os extratos em hexano e em diclorometano, aplicados na mesma concentração utilizada

neste trabalho (1 %); apesar das mortalidades relativamente baixas no trabalho desses autores, nos dois casos elas superaram o controle água.

Os extratos selecionados para os bioensaios seguintes no presente trabalho, juntamente com as nanoformulações de nim anteriormente selecionadas, foram os extratos de *T. ciliata* e *T. catigua*, ambos em etanol. Ressalte-se que na seleção dos extratos não foram consideradas apenas as mortalidades obtidas, mas também os solventes utilizados. Assim, embora os dois extratos selecionados não tenham sido os que apresentaram maiores valores absolutos de mortalidade, ambos foram obtidos com o uso de etanol, o que traz boas perspectivas de uso desses extratos em condições de semicampo e campo, em razão da maior facilidade e maior segurança para a obtenção e a manipulação do etanol em comparação aos outros solventes utilizados.

Tabela 10 - Média $\pm$ erro padrão da mortalidade de lagartas de *Tuta absoluta* alimentadas, durante 10 dias, com folíolos de tomateiro tratados com extratos orgânicos de Meliaceae. 25 ± 2 °C; 50 ± 10 % UR; fotofase: 14 h

Espécie vegetal	Solvente	Mortalidade (%)
<i>Guarea guidonia</i>	Hexano	$30,3 \pm 3,60$ abcd
	Diclorometano	$40,3 \pm 3,38$ bcde
	Etanol	$28,2 \pm 6,89$ abc
<i>Toona ciliata</i>	Hexano	$38,5 \pm 5,47$ bcde
	Diclorometano	$72,9 \pm 7,49$ ef
	Etanol	$51,8 \pm 7,06$ cdef
<i>Trichilia catigua</i>	Hexano	$63,9 \pm 6,50$ def
	Diclorometano	$71,2 \pm 5,05$ e
	Etanol	$65,3 \pm 4,47$ ef
<i>Trichilia clausenii</i>	Hexano	$15,8 \pm 4,95$ ab
	Diclorometano	$40,6 \pm 13,06$ abcde
	Etanol	$73,2 \pm 6,03$ ef
<i>Trichilia pallida</i>	Hexano	$35,8 \pm 10,61$ bcde
	Diclorometano	$33,2 \pm 4,93$ abcd
	Etanol	$23,9 \pm 5,10$ abc
Controle água		$2,8 \pm 2,78$ a
Controle acetona		$3,1 \pm 1,07$ a

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

4.3 Bioensaios com nanoformulações de nim e extratos de outras Meliaceae mais promissores

4.3.1 Efeito sobre a preferência para oviposição

No teste com chance de escolha, o único tratamento que afetou a oviposição de *T. absoluta* foi o extrato etanólico de folhas e ramos de *T. ciliata*, no qual o número de ovos por planta foi significativamente inferior àquele observado nos demais tratamentos, com exceção das plantas tratadas com o extrato etanólico de folhas e ramos de *T. catigua*, onde o número de ovos foi intermediário não diferindo dos demais tratamentos e nem dos controles água e acetona (Figura 5).

Figura 5 - Média $\pm$ erro padrão do número de ovos de *Tuta absoluta* no terço superior de plantas de tomateiro tratadas com nanoformulações de nim e com extratos de outras Meliaceae, em teste com chance de escolha. 25 ± 2 °C; 50 ± 10 % UR; fotofase: 14 h. Colunas com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

Já no teste sem chance de escolha não foi constatada diferença no número de ovos depositados pelas fêmeas na comparação entre os diversos tratamentos e o controle água. No entanto, o número de ovos nas plantas tratadas com NC40 pó e com

óleo de nim foram maiores do que naquelas tratadas com os extratos de *T. ciliata* e de *T. catigua* (Figura 6).

Na comparação entre os testes com e sem chance de escolha, observa-se que a redução de oviposição provocada pelo extrato de *T. ciliata* no teste com chance não foi mantida quando as fêmeas não tiveram a chance de escolha. Apesar de não haver diferença significativa entre as médias, as plantas tratadas com extrato de *T. ciliata* tenderam a ser menos ovipositadas do que no controle água. Em duas das repetições do controle água não ocorreram posturas, caracterizando um comportamento anormal do inseto, o que reduziu o valor médio nesse tratamento, levando provavelmente à inexistência de diferença estatística entre o referido valor e aquele encontrado com o extrato de *T. ciliata*. Os demais tratamentos mantiveram sua similaridade com o controle água, mesmo para NC40 pó e óleo de nim onde os resultados sugerem que os tratamentos estariam estimulando a oviposição (Figura 6).

Figura 6 - Média $\pm$ erro padrão do número de ovos de *Tuta absoluta* no terço superior de plantas de tomateiro tratadas com nanoformulações de nim e com extratos de outras Meliaceae, sem chance de escolha. 25 ± 2 °C; 50 ± 10 % UR; fotofase: 14 h. Colunas com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

A preferência de oviposição de *T. absoluta* em plantas tratadas com plantas inseticidas já havia sido avaliada anteriormente por Thomazini, Vendramim e Lopes (2000) e Brunherotto, Vendramim e Oriani (2010). Thomazini, Vendramim e Lopes (2000), comparando a oviposição de *T. absoluta* sobre folhas de tomateiro previamente submersas em extratos de folhas de *T. pallida* em duas densidades de adultos liberados (10 e 20 por gaiola), observaram que o extrato inibiu a oviposição apenas na maior densidade do inseto. Já Brunherotto, Vendramim e Oriani (2010), utilizando adultos não sexados em teste com chance (40 adultos) e sem chance (20 adultos) de escolha, constataram que os extratos aquosos de folhas de *M. azedarach* e de sementes de nim causaram redução de 40 % no número de ovos depositados em relação ao controle. Quando foi avaliado o efeito dos tratamentos em bioensaio sem chance de escolha a inibição da oviposição se manteve, contudo, o número de ovos depositados nos folíolos tratados com o extrato aquoso de folhas *M. azedarach* foi maior que naqueles tratados com extrato aquoso de sementes de nim.

Tanto Thomazini, Vendramim e Lopes (2000) como Brunherotto, Vendramim e Oriani (2010) observaram reduções na oviposição de *T. absoluta* com liberações de um número maior de adultos, indicando que a melhor diferenciação da preferência de oviposição se dá quando há um maior número de adultos por gaiola, tanto com chance como sem chance de escolha. Por outro lado, o número de tratamentos utilizados por Thomazini, Vendramim e Lopes (2000) e Brunherotto, Vendramim e Oriani (2010) para o bioensaio com chance de escolha foi menor (três) que aquele utilizado no presente trabalho (nove), o que provavelmente deve ter contribuído para uma melhor diferenciação dos tratamentos pelo inseto nos trabalhos daqueles autores.

4.3.2 Efeito sobre ovos

A viabilidade dos ovos de *T. absoluta* tratados, após diferentes períodos de postura (24, 48 e 72 h), com as nanoformulações e com os extratos, não foi afetada ao serem comparados com os controles água e acetona. Para ovos tratados após 24 h, entretanto, a viabilidade obtida com o uso do extrato de *T. catigua* foi menor do que aquela constatada com a nanoformulação NC50 aquosa (controle para NC40 aquosa),

ocorrendo nos controles água e acetona valores intermediários que não diferiram dos extremos (Tabela 11).

Já nos demais períodos, embora tenha ocorrido variação nos valores de viabilidade (88,7 a 94,1 % para ovos com 48 h e 73,7 a 96,0 % para ovos com 72 h) não houve diferença significativa entre as médias (Tabela 11).

Os resultados obtidos corroboram, de modo geral, os constatados por outros autores que testaram a atividade de extratos de Meliaceae sobre ovos de *T. absoluta*. Assim, tanto Brunherotto, Vendramim e Oriani (2010) que trabalharam com extratos de folhas de *M. azedarach* e de sementes de nim, como Thomazini, Vendramim e Lopes (2000) que testaram o extrato de folhas de *T. pallida* não observaram efeito ovicida para a referida praga.

Relato do efeito de extratos vegetais sobre ovos de lepidópteros foi constatado por Torres et al. (2006), ao verificarem redução da viabilidade dos ovos de *Plutella xylostella* (L.) tratados com extratos de frutos de *M. azedarach* e de amêndoas de nim.

Tabela 11 - Média $\pm$ erro padrão da viabilidade de ovos de *Tuta absoluta* tratados com nanoformulações de nim e extratos de outras Meliaceae em diferentes períodos de desenvolvimento. 25 $\pm$ 2 °C; 50 $\pm$ 10 % UR; fotofase: 14 h

Tratamentos	Viabilidade de ovos (%)		
	24 h	48 h ^{ns}	72 h ^{ns}
NC50 aquoso	94,2 $\pm$ 0,92 b	92,6 $\pm$ 0,80	73,7 $\pm$ 18,48
NC50 pó	92,5 $\pm$ 1,54 ab	89,1 $\pm$ 2,50	76,6 $\pm$ 19,17
Controle acetona	92,5 $\pm$ 1,01 ab	88,7 $\pm$ 2,89	75,1 $\pm$ 18,80
NC40 aquoso	90,2 $\pm$ 1,37 ab	89,8 $\pm$ 2,24	96,0 $\pm$ 1,77
Controle água	90,1 $\pm$ 2,46 ab	88,0 $\pm$ 1,49	91,7 $\pm$ 2,18
<i>Toona ciliata</i>	87,7 $\pm$ 2,13 ab	93,7 $\pm$ 1,42	91,9 $\pm$ 2,38
Nim	86,1 $\pm$ 3,15 ab	94,1 $\pm$ 2,70	88,3 $\pm$ 1,03
<i>Trichilia catigua</i>	77,5 $\pm$ 2,56 a	90,3 $\pm$ 1,21	93,5 $\pm$ 2,74
NC40 pó	70,6 $\pm$ 17,81 ab	93,8 $\pm$ 1,47	90,0 $\pm$ 1,23
<i>p</i>	0,0078	0,2176	0,3537

Médias seguidas da mesma na coluna não diferem entre si pelo teste de comparação múltipla de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$). ns= não significativo

4.3.3 Efeito sobre o desenvolvimento e a longevidade

Quando as lagartas de *T. absoluta* foram alimentadas em folíolos tratados com nanoformulações ou com extratos de outras Meliaceae foi observado que a

sobrevivência de lagartas diferiu entre os tratamentos ($\chi^2=404,75$, $gl=5$ e $p<0,001$). A sobrevivência de lagartas foi menor em todos os tratamentos quando comparada ao controle água (Figura 7), conforme os valores estatísticos registrados ($p<0,001$) para a comparação pareada de log-rank.

Comparando-se a eficiência de controle das nanoformulações com o óleo de nim, verifica-se que NC40 aquoso e o óleo de nim reduziram igualmente ($p=0,758$) a sobrevivência das lagartas, enquanto NC40 pó foi menos eficiente que o óleo de nim ($p<0,001$), reduzindo em menor proporção a sobrevivência larval (Figura 7). Da mesma forma, a sobrevivência de lagartas observada para NC40 aquoso foi menor que em NC40 pó ($p<0,001$). A análise da Figura 7 permite observar que tanto para a nanoformulação NC40 aquoso como para o óleo de nim a sobrevivência de lagartas reduziu-se drasticamente a partir do 5º dia do início do bioensaio, atingindo 100 % de mortalidade entre o 15º e 17º dia, respectivamente. O tempo letal estimado para NC40 aquoso (6,7 dias) não diferiu de óleo de nim (6,8 dias), contudo, ambos foram menores que no controle água (19,4 dias) (Tabela 12). Para NC40 pó o tempo médio para que 50 % das lagartas morressem foi de 14,3 dias (Tabela 12).

Cabe ressaltar que o tempo letal (TL_{50}) apresentado na Tabela 12 é estimado em função do tempo que cada tratamento leva para reduzir em 50 % sobrevivência das lagartas. Assim, para o controle água em que, durante o tempo de avaliação, a mortalidade larval não atingiu 50 %, o TL_{50} representa um valor teórico estimado pelo *software* utilizado.

A sobrevivência de lagartas foi menor no extrato etanólico de *T. ciliata* quando comparado com o de *T. catigua* ($p=0,015$). Para esses extratos a sobrevivência foi reduzida acentuadamente nos primeiros dias após a avaliação (Figura 7). Os tempos letais foram estimados em 6,6 dias e 8,2 dias para *T. ciliata* e *T. catigua* respectivamente, ambos menores que o estimado para o controle água (19,4 dias). Apesar de ter ocorrido maior sobrevivência de lagartas nos tratamentos com os extratos, o tempo necessário para que 50 % da população de lagartas testadas morressem foi similar aos tratamentos com nim (Tabela 12).

Figura 7 - Curvas de sobrevivência para lagartas de *Tuta absoluta* em folíolos de tomateiro tratados com nanoformulações de nim e extratos de outras Meliaceae. 25 ± 2 °C; 50 ± 10 % UR; fotofase: 14 h

Tabela 12 - Média $\pm$ erro padrão do tempo letal (TL₅₀) de lagartas de *Tuta absoluta* alimentadas com folíolos de tomateiro tratados com nanoformulações de nim e extratos de outras Meliaceae. 25 ± 2 °C; 50 ± 10 % UR; fotofase: 14 h

Tratamentos	TL ₅₀ (dias)
<i>Toona ciliata</i>	$6,6 \pm 0,52$ (5,528-7,579) ¹
Óleo de nim	$6,7 \pm 0,17$ (6,301-6,974)
NC40 aquoso	$6,8 \pm 0,20$ (6,373-7,148)
<i>Trichilia catigua</i>	$8,2 \pm 0,58$ (7,081-9,345)
NC40 pó	$14,3 \pm 0,43$ (13,484-15,178)
Controle água	$19,4 \pm 0,21$ (18,933-19,770)

¹Intervalo de confiança (95 %)

O efeito de extratos ou produtos à base de nim sobre *T. absoluta* já havia sido demonstrado anteriormente por Brunherotto; Vendramim e Oriani (2010), que observaram redução da sobrevivência das lagartas dessa espécie que se alimentaram de folhas de tomateiro tratadas com extrato aquoso a 0,1 % de sementes de nim; por

Gonçalves-Gervásio e Vendramim (2004b) que constatarem o efeito de extrato aquoso e em clorofórmio de folhas de *T. pallida* e por Trindade et al., (2000) que, testando o extrato metanólico de amêndoas de nim, observaram 100 % de mortalidade de lagartas após quatro dias do tratamento.

Ressalte-se, contudo, que o efeito de nanoformulações à base de óleo de nim foi primeiramente registrado neste trabalho, com resultados similares ao obtido com o óleo comercial de nim.

Dentro do gênero *Trichilia*, estudos visando determinar o efeito de extratos sobre *T. absoluta* foram desenvolvidos com *T. pallida* e *T. pallens* (THOMAZINI; VENDRAMIM; LOPES, 2000, CUNHA et al., 2005, 2006). Segundo Cunha et al. (2005), extratos aquosos de folhas de *T. pallida* na concentração de 3 % foram mais eficientes que o mesmo extrato proveniente de ramos da referida espécie. Quando extratos de *T. pallida* não aquosos foram testados, os autores observaram que o extrato em diclorometano foi o mais promissor comparado com os extratos em hexano e em metanol. Resultados similares foram obtidos com *T. pallens* constatando-se maior eficiência com extratos aquosos de folhas em comparação ao de ramos e com o uso do solvente diclorometano (CUNHA et al., 2006). Reduções no peso de lagartas foram observadas para extratos em hexano, diclorometano e metanol de folhas de *T. pallida* e *T. pallens* (CUNHA et al., 2005, 2006).

Thomazini, Vendramim e Lopes (2000) demonstraram que o extrato de folhas de *T. pallida* na concentração de 5 % ocasionou mortalidade de 80 % das lagartas de *T. absoluta*. Gonçalves-Gervásio (2003), também trabalhando com *T. absoluta*, constatarem que o extrato de folhas de *T. pallida* em clorofórmio foi mais eficiente do que o extrato aquoso de folhas da referida espécie.

Avaliando o efeito de extratos aquosos de folhas e de ramos *T. catigua* sobre *S. frugiperda*, Bogorni e Vendramim (2005) obtiveram maiores efeitos com extratos de folhas. Rodríguez-Hernández e Vendramim (1996) observaram que extratos de ramos de *T. catigua* aplicados sobre dieta artificial inibiram a alimentação de lagartas de *S. frugiperda*.

O gênero *Toona*, aqui representado pela espécie *T. ciliata*, ainda foi pouco explorado como planta inseticida. Segundo Oiano-Neto et al. (1995, 1998), Liao et al.

(2007) e Chen et al. (2009), *T. ciliata* contém limonoides, norlimonoides e cumarinas, que apresentam atividade inseticida. A cedrelona e toonacilina são os limonoides mais comuns presentes nessa planta (OIANO-NETO et al., 1995, 1998).

A cedrelona tem comprovada ação reguladora de crescimento do percevejo *Oncopeltus fasciatus* (Dallas) (CHAMPAGNE; ISMAN; TOWERS, 1989) e ação fagodeterrente para as lagartas de *Spodoptera litura* (F.) (KOUL, 1983). Já a toonacilina também apresenta ação fagodeterrente ao coleóptero *Epilachna varivestis* Mulsant (KRAUS; GRIMMINGER; SAWITZKI, 1978) e a *S. litura* (GOVINDACHARI et al., 1995).

Recentemente, um trabalho utilizando essa planta no controle de insetos-praga foi realizado por Bezerra-Silva et al. (2010) que, testando o efeito do extratos de folhas e de ramos em diclorometano e em etanol sobre ovos e ninfas de *B. tabaci* biótipo B, constataram que o extrato em diclorometano reduziu a viabilidade de ovos e de ninfas e que o extrato em etanol reduziu apenas a viabilidade ninfal do inseto.

Perez et al. (2010a) avaliaram o desenvolvimento de *Hypsipyla grandella* Zeller sobre folhas de *T. ciliata* obtendo mortalidades de 80 a 100 % do inseto, sendo que resultados semelhantes foram obtidos ao aplicar o extrato cru de *T. ciliata* sobre folhas de *Cedrela odorata* (suscetível a *H. grandella*). Além disso, os mesmos autores, em outro trabalho, conseguiram conferir resistência a *Cedrela odorata* L. e *Swietenia macrophylla* King contra *H. grandella* ao enxertarem essas duas espécies vegetais sobre plantas de *T. ciliata* (PEREZ et al., 2010b). Segundo esses autores, um processo de coevolução teria causado este padrão de suscetibilidade, já que as plantas mencionadas são botanicamente próximas e quimicamente semelhantes. Esses fatos demonstraram que espécies correlacionadas de insetos podem apresentar respostas distintas na capacidade de degradar metabólitos presentes nas plantas, sendo o desenvolvimento deles diferentemente afetado pelos referidos aleloquímicos.

Para aqueles tratamentos onde parte das lagartas completou o desenvolvimento, foi observado que NC40 pó alongou a fase larval (16,1 dias) em comparação ao controle água (12,2 dias) (Tabela 13). Já no que se refere ao peso das pupas, houve efeito dos tratamentos extrato de *T. ciliata* e NC40 pó, nos quais os valores obtidos (22,7 e 23,0 mg, respectivamente) foram menores do que o registrado no controle água (27,9 mg) (Tabela 13). Os demais parâmetros avaliados (razão sexual, duração da fase

pupal, período L1 a adulto e longevidade de adultos) não foram afetados pelos tratamentos testados (Tabela 13). A não inclusão dos tratamentos NC40 aquoso e óleo de nim na análise estatística deveu-se à ausência de dados já que nesses dois tratamentos a mortalidade larval foi de 100 %.

O alongamento da fase larval de *T. absoluta* também foi observada por Brunherotto, Vendramim e Oriani (2010) quando as lagartas foram alimentadas com folhas de tomateiro tratadas com extratos aquosos de folhas de *M. azedarach* e de sementes de nim. Os autores observaram que a duração da fase de pupa e o peso das pupas diferiram entre o tratamento com extrato de nim e o controle água, demonstrando que, além da mortalidade larval, outros parâmetros podem ser utilizados para mensurar o efeito de extratos de plantas sobre insetos.

O efeito de nanoformulações de nim sobre parâmetros biológicos de *T. absoluta* foi primeiramente avaliado no presente trabalho. Contudo, Marcomini (2009) já havia constatado o efeito de nanoformulações na redução do peso larval de *S. frugiperda*.

No que se refere ao uso de extratos orgânicos visando ao controle de *T. absoluta*, Thomazini, Vendramim e Lopes (2000) observaram que extratos de folhas e de ramos de *T. pallida* também alongaram a fase larval, sendo o extrato de folhas mais prejudicial que o de ramos para o desenvolvimento do inseto (VENDRAMIM; THOMAZINI, 2001).

Para os extratos de *T. ciliata* e *T. catigua* testados no presente trabalho não há relatos na literatura de utilização sobre *T. absoluta*. De acordo com os resultados observados, essas espécies vegetais são promissoras fontes de substâncias inseticidas visando ao controle desse inseto, já que a supressão é acentuada nos primeiros dias após a aplicação. Adicionalmente, no que se refere a *T. ciliata*, efeitos subletais, como redução do peso pupal, também foram observados.

Tabela 13 - Médias $\pm$ erro padrão da duração da fase larval, peso de pupas, razão sexual, duração da fase pupal, período de L1 a adulto e longevidade de adultos de *Tuta absoluta* provenientes de lagartas alimentadas com folíolos de tomateiro tratados com nanoformulações de nim e extratos de outras Meliaceae. 25 ± 2 °C; 50 ± 10 % UR; fotofase: 14 h

Tratamentos	Fase larval (dias) ¹	Peso de pupas (mg) ²	Razão sexual ^{ns}	Fase pupal (dias) ^{ns}	Período L1 a adulto (dias) ^{ns}	Longevidade (dias) ^{ns}
NC40 pó	16,1 $\pm$ 0,40 b	23,0 $\pm$ 1,38 b	0,4 $\pm$ 0,02	7,6 $\pm$ 0,34	32,9 $\pm$ 0,29	10,0 $\pm$ 0,75
<i>Toona ciliata</i>	15,7 $\pm$ 0,52 ab	22,7 $\pm$ 0,75 b	0,6 $\pm$ 0,04	7,9 $\pm$ 0,33	34,5 $\pm$ 0,70	11,0 $\pm$ 0,54
<i>Trichilia catigua</i>	15,3 $\pm$ 0,40 ab	25,8 $\pm$ 1,30 ab	0,5 $\pm$ 0,09	7,7 $\pm$ 0,08	33,8 $\pm$ 1,22	10,8 $\pm$ 1,49
Controle água	12,2 $\pm$ 0,06 a	27,9 $\pm$ 0,65 a	0,5 $\pm$ 0,02	7,5 $\pm$ 0,13	31,7 $\pm$ 0,41	12,1 $\pm$ 0,36
NC40 aquoso	-*	-	-	-	-	-
Óleo de nim	-*	-	-	-	-	-

*Tratamentos não analisados devido à ausência de dados.¹Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de comparação múltipla de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$). ²Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). ns=não significativo

4.4 Avaliação da forma de aplicação das nanoformulações de nim e extratos de outras Meliaceae

4.4.1 Efeito de contato

4.4.1.1 Superfície tratada

Houve diferença entre as curvas de sobrevivência obtidas nos tratamentos ($\chi^2=73,87$, gl=8 e $p<0,001$). Quando as lagartas (neonatas) foram expostas à superfície de vidro tratada, os extratos etanólicos de *T. ciliata* e *T. catigua* e o óleo de nim foram os mais eficientes, propiciando sobrevivências larvais semelhantes entre si, com valores de p (obtidos pela comparação pareada de log-rank), variando de 0,143 a 0,661 (Figura 8). Nesses três tratamentos, as sobrevivências de lagartas observadas foram menores em comparação aos demais tratamentos, inclusive os controles água e acetona (p variando de $<0,001$ a 0,007). Concordando com esses resultados, os tempos letais estimados para *T. ciliata* (3,8 dias), *T. catigua* (3,9 dias) e óleo de nim (4,1 dias) também foram menores que aquele estimado para o controle água (4,7 dias). (Tabela 14). Para o controle acetona o tempo letal estimado foi de 4,5 dias diferindo apenas daquele estimado para o extrato de *T. ciliata*.

Ao contrário do observado para o óleo de nim, as nanoformulações (NC40 aquoso e NC40 pó), não afetaram a sobrevivência de lagartas, já que os valores obtidos nesses tratamentos não diferiram entre si ($p=0,094$) e daquele observado no controle água ($p=0,985$ e $p=0,185$, respectivamente) (Figura 8). Os tempos letais estimados foram de 4,5 dias para NC40 pó e 4,6 dias para NC40 aquoso (Tabela 14).

O fato de não ter ocorrido diferença entre os controles água e acetona ($p=0,228$), evidencia que, também nessa forma de aplicação dos extratos vegetais, a acetona, solvente utilizado para a ressuspensão dos extratos etanólicos, não interferiu na sobrevivência larval. Isso também se aplica aos tratamentos NC50 aquoso e NC50 pó, controles das nanoformulações NC40 aquoso e NC40 pó, respectivamente, que não diferiram do controle água ($p=0,437$ e $p=0,401$, respectivamente) o que evidencia que

os polímeros utilizados para a produção dessas nanoformulações não afetaram o inseto.

Figura 8 - Curvas de sobrevivência de lagartas de *Tuta absoluta* expostas à superfície tratada por nanoformulações de nim e extratos de outras Meliaceae. 25 ± 2 °C; 50 ± 10 % UR; fotofase: 14 h

Tabela 14 - Média ± erro padrão do tempo letal (TL₅₀) de lagartas de *Tuta absoluta* expostas à superfície tratada por nanoformulações de nim e extratos de outras Meliaceae. 25 ± 2 °C; 50 ± 10 % UR; fotofase: 14 h

Tratamentos	TL ₅₀ (dias)
<i>Toona ciliata</i>	3,8 ± 0,16 (3,429-4,063) ¹
<i>Trichilia catigua</i>	3,9 ± 0,18 (3,547-4,237)
Óleo de nim	4,1 ± 0,15 (3,805-4,390)
Controle acetona	4,5 ± 0,14 (4,218-4,760)
NC40 pó	4,5 ± 0,11 (4,335-4,769)
NC40 aquoso	4,6 ± 0,10 (4,376-4,807)
NC50 aquoso	4,6 ± 0,12 (4,348-4,829)
Controle água	4,7 ± 0,10 (4,501-4,887)
NC50 pó	4,8 ± 0,07 (4,702-4,955)

¹Intervalo de confiança (95 %).

4.4.1.2 Aplicação tópica

Assim, como observado para superfície tratada, também a aplicação tópica dos tratamentos afetou a sobrevivência das lagartas ($\chi^2=197,16$, $gl=8$ e $p<0,001$).

Quando as lagartas (5º dia após a eclosão) foram tratadas topicamente, apenas a nanoformulação NC40 aquoso foi eficiente, propiciando sobrevivência de lagartas diferentes dos demais tratamentos, incluindo os controles NC50 aquoso (controle para essa nanoformulação) e água, com valores de p (obtidos pela comparação pareada de log-rank) variando de $<0,001$ a $0,003$ (Figura 9). Concordando com esses resultados, também o menor tempo letal foi estimado no tratamento NC40 aquoso (4,4 dias), diferindo do observado nos tratamentos, *T. catigua*, *T. ciliata* e óleo de nim (4,9 dias) incluindo o controle NC50 aquoso (5,0 dias) (Tabela 15).

A nanoformulação NC40 pó e o óleo de nim não afetaram a sobrevivência de lagartas, já que os valores observados nesses tratamentos não diferiram daquele observado no controle água ($p=0,508$ e $p=0,366$, respectivamente) (Figura 9).

No que se refere aos extratos, embora *T. catigua* tenha propiciado menor sobrevivência de lagartas do que a registrada para *T. ciliata* ($p=0,005$) e para o controle acetona ($p=0,001$), não houve diferença em relação ao controle água ($p=0,142$), o que permite inferir que nenhum desses dois extratos foi eficiente (Figura 9). Os tempos letais médios estimados para *T. ciliata*, *T. catigua*, controle acetona e controle água variaram de 4,8 a 4,9 dias reforçando a semelhança entre esses tratamentos (Tabela 15). Apesar de ter ocorrido diferença na sobrevivência larval entre os controles água e acetona ($p=0,039$), a sobrevivência foi maior no controle acetona, indicando que esse solvente não afetou o inseto.

O tratamento NC50 pó (controle da nanoformulação NC40 pó), propiciou sobrevivência larval menor que a registrada na própria nanoformulação ($p<0,001$) e no controle água ($p<0,001$). Esse resultado não era esperado, já que para os demais bioensaios realizados anteriormente com esse controle, não havia sido observado o efeito sobre as lagartas. Uma possível explicação para os resultados observados estaria no tempo de avaliação (seis dias), acreditando-se que a diferenciação observada entre NC50 pó e NC40 pó iria diminuir ao longo do tempo, mantendo a inocuidade da nanoformulação sem nim sobre o inseto. Por outro lado, o tratamento

NC50 aquoso (controle da nanoformulação NC40 aquoso) não diferiu do controle água ($p=0,238$), atestando, com base nessa comparação, a sua inocuidade sobre *T. absoluta*.

Figura 9 - Curvas de sobrevivência de lagartas de *Tuta absoluta* submetidas à aplicação tópica de nanoformulações de nim e extratos de outras Meliaceae. 25 ± 2 °C; 50 ± 10 % UR; fotofase: 14 h

Tabela 15 - Média $\pm$ erro padrão do tempo letal (TL₅₀) de lagartas de *Tuta absoluta* submetidas à aplicação tópica de nanoformulações de nim e extratos de outras Meliaceae. 25 ± 2 °C; 50 ± 10 % UR; fotofase: 14 h

Tratamentos	TL ₅₀ (dias)
NC40 aquoso	4,4 $\pm$ 0,16 (4,087-4,699) ¹
NC50 pó	4,6 $\pm$ 0,11 (4,400-4,843)
Controle água	4,8 $\pm$ 0,09 (4,627-4,988)
NC40 pó	4,8 $\pm$ 0,08 (4,665-4,974)
<i>Trichilia catigua</i>	4,9 $\pm$ 0,07 (4,739-4,999)
<i>Toona ciliata</i>	4,9 $\pm$ 0,08 (4,726-5,042)
Óleo de nim	4,9 $\pm$ 0,07 (4,789-5,053)
Controle acetona	4,9 $\pm$ 0,06 (4,839-5,052)
NC50 aquoso	5,0 $\pm$ 0,03 (4,905-5,039)

¹Intervalo de confiança (95 %)

4.4.1.3 Considerações sobre os bioensaios de efeito de contato

Os resultados observados demonstraram que os tratamentos eficientes no bioensaio de superfície tratada não afetaram igualmente a sobrevivência de lagartas quando estas foram expostas à aplicação tópica. Além da variação na técnica utilizada para estabelecer o contato do inseto com os tratamentos, é possível que a variação nos resultados obtidos possa se dever à idade dos insetos, já que, enquanto no teste com superfície tratada foram utilizadas lagartas neonatas, a aplicação tópica foi feita em lagartas com seis dias de idade. Assim, no caso das lagartas neonatas, a contaminação e, conseqüentemente, a redução de sobrevivência, teria se dado pelo contato dos compostos tóxicos com as pernas torácicas e abdominais, durante o caminhar das lagartas sobre a superfície de vidro tratada.

Cabe ressaltar, por outro lado, que a aplicação tópica sobre lagartas neonatas de *T. absoluta* é bastante dificultada pelo tamanho diminuto das mesmas. Em termos práticos, considerando o hábito minador desse inseto, o efeito de contato mais esperado é justamente o que ocorre sobre as lagartas logo após a eclosão, pois, após penetrarem no mesófilo foliar, sua contaminação torna-se dificultada já que, raramente, as lagartas trocam de mina, principalmente nos primeiros ínstares.

Embora a utilização de uma superfície inerte (placa de vidro) não ocorra com frequência para avaliação de atividade de produtos vegetais, essa técnica tem sido usada em testes de seletividade a parasitoides (GIOLO et al., 2005a, 2005b; MANZONI et al., 2006).

Os testes de contato por aplicação tópica, por outro lado, tem sido comumente utilizados para avaliação de extratos vegetais. Assim, Gonçalves-Gervásio e Vendramim (2007), fazendo a aplicação tópica do extrato aquoso de sementes de nim sobre lagartas (seis dias de idade) de *T. absoluta*, constataram mortalidades (considerando toda a fase larval) de 52 a 95 % para as concentrações variando de 1 a 10 %. O efeito de extratos de *T. pallida* também foi demonstrado sobre essa praga por Gonçalves-Gervásio e Vendramim (2004b), que, utilizando essa mesma técnica, aplicaram extrato aquoso e em clorofórmio, dessa planta, na concentração de 10 % e

obtiveram reduções significativas da sobrevivência larval, embora os referidos extratos tenham sido menos eficientes que o de sementes de nim.

O efeito de extratos aplicados topicamente já foi demonstrado com o emprego de extratos de outras espécies vegetais e outros insetos (ABRAHAM; AMBIKA, 1979; TANZUBIL; McCAFFERY, 1990). Com base nos relatos de utilização dessa forma de aplicação em trabalhos com *T. absoluta* (GONÇALVES-GERVÁSIO; VENDRAMIM, 2004b, 2007), tem-se observado que concentrações mais altas são necessárias para que o efeito tópico seja observado, já que os principais efeitos dos extratos botânicos estão relacionados à ingestão dos seus compostos ativos.

Recentemente, Pitta (2010), embora não tenha observado efeito de contato da fração hexânica de *T. pallida* sobre o afídeo *R. maidis*, verificou que o desenvolvimento do inseto foi afetado quando ele se alimentou sobre plantas tratadas.

A avaliação de diferentes formas de aplicação de extratos vegetais pode levar à otimização dos resultados obtidos, evitando-se que extratos promissores sejam descartados quando se fica restrito a apenas uma técnica de aplicação sobre o inseto-alvo.

4.4.2 Efeito translaminar

Os tratamentos aplicados afetaram a sobrevivência das lagartas ($\chi^2=318,11$, $gl=5$ e $p<0,001$). Os três tratamentos à base de nim (óleo de nim, NC40 aquoso e NC40 pó) foram eficientes, provocando redução significativa de sobrevivência em relação ao controle água ($p<0,001$ para todas as comparações pareadas de log-rank), indicando que os mesmos foram capazes de atingir o inseto que se alimenta no mesofilo foliar. Na comparação entre esses três tratamentos, o nim destacou-se como o mais eficiente, superando NC40 aquoso ($p=0,030$) e NC40 pó ($p<0,001$); na comparação entre as duas as nanoformulações, NC40 aquoso mostrou-se mais eficiente que NC40 pó ($p=0,037$) (Figura 10). Esses resultados são ratificados pela observação dos tempos letais médios estimados que foram menores com óleo de nim (7,6 dias), com NC40 aquoso (8,6 dias) e com NC40 pó (9,9 dias) que com o controle água (22,3 dias) (Tabela 16).

Os extratos de *T. ciliata* e *T. catigua* não afetaram a sobrevivência de lagartas, já que os valores obtidos nesses tratamentos não diferiram entre si ($p=0,134$) e daquele observado no controle água ($p=0,827$ e $p=0,060$, respectivamente) (Figura 10). Os tempos letais estimados para *T. ciliata* (21,8 dias) e *T. catigua* (20,4 dias) foram similares àquele obtido para o controle água (22,3 dias), demonstrando que os mesmos não foram capazes de atingir as lagartas no interior das minas (Tabela 16).

Figura 10 - Curvas de sobrevivência de lagartas de *Tuta absoluta* alimentadas com folhas de tomateiro com a superfície adaxial tratadas com nanoformulações de nim e extratos de outras Meliaceae. $35 \pm 3,8$ °C, 37 ± 21 % UR e luminosidade de 37.526 ± 12.339 lux

Tabela 16 - Média $\pm$ erro padrão do tempo letal (TL₅₀) de lagartas de *Tuta absoluta* alimentadas com folhas de tomateiro com a superfície adaxial tratadas com nanoformulações de nim e extratos de outras Meliaceae. $35 \pm 3,8$ °C, 37 ± 21 % UR e luminosidade de 37.526 ± 12.339 lux

Tratamentos	TL ₅₀ (dias)
Óleo de nim	$7,6 \pm 0,31$ (7,030-8,232) ¹
NC40 aquoso	$8,6 \pm 0,37$ (7,880-9,314)
NC40 pó	$9,9 \pm 0,60$ (8,760-11,099)
<i>Trichilia catigua</i>	$20,4 \pm 0,77$ (18,925 -21,932)
<i>Toona ciliata</i>	$21,8 \pm 0,72$ (20,372 -23,176)
Controle água	$22,3 \pm 0,53$ (21,260-23,331)

¹Intervalo de confiança (95 %).

Para aqueles tratamentos onde as lagartas completaram seu desenvolvimento, não foram observadas diferenças nos parâmetros duração da fase larval, peso de pupas, razão sexual, duração da fase pupal, período de L1 a adulto e longevidade de *T. absoluta* em relação ao controle água (Tabela 17). Nessas análises, os tratamentos NC40 aquoso e óleo de nim não foram incluídos devido à ausência de dados já que, em ambos, a mortalidade larval foi de 100 %.

Apesar de não ter sido realizada uma análise estatística para comparar o tamanho das minas obtidas nos diferentes tratamentos, pode-se observar que naqueles onde o nim estava presente as minas foram menores que nos demais tratamentos, incluindo o controle água (Figura 11). Essa observação reforça os resultados observados para a sobrevivência de lagartas, onde os tratamentos contendo nim (Figura 11 C, D e E) foram os mais eficientes, por terem sido capazes de penetrar na folha e atingir as lagartas no mesofilo foliar.

O melhor desempenho do óleo de nim e das nanoformulações poderia ser explicado com base na polaridade dos compostos. A membrana celular é apolar, devido à dupla camada de lipídios e os compostos ativos presentes nos extratos de *T. ciliata* e *T. catigua* são polares (ambos os extratos são etanólicos) e, assim, estes não puderam ultrapassar a barreira de células da epiderme e atingir as lagartas no mesofilo foliar. Com base nessa hipótese ainda, as nanoformulações e o óleo de nim teriam sua penetração na folha facilitada pela afinidade lipofílica com a membrana celular.

Gonçalves-Gervásio e Vendramim (2007) avaliaram o efeito translaminar de extrato aquoso de sementes de nim sobre *T. absoluta* utilizando a mesma metodologia de pulverizar as folhas após 24 h da liberação das lagartas, ou seja, quando as mesmas já se encontravam dentro das minas. De acordo com os autores, as concentrações de 5 e 1 % reduziram em 100 % e 96,8 % a viabilidade larval. A concentração de 1 % foi a mesma utilizada para as nanoformulações NC40 aquoso e NC40 pó e para o óleo de nim, e, também, para essas formulações foram observadas reduções na sobrevivência larval.

Não há relatos até o momento da constatação do efeito translaminar dos extratos de *T. ciliata* e *T. catigua*. Gonçalves-Gervásio e Vendramim (2004b), entretanto, avaliando a ação translaminar dos extratos aquoso e clorofórmico de *T.*

pallida, constataram que, aplicados na concentração de 5 %, ambos reduziram a viabilidade larval de *T. absoluta*. Os autores verificaram ainda que, na comparação entre o extrato de *T. pallida* e o extrato de sementes de nim, este último foi mais eficiente, reduzindo em mais de 90 % a viabilidade larval.

O efeito translaminar de extratos de nim também foi constatado para outras pragas como os afídeos *Myzus persicae* (Sulzer) e *Brevicoryne brassicae* (L.) em plantas de repolho (VERKERK et al., 1998) e a mosca-branca *B. tabaci* (SOUZA; VENDRAMIM, 2005). No gênero *Trichilia*, o efeito translaminar foi observado quando a fração hexânica de *T. pallida* foi pulverizada na face adaxial de plantas de sorgo e reduziu a sobrevivência do pulgão *R. maidis* que tinha sido mantido confinado na face abaxial da planta (PITTA, 2010).

Tabela 17 - Médias $\pm$ erro padrão da duração da fase larval, peso de pupas, razão sexual, duração da fase pupal, período de L1 a adulto e longevidade de adultos de *Tuta absoluta* provenientes de lagartas alimentadas com folhas de tomateiro com a superfície adaxial tratadas com nanoformulações de nim e extratos de outras Meliaceae. $35 \pm 3,8$ °C, 37 ± 21 % UR e luminosidade de 37.526 ± 12.339 lux

Tratamentos	Fase larval (dias) ^{ns}	Peso de pupas (mg) ^{ns}	Razão Sexual ^{ns}	Fase pupal (dias) ^{ns}	Período L1 a adulto (dias) ^{ns}	Longevidade (dias) ^{ns}
<i>Toona ciliata</i>	$14,3 \pm 0,29$	$28,0 \pm 1,81$	$0,4 \pm 0,10$	$7,5 \pm 0,14$	$21,3 \pm 0,20$	$10,0 \pm 0,47$
Controle água	$14,2 \pm 0,37$	$29,0 \pm 1,76$	$0,6 \pm 0,05$	$6,9 \pm 0,29$	$21,0 \pm 0,15$	$11,3 \pm 0,92$
<i>Trichilia catigua</i>	$13,6 \pm 0,14$	$28,6 \pm 1,79$	$0,5 \pm 0,08$	$7,3 \pm 0,07$	$20,9 \pm 0,21$	$11,8 \pm 0,76$
NC40 aquoso	-*	-	-	-	-	-
NC40 pó	-	-	-	-	-	-
Óleo de nim	-	-	-	-	-	-

*Tratamentos não analisados devido à ausência de dados. ns=não significativo. Médias não diferem entre si pelos testes de Tukey ou de comparação múltipla de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$)

Figura 11 - Tamanho de minas causadas por *Tuta absoluta* em folhas de tomateiro com a superfície adaxial tratadas com nanoformulações de nim e com extratos de outras Meliaceae, oito dias após o tratamento. A= *Toona ciliata*, B= *Trichilia catigua*, C= NC40 aquoso, D= NC40 pó, E= óleo de nim, F= controle água. $35 \pm 3,8$ °C, 37 ± 21 % UR e luminosidade de 37.526 ± 12.339 lux

4.4.3 Efeito sistêmico

A sobrevivência das lagartas foi afetada tanto quando os tratamentos foram aplicados via solo ($\chi^2=21,98$, gl=3, $p<0,001$) como quando a aplicação foi realizada via pulverização das folhas ($\chi^2=13,65$, gl=3, $p=0,003$).

Quando os tratamentos foram aplicados via solo, a nanoformulação NC40 aquoso e o óleo de nim foram eficientes propiciando sobrevivência larval semelhante entre si ($p=0,651$, obtido pela comparação pareada de log-rank). Nesses dois tratamentos, as sobrevivências larvais foram menores em comparação a NC40 pó ($p<0,001$) e ao controle água (p variando de 0,001 a 0,002) (Figura 12A). Esses resultados são ratificados pela observação dos tempos letais estimados que com óleo de nim (21,2 dias) foram menores do que aqueles estimados com NC40 pó (24,6 dias) e com o controle água (24,3 dias). O tempo letal para NC40 aquoso foi de 21,3 dias (Tabela 18).

Já para a aplicação via foliar, embora as duas nanoformulações tenham propiciado redução da sobrevivência larval semelhante ao óleo de nim ($p=0,224$ para NC40 pó x óleo de nim e $p=0,081$ para NC40 aquoso x óleo de nim), apenas NC40 pó pode ser considerada eficiente, pois apenas nessa nanoformulação a sobrevivência larval foi inferior à obtida no controle água ($p=0,002$) (Figura 12B). Os tempos letais foram similares entre os tratamentos, sendo estimado em 22,8 dias para NC40 pó, 23,4 dias para o óleo de nim, 24,8 dias para NC40 aquoso e 24,6 dias para o controle água (Tabela 18).

No que se refere aos parâmetros avaliados após as lagartas completarem seu desenvolvimento, foi observado, para aplicação via solo, que apenas a duração da fase pupal foi afetada, constatando-se que as pupas obtidas no tratamento óleo de nim (6,7 dias) apresentaram uma fase pupal menor que aquela observada para o controle água (7,4 dias), ocorrendo nas duas nanoformulações valores intermediários (Tabela 19). Já para aplicação via pulverização foliar, o único parâmetro afetado foi a duração do período L1 a adulto o qual foi menor em NC40 aquoso (22,8 dias) que no óleo de nim (24,0 dias), não havendo, contudo, diferença entre esses dois valores e o obtido no controle água (23,7 dias) (Tabela 20).

Figura 12 - Curvas de sobrevivência de lagartas de *Tuta absoluta* alimentadas com folhas de tomateiro tratadas com nanoformulações de nim. A= Aplicação via solo; B= Aplicação via pulverização foliar. $35 \pm 3,8$ °C, 37 ± 21 % UR e luminosidade de 37.526 ± 12.339 lux

Tabela 18 - Média $\pm$ erro padrão do tempo letal (TL₅₀) de lagartas de *Tuta absoluta* alimentadas com folhas de tomateiro tratadas com nanoformulações de nim. $35 \pm 3,8$ °C, 37 ± 21 % UR e luminosidade de 37.526 ± 12.339 lux

Tratamentos	TL ₅₀ (dias)	
	Via solo	Via foliar
Óleo de nim	21,2 $\pm$ 0,89 (19,379-22,859) ¹	23,4 $\pm$ 0,58 (22,236-24,526) ¹
NC40 aquoso	21,3 $\pm$ 1,16 (19,027-23,582)	24,8 $\pm$ 0,41 (24,017-25,637)
Controle água	24,3 $\pm$ 0,53 (23,272-25,330)	24,6 $\pm$ 0,55 (23,522-25,678)
NC40 pó	24,6 $\pm$ 0,55 (23,522-25,678)	22,8 $\pm$ 0,61 (21,567-23,967)

¹Intervalo de confiança (95 %)

Com base principalmente nos resultados de sobrevivência, verifica-se que a aplicação via solo foi mais eficiente que a aplicação foliar, já que enquanto para aplicação via solo a sobrevivência decaiu desde os primeiros dias, para a aplicação foliar essa redução só foi observada após o 10º dia. Essa variação de resposta poderia ser explicada pelo fato de que a degradação da azadiractina pela radiação solar nas plantas submetidas à aplicação foliar foi superior que a degradação do referido composto no solo, o que reduziria o efeito sobre as lagartas. Cabe ressaltar que na aplicação via solo um volume maior do produto é necessário quando comparado àquele utilizado em pulverizações foliares e, assim, como as curvas de sobrevivência não

atingiram 50 %, fazem-se necessários bioensaios adicionais para avaliar concentrações e a relação custo-benefício de cada uma das formas de aplicação.

A degradação da azadiractina foi estudada por Stark; Walter (1995), que observaram que o tempo para a azadiractina desaparecer no solo foi de 20,0 e 31,5 dias para solo não autoclavado e autoclavado (antes da aplicação da azadiractina), respectivamente. Já para exposição à luz do sol, Scott e Kaushik (2000) observaram uma meia vida de 36 a 48 h, demonstrando maior sensibilidade do composto à luz. De acordo com Mordue (Luntz), Morgan e Nisbet (2003), uma das maiores preocupações das empresas é formular produtos que impeçam a degradação da azadiractina por hidrólise e fotodegradação.

Segundo Forim³, a proposta de nanoencapsular produtos naturais, como o óleo de nim, propiciando maior estabilidade e proteção das moléculas, é fundamental para manter a ação inseticida desses produtos em condições de campo, já que, segundo o autor, os processos de degradação, de intensidade variável ao longo do tempo, dependem de fatores ambientais como a temperatura, umidade e radiação.

Com o objetivo de avaliar a ação sistêmica de extratos aquosos de sementes de nim, aplicados via solo, sobre *T. absoluta*, Gonçalves-Gervásio e Vendramim (2007) observaram mortalidades larvais superiores a 98 %. Assim, as menores reduções da sobrevivência larval observada no presente trabalho poderiam ser explicadas pela baixa concentração de ingrediente ativo presente no momento da aplicação. Silva (2010) efetuou a quantificação da azadiractina presente em diferentes derivados do nim e observou maior concentração de azadiractina em extratos obtidos a partir de solventes polares (inclusive a água) do que naqueles provenientes de óleo das sementes. Cabe ressaltar que, no presente trabalho, mesmo em menor proporção, houve diferença com relação ao controle (Figura 12), demonstrando que tanto NC40 aquoso quanto o óleo de nim se deslocaram na planta atingindo o inseto.

O efeito da aplicação via solo do extrato de *T. pallida* sobre *T. absoluta* foi avaliado por Gonçalves-Gervásio e Vendramim (2004b) que observaram diferenças na viabilidade larval quando comparadas ao controle.

³ FORIM, M.R. Universidade Federal de São Carlos – UFSCar.

Rovesti e Deseö (1991) não observaram diferença na ação sistêmica de inseticidas botânicos no controle de *Leucoptera malifoliella* Costa, quando ele comparou as aplicações no solo e via foliar. O efeito de aplicação sistêmica de plantas inseticidas foi avaliado para vários insetos sugadores tendo sido observadas taxas significativas de mortalidade (THOEMING; DRAEGER; POEHLING, 2006; THOEMING et al., 2003; PREMACHANDRA; BORGEMEISTER; POEHLING, 2005).

Tabela 19 - Médias $\pm$ erro padrão da duração da fase larval, peso de pupas, razão sexual, duração da fase pupal, período de L1 a adulto e longevidade de adultos de *Tuta absoluta* provenientes de lagartas alimentadas com folíolos de plantas de tomateiro tratadas com aplicação via solo de nanoformulações de nim. $35 \pm 3,8$ °C, 37 ± 21 % UR e luminosidade de 37.526 ± 12.339 lux

Tratamentos	Fase larval (dias) ^{ns}	Peso de pupas (mg) ^{ns}	Razão Sexual ^{ns}	Fase pupal (dias)	Período L1 a adulto (dias) ^{ns}	Longevidade (dias) ^{ns}
Óleo de nim	18,1 $\pm$ 0,50	27,1 $\pm$ 3,47	0,6 $\pm$ 0,11	6,7 $\pm$ 0,19 b	25,1 $\pm$ 0,59	6,7 $\pm$ 1,57
NC 40 pó	16,3 $\pm$ 0,20	32,9 $\pm$ 0,73	0,5 $\pm$ 0,04	7,2 $\pm$ 0,07 ab	23,6 $\pm$ 0,19	9,5 $\pm$ 0,79
Controle água	16,2 $\pm$ 0,28	32,6 $\pm$ 1,24	0,5 $\pm$ 0,06	7,4 $\pm$ 0,14 a	23,7 $\pm$ 0,30	7,4 $\pm$ 0,64
NC40 aquoso	15,8 $\pm$ 1,73	31,7 $\pm$ 1,60	0,4 $\pm$ 0,06	6,9 $\pm$ 0,23 ab	21,6 $\pm$ 2,86	10,8 $\pm$ 2,97

ns=não significativo. Médias não diferem entre si pelos testes de Tukey ($p < 0,05$)

Tabela 20 - Médias $\pm$ erro padrão da duração da fase larval, peso de pupas, razão sexual, duração da fase pupal, período de L1 a adulto e longevidade de adultos de *Tuta absoluta* provenientes de lagartas alimentadas com folíolos de plantas de tomateiro tratadas com aplicação via pulverização foliar de nanoformulações de nim. $35 \pm 3,8$ °C, 37 ± 21 % UR e luminosidade de 37.526 ± 12.339 lux

Tratamentos	Fase larval (dias) ^{ns}	Peso de pupas (mg) ^{ns}	Razão Sexual ^{ns}	Fase pupal (dias) ^{ns}	Período L1 a adulto	Longevidade (dias) ^{ns}
Óleo nim	16,7 $\pm$ 0,37	30,2 $\pm$ 1,52	0,6 $\pm$ 0,05	7,3 $\pm$ 0,12	24,0 $\pm$ 0,24 b	8,9 $\pm$ 1,21
Controle água	16,2 $\pm$ 0,28	32,6 $\pm$ 1,24	0,5 $\pm$ 0,06	7,4 $\pm$ 0,14	23,7 $\pm$ 0,30 ab	7,4 $\pm$ 0,64
NC40 aquoso	16,0 $\pm$ 0,32	34,5 $\pm$ 1,17	0,6 $\pm$ 0,07	7,3 $\pm$ 0,10	22,8 $\pm$ 0,16 a	7,4 $\pm$ 1,09
NC 40 pó	16,0 $\pm$ 0,16	32,3 $\pm$ 1,41	0,5 $\pm$ 0,04	7,1 $\pm$ 0,11	23,1 $\pm$ 0,28 ab	9,6 $\pm$ 1,36

ns=não significativo. Médias não diferem entre si pelos testes de Tukey ($p < 0,05$)

4.5 Avaliação do efeito residual das nanoformulações de nim e extratos de outras Meliaceae

Como os resultados obtidos não apresentaram distribuição normal, a análise fatorial não pode ser utilizada e, assim, os resultados envolvendo as três épocas de aplicação foram apresentados separadamente para cada tratamento.

Houve efeito significativo das épocas de aplicação para todos os tratamentos (Figura 13), conforme os valores estatísticos registrados para cada tratamento: $\chi^2=7,92$, gl=3 e $p=0,048$ para *T. ciliata*; $\chi^2=27,65$, gl=3 e $p<0,001$ para *T. catigua*; $\chi^2=163,69$, gl=3 e $p<0,001$ para NC40 aquoso; $\chi^2=132,83$, gl=3 e $p<0,001$ para NC40 pó; e $\chi^2=169,17$, gl=3 e $p<0,001$ para o óleo de nim.

Os tratamentos, nas três épocas de aplicação, mantiveram seu efeito ao longo do tempo reduzindo a sobrevivência de lagartas em maior proporção do que no controle água (Figura 13). Foi observado, entretanto, que a proporção de redução da sobrevivência diferiu entre as épocas de aplicação e os tratamentos aplicados.

Em geral, as menores sobrevivências de lagartas foram observadas com o uso do óleo de nim e das nanoformulações (Figura 13).

As sobrevivências observadas nas três épocas de aplicação do óleo de nim diferiram entre si. A menor sobrevivência foi observada quando a infestação ocorreu imediatamente (zero dias) após a pulverização do tratamento (zero DAP), o que era esperado, diferindo pela comparação pareada de log-rank da sobrevivência observada quando as plantas foram tratadas aos três ($p=0,003$) e aos sete ($p<0,001$) dias antes da infestação com as lagartas (Figura 13A). A sobrevivência com a infestação aos três DAP foi menor em comparação aos sete DAP ($p<0,001$). Para plantas infestadas aos sete DAP, embora tenha ocorrido redução da sobrevivência de lagartas, essa redução não foi tão acentuada quanto a observada para as outras épocas de aplicação. O menor efeito dos tratamentos aos três e aos sete DAP estaria relacionado ao fato que a azadiractina (principal composto como ação inseticida em extratos de nim) é rapidamente degradada pela radiação solar. Contudo, apesar de terem ocorrido diferenças entre as três épocas de aplicação, nenhuma lagarta completou o seu desenvolvimento (Figura 13).

O tempo letal reflete esses resultados, sendo que 7,5 dias foram necessários para reduzir em 50 % a população de lagartas para zero DAP, 9,4 dias para três DAP e 10,3 dias para sete DAP, sendo esses três tempos letais estimados menores que no controle água (21,4 dias) (Tabela 21).

Para NC40 aquoso (Figura 13B), a sobrevivência de lagartas foi menor quando as plantas foram infestadas logo após a aplicação do tratamento (zero DAP), comparada àquela observada aos três DAP ($p=0,012$) e aos sete DAP ($p<0,001$). A sobrevivência observada em plantas infestadas aos três DAP também foi menor em comparação à sobrevivência em plantas infestadas aos sete DAP ($p=0,030$). Os tempos médios letais foram 8,2 dias para zero DAP, 9,4 dias para três DAP e 11,8 dias para sete DAP, todos menores que o tempo médio no controle água (Tabela 21).

A sobrevivência larval observada quando as plantas foram tratadas com NC40 pó (Figura 13C) foi menor aos zero DAP comparada àquela observada para três ($p<0,001$) e sete DAP ($p<0,001$). Entre sete e três DAP, não houve diferença na sobrevivência larval ($p=0,567$). Os tempos letais foram 10,4, 17,8 e 19,1 dias para zero, três e sete DAP, respectivamente, todos menores que o tempo médio no controle água (Tabela 21).

Embora não tenha sido feita uma comparação estatística entre o efeito residual do tratamento com óleo de nim e as duas nanoformulações contendo esse óleo (NC40 aquoso e NC40 pó), pode-se observar que a sobrevivência de lagartas no tratamento com o óleo tendeu a ser menor que nas nanoformulações. Esse maior efeito residual do óleo de nim pode ser atribuído ao fato de que o tempo de exposição aos fatores ambientais (temperatura, umidade e radiação solar) e fatores do inseto (como o pH intestinal) não foram suficientes para que todas as nanopartículas se rompessem liberando o ingrediente ativo (azadiractina).

Igualmente, embora as nanoformulações não tenham sido comparadas entre si, observa-se uma tendência de maior efeito residual do NC40 aquoso em comparação ao NC40 pó. Essa diferença entre nanoformulações em suspensão aquosa e em pó pode ser explicada pelas perdas de compostos ativos que ocorrem durante a secagem da nanoformulação em pó. Além da quantidade de azadiractina livre ser menor em

NC40 pó, em relação a NC40 aquoso, outros compostos, como a salanina e nimbina, também podem ter sido degradados durante a secagem.

Marcomini (2009), avaliando o efeito de nanoformulações sobre *S. frugiperda*, observou que o menor efeito residual ocorreu com a nanoformulação em pó quando comparada com aquelas em suspensão aquosa.

Para *T. catigua* (Figura 13D) as sobrevivências observadas não diferiram quando as plantas foram infestadas aos zero e sete DAP ($p=0,997$), contudo nessas duas épocas as sobrevivências foram menores que quando as plantas foram infestadas aos três DAP ($p=0,011$ e $p=0,024$, respectivamente). Nas três épocas de aplicação a sobrevivência de lagartas foi menor que no controle água com valores de p variando entre $<0,001$ e $0,006$. Os tempos letais variaram de 14,9 a 19,6 dias nas três épocas (Tabela 21).

Para *T. ciliata* (Figura 13E), a sobrevivência de lagartas não diferiu entre as infestações aos sete e três DAP ($p=0,792$), entre sete e zero DAP ($p=0,454$) e entre três e zero DAP ($p=0,616$), no entanto nas três épocas de aplicação a sobrevivência de larval foi menor que no controle água com valores de p variando de $0,006$ a $0,039$. Os tempos letais nas três épocas variaram de 18,9 a 19,9 dias, valores mais próximos dos observados no controle água que nos demais tratamentos (Tabela 21).

Figura 13 - Curvas de sobrevivência de lagartas de *Tuta absoluta* alimentadas com folhas de tomateiro aos zero, três e sete dias após a pulverização (DAP) com nanoformulações de nim e extratos de outras Meliaceae. A=óleo de nim; B=NC40 aquoso; C=NC40 pó; D=*Trichilia catigua*; E=*Toona ciliata*. DAP= dias após a pulverização. $35 \pm 3,8$ °C, 37 ± 21 % UR e luminosidade de 37.526 ± 12.339 lux

Tabela 21 - Média $\pm$ erro padrão do tempo letal (TL₅₀) de lagartas de *Tuta absoluta* alimentadas com folhas de tomateiro aos zero, três e sete dias após a pulverização (DAP) com nanoformulações de nim e extratos de outras Meliaceae. 35 $\pm$ 3,8 °C, 37 $\pm$ 21 % UR e luminosidade de 37.526 $\pm$ 12.339 lux

Tratamento / DAP	TL ₅₀ (dias)				
	Óleo de nim	NC40 aquoso	NC40 pó	<i>Trichillia catigua</i>	<i>Toona ciliata</i>
0	7,5 $\pm$ 0,37 (6,762-8,197) ¹	8,2 $\pm$ 0,31 (7,587-8,823)	10,4 $\pm$ 0,79 (8,846-11,954)	16,0 $\pm$ 1,07 (13,866-18,056)	19,9 $\pm$ 0,78 (18,425-21,478)
3	9,4 $\pm$ 0,34 (8,763-10,105)	9,4 $\pm$ 0,52 (8,358-10,401)	17,8 $\pm$ 0,76 (16,302-19,292)	19,6 $\pm$ 0,78 (18,035-21,085)	18,9 $\pm$ 0,90 (17,5-20,629)
7	10,3 $\pm$ 0,55 (9,217-11,354)	11,8 $\pm$ 0,87 (10,02-13,430)	19,1 $\pm$ 0,89 (17,402-20,848)	14,9 $\pm$ 1,39 (12,213-17,654)	18,9 $\pm$ 0,91 (17,131-20,695) ²
Controle água	21,4 $\pm$ 0,42 (20,566-22,216)	21,4 $\pm$ 0,42 (20,566-22,216)	21,4 $\pm$ 0,42 (20,566-22,216)	21,4 $\pm$ 0,42 (20,566-22,216)	21,4 $\pm$ 0,42 (20,566-22,216)

¹Intervalo de confiança (95 %). DAP= Dias após a aplicação

O efeito dos tratamentos sobre os parâmetros duração da fase larval, peso de pupas, razão sexual, duração da fase pupal, período de L1 a adulto e longevidade de adultos de *T. absoluta* foi avaliado apenas para os tratamentos NC40 pó, extrato de *T. catigua* e extrato de *T. ciliata*, já que nos tratamentos óleo de nim e NC40 aquoso não foi possível obter os dados referentes a esses parâmetros, pois a mortalidade de lagartas atingiu 100 % (Tabela 22).

Para a nanoformulação NC40 pó aos zero DAP, entretanto, também não foi possível analisar os referidos parâmetros visto que, nesse caso, a mortalidade larval também foi de 100 %. Para as demais épocas, houve efeito dos tratamentos apenas sobre a duração da fase larval, peso de pupas e período de L1 (lagarta neonata) a adulto. Em relação à duração da fase larval, constatou-se que as lagartas alimentadas em folhas a partir dos sete DAP (17,5 dias) apresentaram um alongamento dessa fase em relação ao controle água (15,3 dias), ocorrendo aos três DAP um valor intermediário (16,4 dias). Esse alongamento se refletiu num menor peso das pupas (24,3 mg) obtidas no tratamento NC40 pó aos sete DAP quando comparado ao peso das pupas no controle água (31,5 mg) e no tratamento aos três DAP (30,5 dias) (Tabela 22). O período de L1 a adulto também foi maior para os indivíduos do tratamento NC40 pó aos sete DAP (24,6 dias) quando comparado com o controle água (21,0 dias), ocorrendo no tratamento aos três DAP um valor intermediário (22,7 dias). A

não ocorrência de diferença nos diversos parâmetros avaliados quando são comparadas as lagartas alimentadas em folhas tratadas com NC40 pó aos três DAP e as alimentadas em plantas não tratadas (controle água) (Tabela 22), reforça a hipótese de que um tempo maior é necessário para que as nanopartículas sejam rompidas e ocorra a liberação da azadiractina. Efeitos subletais de nanoformulações de nim também já haviam sido observados anteriormente para lagartas de *S. frugiperda* por Marcomini (2009) que observou redução do peso larval quando as lagartas foram alimentadas em folhas tratadas com nanoformulações de nim em três épocas de pulverização.

Para os extratos de *T. ciliata* e de *T. catigua*, houve efeito dos tratamentos apenas sobre o peso de pupas e o período de L1 a adulto (Tabelas 23 e 24).

Em relação ao extrato de *T. ciliata*, constatou-se que no tratamento sete DAP o peso pupal (23,9 mg) foi menor que constatado no controle água (31,5 mg), registrando-se aos três DAP e aos zero DAP valores intermediários (27,2 e 29,2 mg, respectivamente). Ainda em relação a esse extrato, constatou-se que nos tratamentos sete DAP e três DAP ocorreu alongamento do período de L1 a adulto (22,9 e 23,0 dias, respectivamente), quando comparados ao controle água (21,0 dias), obtendo-se novamente no tratamento zero DAP um valor intermediário (22,3 dias) (Tabela 23).

Já para o extrato de *T. catigua*, o menor peso de pupa foi obtido no tratamento zero DAP, no qual o valor obtido (25,7 mg) foi inferior ao registrado no controle água (31,5 mg), constatando-se nos tratamentos três DAP (26,2 mg) e sete DAP (27,2 mg) valores intermediários. No que se refere ao período de L1 a adulto, ocorreu alongamento do período quando as lagartas foram alimentadas em folhas aos zero DAP, sendo o valor obtido (23,4 dias) maior que o verificado no controle água (21,0 dias), ocorrendo nos demais tratamentos (três e sete DAP) valores intermediários (Tabela 24).

Apesar de o efeito da nanoformulação NC40 pó e dos extratos de *T. ciliata* e *T. catigua* ter sido menos evidente quando comparado ao efeito do óleo de nim e à nanoformulação NC40 aquoso, ainda assim, efeitos subletais foram observados. Efeitos subletais de extratos vegetais foram também obtidos por Roel e Vendramim (2006) que, trabalhando com o extrato em acetato de etila de *T. pallida*, detectaram que

a aplicação do extrato em três épocas reduziu a sobrevivência e prolongou a fase larval de *S. frugiperda*.

De maneira geral o modo de ação e o poder residual de inseticidas botânicos tem sido pouco estudado. Um dos principais entraves da utilização desses extratos ou produtos está justamente relacionado ao fato de que, devido ao não conhecimento desses aspectos, os produtores optam por produtos cujo efeito residual seja conhecido, o que poderá garantir uma melhor cobertura protetora para a sua lavoura.

A utilização da nanotecnologia, neste contexto, apresenta-se como importante ferramenta para que sejam quebrados os entraves da utilização de inseticidas botânicos pelos produtores, já que resultados promissores puderam ser observados no controle de *T. absoluta* para os bioensaios realizados em casa de vegetação, condição esta, similar à encontrada em cultivos protegidos de tomate, por exemplo. No entanto, estudos para condições de cultivo convencional ou protegido são necessários, para que os efeitos observados em condições experimentais sejam confirmados. Mordue (Luntz), Morgan e Nisbet (2003) ressaltam a importância da busca por formulações que evitem a hidrólise e fotodegradação da azadiractina.

Tabela 22 - Médias $\pm$ erro padrão da duração da fase larval, peso de pupas, razão sexual, duração da fase pupal, período de L1 a adulto e longevidade de adultos de *Tuta absoluta* provenientes de lagartas alimentadas com folhas de tomateiro aos zero, três e sete dias após a pulverização (DAP) com a nanoformulação de nim NC40 pó. $35 \pm 3,8$ °C, 37 ± 21 % UR e luminosidade de 37.526 ± 12.339 lux

Tratamento	DAP	Fase larval (dias)	Peso de pupas (mg)	Razão sexual ^{ns}	Fase pupal (dias) ^{ns}	Período L1 a adulto (dias)	Longevidade (dias) ^{ns}
	0	-*	-	-	-	-	-
NC40 pó	3	$16,4 \pm 0,23$ ab	$30,5 \pm 1,42$ b	$0,6 \pm 0,04$	$6,7 \pm 0,20$	$22,7 \pm 0,34$ ab	$9,4 \pm 1,26$
	7	$17,5 \pm 0,64$ a	$24,3 \pm 1,76$ a	$0,6 \pm 0,08$	$6,9 \pm 0,34$	$24,6 \pm 0,72$ a	$10,8 \pm 2,19$
Controle água	-	$15,3 \pm 0,47$ b	$31,5 \pm 0,94$ b	$0,5 \pm 0,11$	$6,3 \pm 0,11$	$21,0 \pm 0,44$ b	$9,6 \pm 0,84$

*não incluído na análise devido à ausência de dados. ns=não significativo. DAP= dias após a pulverização. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

Tabela 23 - Médias $\pm$ erro padrão da duração da fase larval, peso de pupas, razão sexual, duração da fase pupal, período de L1 a adulto e longevidade de adultos de *Tuta absoluta* provenientes de lagartas alimentadas com folhas de tomateiro aos zero, três e sete dias após a pulverização (DAP) com o extrato de *Toona ciliata*. $35 \pm 3,8$ °C, 37 ± 21 % UR e luminosidade de 37.526 ± 12.339 lux

Tratamento	DAP	Fase larval (dias) ^{ns}	Peso de pupas (mg)	Razão sexual ^{ns}	Fase pupal (dias) ^{ns}	Período L1 a adulto	Longevidade (dias) ^{ns}
	0	$16,0 \pm 0,35$	$29,2 \pm 1,98$ ab	$0,4 \pm 0,14$	$6,9 \pm 0,19$	$22,3 \pm 0,45$ ab	$6,2 \pm 1,98$
<i>Toona ciliata</i>	3	$16,5 \pm 0,46$	$27,2 \pm 1,12$ ab	$0,5 \pm 0,08$	$6,8 \pm 0,36$	$23,0 \pm 0,36$ a	$8,8 \pm 2,06$
	7	$16,3 \pm 0,24$	$23,9 \pm 1,27$ a	$0,4 \pm 0,10$	$7,1 \pm 0,35$	$22,9 \pm 0,16$ a	$9,3 \pm 2,07$
Controle água	-	$15,3 \pm 0,47$	$31,5 \pm 0,94$ b	$0,5 \pm 0,11$	$6,3 \pm 0,11$	$21,0 \pm 0,44$ b	$9,6 \pm 0,84$

ns=não significativo. DAP= dias após a pulverização. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

Tabela 24 - Médias $\pm$ erro padrão da duração da fase larval, peso de pupas, razão sexual, duração da fase pupal, período de L1 a adulto e longevidade de adultos de *Tuta absoluta* provenientes de lagartas alimentadas com folhas de tomateiro aos zero, três e sete dias após a pulverização (DAP) com o extrato de *Trichilia catigua*. $35 \pm 3,8$ °C, 37 ± 21 % UR e luminosidade de 37.526 ± 12.339 lux

Tratamento	DAP	Fase larval (dias) ^{ns}	Peso de pupas (mg)	Razão sexual ^{ns}	Fase pupal (dias) ^{ns}	Período L1 a adulto	Longevidade (dias) ^{ns}
<i>Trichilia catigua</i>	0	$16,9 \pm 0,47$	$25,7 \pm 1,79$ a	$0,4 \pm 0,08$	$6,8 \pm 0,49$	$23,4 \pm 0,33$ a	$8,9 \pm 0,86$
	3	$16,4 \pm 0,57$	$27,2 \pm 1,86$ ab	$0,6 \pm 0,11$	$6,4 \pm 0,16$	$22,7 \pm 0,51$ ab	$10,8 \pm 1,57$
	7	$16,5 \pm 0,44$	$26,2 \pm 1,54$ ab	$0,5 \pm 0,12$	$6,3 \pm 0,54$	$22,7 \pm 0,52$ ab	$9,0 \pm 1,67$
Controle água	-	$15,3 \pm 0,47$	$31,5 \pm 0,94$ b	$0,5 \pm 0,11$	$6,3 \pm 0,11$	$21,0 \pm 0,44$ b	$9,6 \pm 0,84$

ns=não significativo. DAP= dias após a pulverização. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

4.6 Seletividade de nanoformulações de nim e extratos de outras Meliaceae a dois entomopatógenos e sua interação visando ao controle de *T. absoluta*

4.6.1 Seletividade de nanoformulações de nim e extratos de outras Meliaceae ao fungo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill.

Foi obtido crescimento vegetativo expresso em tamanho/diâmetro de colônia (medida em dois sentidos perpendiculares entre si ou em cruz) para todos os tratamentos com extratos de meliáceas. No entanto, com os extratos de *T. ciliata* em diclorometano, *Trichilia clausenii* em etanol e *T. catigua* em etanol, as colônias obtidas (0,6, 0,6 e 0,7 cm, respectivamente) foram menores que as registradas nos controles água (2,6 cm) e acetona (2,3 cm) (Tabela 25). Quando se avaliou o efeito dos extratos sobre a esporulação do fungo, apenas *T. catigua* em diclorometano e em etanol reduziram a esporulação do isolado de *B. bassiana* avaliado. A viabilidade dos conídios foi menor no tratamento *T. clausenii* em etanol (73,5 %) quando comparada aos controles água (99,8 %) e acetona (99,8 %). Já para os extratos de *T. ciliata* e *T. catigua* em etanol observaram-se viabilidades intermediárias de 89,1 e 95,8 %, demonstrando que misturas desses extratos com o fungo são viáveis. Os conídios submetidos ao contato com os extratos de *T. ciliata* e *T. catigua* em diclorometano foram totalmente inviabilizados, sendo, por isso, esses tratamentos retirados das análises (Tabela 25).

Para nenhum dos parâmetros avaliados foi observada diferença entre os controles água e acetona, demonstrando, dessa forma, a inocuidade desse solvente utilizado para a ressuspensão dos extratos (Tabela 25).

Para os tratamentos contendo nim (Tabela 26), nenhum dos parâmetros estudados foi afetado quando se compararam os resultados obtidos nos diversos tratamentos e aqueles obtidos no controle água. Entretanto, o crescimento vegetativo do fungo no meio de cultura contendo óleo de nim foi menor que nos meios contendo as nanoformulações e seus respectivos controles (Tabela 26).

Ressalte-se que os dados obtidos no tratamento NC40 aquoso foram desconsiderados devido à contaminação do meio por outros fungos, possivelmente presentes nessa nanoformulação.

Tabela 25 - Médias $\pm$ erro padrão de crescimento vegetativo, esporulação e viabilidade de conídios de *Beauveria bassiana* mantidos em contato com extratos de Meliaceae. 25 $\pm$ 2 °C; 50 $\pm$ 10 % UR; fotofase: 14 h

Tratamentos	Crescimento vegetativo (cm)	Esporulação (x 10 ⁸ conídios/ml)	Viabilidade de conídios (%)
<i>Toona ciliata</i> diclorometano	0,6 $\pm$ 0,02 c	2,0 $\pm$ 0,15 ab	0,0 $\pm$ 0,00 *
<i>Trichilia clausenii</i> etanol	0,6 $\pm$ 0,08 c	1,4 $\pm$ 0,22 ab	73,5 $\pm$ 1,00 b
<i>Trichilia catigua</i> etanol	0,7 $\pm$ 0,11 bc	0,6 $\pm$ 0,20 b	95,8 $\pm$ 1,65 ab
<i>Trichilia catigua</i> diclorometano	1,1 $\pm$ 0,03 abc	0,9 $\pm$ 0,12 b	0,0 $\pm$ 0,00 *
<i>Toona ciliata</i> etanol	1,4 $\pm$ 0,01 abc	7,0 $\pm$ 0,59 a	89,1 $\pm$ 1,93 ab
Controle acetona	2,3 $\pm$ 0,09 ab	8,1 $\pm$ 0,50 a	99,8 $\pm$ 0,25 a
Controle água	2,6 $\pm$ 0,08 a	9,2 $\pm$ 1,64 a	99,8 $\pm$ 0,24 a

*Dados não incluídos na análise. Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de comparação múltipla de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$)

Tabela 26 - Médias $\pm$ erro padrão de crescimento vegetativo, esporulação e viabilidade de conídios de *Beauveria bassiana* mantidos em contato com nanoformulações de nim. 25 $\pm$ 2 °C; 50 $\pm$ 10 % UR; fotofase: 14 h

Tratamentos	Crescimento vegetativo (cm)	Esporulação (x 10 ⁸ conídios/ml) ^{ns}	Viabilidade de conídios (%) ^{ns}
Óleo de nim	2,0 $\pm$ 0,04 b	7,9 $\pm$ 0,99	100 $\pm$ 0,00
Controle água	2,6 $\pm$ 0,08 ab	9,2 $\pm$ 1,64	99,8 $\pm$ 0,24
NC50 pó	2,8 $\pm$ 0,06 a	12,4 $\pm$ 1,85	88,8 $\pm$ 0,55
NC40 pó	3,0 $\pm$ 0,12 a	6,2 $\pm$ 1,33	98,9 $\pm$ 0,71
NC50 aquoso	3,0 $\pm$ 0,06 a	9,2 $\pm$ 1,42	100 $\pm$ 0,00
NC40 aquoso	*	*	100 $\pm$ 0,00

*Ocorrência de contaminação fúngica em todas as placas. ns=não significativo. Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de comparação múltipla de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$)

Com base nos resultados apresentados nas Tabelas 25 e 26 foram calculados os índices de toxicidade (Tabela 27), sendo constatado que *T. ciliata* em diclorometano, *T. clausenii* em etanol, *T. catigua* em diclorometano e em etanol foram tóxicos para o isolado de *B. bassiana* utilizado. Os demais tratamentos foram compatíveis com o fungo, incluindo o controle acetona.

Os dois índices utilizados diferem apenas na inserção do valor da viabilidade de conídios na fórmula do índice biológico (IB), proposto por Rossi-Zalaf et al. (2008).

Assim, como os parâmetros avaliados foram afetados de forma semelhante nos diferentes tratamentos, a classificação toxicológica se manteve.

Tabela 27 - Valores de toxicidade (T) e índice biológico (IB) e classificação da toxicidade de nanoformulações de nim e extratos de outras Meliaceae com *Beauveria bassiana*

Tratamentos	T ¹	Classificação ¹	IB ²	Classificação ²
<i>Trichilia catigua</i> etanol	10,22	TT	25,57	T
<i>Trichilia clausenii</i> etanol	13,81	TT	23,72	T
<i>Trichilia catigua</i> diclorometano	17,48	TT	24,97	T
<i>Toona ciliata</i> diclorometano	22,69	TT	21,12	T
Óleo de nim	69,11	C	75,75	C
<i>Toona ciliata</i> etanol	73,00	C	67,66	C
Controle acetona	88,68	C	89,43	C
NC50 pó	92,90	C	98,34	C
NC40 pó	103,51	C	108,06	C
NC50 aquoso	121,21	C	117,63	C
NC40 aquoso	*	*	*	*

¹Valores de T e classificação do produto: 0-45 incompatível (TT); 46-60 moderadamente tóxico (MT); >60 compatível (C), determinados segundo Alves et al. (1998). ²Valores de IB e classificação do produto: 0-45 incompatível (T); 46-60 moderadamente tóxico (MT); >60 compatível (C), determinados segundo Rossi-Zalaf et al. (2008). *Cálculo não realizado devido à contaminação fúngica de todas as placas.

Entre os extratos de meliáceas, o extrato de *T. ciliata* em etanol foi o único tratamento compatível com o fungo, já que a maioria dos parâmetros avaliados não foi afetada pela presença do extrato. Não foi possível se obterem os valores comparativos dos índices de toxicidade para as duas nanoformulações, haja vista a contaminação das placas ocorrida em NC40 aquoso. Sendo assim, a viabilidade dos conídios foi utilizada como critério de seleção. Como ambas as nanoformulações desempenharam efeito similar sobre esse parâmetro, optou-se por utilizar NC40 aquoso, nanoformulação mais eficiente que sua versão em pó no controle de *T. absoluta*. Dessa forma, *T. ciliata* em etanol e NC40 aquoso foram utilizados em bioensaios de casa de vegetação, onde a interação inseticida botânico vs. fungo foi avaliada. O óleo de nim também foi mantido nesses bioensaios.

A compatibilidade *in vitro* de derivados do nim com entomopatógenos já foi investigada anteriormente. As interações entre fungos entomopatogênicos e produtos fitossanitários podem ser positivas (ação sinérgica), neutras (ação aditiva) ou negativas (ação antagônica) quando um dos componentes da interação (geralmente o patógeno)

é negativamente afetado (SILVA et al., 2005). A presença de aleloquímicos em substratos como cutículas do inseto ou folhas pode impedir a sobrevivência dos conídios dos fungos (VEGA et al., 1997).

Os estudos de compatibilidade iniciaram-se no século passado, sendo sua maioria voltada para avaliações do efeito prejudicial de agrotóxicos sobre entomopatógenos. Aguda et al. (1986) verificaram efeitos prejudiciais de óleo de nim sobre *M. anisopliae* nas concentrações em que esse óleo é aplicado em casa de vegetação e campo. Devi e Prasad (1996) não detectaram efeitos negativos de extratos de *A. indica*, *M. azaderach* e outras plantas sobre *Nomuraea riley* (Farlow). Hirose et al. (2001) observaram que o óleo de nim a 2 % determinou menor diâmetro de colônias para isolados de *B. bassiana* e *M. anisopliae*, sendo *B. bassiana* mais afetado. Gupta et al. (1999), comparando sete formulações comerciais de nim, observaram que três formulações comerciais e o extrato aquoso de torta de nim inibiram o crescimento micelial; outras duas formulações e o extrato alcoólico de torta de nim não tiveram nenhum efeito sobre o fungo; enquanto duas formulações comerciais e os extratos aquosos e alcoólicos de folhas de nim tiveram efeito estimulante sobre o fungo.

Estudos recentes têm demonstrado que os derivados do nim (formulações comerciais e produtos experimentais) provocam respostas variadas nos entomopatógenos. Araujo, Marques e Oliveira (2009), avaliando a compatibilidade de isolados de *B. bassiana* e *M. anisopliae* com diferentes concentrações de óleo de nim (Neemseto®), constataram que o diâmetro de colônias e a viabilidade dos conídios de *B. bassiana* não foram afetados por nenhuma das concentrações do óleo de nim e que apenas a concentração mais alta testada (0,5 %) afetou a esporulação do entomopatógeno. Para *M. anisopliae*, o diâmetro de colônias foi afetado na concentração de 0,5 % e a viabilidade de conídios a 0,25 e 0,5 %, enquanto a esporulação não foi afetada por qualquer das concentrações.

Segundo Depieri, Martinez e Menezes Jr. (2005), extratos de sementes e folhas de nim foram compatíveis, enquanto o óleo de nim emulsionável foi tóxico para *B. bassiana* [isolado de *Hypothenemus hampei* (Ferrari)]. Segundo os autores, o extrato de sementes reduziu o crescimento vegetativo e a esporulação do fungo, mas não afetou a germinação dos conídios, enquanto o extrato de folhas afetou os três parâmetros

avaliados, ainda que, segundo os valores de toxicidade de Alves et al. (1998), os dois extratos tenham se mostrado compatíveis com o fungo. Os resultados obtidos por Depieri, Martinez e Menezes Jr. (2005) para o óleo de nim Dalneem® concordam com os resultados obtidos neste trabalho para o isolado ESALQ 447 de *B. bassiana*.

Marques, Monteiro e Pereira (2004) avaliaram o efeito de 11 concentrações de óleo de nim sobre *B. bassiana*, *M. anisopliae* e *Paecilomyces farinosus* (Wise) Brown e Smith (= *Isaria farinosa*) e constataram que o óleo reduziu o crescimento vegetativo de *B. bassiana*, *P. farinosus* e *M. anisopliae*. Comparando as concentrações testadas, verificaram que *B. bassiana* e *P. farinosus* foram afetados por concentrações bastante baixas do óleo (0,0048 %); em contrapartida para *M. anisopliae* foram constatadas reduções somente a partir da concentração de 0,039 % do óleo. Nenhum dos fungos teve a viabilidade de conídios afetada por qualquer das concentrações do óleo de nim.

Todos os extratos utilizados foram extratos brutos obtidos por maceração utilizando solventes de polaridades diferentes. Nesses extratos, foi observada uma grande variedade de grupos químicos, constituindo um conjunto de compostos, onde, além das moléculas com atividade inseticida estariam moléculas com atividade antimicrobiana, efeito este já observado com limonoides de Meliaceae (BRUNETON, 1995, GERMANO et al., 2005; ELDEEN; Van HEERDEN; STADEN, 2007).

A despeito do encontrado para nim, variações de resposta podem ser obtidas. De acordo com Alves (1998), o efeito de produtos fitossanitários sobre os entomopatógenos pode variar em função da espécie e linhagem do organismo, da natureza química dos produtos e das concentrações utilizadas. Esse aspecto ficou evidente nos resultados onde apenas os extratos em etanol de *T. ciliata* e *T. catigua* não afetaram a viabilidade dos conídios de *B. bassiana*, contudo o mesmo efeito não foi observado para o crescimento vegetativo, por exemplo. Essas diferenças já tinham sido detectadas por Rampelotti-Ferreira et al. (2010) para o efeito de agrotóxicos sobre *M. anisopliae*. Segundo os autores, essa diferença estaria associada ao tempo de contato do entomopatógeno com o agrotóxico, ou seja, para medição do diâmetro de colônias e contagem do número de esporos um tempo maior de incubação (em geral oito dias) é necessário; já para viabilidade de conídios esse tempo fica em torno de uma hora. Assim, o tempo de contato seria um fator importante na determinação da toxicidade do

produto sobre o fungo. Os autores ainda ressaltam que na utilização do entomopatógeno misturado com produtos fitossanitários, a viabilidade de conídios seria o principal parâmetro a ser considerado. É importante ressaltar que a exposição freqüente dos entomopatógenos aos agrotóxicos reduz a sobrevivência dos propágulos presentes no solo, sobre cadáveres de hospedeiros e sobre órgãos vegetais da filosfera, prejudicando o estabelecimento da relação patógeno/hospedeiro e a manutenção de epizootias (VALADARES-INGLIS et al., 2002).

O efeito de extratos de plantas, exceto pelos trabalhos com derivados do nim, é pouco mencionado na literatura. Adicionalmente, variações de resposta na compatibilidade entre diferentes espécies de fungos e tipos de produtos fitossanitários, inclusive extratos vegetais, têm sido observadas, justificando a importância de estudos de avaliação de compatibilidade. Dessa forma, a investigação do efeito dos extratos sobre fungos entomopatogênicos torna-se de grande valia para programas de MIP, onde o controle microbiano apresenta-se como importante componente.

4.6.2 Seletividade de nanoformulação de nim e de extrato de *T. ciliata* ao granulovírus *PhopGV*

Para todos os tratamentos, foi observado 100 % de infecção das lagartas, demonstrando que a mistura na concentração da CL₃₀ não afetou a capacidade infectiva de *PhopGV* sobre as lagartas de *T. absoluta*. Cabe ressaltar que a utilização da CL₃₀ se deu para não causar mortalidade elevada das lagartas, o que poderia impedir a observação do efeito de *PhopGV*.

As suspensões de *PhopGV* associadas aos tratamentos *T. ciliata*, NC40 aquoso e óleo de nim apresentaram pHs de 4,06, 4,18 e 4,22, respectivamente, valores similares ao pH da suspensão contendo somente o vírus que foi de 4,18. O pH da água foi de 7,5 e da água + Tween 20 (0,1 %) foi de 6,4.

A doença viral nas lagartas foi caracterizada pelos seguintes sintomas: coloração branco-leitosa, movimentação lenta e inchaço, além da presença de grânulos virais e células (adipócitos e hemócitos infectados por *PhopGV*), quando observadas ao microscópio, concordando com os resultados observados por Mascarin et al. (2010). A

compatibilidade de granulovirus com produtos fitossanitários não havia sido avaliada anteriormente, sendo o presente trabalho o primeiro relato dessa compatibilidade, reforçando a importância da utilização de bioensaios que visem avaliar a interação de métodos de controle para insetos-praga.

4.6.3 Interação de nanoformulação de nim e de extrato de *T. ciliata* com dois entomopatógenos visando ao controle de *T. absoluta*

Quando a interação entre os entomopatógenos e os inseticidas botânicos foi avaliada observaram-se diferenças entre as curvas de sobrevivência larval nos tratamentos ($\chi^2 = 487,71$, gl=11 e $p < 0,001$). As sobrevivências para todos os tratamentos foram menores que no controle água, com $p < 0,001$, obtida pela comparação pareada de log-rank (Figura 14).

Os tratamentos contendo entomopatógenos mais inseticidas botânicos tenderam a ser mais eficientes do que os entomopatógenos aplicados isoladamente. No entanto, não houve incremento de mortalidade quando as misturas foram comparadas com os inseticidas botânicos aplicados isoladamente.

De maneira geral, as maiores reduções da sobrevivência larval foram observadas para os tratamentos onde o nim estava presente, seja na nanoformulação NC40 aquoso ou no óleo de nim comercial. A sobrevivência não diferiu entre NC40 aquoso e óleo de nim quando esses tratamentos foram aplicados puros ($p = 0,216$). Quando NC40 aquoso foi misturado aos entomopatógenos, observou-se que a sobrevivência obtida para a mistura com o fungo *B. bassiana* não diferiu de NC40 aquoso aplicado puro ($p = 0,607$) e foi menor que aquela observada para *B. bassiana* aplicado puro ($p < 0,001$). Resultado similar foi observado para a mistura NC40 aquoso + *PhopGV*, ou seja, a sobrevivência observada na mistura NC40 aquoso + *PhopGV* não diferiu de NC40 aquoso aplicado puro ($p = 0,089$) e foi menor que no tratamento *PhopGV* aplicado puro ($p < 0,001$) (Figura 14).

O tempo letal estimado indica que a mistura NC40 aquoso + *B. bassiana* (6,9 dias) e NC40 aquoso (7,8 dias) aplicado puro reduziram em menor tempo a

sobrevivência de 50 % das lagartas quando comparado com o tratamento *B. bassiana* (14,2 dias) e controle água (19,0 dias) (Tabela 28).

Para as interações com óleo de nim a sobrevivência foi similar àquela observada para a nanoformulação. A sobrevivência observada para a mistura com *B. bassiana* não diferiu da registrada com o óleo de nim aplicado puro ($p=0,278$) e foi menor que aquela observada para *B. bassiana* aplicado puro ($p<0,001$). Para a mistura óleo de nim + *PhopGV*, também, não houve diferença na sobrevivência de lagartas quando comparada ao óleo de nim aplicado puro ($p=0,651$), mas a sobrevivência na mistura foi menor que no tratamento onde *PhopGV* foi aplicado puro ($p<0,001$) (Figura 14). Os tempos letais foram menores para óleo de nim + *B. bassiana* (6,2 dias), óleo de nim + *PhopGV* (6,8 dias) e óleo de nim (6,1 dias) em comparação a *B. bassiana* (14,2 dias), *PhopGV* (13,8 dias) e ao controle água (19,0 dias) (Tabela 28).

Quando a interação do extrato etanólico de *T. ciliata* com os entomopatógenos foi avaliada, não foram observadas diferenças na sobrevivência quando os tratamentos em mistura foram comparados a maioria dos tratamentos aplicados puros. Na interação com *B. bassiana* a sobrevivência observada para *T. ciliata* + *B. bassiana* não diferiu de *B. bassiana* ($p=0,232$) e *T. ciliata* ($p=0,069$) aplicados puros. A sobrevivência também não diferiu ($p=0,629$) na comparação entre os tratamentos *T. ciliata* e *B. bassiana*. Os tempos letais foram de 12,7 dias para *T. ciliata* + *B. bassiana*, 15,2 dias para *T. ciliata* e 14,2 para *B. bassiana*. Para a mistura de *T. ciliata* + *PhopGV* a sobrevivência não diferiu da observada com *PhopGV* ($p=0,565$) e foi menor em comparação a *T. ciliata* aplicado puro ($p=0,003$). Os tempos letais foram de 12,6 dias para *T. ciliata* + *PhopGV* e 13,8 dias para *PhopGV* (Tabela 28 e Figura 14).

Figura 14 - Curvas de sobrevivência de lagartas de *Tuta absoluta* alimentadas com folhas de tomateiro tratadas com nanoformulação de nim, óleo de nim, extrato de *Toona ciliata* ou misturas destes com *Beauveria bassiana* ou *PhopGV*. $35 \pm 3,8$ °C, 37 ± 21 % UR e luminosidade de 37.526 ± 12.339 lux

Nos resultados obtidos para os tratamentos puros, a menor sobrevivência de lagartas foi observada para óleo de nim e NC40 aquoso, que não diferiram entre si e foram menores que *T. ciliata*, *B. bassiana* e *PhopGV*, com $p < 0,001$ para as três comparações tanto do óleo de nim como da NC40 aquoso. A sobrevivência observada com o uso de *T. ciliata* não diferiu daquela observada para *B. bassiana* ($p = 0,629$) e foi maior que a sobrevivência observada para *PhopGV* aplicado puro ($p < 0,001$) (Figura 14).

Tabela 28 - Média $\pm$ erro padrão do tempo letal (TL₅₀) de lagartas de *Tuta absoluta* alimentadas com folhas de tomateiro tratadas com nanoformulação de nim, óleo de nim, extrato de *Toona ciliata* ou misturas destes com *Beauveria bassiana* ou *PhopGV*. 35 $\pm$ 3,8 °C, 37 $\pm$ 21 % UR e luminosidade de 37.526 $\pm$ 12.339 lux

Tratamentos	TL ₅₀ (dias)
Tratamentos combinados	
Óleo de nim + <i>Beauveria bassiana</i>	6,2 $\pm$ 0,32 (5,58-6,84) ¹
Óleo de nim + <i>PhopGV</i>	6,8 $\pm$ 0,49 (5,83-7,74)
NC40 aquoso + <i>Beauveria bassiana</i>	6,9 $\pm$ 0,35 (6,24-7,60)
NC40 aquoso + <i>PhopGV</i>	8,3 $\pm$ 0,25 (7,77-8,74)
<i>Toona ciliata</i> + <i>PhopGV</i>	12,6 $\pm$ 0,77 (11,11-14,14)
<i>Toona ciliata</i> + <i>Beauveria bassiana</i>	12,7 $\pm$ 0,85 (11,05-14,38)
Tratamentos puros	
Óleo de nim	6,1 $\pm$ 0,39 (5,35-6,89)
NC40 aquoso	7,8 $\pm$ 0,22 (7,33-8,17)
<i>PhopGV</i>	13,8 $\pm$ 0,48 (12,89-14,77)
<i>Beauveria bassiana</i>	14,2 $\pm$ 0,79 (12,68-15,77)
<i>Toona ciliata</i>	15,2 $\pm$ 0,72 (13,79-16,59)
Controle água	19,0 $\pm$ 0,56 (17,91-20,09)

¹Intervalo de confiança (95 %). +=misturados antes da aplicação

Apesar de existirem trabalhos avaliando a compatibilidade *in vitro* e *in vivo* de entomopatógenos com produtos fitossanitários, incluindo produtos à base de plantas inseticidas, muito pouco foi relatado até o momento sobre a interação desses dois métodos de controle, visando reduzir populações de artrópodes-praga.

O efeito associado de extratos de plantas com fungos, vírus e bactérias já havia sido avaliado anteriormente visando ao controle de outros insetos (RAGURAMAN;

GANAPATHY; VENKATESAN, 2004). Shapiro, Robertson e Webb (1994) constataram que a aplicação em mistura de extrato de semente de nim com NPV (vírus de poliedrose nuclear) aumentou a eficiência de controle de *Limantria dispar* (L.) comparado ao uso do vírus sozinho.

A utilização em campo de mistura de extrato das amêndoas de nim com NPV foi utilizado no controle de *Helicoverpa armigera* (Hübner), na Índia, onde aplicações quinzenais reduziram significativamente os danos causados pelo inseto (SARODE et al., 1996).

Segundo Rajasekhar, Rao e Venkataiah (1996), efeitos aditivos de várias combinações com produtos do nim podem ser efetivas. Os autores avaliaram o efeito de óleo sinergista, inseticida regulador do crescimento (diflubezuron), NPV e óleo de nim em interação com dois inseticidas utilizados no controle de *H. armigera*, e constataram que a presença do óleo de nim ou do NPV aumenta a eficiência de controle dos inseticidas. Efeito aditivo também foi observado por Cook, Webb e Thorpe (1996) para lagartas de *L. dispar* alimentadas com dieta artificial contendo NPV, azadiractina e a mistura de ambos. Os autores observaram que, na mistura, as lagartas morriam antes que nos tratamentos com nim e NPV aplicados isoladamente. Uma revisão detalhada sobre a eficiência de controle de misturas de inseticidas e produtos de nim com vírus foi relatada por Raguraman, Ganapathy e Venkatesan (2004).

Murugan et al. (1999) avaliaram o efeito de extratos de amêndoas de nim, óleo de nim e NPV sobre *Spodoptera litura* (F.) em laboratório e constataram que a mortalidade foi concentração-dependente. A interação de produtos do nim com NPV triplicou a mortalidade. O período de oviposição, longevidade de adultos e fecundidade foram reduzidas significativamente nos tratamentos onde os produtos de nim foram misturados com NPV.

Quanto ao efeito associado com fungos entomopatogênicos, a maioria dos trabalhos restringe-se em avaliar a compatibilidade dos fungos em condições de laboratório.

Jaramillo et al. (2005) avaliaram o efeito combinado de imidacloprid e *M. anisopliae* sobre *Cyrtomenus bergi* Froeschner em condições de laboratório e de casa de vegetação, constatando que a mortalidade para os tratamentos contendo fungo +

baixas doses de imidacloprid (doses subletais) poderia ser uma importante ferramenta no MIP desse inseto-praga. Batista Filho et al. (2001) citam que a aplicação de tiametoxam não interfere no potencial de inóculo de bactérias e fungos entomopatogênicos. A interação com inseticidas sintéticos também mostrou resultados positivos. Segundo Purwar e Sachan (2006), a interação de *B. bassiana* com endossulfan aumentou em 4,9 vezes a eficiência de controle contra *Spilarctia obliqua* Walker.

O efeito de extratos vegetais com fungos entomopatogênicos foi avaliado por Castiglioni-Rosales (2001). Óleo de nim, Nimkol-L®, extratos de folhas de *M. azedarach*, extrato de infusão de sementes de nim e extratos de frutos verdes de *T. pallida* foram avaliados em associação a *B. bassiana* e *M. anisopliae* visando ao controle do cupim *Heterotermes tenuis* (Hagen). Foi constatado que os derivados vegetais não ocasionaram mortalidades significativas e que *M. anisopliae* foi mais patogênico que *B. bassiana*. A associação dos extratos com os fungos foi em sua maioria negativa, contudo a aditividade ou sinergismo foi observado para associação dos dois fungos com Nimkol-L, quando foram aplicados com 24 h de diferença. A toxicidade da mistura manteve-se em condições de campo para Nimkol-L associado a *M. anisopliae*.

A patogenicidade do isolado ESALQ 447 de *B. bassiana* já havia sido avaliada sobre *T. absoluta* em dois genótipos de tomateiro por Giustolin et al. (2001b). Segundo os autores, a aplicação de *B. bassiana* nos dois genótipos de tomateiro provocou mortalidade em todos os ínstares e, além disso, no genótipo resistente, o efeito sinérgico no controle do inseto foi observado.

Islam, Castle e Ren (2009) observaram que a interação de nim com *B. bassiana* causou a maior mortalidade de ovos e ninfas de *B. tabaci* e o menor tempo letal comparado com os tratamentos puros. Dunkel et al. (2010) avaliaram o efeito de extratos de *Tagetes minuta* L. associado a *B. bassiana* e *M. anisopliae* no controle de *Tetanops myopaeformis* (Röder) e não observaram efeitos adversos do extrato de *T. minuta* sobre os fungos, contudo efeitos sinérgicos também não foram observados.

Para fungos, têm-se observado respostas que variam de sinérgicas a antagônicas, estando esses resultados associados à concentração, formulação e tempo de exposição do fungo ao produto, seja um inseticida sintético ou botânico.

A interação entre plantas inseticidas e entomopatógenos, visando ao controle de insetos-praga, pode levar à obtenção de uma eficiência de controle maior que a observada para os métodos separados, já que o extrato vegetal exerceria, além do efeito inseticida, uma função estressora que afeta a resistência comportamental e imunológica dos insetos, favorecendo o desenvolvimento da doença.

4.7 Seletividade de nanoformulação de nim e de extrato de *T. ciliata* ao parasitoide de ovos *Trichogramma pretiosum* Riley

4.7.1. Suscetibilidade de adultos de *T. pretiosum* nas gerações maternal e F1

Para as fêmeas de *T. pretiosum* colocadas em contato com os ovos do seu hospedeiro [*Anagasta kuehniella* (Zeller)], imediatamente após o tratamento dos mesmos com os diferentes derivados vegetais, embora tenha havido diferença entre as curvas de sobrevivência ($\chi^2=12,60$, gl=4 e $p=0,013$), essa diferença foi resultante do controle acetona, que reduziu a sobrevivência do inseto em comparação aos demais tratamentos (Figura 15), do que se pode inferir que, com base nesse parâmetro, os derivados vegetais testados não afetaram o parasitoide. O menor tempo letal foi observado para o controle acetona (9,9 dias), que diferiu do tratamento *T. ciliata* e do controle água (tempos 13,7 e 13,9 dias, respectivamente) (Tabela 29).

Quando as fêmeas foram colocadas em contato com os ovos 24 h após o tratamento, não houve diferença entre as curvas de sobrevivência ($\chi^2=1,91$, gl=4 e $p=0,75$) (Figura 15). Os tempos letais variaram de 10,7 a 12,3 dias (Tabela 29).

Considerando os cinco primeiros dias de avaliação não foi observada redução na sobrevivência das fêmeas, não tendo sido, portanto, determinada a classificação de toxicidade estabelecida pela IOBC, já que todos os tratamentos foram seletivos ao parasitoide para esse parâmetro.

Os resultados da avaliação da capacidade de parasitismo das fêmeas da geração maternal indicam que, quando os ovos foram oferecidos às fêmeas imediatamente após o tratamento, o óleo de nim foi levemente nocivo, segundo a classificação da IOBC. Quando os ovos foram oferecidos às fêmeas 24 h após o tratamento, NC40 aquoso e óleo de nim também foram levemente nocivos, enquanto os demais tratamentos não reduziram a capacidade de parasitismo da geração maternal (Tabela 30). Por outro lado, a capacidade de parasitismo da geração F1 não foi afetada por nenhum dos tratamentos (Tabela 30).

Quanto à redução da emergência de adultos, para ovos oferecidos após 24 h do tratamento, apenas o extrato de *T. ciliata* foi levemente nocivo, segundo a classificação da IOBC (Tabela 29).

Figura 15 - Curvas de sobrevivência de fêmeas de *Trichogramma pretiosum* expostas a nanoformulação de nim, óleo de nim e extrato de *Toona ciliata*. A=imediatamente após o tratamento dos ovos. B= 24 h após o tratamento dos ovos. 25 ± 2 °C; 60 ± 10 % UR; fotofase: 14 h

Tabela 29 - Média ± erro padrão do tempo letal (TL₅₀) de fêmeas de *Trichogramma pretiosum* expostas a nanoformulação de nim, óleo de nim e extrato de *Toona ciliata*. 25 ± 2 °C; 60 ± 10 % UR; fotofase: 14 h

Tratamentos	TL ₅₀ (dias)	
	0 h	24 h
Controle acetona	9,9 ± 1,01 (7,960-11,907)	11,2 ± 0,99 (9,257-13,143)
Óleo de nim	12,3 ± 1,19 (9,993-14,673)	10,9 ± 1,08 (8,808-13,059)
NC40 aquoso	12,5 ± 1,13 (10,245-14,688)	12,1 ± 1,14 (9,832-14,301)
<i>Toona ciliata</i>	13,7 ± 0,93 (11,914-15,553) ¹	10,7 ± 1,07 (8,566-12,768)
Controle água	13,9 ± 0,98 (12,007-15,860)	12,3 ± 0,94 (10,482-14,185)

¹Intervalo de confiança (95 %)

Tabela 30 - Redução do parasitismo (%) e da emergência de adultos (%) de *Trichogramma pretiosum* em ovos de *Anagasta kuehniella* submetidos ao contato com nanoformulação de nim, óleo de nim e extrato de *Toona ciliata*. 25 ± 2 °C; 60 ± 10 % UR; fotofase: 14 h

Tratamentos	RP geração maternal (%) ¹				RE (%) ²				RP geração F1 (%) ¹			
	0 h	Classe ³	24 h	Classe	0 h	Classe	24 h	Classe	0 h	Classe ³	24 h	Classe
Óleo de nim	67,09	2	70,41	2	13,05	1	0,00	1	0,00	1	13,22	1
NC40 aquoso	26,16	1	43,79	2	7,99	1	14,06	1	14,67	1	21,11	1
Controle acetona	21,94	1	22,49	1	0,61	1	0,00	1	25,54	1	0,00	1
<i>Toona ciliata</i>	0,00	1	0,00	1	5,77	1	38,35	2	15,50	1	0,00	1

¹RP= Redução do parasitismo de adultos em relação ao controle água. ² RE= redução da emergência em relação ao controle água. ³Classes de toxicidade (IOBC/WPRS): 1= inócuo (<30 %); 2= levemente nocivo (30-79 %); 3= moderadamente nocivo (80-99 %) e; 4= nocivo (>99 %). (Dados corrigidos por Abbott, 1925)

4.7.2 Suscetibilidade dos estágios imaturos de *T. pretiosum*

O efeito sobre imaturos (ovo-larva, pré-pupa e pupa), avaliado com base na emergência de adultos, foi constatado apenas para o óleo de nim e, ainda assim, apenas na fase de pupa, sendo o referido tratamento classificado como levemente nocivo (Tabela 31). A emergência de adultos nos demais estágios do desenvolvimento não foi afetada por nenhum dos tratamentos.

Não foi constatada redução da capacidade de parasitismo de adultos emergidos dos ovos tratados nos diferentes estágios de desenvolvimento do parasitoide, sendo todos os tratamentos inócuos ou seletivos ao parasitoide (Tabela 32).

Tabela 31 - Redução na emergência (RE %) de adultos de *Trichogramma pretiosum* em ovos do hospedeiro *Anagasta kuehniella* contendo o parasitoide em diferentes estágios de desenvolvimento por ocasião do contato com nanoformulação de nim, óleo de nim e extrato de *Toona ciliata*. 25 ± 2 °C; 60 ± 10 % UR; fotofase: 14 h

Tratamentos	Estágio de desenvolvimento					
	Ovo-larva		Pré-pupa		Pupa	
	RE ¹	Classe ²	RE	Classe	RE	Classe
Óleo de nim	16,75	1	13,98	1	74,05	2
<i>Toona ciliata</i>	9,88	1	12,18	1	0,00	1
NC40 aquoso	2,59	1	0,56	1	0,00	1
Acetona	0,01	1	0,00	1	0,83	1

¹RE= Redução na emergência de adultos comparada ao controle água. ²Classes de toxicidade (IOBC/WPRS): 1= inócuo (<30 %); 2= levemente nocivo (30-79 %); 3= moderadamente nocivo (80-99 %) e; 4= nocivo (>99 %). (Dados corrigidos por Abbott, 1925)

Tabela 32 - Redução de parasitismo da geração F1 de *Trichogramma pretiosum* oriunda de ovos contendo o parasitoide em diferentes estágios de desenvolvimento por ocasião do contato com nanoformulação de nim, óleo de nim e extrato de *Toona ciliata*. 25 ± 2 °C; 60 ± 10 % UR; fotofase: 14 h

Tratamentos	RP ¹ (%) da geração F1 para cada estágio de desenvolvimento					
	Ovo-larva		Pré-pupa		Pupa	
	RP ¹	Classe ²	RP	Classe	RP	Classe
<i>Toona ciliata</i>	17,33	1	0,00	1	17,81	1
NC40 aquoso	12,43	1	0,00	1	8,65	1
Acetona	0,51	1	0,00	1	0,00	1
Óleo de nim	0,00	1	0,00	1	9,92	1

¹RP= Redução do parasitismo de adultos comparada ao controle água ²Classes de toxicidade (IOBC/WPRS): 1= inócuo (<30 %); 2= levemente nocivo (30-79 %); 3= moderadamente nocivo (80-99 %) e; 4= nocivo (>99 %). (Dados corrigidos por Abbott, 1925)

Gonçalves-Gervásio e Vendramim (2004a) avaliaram o efeito do extrato aquoso de sementes de nim e dos extratos aquoso e clorofórmico de *T. pallida* sobre *T. pretiosum*. Os autores trataram os ovos do hospedeiro (*A. kuehniella*) antes do parasitismo, em testes com e sem chance de escolha e constataram que, em ambos os testes, apenas o extrato de nim afetou o parasitoide, reduzindo o número de ovos parasitados e a emergência de adultos, mas não afetando a longevidade das fêmeas. Quando os ovos foram tratados, com os mesmos extratos, após o parasitismo, novamente apenas o extrato de nim afetou o parasitoide. Nesse caso, houve redução de parasitismo apenas no teste em que os ovos foram tratados quando o parasitoide se encontrava na fase de ovo-larva (0-24 h), não ocorrendo efeito nos testes em que o tratamento foi feito quando o parasitoide já se encontrava nas fases de pré-pupa e de pupa. A porcentagem de emergência do parasitoide, entretanto, foi reduzida independentemente da fase em que o mesmo se encontrava no momento do tratamento com o extrato de nim.

Mesmo havendo dificuldade em se comparar a concentração utilizada no presente trabalho (0,2 %) com a concentração de extrato de sementes de nim (10 %) empregada por Gonçalves-Gervásio e Vendramim (2004a), já que os autores utilizaram extratos aquosos (p/v), tudo indica que os resultados presentes corroboram os obtidos por aqueles autores no sentido de indicar que o nim afeta os adultos de *T. pretiosum*, ainda que, no caso presente, o óleo de nim e a nanoformulação NC40 aquoso tenham sido apenas levemente nocivos ao referido parasitoide. Ressalte-se que no trabalho de Gonçalves-Gervásio e Vendramim (2004a) o índice da IOBC não foi determinado.

Klemm e Schumutterer (1993) observaram que a pulverização de ovos de *Plutella xylostella* (L.) com óleo de nim a 0,2 % reduziu o número de ovos parasitados por *Trichogramma principium* Sug. Et. Sor. em laboratório e de *T. pretiosum* no campo.

Já Raguran e Singh (1999) observaram efeito deletério da aplicação do óleo de nim sobre *Trichogramma chilonis* Ishii. Em ovos de *Corcyra cephalonica* (Station).

Cabe a ressalva de que todos os valores de toxicidade observados referem-se à condição de laboratório. Segundo Manzoni et al. (2006), os testes de toxicidade em laboratório sujeitam os insetos-teste à exposição máxima de resíduos e constituem a primeira etapa dos testes preconizados pela IOBC/WPRS (Hassan et al., 2000). Dessa

forma, aqueles produtos que não forem tóxicos ao parasitoide nas condições de laboratório não necessitam ser testados nas etapas seguintes (testes com estágios imaturos, de persistência biológica e de campo). Por outro lado, aqueles produtos que apresentarem toxicidade precisam ser avaliados nas etapas mencionadas, sendo que, a cada etapa determinam-se os índices de toxicidade e são testados na etapa seguinte apenas os produtos que mantiverem a toxicidade sobre o parasitoide.

Saber, Hejazi e Hassan (2004) avaliaram o efeito de azadiractina sobre adultos e estágios imaturos de *Trichogramma cacoeciae* Marchal em ovos de *Sitotoga cerealella* (Olivier) e *Cydia pomonella* (L.) e constataram que a emergência de adultos foi afetada em ambos os hospedeiros, onde reduções de 73,3 e 33,8 % foram observadas, respectivamente, para *S. cerealella* e *C. pomonella*. A longevidade e a capacidade de parasitismo da geração F1, entretanto, não foram afetadas.

De acordo com Raguraman, Ganapathy e Venkatesan (2004), os parasitoides são mais suscetíveis quando há contato direto com derivados de nim. Dessa forma, deve-se atentar para a forma de aplicação, buscando se evitar que a capacidade de busca e o parasitismo sejam afetados. Para parasitoides de ovos, o efeito de produtos do nim pode ser positivo ou negativo. Esses resultados estão diretamente relacionados ao produto, concentração e hospedeiro. Nos artigos apresentados na revisão de literatura do presente trabalho observa-se que o principal efeito deletério está relacionado aos adultos em razão do efeito de contato direto.

Geralmente, o efeito de contato de inseticidas químicos, botânicos ou biológicos, é avaliado em condições de laboratório, garantindo uma exposição máxima do parasitoide ao agente de controle. Cano e Gladstone (1994) avaliaram a influência da aplicação de extratos de nim no parasitismo de *T. pretiosum* sobre *H. zea* no campo e nenhum efeito negativo foi observado.

O efeito de inseticidas químicos utilizados no controle de *T. absoluta* já havia sido avaliado quanto à seletividade a *T. pretiosum* (CÔNSOLI; PARRA; HASSAN, 1998; CARVALHO; PARRA; BATISTA, 1999).

A utilização de *T. pretiosum* no manejo integrado de *T. absoluta* já é uma realidade (VILLAS BÔAS; BRANCO; MEDEIROS, 2005; MEDEIROS et al., 2005) e, segundo Medeiros et al. (2005), em cultivo protegido tem-se utilizado liberações de *T.*

pretiosum e pulverizações com inseticidas biológicos. Com certeza, a utilização de extratos de plantas bioativos contra *T. absoluta* torna-se-ia um importante componente a ser incluído nesses casos.

Considerando os resultados obtidos, a utilização de *T. pretiosum* associada à aplicação com os tratamentos avaliados é viável, com a ressalva de se evitar o contato direto do parasitoide adulto com esses tratamentos. Como nenhum dos tratamentos avaliados neste bioensaio reduziu a viabilidade de ovos de *T. absoluta* (item 4.4.2), a utilização de parasitoides seria uma alternativa promissora no controle desse importante inseto-praga desde a fase de ovo.

5 CONCLUSÕES

Para as condições em que os bioensaios foram conduzidos é possível concluir que:

- O rendimento dos extratos orgânicos e a sua composição química são variáveis e dependentes do solvente utilizado durante o processo de extração;
- Entre os 15 extratos de Meliaceae testados, nove apresentam bioatividade sobre as lagartas de *Tuta absoluta* (Meyrick): *Guarea guidonia* em diclorometano; *Toona ciliata* em hexano, em diclorometano e em etanol; *Trichilia catigua* em hexano, em diclorometano e em etanol; *Trichilia clausenii* em etanol e *Trichilia pallida* em hexano;
- O extrato etanólico de *Toona ciliata* reduz a oviposição de *T. absoluta* em teste com chance de escolha;
- Nenhum dos tratamentos testados afeta a viabilidade dos ovos;
- Efeitos subletais são observados quando as lagartas são alimentadas em folíolos tratados com a nanoformulação NC40 pó [nanocápsulas de poli- β -hidroxibutirato (PHB)] e com o extrato etanólico de *T. ciliata*;
- Para os modos de ação avaliados, os derivados do nim (nanoformulações e óleo de nim) apresentam o efeito translaminar mais pronunciado, ainda que os efeitos sistêmico e de contato também ocorram;
- O efeito de contato varia com a idade e com o modo de exposição das lagartas aos tratamentos;
- O efeito residual do óleo de nim e da nanoformulação NC40 aquoso é de sete dias, enquanto para NC40 pó é de 3 dias;
- O fungo *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. é afetado em maior proporção pelos extratos orgânicos do que pelas nanoformulações e pelo óleo de nim, sendo observada a compatibilidade apenas com os extratos etanólicos de *T. ciliata* e de *Trichilia catigua*;
- O granulovírus *PhopGV* é compatível quando misturado a CL₃₀ da nanoformulação NC40 aquoso, do óleo de nim e do extrato etanólico de *T. ciliata*;

- A nanoformulação NC40 aquoso e o óleo de nim associados aos entomopatógenos reduzem a sobrevivência de lagartas em maior proporção do que os entomopatógenos aplicados puros;
- A nanoformulação NC40 aquoso e o óleo de nim associados aos entomopatógenos reduzem a sobrevivência de lagartas na mesma proporção que os inseticidas botânicos aplicados puros na mesma proporção que os extratos e o fungo aplicados puros;
- O extrato etanólico de *T. ciliata* associado ao granulovírus *PhopGV* reduz a sobrevivência de lagartas em maior proporção do que o extrato aplicado puro;
- O óleo de nim é levemente nocivo ao parasitoide de ovos *Trichogramma pretiosum* Riley
- A nanoformulação NC40 aquoso e o extrato etanólico de *T. ciliata* não afetam o parasitismo e o desenvolvimento de *T. pretiosum*.

REFERÊNCIAS

- ABBOTT, W.S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 18, p. 265-266, 1925.
- ABRAHAM, C.C.; AMBIKA, B. Effect of leaf and kernel extracts of neem on moulting and vitellogenesis in *Dysdercus cingulatus* Fabr. (Heteroptera: Pyrrhocoridae). **Current Science**, Bangalore, v. 48, p. 554-556, 1979.
- AGUDA, R.M.; ROMBACH, M.C.; SHEPARD, B.M. Effect of neem oil on germination and sporulation of the entomogenous fungus *Metarhizium anisopliae*. **International Rice Research Newsletter**, Manila, v. 11, p. 34-35, 1986.
- ALVARENGA, M.A.R. (Ed.). **Tomate: produção em campo em casa-de-vegetação e em hidroponia**. Lavras: Editora, UFLA, 2004. 400 p.
- ALVES, S.B. (Ed.). **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998. 1163 p.
- ALVES, S.B.; MOINO JR., A.; ALMEIDA, J.E.M. Produtos fitossanitários e entomopatógenos. In: ALVES, S.B. (Ed.). **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 217-238.
- ANDALÓ, V.; MOINO JR., A.; SANTA-CECÍLIA, L.V.C.; SOUZA, G.C. Compatibilidade de *Beauveria bassiana* com agrotóxicos visando o controle da cochonilha-da-raiz-do-cafeeiro *Dysmicoccus texensis* Tinsley (Hemiptera: Pseudococcidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, p. 463-467, 2004.
- ANGEL, R.V. Reconhecimento, identificación y biología de especies de Gelechiidae (Lepidoptera) em plantas solanáceas del departamento de Antioquia: I. *Scrobipalpula absoluta* (Meyrick). **Revista Colombiana de Entomología**, Santafe de Bogota, v. 14, p. 25-32, 1988.
- APABLAZA, J. La polilla del tomate y su manejo. **Tattersal**, Santiago, v. 79, p. 12-13, 1992.
- ARAUJO Jr., J.M.; MARQUES, E.J.; OLIVEIRA, J.V. Potencial de isolados de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* e do óleo de nim no controle do pulgão *Lipaphis erysimi* (Kalt.) (Hemiptera: Aphididae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 38, p. 520-525, 2009.
- ARISAWA, H.; BRILL, T.B. Kinetics and mechanisms offish pyrolysis of poly (methylmethacrylate) (PMMA). **Combustion and Flame**, New York, v. 109, p. 415-426, 1997.

BACCI, L. **Fatores determinantes do ataque de *Tuta absoluta* ao tomateiro**. 2006. 133 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

BAHAMONDES, L.A.; MALLEA, A.R. Biología en Mendoza de *Scrobipalpa absoluta* (Meyrick) Povolny (Lepidoptera - Gelechiidae), especie nueva para la República Argentina. **Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias**, Chacras de Coria, v. 15, p. 96-104, 1969.

BARRIENTOS, Z.R.; APABLAZA, H.J.; NORERO, S.A.; ESTAY, P.P. Threshold temperature and thermal constant for development of the South American tomato moth, *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). **Ciência e Investigacion Agraria**, Santiago de Chile, v. 25, p. 133-137, 1998.

BATALLA-CARRERA, L.; MORTON, A.; PINOET, F.G. Efficacy of entomopathogenic nematodes against the tomato leafminer *Tuta absoluta* in laboratory and greenhouse conditions. **BioControl**, Dordrecht, v. 55, p. 523–530, 2010.

BATISTA FILHO, A.; ALMEIDA, J.E.M.; LAMAS, C. Effect of thiamethoxam on entomopathogenic microorganisms. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, p. 437-447, 2001.

BERENBAUM, M.R. Allelochemicals in insect-microbe-plant interactions; agents provocateurs in the coevolutionary arms race. In: BARBOSA, P.; LETOURNEAU, D.K. (Ed.). **Novel aspects of insect plant interactions**. New York: John Wiley, 1988. p. 97-124.

BERGMANN, E.C.; IMENES, S.D.L.; CAMPOS, T.B.; HOJO, H.; TAKEMATSU, A.P. Contribuição ao conhecimento da entomofauna em cultura de tomate (*Lycopersicum esculentum*) através de armadilhas de água. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 17, p. 19-40, 1988.

BERGMANN, E.C.; IMENES, S.D.L.; HOJO, H.; CAMPOS, T.B.; TAKEMATSU, A.P.; MACELLARO, M.I.F.S. Levantamento da entomofauna em cultura de tomate (*Lycopersicum esculentum*). **O Biológico**, São Paulo, v. 50, p. 229-236, 1984.

BERTA, D.C.; COLOMO, M.V. Dos especies nuevas de *Bracon* F. y primera cita para la Argentina de *Bracon lucileae* Marsh (Hymenoptera, Braconidae), parasitoides de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). **Insecta Mundi**, Gainesville, v. 14, p. 211-219, 2000.

BEZERRA-SILVA, G.C.D.; VENDRAMIM, J.D.; SILVA, M.A.; DIAS, C.T.S. Efeito de extratos orgânicos de Meliaceae sobre *Bemisia tabaci* (Gennadius) biótipo B em tomateiro. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 77, p. 477-485, 2010.

BOGORNİ, P.C. **Biologia e consumo foliar de *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae) em diferentes cultivares de *Lycopersicon esculentum* Mill.** 1999. 88 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1999.

_____. **Efeito de extratos aquosos de *Trichilia* spp. sobre o desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) em milho.** 2003. 65 p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

BOGORNİ, P.C.; CARVALHO, G.S. Biologia de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) em diferentes cultivares de *Lycopersicon esculentum* Mill. **Bioikos**, Campinas, v. 20, p. 49-61, 2006.

BOGORNİ, P.C.; VENDRAMIM, J.D. Efeito subletal de extratos aquosos de *Trichilia* spp. sobre o desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 34, p. 311-317, 2005.

BOGORNİ, P.C.; CUNHA, U.S.; DIOGO, F.A.; VENDRAMIM, J.D.; CABRAL, K.G. . Ação inseticida de NeemAzal-T/S sobre *Tuta absoluta*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 20., 2004, Gramado. **Resumos...** Gramado: Sociedade Entomológica do Brasil, 2004a. p. 578.

BOGORNİ, P.C.; CUNHA, U.S.; VENDRAMIM, J.D.; DIOGO, F.A.; CABRAL, K.G. Avaliação do efeito residual de NeemAzal-T/S em tomateiro sobre *Tuta absoluta*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 20., 2004, Gramado. **Resumos...** Gramado: Sociedade Entomológica do Brasil, 2004b. p. 578.

BOTTO, E.N.; CERIANI, S.A.; LOPEZ, S.N.; SAINI, E.D.; CEDOLA, C.V.; SEGADÉ, G.; VIZCARRET, M. Control biológico de plagas hortícolas en ambientes protegidos. La experiencia argentina hasta el presente. **RIA INTA**, Buenos Aires, v. 29, p. 83-98, 2000.

BRUNETON, J. **Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal plants.** Andover: Intercept; Paris: Lavoisier, 1995. 915 p.

BRUNHEROTTO, R.; VENDRAMIM, J.D. Bioatividade de extratos aquosos de *Melia azedarach* L. sobre o desenvolvimento de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) em tomateiro. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, p. 455-459, 2001.

BRUNHEROTTO, R.; VENDRAMIM, J.D.; ORIANI, M.A.G. Efeito de genótipos de tomateiro e de extratos aquosos de folhas de *Melia azedarach* e de sementes de *Azadirachta indica* sobre *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 39, p. 784-791, 2010.

BUSS, E.A.; PARK-BROWN, S.G. **Natural products for insect pest management**. Gainesville: UF/IFAS, 2002. Disponível em: <<http://edis.ifas.ufl.edu/IN197>>. Acesso em: 02 out. 2005.

CABONI, P.; SARAIS, G.; ANGIONI, A.; GARCIA, A.J.; LAI, F.; DEBOLA, F.; CABRAS, P. Residues e persistence of neem formulations on strawberry after field treatment. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, Washington, v. 54, p. 10026-10032, 2006.

CAFFARINI, P.M.; FOLCIA, A.M.; PANZARDI, S.R.; PÉREZ, A. Incidence of low levels of foliar damage caused by *Tuta absoluta* (Meyrick) on tomato. **Boletín de Sanidad Vegetal**, Madrid, v. 25, p. 75-78, 1999.

CANÇADO JR., F.L.; CAMARGO FILHO, W.P.; ESTANISLAU, M.L.L.; PAIVA, B.M.; MAZZEI, A.R.; ALVES, H. S. Aspectos econômicos da produção e comercialização do tomate de mesa. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 24, p. 7-18, 2003.

CANO, V.; GLADSTONE, S.M. Efecto del insecticida botanico, NIM-20, sobre el parasitismo por *Trichogramma pretiosum* en huevos de *Helicoverpa zea* en el cultivo de melon. **Manejo Integrado de Plagas**, Turrialba, v. 33, p. 23-25, 1994.

CARBALL, R.; BASSO, C.; SCATONI, I.; COMOTTO, F. Ensayo para el control de *Scrobipalpus absoluta* (Meyrick) temporada de 1980-81. **Revista Técnica**, v. 50, p. 41-46, 1981.

CARVALHO, G.A.; PARRA, J.R.P.; BATISTA, G.C. Ação residual de alguns inseticidas pulverizados em plantas de tomateiro sobre duas linhagens de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em casa-de-vegetação. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 23, p. 771-776, 1999.

CASTIGLIONI-ROSALES, E.A. **Efeito de derivados de meliáceas e isolados de fungos entomopatogênicos sobre o cupim subterrâneo *Heterotermes tenuis* (Hagen, 1858) (Isoptera: Rhinotermitidae)**. 2001. 133 p. Tese (Doutorado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.

CHAMPAGNE, D.E.; ISMAN, M.B.; TOWERS, G.H.N. Insecticidal activity of phytochemical and extracts of the Meliaceae. In: ARNASON, J.T.; PHILOGÈNE, B.J.R.; MORAND, P. (Ed.). **Insecticides of plant origin**. Washington: American Chemical Society, 1989. chap. 8, p. 95-109.

CHAMPAGNE, D.E.; KOUL, O.; ISMAN, M.B.; SCUDDER, G.G.E.; TOWERS, G.H.N. Biological activity of limonoids from the Rutales. **Phytochemistry**, Oxford, v. 31, n. 2, p. 377-394, 1992.

CHARCOSSET, C.; FESSI, H. Preparation of nanoparticles with a membrane contactor. **Journal of Membrane Science**, Amsterdam, v. 266, p. 115-120, 2005.

CHEN, H.; YANG, S.; WU, Y.; DONG, L.; YUE, J. Terpenoids from *Toona ciliata*. **Journal of Products Natural**, Cincinnati, v. 72, p. 685-689, 2009.

CLARK, R.A.; CASAGRANDE, R.A.; WALLACE, D.B. Influence of pesticides on *Beauveria bassiana*, a pathogen of the Colorado Potato Beetles. **Environmental Entomology**, College Park, v. 11, p. 67-70, 1982.

CLARKE, J.F. New species of microlepidoptera from Japan. **Entomological News**, Philadelphia, v. 73, p. 102, 1962.

COELHO, M.C.F.; FRANÇA, F.H. Biologia, quetotaxia da larva e descrição da pupa e adulto da traça-do-tomateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 22, p. 129-135, 1987.

COLOMO, M.V.; BERTA, D.C.; CHOCOBAR, M.J. El complejo de himenópteros parasitoides que atacan a la “polilla del tomate” *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) en la Argentina. **Acta Zoologica Lilloana**, Tucuman, v. 46, p. 81-92, 2002.

CÔNSOLI, F.L.; PARRA, J.R.P.; HASSAN, S.A. Side-effects of insecticides used in tomato fields on the egg parasitoid *Trichogramma pretiosum* Riley (Hym., Trichogrammatidae), a natural enemy of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lep., Gelechiidae). **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 122, p. 43-47, 1998.

COOK, S.P.; WEBB, R.E.; THORPE, K.W. Potential enhancement of the gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae) nuclear polyhedrosis virus with the triterpene azadirachtin. **Environmental Entomology**, College Park, v. 25, p. 1209-1214, 1996.

CORREIA, A.A.; WANDERLEY-TEIXEIRA, V.; TEIXEIRA, A.A.C., OLIVEIRA, J.V. DE; TORRES, J.B. Morfologia do canal alimentar de lagartas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) alimentadas com folhas tratadas com nim. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 38, p. 83-91, 2009.

COSTA, E.A.D.; MATALO, M.B.; ALMEIDA, J.E.M.; LOUREIRO, E.S.; SANO, A.H. Efeito de herbicidas utilizados em cana-de-açúcar no desenvolvimento *in vitro* do fungo entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 14, p. 19-24, 2004.

CUNHA, U.S. **Busca de substâncias de *Trichilia pallida* e *Trichilia pallens* (Meliaceae) com atividade sobre a traça-do-tomateiro *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lep.: Gelechiidae).** 2004. 108 p. Tese (Doutorado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

CUNHA, U.S.; VENDRAMIM, J.D.; ROCHA, W.C.; VIEIRA, P.C. Potencial de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) como fonte de substâncias com atividade inseticida sobre a traça-do-tomateiro, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 34, p. 667-673, 2005.

_____. Frações de *Trichilia pallens* com atividade inseticida sobre *Tuta absoluta*.

Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 41, p. 1579-1585, 2006.

DEPIERI, R.A.; MARTINEZ, S.S.; MENEZES Jr, A.O. Compatibility of the fungus *Beauveria Bassiana* (Bals.) Vuill. (Deuteromycetes) with extracts of neem seeds and leaves and the emulsible oil. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 34, p. 601-606, 2005.

DESNEUX, N.; WAJNBERG, E.; WYCKHUYS, K.A.G.; BURGIO, G.; S.; NARVÁEZ-VASQUEZ, C.A.; GONZÁLEZ-CABRERA, J.; RUESCAS, D.C.; TABONE, E.; FRANDON, J.; PIZZOL, J.; PONCET, C.; CABELLO, T.; URBANEJA, A. Biological invasion of European tomato crops by *Tuta absoluta*: ecology, geographic expansion and prospects for biological control. **Journal of Pest Science**, Berlin, v. 83, p. 197-215, 2010.

DEVI, P.S.V.; PRASAD, Y.G. Compatibility of oils and antifeedants of plant origin with the entomopathogenic fungus *Nomuraea rileyi*. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 68, p. 91-93, 1996.

DOE, M.; SHIBUE, T.; HARAGUCHI, H.; MORIMOTO, Y. Structures, biological activities, and total syntheses of 13-Hydroxy- and 13-Acetoxy-14-nordehydrocactalohastine, novel modified furanoeremophilane-type sesquiterpenes from *Trichilia cuneata*. **Organic Letters**, Washington, v. 7, p. 1765-1768, 2005.

DUNKEL, F.V.; JARONSKI, S.T.; SEDLAK, C.W. MEILER, S.U. VEO, K.D. Effects of steam-distilled shoot extract of *Tagetes minuta* (Asterales: Asteraceae) and entomopathogenic fungi on larval *Tetanops myopaeformis*. **Environmental Entomology**, College Park, v. 39, p. 978-988, 2010.

DURÁN N.; AZEVEDO, M.M.M. de. **Rede de pesquisa em nanobiotecnologia**. Disponível em: <www.comciencia.br>. Acesso em: 04 jul. 2007.

EBORA, R.V., EBORA, M.M., STICKLEN, M.B. Transgenic potato expressing the *Bacillus thuringiensis* CryIA (c) gene effects on the survival and food consumption of *Phthorimaea operculella* (Lepidoptera: Gelechiidae) and *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Gelechiidae). **Journal of Economical Entomology**, Washington, v. 87, p. 1122-1127, 1994.

ECOLE, C.C.; PICANÇO, M.; JHAM, G.N.; GUEDES, R.N.C. Variability of *Lycopersicon hirsutum* f. *typicum* and possible compounds involved in its resistance to *Tuta absoluta*. **Agricultural and Forest Entomology**, Joensuu, v. 1, p. 249-254, 1999.

ELDEEN, I.M.S.; van HEERDEN, F.R.; van STADEN, J. Biological activities of cycloart-23-ene-3,25-diol isolated from the leaves of *Trichilia dregeana*. **South African Journal of Botany**, Petroria, v. 73, p. 366-371, 2007.

EUROPEAN AND MEDITERRANEAN PLANT PROTECTION ORGANIZATION. Data sheets on quarentine pests: *Tuta absoluta*. **OEPP/EPPO Bulletin**, n. 35, p. 434-435, 2005.

_____. **EPPO Reporting Service-Pest & Diseases**, Paris, n. 8, 2009-08-01, 2009.

_____. **EPPO Reporting Service-Pest & Diseases**, Paris, n. 1, 2010-01-01, 2010.

ESTAY, P.; BRUNA, A. Insectos y ácaros asociados al tomate en Chile. In: ESTAY, P.; BRUNA, A. (Ed.) **Insectos, ácaros y enfermedades asociados al tomate en Chile**. Santiago: Centro Regional de Investigación INIA La Platina, 2002. p. 9-22.

FERNÁNDEZ, S.; MONTAGNE, A. Biología del minador del tomate, *Scrobipalpula absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). **Boletín de Entomología Venezolana**, Caracas, v. 5, p. 89-99, 1990.

FERRACINI, V.L.; WATANABE, M.A.; SILOTO, R.C. Controle da traça-do-tomateiro *Scrobipalpuloides absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) (Meyrick, 1917) em plantas de tomate *Lycopersicon esculentum* Mill) envasadas usando extratos vegetais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 14., 1993, Piracicaba. **Resumos...** Piracicaba: SEB, 1993. p. 630.

FERRACINI, V.L.; WATANABE, M.A.; FRIGHETTO, R.T.S.; SILOTO, R.C. Controle da traça-do-tomateiro *Scrobipalpula absoluta* utilizando extratos vegetais In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 13., 1991, Recife. **Resumos...** Recife: SEB, 1991. p 356.

FERRARA, F.A.A.; VILELA, E.F.; JHAM, G.N.; EIRAS, Á.E.; PICANÇO, M.C.; ATTYGALLE, A.B.; SVATOS, A.; FRIGHETTO, R.T.S.; MEINWALD, J. Evaluation of the synthetic major component of the sex pheromone of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 27, p. 907-917, 2001.

FESSI, H.; PUISIEUX, F.; DEVISSAGUET, J.P.; AMMOURY, N.; BENITA, S. Nanocapsule formation by interfacial polymer deposition following solvent displacement. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 55, p. R1-R4, 1989.

FINNEY, D.J. **Probit analysis**. Cambridge: Cambridge University Press, 1971. 31 p.

FORIM, M.R.; SILVA, M.F.S.G.F. da; CASS, Q.B.; FERNANDES, J.B.; VIEIRA, P.C. Simultaneous quantification of azadirachtin and 3-tigloylazadirachtol in Brazilian seeds and oil of *Azadirachta indica*: application to quality control and marketing. **Analytical Methods**, London, v. 2, p. 860-869, 2010.

FRANÇA, F.H. Por quanto tempo conseguiremos conviver com a traça-do-tomateiro? **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 11, p. 176-178, 1993.

- FRANÇA, F.H.; CASTELO BRANCO, M. Ocorrência da traça-do-tomateiro (*Scrobipalpuloides absoluta*) em solanáceas silvestres no Brasil Central. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 10, p. 6-10, 1992.
- FRANÇA, F.H.; VILLAS BÔAS, G.L.; CASTELO BRANCO, M.; MEDEIROS, M.A. Manejo integrado de pragas. In: SILVA, J.B.C.; GIORDANO, L.B. (Org.). **Tomate para processamento industrial**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia; Embrapa Hortaliças, 2000. p. 112-127.
- FRANÇA, F.H.; MALUF, W.R.; ROSSI, P.E.F.; MIRANDA, J.E.C.; COELHO, M.C.F. Avaliação e seleção em tomate visando resistência à traça-do-tomateiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 24., 1984, Jaboticabal. **Resumos...** Jaboticabal: SOB; UNESP, 1984. p. 142.
- GARCÍA, M.F.; ESPUL, J.C. Bioecology of the tomato moth (*Scrobipalpuloides absoluta*) in Mendoza, Argentina Republic. **Revista de Investigaciones Agropecuarias**, Buenos Aires, v. 17, p. 135-146, 1982.
- GERMANO, M.P.; D'ANGELO, V.; SANOGO, R.; CATANIA, S.; ALMA, R.; PASQUALE, R. de; BISIGNANO, G. Hepatoprotective and antibacterial effects of extracts from *Trichilia emetica* Vahl. **Journal Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 96, p. 227-232, 2005.
- GILARDÓN, E.; POCOVÍ, M.; HERNÁNDEZ, C.; OLSEN, A. Papel de tricomas glandulares da folha do tomateiro na oviposição de *Tuta absoluta*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, p. 585-588, 2001.
- GIOLO, F.P.; GRÜTZMACHER, A.D.; MANZONI, C.G.; FACHINELLO, J.C.; NÖRNBERG, S.D.; STEFANELLO JÚNIOR, G.J. Seletividade de agrotóxicos indicados na produção integrada de pêssego a *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das almas, v. 27, p. 222-225, 2005a.
- GIOLO, F.P.; GRÜTZMACHER, A.D.; PROCÓPIO, S.O.; MANZONI, C.M.; LIMA, C.A.B.; NÖRNBERG, S.D. Seletividade de formulações de glyphosate a *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Planta Daninha**, Rio de Janeiro, v. 23, p. 457-462, 2005b.
- GIUSTOLIN, T.A.; VENDRAMIM, J.D. Efeito de duas espécies de tomateiro na biologia de *Scrobipalpuloides absoluta* (Meyrick). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 23, p. 511-517, 1994.
- _____. Efeito dos aleloquímicos 2-tridecanona e 2-undecanona na biologia de *Tuta absoluta* (Meyrick). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 25, p. 417-422, 1996.

GIUSTOLIN, T.A.; VENDRAMIM, J.D.; PARRA, J.R.P. Desenvolvimento de uma dieta artificial para estudos do efeito de aleloquímicos sobre *Scrobipalpuloides absoluta* (Meyrick). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 24, p. 265-272, 1995.

_____. Número de ínstares larvais de *Tuta absoluta* (Meyrick) em genótipos de tomateiro. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 59, p. 393-396, 2002.

GIUSTOLIN, T.A.; VENDRAMIM, J.D.; ALVES, S.B.; VIEIRA, S.A. Efeito associado de genótipo de tomateiro resistente e *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* sobre o desenvolvimento de *Tuta absoluta* Meyrick (Lep., Gelechiidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, p. 461-465, 2001a.

_____. Patogenicidade de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. sobre *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) criada em dois genótipos de tomateiro. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, p. 417-421, 2001b.

GIUSTOLIN, T.A.; VENDRAMIM, J.D.; ALVES, S.B. VIEIRA, S.A.; PEREIRA, R.M. Susceptibility of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lep., Gelechiidae) reared on two species of *Lycopersicon* to *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 125, p. 551-556, 2001c.

GOMIDE, E.V.A.; VILELA, E.F.; PICANÇO, M. Comparação de procedimentos de amostragem de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) em tomateiro estaqueado. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, p. 697-705, 2001.

GONÇALVES, C.R.; OLIVEIRA, A.; LIMA, A.F. *Scrobipalpula absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae), uma nova broca do tomateiro no Estado do Rio de Janeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 8., 1983, Brasília. **Resumos...** Brasília: SEB, 1983. p. 73.

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

GONÇALVES-GERVÁSIO, R.C.R.; VENDRAMIM, J.D. Efeito de extratos de meliáceas sobre o parasitoide de ovos *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, p. 607-612, 2004a.

_____. Modo de ação de extratos de meliáceas sobre *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 71, p. 215-220, 2004b.

_____. Bioatividade do extrato aquoso de sementes de nim sobre *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae) em três formas de aplicação. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, p. 28-34, 2007.

GONÇALVES-GERVÁSIO, R.C.R.; CIOCIOLA, A.I.; SANTA-CECÍLIA, L.V.C.; MALUF, W.R. Aspectos biológicos de *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae) em dois genótipos de tomateiro contrastantes quanto ao teor de 2-tridecanona nos folíolos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 23, p. 247-251, 1999.

GOVINDACHARI, T.R.; NARASIMHAN, N.S.; SURESH, G.; PARTHO, P.D.; GOPALAKRISHNAN, G.; KUMARI, G.N.K. Structure-related insect antifeedant and growth regulating activities of some limonoids. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 21, n. 10, p. 1585-1600, 1995.

GRAVENA, S. Manejo integrado de pragas do tomateiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 25., 1984, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: FUNEP, 1984. p. 129-149.

GRUPO ETC. Action Group on Erosion Technology and Concentration. Tradução: PEDROZO, J.F.; BORGHETTI, F. **Nanotecnologia: os riscos da tecnologia do futuro**. Porto Alegre: L&PM, 2005.

GUPTA, P.; PAUL, M.S.; SHARMA, S.N. Studies on compatibility of white muscardine fungus *Beauveria bassiana* with some neem products. **Indian Phytopathology**, New Delhi, v. 52, p. 278-280, 1999.

HAJI, F.N.P. **Nova praga do tomateiro no Vale do Salitre no Estado da Bahia**. Petrolina: EMBRAPA CPATSA, 1982. 2 p. (Comunicado Técnico, 13).

_____. Histórico e situação atual da traça-do-tomateiro nos perímetros irrigados do Submédio São Francisco. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 3., 1992, Água de Lindóia. **Anais...** Jaguariúna: EMBRAPA CNPDA, 1992. p. 57-59.

_____. Controle biológico da traça-do-tomateiro com *Trichogramma* no Nordeste do Brasil. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). **Trichogramma e o controle biológico aplicado**. Piracicaba: FEALQ, 1997. p. 319-324.

_____. *Trichogramma pretiosum* para controle de pragas no tomateiro industrial. In: PARRA, J.R.P.; BOTELHO, S.M.; FERREIRA, B.S.C.; BENTO, J.M.S. (Ed.). **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. p. 477-494.

HAJI, F.N.P.; DIAS, R.C.S.; ANDRADE, M.W. **Controle da traça do tomateiro**. Petrolina: EMBRAPA CPATSA, 1989. (Comunicado Técnico, 39).

Haji, F.N.P.; Parra, J.R.P.; Silva, J.P.; Batista, J.G.S. Biologia da traça do tomateiro sob condições de laboratório. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 23, p. 107-110, 1988.

Hassan, S.A. (Ed.). **Guidelines for testing the effects of pesticides on beneficials**. Reinheim: IOBC/WPRS, 1988. 143 p. (Bulletin, 11).

Hassan, S.A.; Halsall, N.; Gray, A.P.; Kuehner, C.; Moll, M.; Bakker, F.M.; Roembke, J.; Yousef, A.; Nasr, F.; Abdelgader, H. A laboratory method to evaluate the side effects of plant protection products on *Trichogramma cacoecidae* Marchal (Hym., Trichogrammatidae). In: Candolfi, M.P. (Ed.). **Guidelines to evaluate side-effects of plant protection products to non-target arthropods**. Reinheim: IOBC/WPRS, 2000. p. 107-119.

Hirose, E.; Neves, P.M.O.J.; Zequi, J.A.; Martins, C.L.H.; Peralta, C.H.; Moino, A. Effect of biofertilizers and neem oil on the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 44, p. 419-423, 2001.

Hohmann, C.L.; Novaes, T.G. de; Silva, F.A.C. da; Andrade, E.A. de. Effect of neem, *Azadirachta indica* A. Juss on *Trichogramma pretiosum* Riley and *Trichogrammatoidea annulata* De Santis. In: INTERNATIONAL EGG PARASITOID SYMPOSIUM, 6., 2002, Perugia. **Abstract...** Perugia: IOBC, 2002. p. 33-34.

Imenes, S.D.L.; Campos, T.B.; Minoru, H.T.; Lotz, I.M.P. Efeito de inseticidas na incidência de *Scrobipalpus absoluta* (Meyrick, 1917) em tomateiros. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 69, p. 231-241, 1994.

Imenes, S.D.L.; Uchôa-Fernandes, M.A.; Campos, T.B.; Takematsu, A.P. Aspectos biológicos e comportamentais da traça do tomateiro *Scrobipalpus absoluta* (Meyrick, 1917), (Lepidoptera: Gelechiidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 57, p. 63-68, 1990.

Islam, M.T.; Castle, S.J.; Ren, S. Compatibility of the insect pathogenic fungus *Beauveria bassiana* with neem against sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci*, on eggplant. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 134, p. 28-34, 2009.

Jaramillo, J.; Borgemeister, C.; Ebssa, L.; Gaigl, A.; Tobón, R.; Zimmermann, G. Effect of combined applications of *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin (Deuteromycotina: Hyphomycetes) strain CIAT 224 and different dosages of imidacloprid on the subterranean burrower bug *Cyrtomenus bergi* Froeschner (Hemiptera: Cydnidae). **Biological Control**, Orlando, v. 34, p. 12-20, 2005.

JIMENEZ, A.; VILLARREAL, C.; TOSCANO, R.A.; COOK, M; ARNASON, J.T.; BYE, R.; MATA, R. Limonoids from *Swietenia humilis* and *Guarea grandiflora* (Meliaceae). **Phytochemistry**, Oxford, v. 49, p. 1981-1988, 1998.

JUVICK, J.A., BERLINGER, M.J., BEM-DAVID, T., RUDICH, J. Resistance among accessions of genera *Lycopersicon* and *Solanum* to four of the main insect pests of tomato in Israel. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v. 10, p. 145-156, 1982.

KAPLAN, E.L.; MEIER, P. Nonparametric estimation from incomplete observations. **Journal of the American Statistical Association**, New York, v. 53, p. 457-481, 1958.

KATHRINA, G.A.; ANTONIO, L.O.J. Control biológico de insectos mediante extractos botánicos. In: CARBALL, M.; GUAHARAY, F. (Ed.). **Control biológico de plagas agrícolas**. Managua: CATIE, 2004. p. 137-160. (Serie Técnica. Manual Técnico/CATIE, 53).

KILIÇ, T. First record of *Tuta absoluta* in Turkey. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v. 38, p. 243-244, 2010.

KLEMM, U.; SCHUMUTTERER, H. Effects of neem preparations on *Plutella xylostella* L. and its natural enemies of the genus *Trichogramma*. **Journal of Plant Diseases and Protection**, Stuttgart, v. 100, p. 113-128, 1993.

KOGAN, M. Integrated pest management: historical perspectives and contemporary. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 43, p. 243-270, 1998.

KOUL, O. Feeding deterrence induced by plant limonoids in the larvae of *Spodoptera litura* (F.) (Lepidoptera: Noctuidae). **Zeitschrift für Angewandte Entomologie**, Berlin, v. 95, p. 166-171, 1983.

KRAUS, W.; GRIMMINGER, W.; SAWITZKI, G. Toonacilin and 6-cetoxytoonacilin, two novel B-seco-tetranortriterpenoids with antifeeding activity. **Angewandte Chemie International Edition in English**, New York, v. 17, n. 6, p. 452-453, 1978.

KRUSKAL, W.; WALLIS, W.A. Use of ranks in one-criterion variance analysis. **Journal of the American Statistical Association**, Boston, v. 47, n. 260, p. 583-621, 1952.

LABORY, C.R.G.; SANTA CECÍLIA, L.V.C.; MALUF, W.R.; CARDOSO, M.G.; BEARZOTTI, E.; SOUZA, J.C. Seleção indireta para teor de 2-tridecanona em tomateiros segregantes e sua relação com a resistência à traça do tomateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, p. 733-740, 1999.

LAGUNES, T.A.; RODRÍGUEZ, H.C. **Busqueda de tecnología apropiada para el combate de plagas d.el maiz almacenado en condiciones rústicas**. Chapingo: [s.n.], 1989. 150 p.

LEITE, G.L.D.; PICANÇO, M.; AZEVEDO, A.A.; GONRING, A.H.R. Efeito de tricomas, aleloquímicos e nutrientes na resistência de *Lycopersicon hirsutum* à traça-do-tomateiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, p. 2059-2064, 1999.

LEITE, G.L.D.; PICANÇO, M.; SILVA, D.J.H.; MATA, A.C. da; JHAN, G.N. Distribuição de oviposição de *Scrobipalpuloides absoluta* no dossel de *Lycopersicon esculentum*, *L. hirsutum* e *L. peruvianum*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 13, p. 47-51, 1995.

LEORA SOFTWARE. **POLO-PC**: a user's guide to Probit Logit analysis. Berkeley, 1987.

LIAO, S.; YANG, S.; YUAN, T.O.; ZHANG, C.; CHEN, H.; WU, Y.; XU, Y.; YUE, J. Limonoids from the leaves and stems of *Toona ciliata*. **Journal of Natural Products**, Cincinnati, v. 70, p. 1268-1273, 2007.

LOOS, R.A.; SILVA, D.J.H.; FONTES, P.C.R.; PICANÇO, M.C.; GONTIJO, L.M.; SILVA, É.M.; SEMEÃO, A.A. Identificação e quantificação dos componentes de perdas de produção do tomateiro. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, p. 238-242, 2004.

LOUREIRO, E.S.; MOINO JR., A.; ARNOSTI, A.; SOUZA, G.D. Efeito de produtos fitossanitários químicos utilizados em alface e crisântemo sobre fungos entomopatogênicos. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, p. 263-269, 2002.

LOURENÇÃO, A.L. Fontes de resistência a *Scrobipalpula absoluta* (Meyrick, 1917) em tomateiro. **Bragantia**, Campinas, v. 43, p.569-577, 1984.

MAGENHEIM, B.; BENITA, S. Nanoparticle characterization: a comprehensive physicochemical approach. **STP Pharma Sciences**, Paris, v. 1, p. 221-241, 1991.

MANZONI, C.G.; GRÜTZMACHER, A.D.; GIOLO, F.P.; HÄRTER, W. DA R.; MÜLLER, C. Seletividade de agrotóxicos usados na produção integrada de maçã para adultos de *Trichogramma pretiosum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, p. 1461-1467, 2006.

MARCOMINI, A.M. **Bioatividade e efeito residual de nanoformulações de nim sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith)**. 2009. 83 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

MARQUES, I.M.R.; ALVES, S.B. Efeito de *Bacillus thuringiensis* Berl. var. *kurstaki* sobre *Scrobipalpuloides absoluta* Meyer (Lepidoptera: Gelechiidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 25, p. 39-45, 1996.

MARQUES, R.P.; MONTEIRO, A.C.; PEREIRA, G.T. Crescimento, esporulação e viabilidade de fungos entomopatogênicos em meios contendo diferentes concentrações do óleo de Nim (*Azadirachta indica*). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, p. 1675-1680, 2004.

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

MASCARIN, G.M. **Controle microbiano da traça-da-batata, *Phthorimaea operculella* (Zeller, 1873) (Lepidoptera: Gelechiidae), com granulovírus**. 2009. 118 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

MASCARIN, G.M.; ALVES, S.B.; RAMPELOTTI-FERREIRA, F.T.; URBANO, M.R.; DEMÉTRIO, C.G.B.; DELALIBERA JR, I. Potential of a granulovirus isolate to control *Phthorimaea operculella* (Lepidoptera: Gelechiidae). **BioControl**, Amsterdam, v. 55, p. 657-671, 2010.

MATOS, A.P.; NEBO, L.; VIEIRA, P.C.; FERNANDES, J.B.; SILVA, M.F.G.F. Constituintes químicos e atividade inseticida dos extratos de frutos de *Trichilia elegans* e *T. catigua* (MELIACEAE). **International Journal of Tropical Insect Science**, Wallingford, v. 29, p. 180-184, 2009.

MEDEIROS, M.A. de; SUJII, E.R.; RASI, G.C.; LIZ, R.S.; MORAIS, H.C. de. Padrão de oviposição e tabela de vida da traça-do-tomateiro *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera, Gelechiidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, v. 53, p. 452-456, 2009.

MEDEIROS, M.A. de; VILLAS BÔAS, G.L.; CARRIJO, O.A.; MAKISHIMA, N.; VILELA, N.J. **Manejo integrado da traça-do-tomateiro em ambiente protegido**. Brasília: EMBRAPA Hortaliças, 2005. 10 p. (Circular Técnica, 36).

MENEZES, E.L.A.M. **Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2005. 58 p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 205).

MICHEREFF FILHO, M.; VILELA, E.F.; ATTYGALLE, A.B.; MEINWALD, J.; SVATOS, A.; JHAM, G.N. Initial studies of mating disruption of the tomato moth, *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) using synthetic sex pheromone. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 11, p. 621-628, 2000.

MIHSFELDT, L.H.; PARRA, J.R.P. Biologia de *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) em dieta artificial. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 56, p. 769-776, 1999.

MORAES, G.J.; NORMANHA FILHO, J.A. Surto de *Scrobipalpula absoluta* (Meyrick) em tomateiro no trópico semi-árido. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 17, p. 503-504, 1982.

MORDUE (LUNTZ), A.J.; MORGAN, E.D.; NISBET, A.J. Azadirachtin, a natural product in insect control. In: GILBERT, L.I.; IATROU, K.; GILL, S.S. (Ed.). **Comprehensive molecular insect science**. Amsterdam: Elsevier, 2005. p. 117-135.

MOREIRA, J.O.T.; LARA, F.M.; CHURATA-MASCA, M.G.C. Ocorrência de *Scrobipalpula absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera, Gelechiidae) danificando tomate rasteiro em Jaboticabal, SP. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 7., 1982, Fortaleza. **Resumos...** Fortaleza: SEB, 1982. p. 58.

MURUGAN, K.; SIVARAMAKRISHNAN, S.; KUMAR, N.S.; JEYABALAN, D.; NATHAN, S.S. Potentiating effects of neem on nucleopolyhedrovirus treatment of *Spodoptera litura* Fab. **Insect Science Applications**, New York, v. 19, p. 229-235, 1999.

MUSZINSKI, T.; LAVENDOWSKI, I.M.; MASCHIO, L.M.A. Constatação de *Scrobipalpula absoluta* (Meyrick, 1917) (= *Gnorimoschema absoluta*) (Lepidoptera: Gelechiidae), como praga do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.) no litoral do Paraná. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 11, p. 291-292, 1982.

NAKANO, O.; PAULO, A.D. As traças do tomateiro. **Agroquímica Ciba-Geigy**, São Paulo, p. 8-12, 1983.

NAKATANI, M.; IWASHITA, T.; NAOKI, H.; HASE, T. Structure of a limonoid antifeedant from *Trichilia roka*. **Phytochemistry**, New York, v. 24, p. 195-196, 1985.

NAVARRO, M.A. Biological control of *Scrobipalpula absoluta* (Meyrick) by *Trichogramma* sp. in the tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM, TRICHOGRAMMA AND OTHER EGG PARASTOIDS, 2., Guangzhou, 1988. **Proceedings...** Guangzhou: INRA, 1988. p. 453-458.

NEVES, P.M.O.J.; HIROSE, E.; TCHUJO, P.T.; MOINO JR., A. Compatibility of entomopathogenic fungi with neonicotinoid insecticides. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, p. 263-268, 2001.

NOZT, A.P. Distribution of eggs and larvae of *Scrobipalpuloides absoluta* in potato plants. **Revista de la Facultad de Agronomía**, Chacras de Coria, v. 18, p. 425-432, 1992.

OATMAN, E.R. Ecological studies of the tomato pinworm on tomato in Southern California. **Journal of Economic Entomology**, Washington, v. 63, p.1531-1534, 1970.

OATMAN, E.R.; PLATNER, G.R. Parasites of the potato tuberworm, tomato pinworm and other closely related Gelechiids. **Proceedings of the Hawaiian Entomological Society**, Honolulu, v. 29, p. 23-30, 1989.

- OIANO-NETO, J.; AGOSTINHO, S.M.M.; SILVA, M.F.G.F. da; VIEIRA, P.C.; FERNANDES, J.B.; PINHEIRO, A.L.; VILELA, E.F. Limonoids from seeds of *Toona ciliata* and their chemosystematic significance. **Phytochemistry**, Oxford, v. 38, n. 2, p. 397-401, 1995.
- OIANO-NETO, J.; SILVA, M.F.G.F. da; FERNANDES, J.B.; VIEIRA, P.C.; PINHEIRO, A.L. Norlimonoids from seeds of *Toona ciliata*. **Phytochemistry**, Oxford, v. 49, n. 5, p. 1369-1373, 1998.
- OSTRAUKAS, H.; IVINSKIS, P. Records of the tomato pinworm (*Tuta absoluta* (Meyrick, 1917)) – Lepidoptera:Gelechiidae – in Lithuania. **Acta Zoologica Lituanica**, Vilnius, v. 20, p. 151-155, 2010.
- PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. *Trichogramma* in Brazil: feasibility of use after twenty years of research. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, p. 271-281, 2004.
- PENNINGTON, T.D.; STYLES, B.T. A generic monograph of the Meliaceae. **Blumea**, Leiden, v. 22, p. 419, 1975.
- PEREIRA JUNIOR, O.L.; WOLTER FILHO, W.; WOLTER, E.L.A.; ZOGHBI, M.G.; SIQUEIRA, J.B.G.; PINHEIRO, C.C.S. Atividade biológica de um novo triterpeno isolado de *Guarea carinata* (Meliaceae). **Acta Amazônica**, Manaus, v. 23, n. 2, p. 173-176, 1993.
- PEREZ, J.; EIGENBRODE, S.; HILJE, L.; TRIPEPI, R.; AGUILAR, M.E.; MESÉN, F. Leaves from grafted Meliaceae species affect survival and performance of *Hypsipyla grandella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae) larvae. **Journal of Pest Science**, Berlin, v. 83, p. 83-95, 2010a.
- _____. Use of grafting to prevent *Hypsipyla grandella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae) damage to new world Meliaceae species. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 39, n. 4, p. 618-625, 2010b.
- PICANÇO, M.; GUEDES, R.N.C.; LEITE, G.L.D.; FONTES, P.C.R.; SILVA, E.A. Incidência de *Scrobipalpus absoluta* em tomateiro sob diferentes sistemas de tutoramento e de controle químico. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 13, p. 180-183, 1995.
- PICANÇO, M.C.; PAULA, S.V. de; MORAES JR., A.R.; OLIVEIRA, I.R. de; SEMEÃO, A.A.; ROSADO, J.F. Impactos financeiros da adoção de manejo integrado de pragas na cultura do tomateiro. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 26, p. 245-252, 2004.
- PITTA, R.M. **Atividade de extratos orgânicos de meliáceas e óleos essenciais de piperáceas sobre *Rhopalosiphum maidis* (Hemiptera: Aphididae)**. 2010. 101 p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

POUEY, G.F.; CHIRINOS, D.T.; RIVERO, G. Notas sobre *Keiferia lycopersicella* (Walsingham), (Lepidoptera: Gelechiidae), en Venezuela. **Boletín de Entomología Venezolana**, Caracas, v. 9, p. 203-206, 1994.

POVOLNY, D. On three neotropical species of Gnorimoschemini (Lepidoptera, Gelechiidae) mining Solanaceae. **Acta Universitatis Agriculturae Facultas Agronômica**, Khorramabad, v. 2, p. 379-393, 1975.

PRATISSOLI, D.; PARRA, J.R.P.; FERNANDES, O.A.; OLIVEIRA, R.C.; ZAGO, H.B.; PEREIRA, F.F. Oviposition pattern of the tomato leafminer, *Tuta absoluta* (Lep.: Gelechiidae), on tomato under different population densities of adults in greenhouse. **Agro-Ciência**, Concepcion, v. 19, p. 11-15, 2003.

PRATISSOLI, D.; THULER, R.T.; ANDRADE, G.S.; ZANOTTI, L.C.M.; SILVA, A.F. Estimativa de *Trichogramma pretiosum* para controle de *Tuta absoluta* em tomateiro estaqueado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, p. 715-718, 2005.

PREMACHANDRA, D.W.T.S.; BORGEMEISTER, C.; POEHLING, H. Effects of neem and spinosad on *Ceratothripoides claratis* (Thysanoptera: Thripidae), an important vegetable pest in Thailand, under laboratory and greenhouse conditions. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 98, p. 438-448, 2005.

PROCÓPIO, S.O.; VENDRAMIM, J.D.; RIBEIRO JÚNIOR, J.I.; SANTOS, J.B.; Bioatividade de diversos pós de origem vegetal em relação a *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, p. 1231-1236, 2003.

PURWAR, J.P.; SACHAN, G.C. Synergistic effect of entomogenous fungi on some insecticides against Bihar hairy caterpillar, *Spilarctia obliqua* (Lepidoptera: Arctiidae). **Microbiological Research**, Jena, v. 161, p. 38-42, 2006.

QUIROZ, E.C. Nuevos antecedentes sobre la biología de la polilla del tomate, *Scrobipalpula absoluta* (Meyrick). **Agricultura Técnica**, Santiago de Chile, v. 36, p. 82-86, 1976.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R**: a language and environment for (2008). Disponível em: <www.r-project.org>. Acesso em: 01 jun. 2010.

RAGURAMAN, S.; GANAPATHY, N.; VENKATESAN, T. Neem versus entomopathogens and natural enemies of crop pests: the potential impact and strategies. In: KOUL, O.; WAHAD, S. (Ed.). **Neem**: today and in the new millenium. New York: Klumer Academic, 2004. p. 125-182.

RAGURAN, S.; SINGH, R.P. Biological effects of neem (*Azadirachta indica*) seed on an egg parasitoid, *Trichogramma chilonis*. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 92, p. 1274-1280, 1999.

RAJASEKHAR, P., RAO, N.V. VENKATAIAH, M. Utility of insecticide additives for managing *Helicoverpa armigera* on cotton. **Pesticide Research Journal**, New Delhi, v. 8, p. 119-123, 1996.

RAMPELOTTI, F.T.; PRANDO, H.F.; FERREIRA, A.; TCACENCO, F.A.; GRÜTZMACHER, A.D.; MARTINS, J.F.S. Compatibilidade de inseticidas com o fungo *Metarhizium anisopliae*, visando ao controle do percevejo-do-colmo do arroz *Tibraca limbativentris* (Hemiptera: Pentatomidae). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 21., 2006, Recife. **Anais...** Recife: SEB, 2006. 1 CD-ROM.

RAMPELOTTI, F.T.; PRANDO, H.F.; MARTINS, J.F.S.; FERREIRA, A.; TCACENCO, F.A.; GRÜTZMACHER, A.D. Compatibilidade de herbicidas utilizados na cultura do arroz com o fungo *Metarhizium anisopliae*, visando o controle do percevejo-do-colmo do arroz. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 5.; REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 27., 2007, Pelotas. **Anais...** Pelotas: SOSBAI, 2007. v. 2, p. 39-41.

RAMPELOTTI-FERREIRA, F.T.; FERREIRA, A.; PRANDO, H.F.; TCACENCO, F.A.; GRÜTZMACHER, A.D.; MARTINS, J.F.S. Seletividade de agrotóxicos utilizados na cultura do arroz irrigado ao fungo *Metarhizium anisopliae*, agente de controle microbiano de *Tibraca limbativentris*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, p. 145-751, 2010.

RÁZURI, V.; VARGAS, E. Biología y comportamiento de *Scrobipalpula absoluta* Meyrick (Lep., Gelechiidae) em tomatera. **Revista Peruana de Entomología**, Lima, v. 18, p. 84-89, 1975.

RIPA, S.R.; ROJAS, P.S.; VELASCO, G. Releases of biological control agents of insect pests on Easter Island (Pacific Ocean). **Entomophaga**, Paris, v. 40, p.427-440, 1995.

RIQUELME, M.B.; BOTTO, E.N. Dispersión y persistencia de *Trichogrammatoidea bactrae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) en cultivo de tomate bajo cubierta. In: CONGRESSO CHILENO DE ENTOMOLOGIA, 25., 2003, Talca. **Anais...** p. 23.

ROCHA, W.C. **Busca de substâncias bioativas em plantas amazônicas: *Adiscanthus fusciflorus* (Rutaceae), *Trichilia pallida* e *T. rubra* (Meliaceae).** 2004. 243 p. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2004.

RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, C.; VENDRAMIM, J.D. Toxicidad de extractos acuosos de Meliaceae en *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Manejo Integrado de Plagas**, Turrialba, v.42, p.14-22, 1996.

_____. Avaliação da bioatividade de extratos aquosos de Meliaceae sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). **Revista da Agricultura**, Piracicaba, v. 72, p. 305-318, 1997.

RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, L.D.A.; LAGUNES, T.A.; ROSTRA, D.D.; RODRÍGUEZ M.C.; VELÁZQUEZ, M.J.; BEARRIL, R.E.; RODRÍGUEZ, C.S.; PACHECO, N.E. Compatibilidad de *Beauveria bassiana* y extractos acuosos de nim (*Azadirachta indica*) para el control de la broca del cafeto (*Hypothenemus hampei*). **Manejo Integrado de Plagas**, Turrialba, v. 44, p. 14-19, 1997.

RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, M.; GERDING, M.; FRANCE, A. Efectividad de aislamientos de hongos entomopatógenos sobre larvas de polilla del tomate *Tuta absoluta* Meyrick (LEPIDOPTERA: GELECHIIDAE). **Agricultura Técnica**, Santiago de Chile, v. 66, p. 159-165, 2006a.

_____. Selección de aislamientos de hongos entomopatógenos para el control de huevos de la polilla del tomate *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) **Agricultura Técnica**, Santiago de Chile, v. 66, 151-158, 2006b.

ROEL, A.R.; VENDRAMIM, J.D. Efeito residual do extrato acetato de etila de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) para lagartas de diferentes idades de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, p. 1049-1054, 2006.

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

_____. Efeito do extrato acetato de etila de *Trichilia pallida* (Swartz) (Meliaceae) no desenvolvimento e sobrevivência da lagarta-do-cartucho. **Bragantia**, Campinas, v. 59, p. 53-58, 2000b.

ROSA, D.S.; PENTEADO, D.F.; CALIL, M.R. Propriedades térmicas e biodegradabilidade de PCL e PHB em um pool de fungos. **Revista de Ciência & Tecnologia**, Piracicaba, v. 15, p. 75-80, 2000.

ROSEN, H.; ABRIBAT, T. The rise and rise of drug delivery. **Nature Reviews Drug Discovery**, London, v. 4, p. 381-385, 2005.

ROSSI-ZALAF, L.S.; ALVES, S.B.; LOPES, R.B.; SILVEIRA NETO, S.; TANZINI, M.R. Interação de microrganismos com outros agentes de controle de pragas e doenças. In: ALVES, S.B.; LOPES, R.B. (Ed.). **Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios**. Piracicaba: FEALQ, 2008. p. 279-302.

ROVESTI, L.; DESEÖ, K.V. Effectiveness of neem seed kernel extract against *Leucoptera malifoliella* Costa (Lep., Lyonetiidae). **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 111, p. 231-236, 1991.

SABER, M.; HEJAZI, M.J.; HASSAN, S.A. Effects of Azadirachtin/Neemazal on different stages and adult life table parameters of *Trichogramma cacoeciae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Journal of Economic Entomology**, Washington, v. 97, p. 905-910, 2004.

SANNINO, L.; NICODEMO, F. Su una insolita infestazione di *Phthorimaea operculella* Zell. (Lepidoptera: Gelechiidae) al tabacco nel salernitano. **Annales Istituto Sperimentale per il Tabacco**, Scafati, v. 5, p. 125-135, 1979.

SARAI, G.; ANGIONI, A.; LAI, F.; CABRAS, P.; CABONI, P. Persistence of two neem formulations on peach leaves and fruit: effect of the distribution. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 57, p. 2457-2461, 2009.

SARODE, S.V.; JUMADE, Y.S.; DEOTALE, R.O.; THAKARE, H.S. Bioefficacy of neem seed kernel extract (NSKE) and Heliothis nuclear polyhedrosis virus (HNPV) against *Helicoverpa (Heliothis) armigera* (Hub.) on cotton. **PKV Research Journal**, Maharashtra, v. 20, p. 96-97, 1996.

SASSON, Y.; LEVY-RUSO, G.; TOLEDANO, O.; ISHAAYA, I. Nanosuspensions: Emerging Novel Agrochemical Formulations. In: ISHAAYA, I.; NAUEN, R.; HOROWIT, A.R. (Ed.). **Insecticides design using advanced technologies**. Berlin: Springer Verlag, 2007. chap. 1, p. 1-39.

SCARDINI, D.M.B.; FERREIRA, L.R.; GALVEAE, P.A.O. Ocorrência da traça-do-tomateiro *Scrobipalpula absoluta* (Meyr.) no Estado do Espírito Santo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 8., 1983, Brasília. **Resumos...** Brasília: SEB, 1983, p. 72

SCHAFFAZICK, S.R.; GUTERRES, S.S.; FREITAS, L.L.; POHLMANN, A.R. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. **Química Nova**, São Paulo, v. 26, p. 726-737, 2003.

SCOTT, M.; KAUSHIK, N.M. The toxicity of neem insecticide to populations of Culicidae and other aquatic invertebrates as assessed *in situ* microcosms. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v. 39, p. 329-336, 2000.

SHAPIRO, M.; ROBERTSON, J.L.; WEBB, R.E. Effect of neem seed extract upon the gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae) and its polyhedrosis virus. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 87, p. 356-360, 1994.

SILVA, A.C.; CARVALHO, G.A. Manejo integrado de pragas. In: ALVARENGA, M.A.R. (Ed.). **Tomate: produção em campo em casa-de-vegetação e em hidroponia**. Lavras: Editora, UFLA, 2004. cap. 10.

SILVA, J.B.C.; GIORDANO L. DE B.; FURUMOTO, O.; BOITEUX, L.S.; FRANÇA, F.H.; VILLAS BÔAS, G.L.; MEDEIROS, M.A.; MAROWELLI, W.; SILVAS, W.L.D.E; LOPES, C.A.; ÁVILA, A.C.; NASCIMENTO, W.M.; PEREIRA, W. **Cultivo de tomate para industrialização**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2000. (Sistemas de Produção, 3).

SILVA, M.A. **Avaliação do potencial inseticida de *Azadirachta indica* (Meliaceae) visando ao controle de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae)**. 2010. 159 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

SILVA, R.Z.; NEVES, P.M.O.J.; SANTORO, P.H. Técnicas e parâmetros utilizados nos estudos de compatibilidade entre fungos entomopatogênicos e produtos fitossanitários. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 26, p. 305-312, 2005.

SILVÉRIO, F.O.; DE ALVARENGA, E.S.; MORENO, S.C.; PICANÇO, M.C. Synthesis and insecticidal activity of new pyrethroids. **Pest Management Science**, Sussex, v. 65, p. 900–905, 2009.

SIMMONDS, M.S.J.; STEVENSON, P.C.; PORTER, E.A.; VEITCH, N.C. Insect antifeedant activity of three new tetranortriterpenoids from *Trichilia pallida*. **Journal of Natural Products**, Cincinnati, v. 64, p. 1117-1120, 2001.

SOUZA, A.P.; VENDRAMIM, J.D. Efeito translaminar, sistêmico e de contato de extrato aquoso de sementes de nim sobre *Bemisia tabaci* (Genn.) biótipo B em tomateiro. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 34, p. 83-87, 2005.

SOUZA, J.C.; REIS, P.R. Controle da traça-do-tomateiro em Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 21, p. 343-354, 1986.

_____. **Traça-do-tomateiro: histórico, reconhecimento, biologia, prejuízos e controle**. Belo Horizonte: EPAMIG, 1992. 20 p. (Boletim Técnico, 38).

SPSS STATISTICS. **SPSS statistics v.17.0.0**. Chicago, USA.

STARK, J.D.; WALTER, J.F. Neem oil and neem oil components affect the efficacy of commercial neem insecticides. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 43, p. 507-512, 1995.

SUINAGA, F.A.; CASALI, V.W.D.; SILVA, D.J.H. da; PICANÇO, M.C. Dissimilaridade genética de fontes de resistência de *Lycopersicon* spp. a *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae). **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 9, p. 371-376, 2003.

TACO, E.; QUISPE, R.; BOBADILLA, D.; VARGAS, H.; JIMENEZ, M.; MORALES, A. Resultados preliminares de un ensayo de control biológico de la polilla del tomate, *Tuta absoluta* (Meyrick), en el valle de Azapa. In: CONGRESO LATINO-AMERICANO DE HORTICULTURA, 9., 1998, Santiago. **Anais...** Santiago, 1998. p. 54-56.

TANDON, S.; MITTAL, A.K.; PANT, A.K. Growth-regulatory activity of *Trichilia connaroides* (syn. *Heynea trijuga*) leaf extracts against the Bihar hairy caterpillar *Spilosoma obliqua* (Lepidoptera: Arctiidae). **Pant International Journal of Tropical Insect Science**, Wallingford, v. 29, p. 180-184, 2009.

TANZUBIL, P.B.; MCCAFFERY, A.R. Effects of azadirachtin and aqueous neem seed extracts on survival, growth and development of the African armyworm, *Spodoptera exempta*. **Crop Protection**, Guildford, v. 9, p. 383-386, 1990.

TAVARES, M.A.G.C.; VENDRAMIM, J.D. Bioatividade da erva-de-santa-maria, *Chenopodium ambrosioides* L., sobre *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 34, p. 319-323, 2005.

THOEMING, G.; DRAEGER, G.; POEHLING, H.M. Soil application of azadirachtin and 3-tigloyl-azadirachtol to control western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae): translocation and persistence in bean plants. **Pest Management Science**, Sussex, v. 62, p. 759-767, 2006.

THOEMING, G.; BORGEMEISTER, C.; SÉTAMOU, M.; POEHLING, H.M. Systemic effects of neem on western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae). **Journal of Economic Entomology**, Washington, v. 96, p. 817-825, 2003.

THOMAZINI, A.P.B.W.; VENDRAMIM, J.D.; LOPES, M.T.R. Extratos aquosos de *Trichilia pallida* e a traça-do-tomateiro. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 57, p. 13-17, 2000.

TORRES, J.B.; FARIA, C.A.; EVANGELISTA, W.S. JR; PRATISSOLI, D. Within-plant distribution of the leaf miner *Tuta absoluta* (Meyrick) immatures in processing tomatoes, with notes on plant phenology. **International Journal of Pest Management**, London, v. 47, p. 173-178, 2001.

TORRES, A.L.; JÚNIOR, A.L.B.; MEDEIROS, C.A.M.; BARROS, R. Efeito de extratos aquosos de *Azadirachta indica*, *Melia azedarach* e *Aspidosperma pyrifolium* no desenvolvimento e oviposição de *Plutella xylostella*. **Bragantia**, Campinas, v. 65, p.447-457, 2006.

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

UCHÔA-FERNANDES, M.A.; DELLA LUCIA, T.M.C.; VILELA, E.F. Mating, oviposition and pupation of *Scrobipalpuloides absoluta* (Meyr.) (Lepidoptera: Gelechiidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 24, p. 159-164, 1995.

URBANEJA, A.; VERCHER, R.; NAVARRO, V.; MARÍ, F.G.; PORCUNA, J.L. La polilla del tomate, *Tuta absoluta*. **Phytoma España**, Madrid, v. 194, p. 16-23, 2007.

VALADARES-INGLIS, M.C.; INGLIS, P.W.; QUEIROZ P.R.; CASTRO, M.E.B. Genética e biologia molecular de fungos e vírus utilizados no controle biológico. In: MELO, I.S. DE, VALADARES-INGLIS, M.C.; NASS, L.L.; VALOIS, A.C.C. (Ed.). **Recursos genéticos e melhoramento – microrganismos**. Jaguariúna: EMBRAPA Meio Ambiente, 2002. p. 478-518.

VALLEJO, F.A. **Mejoramiento genético y producción de tomate en Colombia**. Colombia: Universidad Nacional de Colombia, 1999. 216 p.

VARGAS, H. Observaciones sobre la biología y enemigos naturales de la polilla del tomate *Gnorimoschema absoluta* (Meyrick) (Lep. Gelechiidae). **Idesia**, Arica, v. 1, p. 75-110, 1970.

VEGA, F.E.; DOWD, P.F.; MCGUIRE, M.R.; JACKSON, M.A.; NELSEN, T.C. In vitro effects of secondary plant compounds on germination of blastospores of the entomopathogenic fungus *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes). **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 70, p. 209-213, 1997.

VENDRAMIM, J.D. Plantas inseticidas In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 16., 1997, Salvador. **Resumos...** Salvador: SEB, 1997. p. 10.

VENDRAMIM, J.D.; THOMAZINI A.P.B.W. Traça *Tuta absoluta* Meyrick) em cultivares de tomateiro tratadas com extratos aquosos de *Trichilia pallida* Swartz **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 58, p. 607-611, 2001

VENDRAMIM, J.D.; TORRECILLAS, S.M. Efecto de extractos aquosos de *Trichilia pallida* (Meliaceae) y genotipos resistentes de maíz sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). In: SIMPOSIO INTERNACIONAL SOBRE SUBSTANCIAS VEGETALES Y MINERALES EN EL COMBATE DE PLAGAS, 1., 1998, Acapulco. **Memorias...** Puebla: Colégio de Postgraduados, 1998. p. 133-144.

VENTURA, M.U. **Efeito de genótipo de *Lycopersicon* spp. sobre *Phthorimaea operculella* (Zeller, 1873) e toxicidade dos aleloquímicos 2-tridecanona e 2-undecanona**. 1992. 82 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1992.

VERCHER, R.; CALABUIG, A.; FELIPE, C. Ecología, muestreos y umbrales de *Tuta absoluta* (Meyrick). **Phytoma España**, Madrid, v. 217, p. 23-26, 2010.

VERKERK, R.H.J.; NEUGEBAUER, K.R.; ELLIS, P.R.; WRIGHT, D.J. Aphids on cabbage: tritrophic and selective insecticide interactions. **Bulletin of Entomological Research**, Farnham Royal, v. 88, p. 343-349, 1998.

VILELA, E.F. Adoção de feromônios no manejo integrado de pragas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 27, p. 315-318, 1992.

VILLAS BÔAS, G.L.; FRANCA, F.H. Utilização do parasitóide *Trichogramma pretiosum* no controle da traça-do-tomateiro em cultivo protegido de tomate. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 14, p. 223-225, 1996.

VILLAS BÔAS, G.L.; BRANCO, M.C.; MEDEIROS, M.A. **Novas formas de manejo integrado da traça-do-tomateiro**. Brasília: EMBRAPA Hortaliças, 2005. 15 p. (Comunicado Técnico, 29).

WHEELER, D.A.; ISMAN, M.B. Antifeedant and toxic activity of *Trichilia americana* extract against the larvae of *Spodoptera litura*, **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v. 98, p. 9-16, 2001.

WHEELER, D.A.; ISMAN, M.B.; SANCHEZ-VINDAS, P.E.; ARNASON, J.T. Screening of Costa Rican *Trichilia* species for biological activity against the larvae of *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 29, p. 347-358, 2001.

WIESBROOK, M. L. Natural indeed: Are natural insecticides safer and better than conventional insecticides? **Illinois Pesticide Review**, Urbana, v. 17, p. 1-3, 2004.

XIE, Y.S.; ISMAN, M.B.; GUNNING, P.; MACKINNON, S.; ARNASON, J.T.; TAYLOR, D.R.; SANCHEZ, P.; HASBUN, C.; TOWERS, G.H.N. Biological activity of extracts of *Trichilia* species and the limonoid hirtin against lepidopteran larvae. **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 22, p. 129-136, 1994.