Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Bioatividade de extratos orgânicos de meliáceas e óleos essenciais de piperáceas sobre *Rhopalosiphum maidis* (Hemiptera: Aphididae)

Rafael Major Pitta

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

Piracicaba
2010

Rafael Major Pitta
Engenheiro Agrônomo

Bioatividade de extratos orgânicos de meliáceas e óleos essenciais de piperáceas sobre *Rhopalosiphum maidis* (Hemiptera: Aphididae)

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

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

Piracicaba
2010

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

Pitta, Rafael Major
Bioatividade de extratos orgânicos de meliáceas e óleos essenciais de piperáceas sobre *Rhopalosiphum maidis* (Hemiptera: Aphididae) / Rafael Major Pitta. - - Piracicaba, 2010.
101 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2010.

1. Insetos vetores 2. Manejo integrado 3. Piperales 4. Plantas produtoras de pesticida 5. Pulgão 6. Repelentes 7. Rutales I. Título

CDD 632.752
P688b

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

Aos meus pais, Bonfim Pitta e Fátima Elias Major Pitta, pelo carinho, confiança e por serem exemplos de dignidade que levarei para toda a vida, e aos meus irmãos, Gabriel Major Pitta e Francieli Major Pitta, pelo carinho e companheirismo de todos esses anos.

OFEREÇO

A minha amada noiva, Erika Pessoa Japhyassu Britto, por todo carinho, compreensão, companheirismo e motivação.

DEDICO

A persistência é o caminho do êxito
(Charles Chaplin)

AGRADECIMENTOS

A Deus, aquele a quem eu recorro pedindo coragem.

Ao prof. Dr. José Djair Vendramim, pela orientação, confiança, amizade e exemplo de profissionalismo e educação.

Aos professores do PPG Entomologia, Drs. José Roberto Postali Parra, Fernando Luis Cônsoli, José Mauricio Simões Bento, Wesley Augusto Conde Godoy, Roberto Antonio Zucchi por compartilharem seus conhecimentos entomológicos, em especial ao prof. Celso Omoto por ser um exemplo de dedicação.

Ao professor Dr. João Roberto Spotti Lopes, por “abrir as portas de seu laboratório” permitindo utilizar o EPG, e pela confiança a mim concedida.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” ESALQ/USP, especificamente ao Departamento de Entomologia e Acarologia, pela oportunidade de realizar meu sonho de concretizar um doutorado nesta instituição.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, pela concessão da bolsa de estudos.

Aos cidadãos contribuintes que com seus impostos, me proporcionaram uma universidade com toda estrutura necessária para trabalhar e receber uma bolsa de estudos.

Ao pesquisador da EMBRAPA Milho e Sorgo, Dr. Flávio Tardin, pelo fornecimento das sementes de sorgo.

Ao Engenheiro Agrônomo Gabriel Colleta, pela identificação das espécies de piperáceas.

Aos colegas e amigos do laboratório de Resistência de Plantas e Plantas Inseticidas pelo bom convívio e companheirismo: Angelina Marcomini, Maria Auxiliadora Oriani, Cristina Jensen, Eliane Grisoto, Leandro Ribeiro, Marcelo Dimase, Gabriel L.

Gonçalves, Marcio Silva, Marcos Aurélio A. Lima, Paulo César Bogorni, Sheila S. Carvalho, Mônica S. Santos e Fátima T. Rampelotti-Ferreira. Agradecimento especial ao Leandro por me ensinar sobre extração de óleo essencial e à Fatima pelas sugestões e auxílio na correção da tese.

Aos colegas e amigos do PPG Entomologia, Oderlei Bernardi, Bruno De Conti, Aluisio Coelho Junior, Juliana Balbinotte, Lorena A. Nunes, Leandro D. Geremias, Agustín Cerna Mendoza, Tiago Cardoso da Costa Lima, Cherre Sade Bezerra da Silva, Karina Cordeiro Albernaz, Oscar A. B. N. e Silva, Guilherme Duarte Rossi, Maria Fernanda G. Peñaflor, Newton Cavalcanti de Noronha Junior, Cristiane Müller, Gleidyane Novais Lopes, Osmar René Díaz, Samuel Roggia, Rejane Cristina Roppa Kuss Roggia e aos parceiros de república Alex Sandro Poltronieri e Pedro Rogério Giongo, pela boa convivência, interação e ajuda, além das conversas fiadas em festas, “só trabalho não dá né !”

Aos familiares de minha noiva, José Reinaldo C. Britto, Maria das Graças Alencar P. Britto e Fabiana Pessoa Japhyassu Britto, pelo incentivo e carinho.

À amiga e professora de Inglês Lia Silvia N. Amuy, pelos bons papos além de conseguir que eu aprendesse Inglês. “Thank you”.

Às bibliotecárias Eliana Maria Garcia e Silvia Maria Zinsly, pela correção da formatação da tese.

E a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a obtenção desta conquista.

SUMÁRIO

RESUMO..... 11
ABSTRACT..... 13
LISTA DE FIGURAS..... 15
LISTA DE TABELAS..... 17
1 INTRODUÇÃO..... 21
2 REVISÃO BIBLIOGRAFICA..... 25
2.1 Aspectos descritivos de *Rhopalosiphum maidis*..... 25
2.2 Ocorrência e prejuízos causados por *R. maidis*..... 26
2.3 Uso de extratos botânicos no controle de insetos com ênfase a afídeos..... 27
2.4 Alteração comportamental de afídeos causada por extratos botânicos 29
2.5 Bioatividade de meliáceas sobre artrópodes..... 31
2.5.1 Bioatividade de plantas pertencentes ao gênero *Toona*..... 31
2.5.2 Bioatividade de plantas pertencentes ao gênero *Guarea*..... 32
2.5.3 Bioatividade de plantas pertencentes ao gênero *Trichilia*..... 33
2.6 Bioatividade de piperáceas sobre insetos..... 36
2.7 Bioatividade de óleos essenciais sobre artrópodes..... 37
3 MATERIAL E MÉTODOS..... 39
3.1 Coleta de *R. maidis*..... 39
3.2 Criação de *R. maidis*..... 39
3.3 Semeadura de plantas de sorgo..... 40
3.4 Atividades inseticida e fagodeterrente de extratos orgânicos de meliáceas..... 40
3.4.1 Coleta das plantas e preparação dos pós vegetais..... 40
3.4.2 Preparação dos extratos..... 40
3.4.3 Seleção dos extratos orgânicos de meliáceas com atividade inseticida sobre *R. maidis*..... 41
3.4.4 Fracionamento do extrato hexânico de *T. pallida*..... 42

3.4.5 Seleção das frações do extrato hexânico de *T. pallida* com atividade inseticida sobre *R. maidis*..... 43
3.4.6 Determinação da linha de suscetibilidade de *R. maidis* à fração hexânica de *T. pallida*..... 44
3.4.7 Ação de contato da fração hexânica de *T. pallida* sobre ninfas de *R. maidis*..... 45
3.4.8 Ação translaminar da fração hexânica de *T. pallida* sobre ninfas de *R. maidis*..... 45
3.4.9 Efeito da fração hexânica de *T. pallida* no comportamento alimentar de adultos ápteros de *R. maidis*..... 46
3.5 Atividade inseticida e alterações comportamentais causadas pelos óleos essenciais de piperáceas sobre *R. maidis*..... 49
3.5.1 Coleta das plantas e obtenção dos óleos essenciais..... 49
3.5.2 Seleção do óleo essencial com maiores atividades inseticida e repelente sobre *R. maidis*..... 50
3.5.3 Efeito fumigante do óleo essencial de *P. claussenianum* sobre *R. maidis*..... 51
3.5.4 Ação inseticida de contato do óleo essencial de *P. claussenianum* sobre ninfas de *R. maidis*..... 52
3.5.5 Efeito repelente do óleo essencial de *P. claussenianum* sobre alados de *R. maidis*..... 52
3.5.6 Efeito do óleo essencial de *P. claussenianum* no comportamento alimentar de adultos ápteros de *R. maidis*..... 54
3.6 Análises estatísticas..... 54
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 57
4.1 Seleção dos extratos orgânicos de meliáceas com atividade sobre *R. maidis*..... 57
4.1.1 Seleção das frações do extrato hexânico de *T. pallida* com atividade sobre *R. maidis*..... 62

4.1.2 Determinação da linha de suscetibilidade de *R. maidis* à fração hexânica de *T. pallida*..... 64
4.1.3 Ação de contato da fração hexânica de *T. pallida* sobre ninfas de *R. maidis*..... 66
4.1.4 Ação translaminar da fração hexânica de *T. pallida* sobre ninfas de *R. maidis*..... 67
4.1.5 Efeito da fração hexânica de *T. pallida* no comportamento alimentar de adultos ápteros de *R. maidis*..... 68
4.2 Seleção dos óleos essenciais de piperáceas com atividades inseticida e repelente sobre *R. maidis*..... 72
4.2.1 Efeito fumigante do óleo essencial de *P. claussenianum* sobre *R. maidis*..... 76
4.2.2 Efeito repelente do óleo essencial de *P. claussenianum* sobre alados de *R. maidis*..... 77
4.2.3 Ação inseticida de contato do óleo essencial de *P. claussenianum* sobre ninfas de *R. maidis*..... 80
4.2.4 Efeito do óleo essencial de *P. claussenianum* no comportamento alimentar de adultos ápteros de *R. maidis*..... 83

5 CONCLUSÕES..... 87
REFERÊNCIAS..... 89

RESUMO

Bioatividade de extratos orgânicos de meliáceas e óleos essenciais de piperáceas sobre *Rhopalosiphum maidis* (Hemiptera: Aphididae)

Os afídeos são importantes pragas na agricultura, principalmente por serem vetores de fitovírus, os quais são transmitidos geralmente no momento da picada de prova. Além disso, os afídeos também removem os aminoácidos nitrogenados das plantas ao se alimentarem no floema e injetam substâncias presentes na saliva, que interferem na fisiologia da planta. Entre as táticas de controle para o manejo integrado desses insetos, pode-se citar o emprego de inseticidas químicos ou botânicos e o uso de produtos repelentes que tornam as plantas pulverizadas não atrativas, evitando que pulgões pousem e se alimentem normalmente da planta. Nesse contexto, objetivou-se estudar a bioatividade de extratos orgânicos das Meliaceae *Trichilia pallida*, *Trichillia claussenii*,*Trichilia catigua*, *Toona ciliata* e *Guarea guidonia* e dos óleos essenciais das Piperaceae *Piper amalago*, *Piper umbellatum*, *Piper claussenianum* e *Piper* sp. em relação a pulgões, utilizando como espécie-modelo *R. maidis*. Os extratos orgânicos das Meliaceae foram obtidos, por maceração, com o uso dos solventes hexano, diclorometano e etanol, nessa sequência de extração. O extrato hexânico de *T. pallida* foi o que apresentou a maior atividade aficida, sendo então selecionado para fracionamento por cromatografia de coluna rápida utilizando, sequencialmente, os solventes hexano, acetato de etila e metanol. Entre as frações, a hexânica causou a maior mortalidade, sendo selecionada para a determinação dos modos de ação sobre *R. maidis*. A referida fração não apresentou ação de contato e nem ação neurotóxica; entretanto, foi constatada ação translaminar. No ensaio com *Electrical Penetration Graph* - EPG, os insetos apresentaram maior dificuldade para se alimentar. Entre as Piperaceae, a maior repelência e mortalidade a *R. maidis* foi causada por *P. claussenianum*, cujo óleo essencial foi então selecionado para os testes subsequentes. Sua atividade inseticida ocorreu por contato, causando rápida mortalidade, acreditando-se, assim, tratar-se de um efeito neurotóxico; não foi constatado, entretanto, efeito fumigante. Quanto às alterações comportamentais, constatou-se efeito repelente sobre alados por meio de teste com olfatômetro e o efeito fagodeterrente com uso do EPG. Com base nos resultados, conclui-se que entre os extratos orgânicos e óleos essenciais testados, a fração hexânica do extrato hexânico de *T. pallida* apresenta substâncias com atividade inseticida sobre *R. maidis*, sendo uma possível fonte para síntese de novos inseticidas e que o óleo essencial de *P. claussenianum* pode ser utilizado diretamente no controle de pulgões ou servir de fonte para a identificação de moléculas inseticidas para a síntese.

Palavras-chave: Afídeos, Plantas inseticidas, Meliaceae, Piperaceae, Fracionamento, Repelente, Fagodeterrente

ABSTRACT

Bioactivity of organic extracts from Meliaceae and essential oils from Piperaceae on *Rhopalosiphum maidis* (Hemiptera: Aphididae)

Aphids are important pests in agriculture mainly because they are vectors of phytovíruses, which are normally transmitted during the aphids probe. In addition, aphids not only remove amino-nitrogen from the plants while feeding in the phloem but also inject substances present in their saliva, which interfere in plant physiology. Among the strategies for the integrated management of these insects, we can state the use of chemical or botanical insecticides as well as repellents which turn the plants into non-attractive ones, thus avoiding that aphids land and feed normally from the plant. Therefore, we studied the bioactivity of organic extracts from the Meliaceae plants *Trichilia pallida*, *Trichilia claussenii*, *Trichilia catigua*, *Toona ciliata* and *Guarea guidonia* and essential oils from the Piperaceae plants *Piper amalago*, *Piper umbellatum*, *Piper claussenianum* and *Piper* sp. against aphids, using *R. maidis* as a model species. Organic extracts from Meliaceae were obtained by maceration technique using hexane, dichloromethane and ethanol solvents, in this sequence of extraction. Hexanic extract from *T. pallida* provoked the highest activity against aphids being chosen for the fractionation using a chromatographic column with fast flow and using hexane, ethyl acetate and methanol solvents, in this sequence. Hexanic fraction provoked the highest mortality among the fractions evaluated being chosen in order to understand its modes of action on *R. maidis*. This fraction had neither mode of action by contact nor neurotoxic action; however, its translaminar action was proved. Using the Electrical Penetration Graph - EPG, we observed that most of the insects had difficulty to feed themselves. Among the Piperaceae plants, the highest repellency and mortality of *R*. *maidis* was caused by *P. claussenianum* which was selected for the subsequent assays. Its insecticidal activity occurred through contact causing a fast mortality perhaps due to a neurotoxic effect. Nevertheless, a fumigant effect was not observed. With regard to behavioral changes, a repellent effect was proven on alates through olfactometer assay and a phagodeterrent effect was proven using EPG assay. According to the results, we concluded that among the organic extracts and essential oils evaluated, the hexanic fraction from hexanic extract from *T. pallida* contains substances with insecticidal activity against *R. maidis* being a potential source for synthesis of new insecticides while the essential oil from *P. claussenianum* may be used both to control aphids and to be a source for identification of insecticidal molecules aiming their synthesis.

Keywords: Aphids, Botanical insecticides, Meliaceae, Piperaceae, Fractionation, Repellent, Phagodeterrent

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema para obtenção das frações do extrato hexânico de *T. pallida.*..... 43

Figura 2 - Gaiolas do tipo *clip cage* utilizadas no ensaio de ação translaminar..... 46

Figura 3 - Avaliação do comportamento alimentar de *R. maidis*, através do EPG, em plantas de sorgo pulverizadas com a fração hexânica de *T. pallida*. A: lupa acoplada à bomba a vácuo para imobilizar o pulgão, B: detalhe do pulgão imobilizado pela bomba a vácuo e colado ao fio de ouro com cola de prata, C: Gaiola de Faraday e D: detalhe do pulgão sobre a folha de sorgo e colado ao fio de ouro..... 48

Figura 4 - Exemplo de um registro de EPG adaptado de Tjallingii (2006). A: padrões de onda onde np: período sem penetração, G: alimentação no xilema, c: caminhamento entre o parênquima, pd: picada de prova na célula, E1: salivação dentro do vaso do floema, E2: ingestão do líquido do floema, B: detalhe dos padrões de onda E1 e E2..... 49

Figura 5 - Olfatômetro de quatro vias utilizado no ensaio de repelência do óleo essencial de *P. claussenianum* a *R. maidis*..... 53

Figura 6 - Cromatografia de camada delgada dos extratos orgânicos das cinco meliáceas. Solvente de arraste hexano:acetona (5:3). 1: *G. guidonia* - hexano, 2: *G. guidonia* – diclorometano, 3: *G. guidonia* – etanol, 4: *T. pallida* – hexano, 5: *T. pallida* – diclorometano, 6: *T. pallida* – etanol, 7: *T. claussenii* – hexano, 8: *T. claussenii* – diclorometano, 9: *T. claussenii* – etanol, 10: *T. catigua* – hexano, 11: *T. catigua* – - diclorometano, 12: *T. catigua* – etanol, 13: *T. ciliata* – hexano, 14: *T. ciliata* – diclorometano, 15: *T. ciliata* – etanol. A: triterpenos, B: cumarinas, C: flavonóides, D: açúcares..... 59

Figura 7 - Rendimento das frações do extrato hexânico de *T. pallida*..... 62

Figura 8 - Mortalidade de ninfas em 1º ínstar de *R. maidis* mantidas sem alimentação Temperatura 24 ± 2ºC, Umidade Relativa 50 ± 10 % e Fotoperíodo 14:10 h..... 65

Figura 9 - Mortalidade de ninfas de *R. maidis* sobre folhas de sorgo pulverizadas com a fração hexânica de *T. pallida* nas superfícies abaxial ou adaxial. Temperatura 24 ± 2ºC, Umidade Relativa 50 ± 10 % e Fotoperíodo 14:10 h..... 67

Figura 10 - Análise de Componentes Principais (CP) do comportamento alimentar de adultos ápteros de *R. maidis* em plantas de sorgo tratadas com a fração hexânica de *T. pallida* pela técnica de EPG. Temperatura 24 ± 2ºC, Umidade Relativa 50 ± 10 % e Fotoperíodo de 14:10 h..... 69

Figura 11 - Variáveis canônicas baseadas na mortalidade e repelência de ninfas de *R. maidis* causadas pelo uso do óleo essencial de quatro piperáceas. Distância de Mahalanobis utilizada como distância de similaridade. Temperatura 24 ± 2ºC, Umidade Relativa 50 ± 10 % e Fotoperíodo 14:10 h..... 74

Figura 12 - Efeito fumigante do óleo essencial de *P. claussenianum* a ninfas de *R. maidis* durante 48 h de exposição. Temperatura 24 ± 2ºC, Umidade Relativa 50 ± 10 % e Fotoperíodo 14:10 h. Médias contrastadas pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade ^{ns} não significativo..... 76

Figura 13 - Mortalidade acumulada (%) de ninfas de *R. maidis* contaminadas por contato com óleo essencial de *P. claussenianum* a 1 % de concentração. Temperatura 24 ± 2ºC, Umidade Relativa 50 ± 10 % e Fotoperíodo 14:10 h..... 82

Figura 14 - Análise de Componentes Principais (CP) do comportamento alimentar de adultos ápteros de *R. maidis* em plantas de sorgo tratadas com óleo essencial de *P. claussenianum* pela técnica de EPG. Temperatura 25 ± 2ºC, Umidade Relativa 35 ± 10 % e Fotoperíodo 14:10 h..... 84

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Rendimento dos extratos orgânicos de meliáceas submetidas ao processo de extração por maceração na proporção de 1: 10 (pó vegetal: solvente)..... 58

Tabela 2 - Médias ± erro padrão da mortalidade diária acumulada (%) de ninfas de *R. maidis* em discos foliares tratados com extratos orgânicos de cinco meliáceas. Temperatura 24 ± 2ºC, Umidade Relativa 50 ± 10 % e Fotoperíodo 14:10 h..... 60

Tabela 3 - Médias ± erro padrão da mortalidade diária acumulada (%) de ninfas de *R. maidis* em discos foliares tratados com frações do extrato hexânico de *T. pallida*. Temperatura 24 ± 2ºC, Umidade Relativa 50 ± 10 % e Fotoperíodo 14:10 h..... 63

Tabela 4 - Estimativa de CL_{50} e TL_{50}, e coeficiente angular da fração hexânica do extrato hexânico de *T. pallida* testados sobre ninfas de *R. maidis*. Temperatura 24 ± 2ºC, Umidade Relativa 50 ± 10 % e Fotoperíodo 14:10 h..... 64

Tabela 5 - Médias ± erro padrão da Mortalidade de ninfas de *R. maidis* (%) em diferentes concentrações e tempos de exposição da fração hexânica de *T. pallida* por ação de contato. Temperatura 24 ± 2ºC, Umidade Relativa 50 ± 10 % e Fotoperíodo 14:10 h..... 66

Tabela 6 - Contribuição das variáveis analisadas para diferenciação dos tratamentos (controle e fração hexânica) baseada nas correlações.. 70

Tabela 7 - Média ± erro padrão dos parâmetros analisados no comportamento alimentar de adultos ápteros de *R. maidis* em plantas de sorgo tratadas com fração hexânica de *T. pallida* pela técnica de EPG. Temperatura 24 ± 2ºC, Umidade Relativa 50 ± 10 % e Fotoperíodo de 14:10 h..... 71

Tabela 8 - Rendimento dos óleos essenciais de piperáceas submetidas ao processo de extração por hidrodestilação..... 72

Tabela 9 - Média ± erro padrão de mortalidade e repelência (%) acumulada de *R. maidis* causadas pelo óleo essencial de quatro piperáceas. Temperatura 24 ± 2ºC, Umidade Relativa 50 ± 10 % e Fotoperiodo 14:10 h..... 75

Tabela 10 - Níveis de significância (qui-quadrado) das diferenças entre os tratamentos pela análise de variáveis canônicas (repelência + mortalidade)..... 75

Tabela 11 - Média ± erro padrão da resposta de alados de *R. maidis* ao óleo essencial de *P. claussenianum* em olfatômetro: tempo médio de permanência (min) e número médio de entradas nos braços tratado e controle. Temperatura 24 ± 2ºC, Umidade Relativa 50 ± 10 % e Fotoperíodo 14:10 h..... 79

Tabela 12 - Média ± erro padrão da mortalidade acumulada (%) de ninfas de *R. maidis* por ação de contato em cinco períodos de exposição ao óleo de *P. claussenianum.* Temperatura 24 ± 2ºC, Umidade Relativa 50 ± 10 % e Fotoperíodo 14:10 h..... 80

Tabela 13 - Média ± erro padrão da mortalidade acumulada (%) de ninfas de *R. maidis* por ação de contato em quatro concentrações do óleo de *P. claussenianum.* Temperatura 24 ± 2ºC, Umidade Relativa 50 ± 10 % e Fotoperíodo 14:10 h..... 81

Tabela 14 - Estimativas de CL_{50} e coeficiente angular do óleo essencial de *P. claussenianum* sobre ninfas de *R. maidis* por ação de contato. Temperatura 24 ± 2ºC, Umidade Relativa 50 ± 10 % e Fotoperíodo 14:10 h..... 82

Tabela 15 - Contribuição das variáveis analisadas para diferenciação dos tratamentos (água, 0,5 % e 1 % do óleo essencial de *P. claussenianum*) baseada nas correlações..... 85

Tabela 16 - Média ± erro padrão dos parâmetros analisados no comportamento alimentar de adultos ápteros de *R. maidis* em plantas de sorgo tratadas com óleo essencial de *P. claussenianum* pela técnica de EPG. Temperatura 25 ± 2ºC, Umidade Relativa 35 ± 10 % e Fotoperíodo 14:10 h..... 86

1 INTRODUÇÃO

Afídeos são um dos grupos mais importantes de pragas e estão amplamente distribuídos nos sistemas agrícolas causando perdas, direta ou indiretamente, em ecossistemas agrícolas ou florestais. Os efeitos diretos ocorrem devido à sucção de seiva no floema e injeção de substâncias ativas presentes na saliva, que interferem na performance fisiológica das culturas (fitotoxinas), além da remoção dos aminoácidos nitrogenados das plantas. Os efeitos indiretos ocorrem pela transmissão de fitovírus e excreção de *honeydew* que causam mudanças nas comunidades da microflora da superfície das plantas podendo influenciar a fisiologia das culturas (WELLINGS et al., 1989).

O afídeo *Rhopalosiphum maidis* é polífago e ocorre em regiões temperadas e tropicais, colonizando principalmente, sorgo, cevada e milho. No Brasil, esse inseto, inicialmente considerado praga secundária no cultivo de verão do milho, tornou-se importante no cultivo da safrinha (GASSEN, 1996). Provavelmente, isso é devido à predominância de temperaturas amenas nessa época de cultivo, condição esta que favorece seu desenvolvimento (FONSECA et al., 2003).

Outro fator a ser considerado é que o cultivo de safrinha ocorre na época de menor precipitação pluvial do ano, condição climática favorável ao desenvolvimento desse afídeo como comprovado por Maia et al. (2006) os quais verificaram que o pulgão *R. maidis* mantido em plantas de milho com déficit de água de 80 % apresentaram menores períodos ninfal, reprodutivo e longevidade, além de aumentar o número de descendentes por fêmea, proporcionando assim incremento no número de gerações, quando comparadas a insetos criados em plantas que não foram submetidas a estresse hídrico. O sorgo também é utilizado na safrinha devido sua alta resistência à seca (EMBRAPA, 2008), sendo outra planta hospedeira que fornece boas condições para o desenvolvimento de *R. maidis.*

Para o controle de *R. maidis* em sorgo, não existem inseticidas registrados no Brasil (BRASIL, 2010).

Como controle alternativo, é possível a utilização de produtos naturais, pois segundo Akhtar, Yeoung e Isman (2008), bioinseticidas são um importante grupo que

atuam frequentemente na proteção de plantas de forma lenta, o que normalmente torna-se mais seguro aos humanos e ao meio ambiente.

Na busca de inseticidas que atendam eses critérios de segurança, diversas pesquisas têm sido realizadas com extratos de plantas para proteção das culturas no campo e durante o armazenamento (BOEKE et al., 2004).

As plantas produzem metabólitos secundários que atuam como mecanismo de defesa que podem ser usados no controle de pragas. Essas substâncias podem afetar o comportamento alimentar ou alterar o balanço endócrino dos insetos (BALANDRIN et al., 1985).

Pesquisas com plantas inseticidas são realizadas basicamente com dois objetivos: descoberta de novas moléculas que permitam a obtenção de novos inseticidas sintéticos e/ou obtenção de inseticidas botânicos naturais para o uso direto no controle de pragas (VENDRAMIM; CASTIGLIONI, 2000).

Entre as plantas intensamente pesquisadas, as pertencente à família Meliaceae têm recebido atenção de pesquisadores principalmente pela presença de limonoides triterpenos (CHAMPAGNE et al., 1992), sendo vários deles com comprovada ação sobre insetos (ISMAN, 2006), exibindo as atividades biológicas como inseticida, anti-alimentar, e reguladora de crescimento (KOUL et al., 2004). A planta mais estudada, sob esse aspecto, é o nim, *Azadirachta indica* A. Juss, que produz entre suas substâncias inseticidas, a azadiractina (encontrada predominantemente nas sementes) como a mais eficaz por inibir a alimentação dos insetos, afetar o desenvolvimento das larvas, reduzir a fecundidade e fertilidade dos adultos e provocar alterações comportamentais, anomalias celulares e mortalidade de ovos, larvas e adultos (MARTINEZ, 2002).

A extrema complexidade estrutural da molécula de azadiractina dificulta sua síntese química em escala comercial e, assim, os produtos comerciais de nim são dependentes da disponibilidade de sementes de nim (SIMMONDS et al., 1990). Portanto, pesquisas têm sido desenvolvidas com outras espécies de plantas que possam ser fontes alternativas ao nim ou que tenham moléculas inseticidas quimicamente mais simples de serem sintetizadas (XIE et al., 1994).

Mesmo considerando os incrementos significativos de estudos nas últimas décadas, há uma grande lacuna de conhecimento da atividade inseticida da flora que precisa ser preenchida. Dessa forma, são necessários estudos que visem identificar plantas com ação inseticida, isolar, caracterizar e sintetizar compostos de interesse no controle de insetos (SHAPIRO, 1991).

O uso de óleos essenciais no controle de insetos tem se tornado de grande interesse pelos pesquisadores devido sua repelência causada pela alta volatilização, além de sua atividade inseticida e rápida degradação no ambiente (REGNAULT-ROGER; PHILOGÈNE, 2008).

Entre as famílias de plantas que produzem óleos essenciais encontra-se Piperaceae, na qual já foram constatados efeitos inseticida, repelente e deterrente (SCOTT et al., 2004).

Nesse contexto, objetivou-se estudar a bioatividade de extratos orgânicos de Meliaceae e de óleos essenciais de Piperaceae no controle de pulgões devido ao limitado número de informações dessas duas famílias de plantas sobre esse grupo de insetos-praga, tendo como linhas de pesquisa o uso direto como extrato botânico no controle de pulgões e/ou fornecer subsídios na busca de novas moléculas inseticidas para síntese, utilizando *R. maidis* como espécie-modelo para o estudo.

2 REVISÃO BIBLIOGRAFICA

2.1 Aspectos descritivos de *Rhopalosiphum maidis*

O pulgão *R. maidis*, em sua forma áptera, apresenta corpo bastante alongado e coloração variando de amarelo-esverdeado a verde-oliva-escuro ou azul-esverdeado, com sifúnculos pequenos com a base mais larga do que o ápice e tonalidade escura, antenas pequenas com tonalidade escura e comprimento do processo terminal menos que 2,5 vezes mais longo do que a base do último segmento antenal. Os alados têm coloração amarelo-esverdeada a verde-escura no abdome, sem marcas dorsais anteriores ao sifúnculo (BLACKMAN; EASTOP, 1984; PEREIRA; SALVADORI, 2005).

A reprodução desse inseto ocorre por partenogênese telítoca, ocorrendo o desenvolvimento dos embriões no interior do corpo das fêmeas, a partir de óvulos não fecundados, originando sempre fêmeas (GASSEN, 1996). Contudo, machos podem aparecer esporadicamente, principalmente em regiões de clima temperado (BLACKMAN; EASTOP, 1984).

Durante a fase jovem, *R. maidis* apresenta quatro ínstares, sendo os períodos ninfal, reprodutivo e pós-reprodutivo dependentes da temperatura ambiente. FONSECA et al. (2003) avaliaram a influência da temperatura na biologia desse afídeo mantido em sorgo, e obtiveram valores de 12,2 a 5,5 dias para o período pré-reprodutivo; 28,2 a 11,1 dias para o período reprodutivo e 21,1 a 4,4 dias para o período pós-reprodutivo, para as temperaturas extremas testadas de 15 e 30 ºC, respectivamente. Apesar de a temperatura de 30 ºC proporcionar o menor ciclo total (21 dias) contra 61,5 dias a 15 ºC, houve maior mortalidade de ninfas e adultos e, assim, os autores concluíram que as melhores temperaturas para o desenvolvimento do inseto foram 20 e 25 ºC.

Maia et al. (2004) obtiveram valores similares, concluindo que a faixa de 21 a 24ºC foi a mais favorável ao desenvolvimento de *R. maidis* em milho, encontrando um valor médio de 69 ninfas à temperatura de 24ºC, enquanto Fonseca et al. (2003), em sorgo, obtiveram valores de 49 ninfas a 25 ºC, evidenciando a influência também do hospedeiro na fecundidade do inseto.

2.2 Ocorrência e prejuízos causados por *R. maidis*

As maiores infestações ocorrem na safrinha, tendo início em plantas isoladas, disseminando-se em “manchas” na lavoura, sendo sua presença constatada no período vegetativo e, principalmente próximo ao florescimento masculino (GASSEN, 1996), o que corrobora os resultados de Maia et al. (2005) que constataram que a fase de pendoamento do milho é significativamente mais favorável ao desenvolvimento do pulgão.

Tanto os adultos como as ninfas dessa espécie preferem infestar as partes mais novas das plantas de sorgo. Em situações de estresse hídrico, os sintomas nas plantas são acentuados sendo caracterizados pela presença de folhas murchas ou com bordas necrosadas. Quando transmitida a virose, as folhas apresentam-se com mosaico verde-claro sobre o fundo verde-escuro (EMBRAPA, 2008).

Fonseca et al. (2004), ao selecionarem variedades resistentes a *R. maidis*, observaram que, em média, uma população de apenas 25 afídeos provoca uma redução percentual de crescimento de 20,6 % nas plantas. Aliado a isso, esse pulgão é o principal vetor do vírus do mosaico da cana-de-açúcar (SCMV - *Sugarcane mosaic virus*), tendo várias espécies como hospedeiras, incluindo cana-de-açúcar, sorgo, milho, milheto, capim-sudão, cevada, trigo, centeio e arroz (EMBRAPA, 2008).

O *Sugarcane mosaic virus* é um complexo de *strains*, contemplando isolados de *Sorghum halepense*, *Johnsongrass mosaic* (JGMV), milho *Maize dwarf mosaic* (MDMV), sorgo *Sorghum mosaic* (SrMV) e cana-de-açúcar *Sugarcane mosaic* (SCMV) (LESEMANN et al., 1992), que pertencem ao gênero *Potyvirus*, família *Potyviridae* (SHUKLA; WARD; BRUNT, 1994). São transmitidos por várias espécies de afídeos, sendo *R. maidis* e *Schizaphis graminum* os mais eficientes na transmissão (PIRONE, 1972; SHUKLA; WARD; BRUNT, 1994), cuja incidência é comum no Brasil (SOUZA-SILVA; ILHARCO, 1995). Gonçalves et al. (2007) verificaram que estirpes de *Mosaic sugarcane virus* coletadas em milho são transmitidas para o sorgo. Portanto, o risco de colonização desse vírus nas culturas é alto devido a uma grande gama de plantas hospedeiras do vírus e do pulgão.

2.3 Uso de extratos botânicos no controle de insetos com ênfase a afídeos

Os inseticidas derivados de plantas podem interferir no desenvolvimento, alimentação e reprodução dos insetos ou serem utilizados na estratégia de atrair e matar, quando substâncias atrativas são usadas juntamente com inseticidas (COPPING; MENN, 2000). Os primeiros inseticidas botânicos utilizados foram a nicotina extraída de *Nicotiana tabacum* (Solanaceae), piretrina extraída de *Chrysanthemum cinerariaefolium* (Asteraceae), rotenona extraída de *Derris* spp. e *Lonchocarpus* spp. (Fabaceae), a sabadina e outros alcaloides extraídos de *Rhyania speciosa* (Flacuortiaceae) (LAGUNES; RODRÍGUEZ, 1989).

Os aleloquímicos de plantas foram usados na proteção de planta do fim do século 19 até o início da segunda guerra mundial quando o emprego dos pesticidas organossintéticos foi adotado pela população (REGNAULT-ROGER, 2005 citada por REGNAULT-ROGER; PHILOGÈNE, 2008; ROSSEL et al., 2008). Entretanto, devido ao aumento da preocupação ambiental após a Revolução Verde, e visando solucionar ou minimizar os prejuízos causados pelo uso indiscriminado de inseticidas sintéticos, novos estudos buscam viabilizar estratégias de manejo que incluam plantas inseticidas (VENDRAMIM, 1997).

Segundo Vendramim e Castiglioni (2000), o ressurgimento dos estudos com inseticidas botânicos deveu-se à necessidade de se dispor de novos compostos para o controle de pragas com as características de serem menos problemáticos quanto à contaminação ambiental, resíduos nos alimentos, efeitos prejudiciais sobre organismos benéficos e a seleção de populações de insetos resistentes a inseticidas sintéticos, características estas normalmente presentes nos inseticidas vegetais. Ainda segundo os autores, a diminuição na diversidade de moléculas sintéticas com atividade inseticida e o incremento nos custos de produção das mesmas, também têm estimulado os estudos com inseticidas botânicos.

Entre as plantas que vem sendo mais estudadas atualmente para obtenção de inseticidas botânicos estão as meliáceas como o nim (*A. indica*), o cinamomo (*Melia azedarach*) e espécies do gênero *Trichilia* (GONÇALVES-GERVÁSIO, 2003).

Entre o complexo de pragas que podem ser afetadas por compostos químicos presentes em plantas, estão os afídeos, com os quais diversas pesquisas já foram desenvolvidas.

Lowery e Isman (1994) testaram o efeito regulador de crescimento da azadiractina e do óleo de nim para nove espécies de pulgões, e concluíram que todas elas foram afetadas, ocorrendo mortalidade principalmente durante a ecdise. Além disso, a concentração letal para matar 50 % dos indivíduos (CL_{50}) foi variável entre as espécies, ínstares e plantas hospedeiras.

Outra forma de reduzir os danos causados por afídeos é a utilização de inibidores alimentares como demonstrado no trabalho de West e Mordue (Luntz) (1992) que aplicaram concentrações crescentes de azadiractina (25 a 500 ppm) no solo e avaliaram seu efeito residual sobre *Rhopalosiphum padi* e *Sitobion avenae*, tendo como parâmetro o número de picadas de prova, constatando que azadiractina provocou diminuição na alimentação após dois dias em todos tratamentos. Nisbet et al. (1993) obtiveram resultados positivos quanto à diminuição no tempo de alimentação de *Myzus persicae* com o aumento da concentração de azadiractina aplicada via solo em plantas de fumo.

Chiasson, Vincent e Bostanian (2004) avaliaram a ação inseticida do concentrado emulsionável de um óleo essencial de *Chenopodium ambrosioides* a *M. persicae*, comparando sua eficiência com o óleo de nim e um produto natural (*insecticidal soap*) com 20 % de sais de potássio de ácidos graxos mais 0,2 % de piretrinas, e constataram que a solução de 0,5 % de *C. ambrosioides* foi significantemente mais efetiva do que o óleo de nim (0,5 %) e tão efetivo quanto o *insecticidal soap* (1 %).

Santos et al. (2004) constataram prolongamento das fases de desenvolvimento, diminuição da taxa líquida de reprodução e mortalidade do pulgão *Aphys gossypii* quando tratados com extratos aquosos de pó de amêndoa de nim.

Silva et al. (2008) avaliaram a ação inseticida dos óleos de copaíba (*Copaifera* sp.), castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa*) e andiroba (*Carapa guianensis*) sobre *R. maidis* em sorgo na concentração de 2,5 %, obtendo mortalidades próximas a 100 % de fêmeas adultas desse pulgão.

2.4 Alteração comportamental de afídeos causada por extratos botânicos

Segundo Pettersson, Tjallingii e Hardie (2007), a importância dos voláteis de plantas na localização hospedeira parece ser mais complexa do que a orientação por cor (comprimento de ondas) que tem grande importância no estímulo de migração e orientação de pulgões, principalmente para os indivíduos alados (POWELL; TOSH; HARDIE, 2006). No entanto, alguns autores comprovam a influência dos voláteis na atratividade ou repelência de afídeos. Nottingham e Hardie (1993) mostraram em estudos com comportamento de vôo dos afídeos *Aphis fabae* e *Brevicoryne brassicae* que odores de plantas não hospedeiras reduzem a freqüência de pouso, mas odores de plantas hospedeiras não aumentam a taxa de pouso. Já Chapman, Bernays e Simpson (1981), em experimentos de campo, constataram que indivíduos alados de *Cavariella aegopodii* pousaram significativamente mais em armadilhas com voláteis presentes de seu hospedeiro do que somente em armadilhas vazias.

Portanto, é possível influenciar o comportamento de procura hospedeira por pulgões alados enquanto estão em vôo, sendo um meio de controle vantajoso, pois diminui o número de afídeos nas culturas, podendo, consequentemente, reduzir a disseminação de vírus não persistentes além de ser uma técnica ambientalmente segura (GIBSON; RICE, 1989).

Para estudos visando testar produtos repelentes, faz-se mão de técnicas como olfatômetro, pois é possível isolar variáveis que possam interferir nos resultados, por exemplo, o uso de plantas pulverizadas em ensaios para avaliar a repelência pode ser prejudicado por plantas que sofreram herbívoria prévia. Como conseqüência, as plantas são induzidas a produzir metabólitos secundários que afetam o desenvolvimento ou o comportamento dos insetos (VENDRAMIM; FRANÇA, 2005), comprometendo, assim, os resultados do ensaio.

Caso os estímulos atrativos das plantas aos pulgões não sejam interrompidos, os pulgões pousam sobre as plantas, sendo as características morfológicas e químicas as responsáveis na seleção hospedeira para a alimentação. Para reconhecimento das pistas químicas produzidas pelas plantas, os pulgões apresentam estruturas na parte

apical das antenas que são quimiorreceptores que reconhecem substâncias repelentes ou atrativas (PETTERSSON; TJALLINGI; HARDIE, 2007).

Os aficidas utilizados raramente atuam rápido o suficiente para prevenir que os afídeos façam a picada de prova necessária para adquirir um vírus não persistente de uma planta infectada ou infectar uma planta sadia. No entanto, repelentes podem ser detectados rápido o suficiente para atuar antes de os afídeos fazerem a picada de prova como nos estudos de Powell, Pirone e Hardie (1995) que verificaram que *A. fabae* é capaz de detectar o fagodeterente poligoidal pulverizado na superfície das folhas antes de inserir o estilete no parênquima da planta.

Estudos sobre o comportamento alimentar de insetos sugadores são difíceis, pois os processos que acontecem durante a alimentação não são observados visualmente como em insetos mastigadores, dificultando o reconhecimento de efeitos fagodeterrentes.

Assim, faz-se uso da técnica denominada *Electrical Penetration Graph* – EPG, onde um inseto sugador e uma planta são feitos parte de um circuito elétrico em que um fio de ouro é inserido no solo de um vaso contendo uma planta e um outro fio de ouro é ligado ao inseto. O circuito também é composto por um resistor elétrico e uma fonte de voltagem. Assim que o inseto insere seu estilete na planta, o circuito é completado e uma voltagem flutuante ocorre, sendo amplificada e registrada. As flutuações de voltagem aparecem em um número distinto de padrões. Os principais padrões são penetração intercelular, perfuração intracelular (picada de prova), caminhamento entre células, secreção de saliva no floema, ingestão de seiva do floema e ingestão de seiva do xilema (TJALLINGII, 1988).

O sistema de EPG foi um grande avanço nos estudos de comportamento alimentar de insetos sugadores, pois permite identificar em tempo real os detalhes ocorridos durante a penetração estiletar dentro da planta (BACKUS; BENNETT, 2009), indicando fatores físico-químicos sobre o hospedeiro, os quais afetam o comportamento alimentar e outros aspectos da biologia de afídeos, sendo importante na descoberta e caracterização de xenobióticos sistêmicos de plantas para controlar afídeos e outros artrópodes sugadores (ANNAN et al., 1997).

2.5 Bioatividade de meliáceas sobre artrópodes

Entre as plantas com propriedade inseticida, destacam-se aquelas pertencentes à família Meliaceae, incluindo-se *A. indica* (nim) e *M. azedarach* (cinamomo) (VENDRAMIM, 1997).

Segundo Pennington e Styles (1975), citados por Akhtar, Yeoung e Isman (2008), Meliaceae contém aproximadamente 50 gêneros e mais de 500 espécies. Quimicamente é caracterizada pela vasta diversidade de limonoides, sendo de muitos deles conhecida a atividade inseticida, levando a uma investigação sistemática dessa família quanto à atividade inseticida (ISMAN, 2006).

Os extratos de nim, em especial seu ingrediente ativo mais potente, a azadiractina, inibem a alimentação dos insetos, afetam o desenvolvimento das larvas, reduzem a fecundidade e fertilidade dos adultos, alteram o comportamento e causam diversas anomalias nas células e na fisiologia dos insetos e mortalidade de ovos, larvas e adultos (MARTINEZ, 2002; SCHMUTTERER, 1988; SCHMUTTERER, 1990). Entretanto, apesar de sua eficácia contra insetos estar relacionada à quantidade de azadiractina, outros compostos como 3-tigloil-azadiractina (azadiractina B), nimbina e salanina apresentam efeito sinérgico de seus efeitos inseticidas (MORDUE (LUNTZ); NISBET, 2000).

2.5.1 Bioatividade de plantas pertencentes ao gênero *Toona*

A espécie *Toona ciliata* contém os limonoides cedrelona e toonacilina em suas sementes (OIANO-NETO et al., 1995; OIANO-NETO et al., 1998) que apresentam atividade inseticida. Cedrelona tem comprovada ação reguladora de crescimento ao percejo *Oncolpeltus fasciatus* (CHAMPAGNE; ISMAN; TOWERS, 1989) e ação fagodeterrente a *Spodoptera litura* (KOUL, 1983). Toonacilina também contém ação fagodeterrente ao coleóptero *Epilachna varivestis* como comprovado por Kraus, Grimminger e Sawitzki (1978) e a *S. litura* segundo Govindachari et al. (1995).

Perez et al. (2010a) avaliaram o desenvolvimento de *H. grandella* 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* e *Swietenia macrophylla* contra *H. grandella* ao enxertarem essas duas espécies vegetais sobre plantas de *T. ciliata* (PEREZ et al., 2010b)

Bezerra (2009), avaliando os extratos etanólicos e em diclorometano de folhas e ramos de *T. ciliata* sobre a mosca-branca *Bemisia tabaci* biótipo B, constatou que o extrato etanólico tem ação inseticida sobre ninfas enquanto o extrato em diclorometano atua tanto em ovos como em ninfas.

2.5.2 Bioatividade de plantas pertencentes ao gênero *Guarea*

Pereira Junior et al. (1993) isolaram o protolimonoide 7-O-acetilchisocheton A e testaram sua atividade biológica sobre *Urbanus acawoios*, e observaram que os insetos que conseguem completar seu desenvolvimento apresentam deformações, atuando possivelmente como regulador de crescimento.

Rodríguez Hernándes e Vendramim (1996) avaliaram o efeito de extratos aquosos de folhas e ramos de 11 espécies de Meliaceae, entre elas *Guarea guidonia*, *Guarea kunthiana* e *Guarea macrophylola* 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 de Meliacea sobre *S. frugiperda*, os autores testaram novamente as espécies *G. guidonia* e *G. kunthiana,* obtendo resultados semelhantes (RODRÍGUEZ HERNÁNDES; VENDRAMIM, 1997), provando que essas plantas não contêm compostos tóxicos para *S. frugiperda* em ramos e folhas.

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

Coelho, Paula e Espíndola (2006), ao testarem extratos hexânicos e etanólicos de *Guarea kunthiana*, *Guarea guidonia*, *Simarouba versicolor* e *Talauma ovata*, verificaram mortalidades entre 20 % e 95 % de *Rhodnius milesi*, sendo o extrato

etanólico da casca da raiz de *S*. *versicolor* e o extrato hexânico da raiz de *G. guidonia*, responsáveis pela mortalidade de 95 % e 75 %, respectivamente.

2.5.3 Bioatividade de plantas pertencentes ao gênero *Trichilia*

No gênero *Trichilia*, vários são os relatos de propriedades biológicas como antiviral, analgésica, inseticida e reguladora de crescimento (SIMMONDS et al., (2001). Segundo Akhtar, Yeoung e Isman (2008), as triquilias contém uma variedade de limonoides chamados triquilinas com ação inseticida os quais conferem a esse gênero uma potencial fonte de inseticidas derivados de plantas. Xie et al. (1994) verificaram os efeitos regulador de crescimento e anti-alimentar do limonoide hirtina de *Trichilia hirta* sobre duas espécies de lepidópteros.

Matos et al. (2009) testaram a atividade inseticida de extratos hexânicos, metanólicos e hidrometanólicos de frutos de *Trichilia catigua* e de *Trichilia elegans* sobre larvas de *Spodoptera frugiperda*, e constataram que extratos hexânicos e metanólicos de *T. elegans* causaram 100 % de mortalidade, além de não ocorrer pupação, o que poder estar relacionado a alterações hormonais do processo da ecdise.

Bogorni e Vendramim (2003) compararam a eficiência de controle de extratos aquosos de ramos e de folhas de seis espécies de *Trichilia*: *T. casaretti, T. catigua, T. claussenii, T. elegans, T. pallens* e *T. pallida*, com o extrato aquoso de sementes de nim sobre *S. frugiperda.* Em todas as espécies testadas, pelo menos uma da 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 mesmo autores avaliaram o efeito dos mesmos extratos 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* (*T. quadrijuga, T. martiana, T. americana, T. hirta, T. glabra* e *T.*

pleeana) visando encontrar atividade inseticida sobre *S. litura*, e obtiveram como melhor desempenho sobre o inseto o extrato de *T. americana*, sendo o menor efeito obtido com *T. glabra.*

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

Roel et al. (2000a) constataram que o extrato em acetato de etila de *T. pallida* causa mortalidade de 100 % das larvas de *S. frugiperda* alimentadas com folhas de milho contaminadas com esse extrato a uma concentração de 0,05 %. Em um estudo posterior, foi constatado que lagartas alimentadas com folhas tratadas com esse extrato desde a eclosão são mais afetadas que aquelas alimentadas a partir dos 10 dias após a eclosão, e o ao avaliarem o efeito residual do extrato, notaram que a maior mortalidade ocorre quando as lagartas se alimentam de folhas com menores intervalos de aplicação (ROEL et al., 2000b).

Tandon, Mittal e Pant (2009) avaliaram os extratos hexânicos e de acetona sobre o lepidóptero *Spilosoma obliqua,* e observaram que o extrato de acetona exerceu maior inibição reguladora de crescimento do que o extrato hexânico, provocando mal formação morfogênica e diversos efeitos adversos como prolongamento da duração larval e pupal, além de afetar a taxa de emergência de adultos e a fecundidade.

Cunha et al. (2005) avaliaram a atividade inseticida de frações do extrato orgânico em diclorometano de *T. pallida* sobre *Tuta absoluta,* sendo as frações em acetato de etila e metanol consideradas as mais promissoras. Esses mesmos autores avaliaram a ação inseticida de extratos aquosos e orgânicos (hexano, diclorometano e metanol) de *T. pallens* sobre a traça-do-tomateiro *Tuta absoluta*, e obtiveram como resultados que o extrato aquoso de folhas foi mais eficiente que o extrato de ramos e entre os extratos orgânicos, o extrato diclorometanico foi o mais eficiente (CUNHA et al., 2006).

Bezerra (2009) avaliou os extratos etanólicos e em diclorometano de folhas e ramos de *T. pallida* sobre *B. tabaci* constatou que o extrato etanólico tem ação inseticida somente sobre ninfas do inseto enquanto o extrato em diclorometano causa mortalidade tanto na fase de ovos como na fase ninfal.

Baldin et al. (2007b) ao avaliarem a atratividade e preferência para oviposição de *B. tabaci* em tomateiro constataram que o extrato aquoso de *T. pallida* foi considerado neutro, não influenciando no comportamento do inseto. Entretanto, Baldin, Vendramim e Lourenção (2007a), ao testarem a interação de extratos botânicos de meliáceas com resistência de genótipos de tomate a *B. tabaci* encontraram interação do extrato de *T. pallida* com os genótipos testados, sendo alguns genótipos menos atrativos ou ovipositados por este inseto.

Ortego et al. (1999) avaliaram a atividade do limonoide azadirone, encontrado em sementes de *Trichilia havanensis* sobre o coleóptero *Leptinotarsa decemlineata*, tendo como parâmetros o efeito tóxico, deterrente e inibidor da enzima esterase, responsável por conferir resistência de insetos a alguns inseticidas como pirimicarb (FURIATTI; LAZZARI, 2003). Os autores encontraram uma baixa atividade inseticida e deterrente, porém alta inibição de esterase, indicando que azadirone pode ser útil no manejo de insetos resistentes a determinados inseticidas.

Wheeler e Isman (2001), ao estudarem o extrato metanólico de ramos de *Trichilia americana*, constataram um forte efeito deterrente alimentar e regulador de crescimento dessa planta sobre *Spodoptera litura.*

Sefrin et al. (2008), ao avaliarem o efeito fagodeterrente de extratos aquosos de meliáceas, entre elas *Trichilia catigua, Trichilia elegans* e *Trichilia claussenii*, sobre *Diabrotica speciosa*, verificaram que plantas tratadas com *T. catigua* e *T. elegans* tendem a ser menos consumidas pelo inseto.

Nakatani et al. (1985) relatam atividade fagodeterrente do extrato em éter de casca da raiz de *Trichilia roka* como fagodeterrente a *Spodoptera eridania, Epilachna varievestis* e *S. littoralis*.

Estudos fisiológicos visando elucidar os sítios de ação de compostos derivados de triquilias são difíceis de serem encontrados na literatura, sendo encontrado apenas os trabalhos de Doe et al. (2005) que constataram que o extrato metanólico de folhas e casca de *Trichilia cuneata* contém compostos que inibem as atividades mitocondriais e de peroxidação lipídica, e de Eldeen, Van Heerden e Van Staden (2007) que estudaram o efeito de um composto obtido do extrato de acetato de etila de folhas de *Trichilia*

dregeana sobre a atividade antagonista a acetilcolinesterase, e concluíram haver atividade inibitória dessa enzima.

2.6 Bioatividade de piperáceas sobre insetos

A família Piperaceae, uma das mais primitivas das angiospermas, divide-se em 10 gêneros encontrados em regiões tropicais e subtropicais incluindo a região amazônica. O gênero *Piper* é considerado o de maior importância, tanto do ponto de vista científico quanto econômico (FAZOLIN et al., 2006). Esse gênero contém aproximadamente 1.000 espécies entre ervas, arbustos forrageiros, pequenas árvores e cipós que acumulam metabólitos secundários, entre os quais as amidas (piperamidas) e diversos compostos aromáticos são os mais encontrados, além de terpenos, flavonóides e outras classes de compostos (SCOTT et al., 2008).

A utilização de piperáceas é datada de séculos atrás, contudo os relatos se restringiam ao seu uso como temperos, aditivos alimentares e na medicina popular em função das suas propriedades microbianas. O baixo efeito sobre mamíferos e o grande número de metabólitos secundários sugerem que as piperáceas são potenciais fontes de compostos inseticidas, tendo conhecido efeito inseticida sobre insetos vetores de doenças e insetos de grãos armazenados. Extratos de *Piper nigrum* são tóxicos para *Callosobruchus chinensis*, *Sitophilus oryzae* e *Rhyzopertha dominica* (SCOTT, 2008).

Além do efeito inseticida, mudanças comportamentais também têm sido observadas para extratos de *Piper* spp., como deterrência e repelência. Scott et al. (2004) observaram que o coleóptero *Lilioceris lilii* não se alimentou em folhas de lírio tratadas com extratos de *P. nigrum* nas concentrações de 0,1 e 0,5 %.

Quanto ao modo de ação dos compostos provenientes de piperáceas, Lees e Burt (1988) descrevem que as piperamidas agem como neurotoxinas. Amidas lipídicas foram inicialmente observadas como capazes de modificar a excitabilidade dos axônios afetando os canais de sódio, mecanismo semelhante aquele observado para os piretróides. Isobutilamidas, assim como a piperovatina, aumentam as concentrações de cálcio dentro dos neurônios de baratas (McFERREN et al., 2002). Os autores observaram que o aumento na quantidade de cálcio não afeta os receptores de

muscarínicos da acetilcolina, indicando que piperovatina não interage com os neurotransmissores. De acordo com o estudo, os óleos testados são neurotóxicos, geralmente monoterpenos que agem como inibidores competitivos da acetilcolinesterase.

De acordo com Scott et al. (2008), combinações de compostos presentes em extratos de piperáceas poderiam substituir inseticidas de contato como piretróides, carbamatos e organofosforados.

2.7 Bioatividade de óleos essenciais sobre artrópodes

Segundo Enan (2001), os gêneros capazes de elaborar compostos que constituem óleos essenciais estão distribuídos em um número limitado de famílias como Apiaceae, Asteraceae, Cupressaceae, Lamiaceae, Lauraceae, Myrtaceae, Piperaceae, Poaceae, Rutaceae e Zingiberaceae.

Os óleos essenciais têm um grande espectro de modos de ação sobre insetos e ácaros-praga incluindo repelência, deterrência, inibição da motilidade e respiração, redução do crescimento e fecundidade, rompimento da cutícula e efeito sobre ciclos bioquímicos dos artrópodes como na octopamina, acetilcolinesterase e antagonista dos receptores de octopamina (ISMAN, 2000; ENAN, 2001; COPPING; MENN, 2000).

Esses óleos consistem de uma complexa mistura (hidrocarbonetos ou mono oxigenados e sesquiterpenos alifáticos, aromáticos etc.) com alguns constituintes majoritários (ROSSEL et al., 2008).

O óleo essencial da piperácea *Piper aduncum* apresenta atividade inseticida, larvicida e repelente de mosquitos. Esse óleo constitui matéria-prima para preparação de derivados semi-sintéticos com atividade sobre larvas de mosquitos como larvas de *Aedes atropalpus* que são susceptíveis a dilapiol, o componente mais ativo de *P. aduncum* (FAZOLIN et al., 2006).

Morais et al. (2007) testaram componentes isolados de óleos de piperáceas sobre *A. aegypti* e detectaram que os óleos com maior teor de arilpropanóides foram mais ativos contra as larvas do inseto.

Sertkaya, Kaya e Soylu (2010) avaliaram o efeitos de óleos essenciais de orégano (*Origanum onites*), timbra (*Thymbra spicata spicata*), lavanda (*Lavandula stoechas stoechas*) e menta (*Menta spicata*) no controle do ácaro *Tetranychus cinnabarinus* Boisd., observando valores de CL_{50} entre 0,53 e 2,92 ppm. Segundo os autores, os resultados sugerem que os óleos testados podem viabilizar pesquisas para o controle do ácaro, e ainda, ressaltam que todos os óleos apresentam valor medicinal.

Koschier e Sedy (2003) avaliaram o efeito de óleos essenciais de *Origanum majorana*, *Salvia officinalis*, *Lavandula angustifolia* e *Rosmarinus officinalis* sobre *Thrips tabaci* e constataram repelência e deterrência desses óleos sobre o inseto. Houve redução de 45-60 % da taxa de oviposição para tratamentos com *O. majorana* e *L. angustifolia* quando comparado à testemunha não tratada. Utilizando olfatômetro os autores detectaram que os voláteis existentes nos óleos testados repelem as fêmeas de *T. tabaci*.

O efeito fumigante de óleos essenciais tem sido bastante estudado. Ensaios com *Acanthoscelides obtectus* mostraram que entre 22 óleos testados apenas o óleo de *Thymus serpyllum* (rico em timol) e *Origanum majorama* (rico em terpinen-4-ol) foram tóxicos (REGNAULT-ROGER et al., 1993).

Óleos essenciais de *Cuminum cyminum*, *Pimpinella ansium*, *Origanum syriacum* var. *bevanii* e *Eucalyptus camaldulensis*, utilizados em casa-de-vegetação, foram tóxicos para *A. gossypii* e *T. cinnabarinus* (TUNÇ; SAHINKAYA,1998).

Sampson et al. (2005) testaram 23 compostos provenientes de óleos essenciais de 14 gêneros e quatro famílias botânicas sobre o pulgão *Lipaphis pseudobrassicae* e determinaram que as frações fenilpropanoideas de *Pimpinella isaurica* recombinadas ou em misturas naturais são altamente bioativas contra o pulgão em 10 mg ml^{-1}.

Isman (2000) avaliou o efeito de óleos essenciais sobre *M. persisae*, utilizando discos foliares tratados e observaram que 20 % dos pulgões em todos os tratamentos, exceto nos controles, não permaneciam nos discos foliares, sendo encontrados caminhando pela placa de Petri 24 h após o início do experimento.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Plantas Inseticidas do Departamento de Entomologia e Acarologia da ESALQ/USP, em Piracicaba/SP, com o objetivo de avaliar a atividade inseticida de cinco espécies de meliáceas e de quatro espécies de piperáceas sobre *Rhopalosiphum maidis* (Fitch, 1856), considerado neste trabalho como espécie-modelo para afídeos, e posteriormente, avaliar alterações comportamentais causadas pelos extratos mais promissores sobre esse afídeo.

Os fracionamentos cromatográficos foram realizados no laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), em São Carlos, SP.

3.1 Coleta de *R. maidis*

Coletas de afídeos foram feitas em dezembro de 2008 em áreas de milho nas cidades paulistas de Cruzália, Cândido Mota, Assis, Palmital e Florínea visando confirmar se *R. maidis* era a espécie predominante entre os afídeos na cultura.

Para a identificação da espécie foi utilizada a chave taxonômica para afídeos de Blackman; Eastop (1984), confirmando-se que todos os indivíduos analisados pertenciam à referida espécie.

A partir dessa constatação, plantas infestadas com afídeos foram trazidas ao Laboratório de Plantas Inseticidas para iniciar a criação de manutenção.

3.2 Criação de *R. maidis*

Plantas de sorgo no estádio de pendoamento (cerca de 40 dias), cultivadas em vasos com capacidade de 4 L mantidos em gaiolas de criação (90 x 45 x 100 cm), eram fornecidas aos insetos, sendo trocadas a cada quinze dias, ocasião em que os insetos eram transferidos com o auxílio de um pincel umedecido. A sala de criação era mantida à temperatura de 24 ± 2 ºC, umidade relativa de 50±10 % e 14 h de fotofase.

3.3 Semeadura de plantas de sorgo

Para a criação de manutenção do pulgão e instalação dos experimentos, utilizou-se o híbrido simples BR 304 de sorgo, com comprovada susceptibilidade a afídeos (FONSECA et al., 2004; FONSECA et al., 2003). As semeaduras foram feitas em vasos de plástico com capacidade de 4 L com um substrato composto de solo, areia e esterco bovino na proporção 3:1:1. Após 10 dias da emergência foram mantidas duas plantas por vaso.

Inicialmente foi realizada uma adubação na base das plantas com 2,8 g do adubo formulado 04-14-08 e após 15 e 30 dias a contar da semeadura foram feitas as adubações de cobertura com 1 g de uréia por planta em cada época.

3.4 Atividades inseticida e fagodeterrente de extratos orgânicos de meliáceas

3.4.1 Coleta das plantas e preparação dos pós vegetais

As coletas de folhas e ramos das cinco espécies i) *Trichilia pallida*, ii) *Trichilia catigua*, iii) *Trichilia claussenii*, iv) *Guarea guidonia*, e, v) *Toona ciliata* foram realizadas no campus da ESALQ (22º 42'S e 47º 37'O), entre 16 de março e 04 de abril de 2009.

Após as coletas, as estruturas vegetais foram acondicionadas em estufa a 40ºC durante 48 h ou até atingir massa constante. Em seguida, foram moídas em moinho de facas até atingir a granulometria de pó.

3.4.2 Preparação dos extratos

Para a extração dos compostos, foram utilizados, em sequência, os solventes hexano, diclorometano e etanol, selecionados em função da polaridade, visando retirar compostos diferentes com cada solvente, sendo a ordem de extração do solvente menos polar (hexano) para o mais polar (etanol).

Inicialmente, foram pesados 100 g de cada pó vegetal e colocados em recipientes envolvidos com papel alumínio para evitar a entrada de luz e, em seguida,

vertido o solvente hexano, agitando-se a mistura por 10 min, a qual foi mantida em repouso por 12 h. Após esse período, as soluções foram filtradas em papel filtro e os materiais vegetais (pós) retidos nos papéis filtro foram retornados aos recipientes de extração, repetindo-se esse processo por quatro vezes. Em seguida, o solvente diclorometano foi vertido no recipiente e por fim o solvente etanol, repetindo-se o mesmo procedimento do hexano para os dois solventes.

Para evaporar o solvente contido nas amostras, utilizou-se um rotaevaporador (60 rpm), à temperatura 40ºC para os extratos de hexano e diclorometano e 50ºC para etanol, à pressão reduzida mediante o uso de trompa de água. Após esse processo as frações foram mantidas em capela com fluxo de ar permitindo que o excesso de umidade das amostras fosse perdido para o meio. Ao final, os extratos foram pesados, determinando-se assim o rendimento.

Os extratos obtidos foram analisados mediante cromatografia de camada delgada de sílica gel (CCD), com cromatoplacas em suporte de alumínio (20 x 20 cm) utilizando como solvente de arraste a mistura de hexano e acetona na proporção de 5:3.

3.4.3 Seleção dos extratos orgânicos de meliáceas com atividade inseticida sobre *R. maidis.*

Com o objetivo de avaliar quais espécies de meliáceas e em quais solventes se verificava a melhor atividade inseticida (*screening*), os extratos foram testados em ninfas em 1º ínstar. Para obtenção das ninfas, 24 h antes da instalação do experimento, adultos foram mantidos em discos foliares previamente recortados num diâmetro máximo de 55 mm e mantidos em uma solução de água e hipoclorito de sódio (0,5 %) por 15 min e posteriormente enxaguados em água corrente. Em seguida, foram depositados sobre uma camada de água e caragenina (5 %) no fundo de placas de Petri (55 mm x 14 mm) a fim de manter o turgor das células.

Para avaliar a atividade inseticida dos extratos foram utilizados discos foliares imersos nas soluções dos extratos por 5 s, os quais foram suspendidos em acetona na concentração de 2 % (massa/massa) deixando-os secarem por 30 min. Posteriormente,

os discos foram colocados em placas de Petri como descrito anteriormente para obtenção das ninfas. Em seguida, 20 ninfas em 1º ínstar foram inoculadas por repetição, mantendo-se as placas de Petri viradas para baixo. Diariamente, até o quinto dia, foi avaliado o número de indivíduos sobreviventes.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco repetições (num total de 100 pulgões) por tratamento contendo os 15 extratos mais os tratamentos-controle água destilada e acetona.

3.4.4 Fracionamento do extrato hexânico de *T. pallida*

Depois de selecionado o extrato hexânico de *T. pallida,* realizou-se o fracionamento por Cromatografia Líquida a Vácuo (CLV) utilizando um funil de placa sintetizada com duas fases: uma fase estacionária (sílica, 60 -230 *mesh*) e uma fase móvel com solventes com polaridades crescentes, iniciando-se com hexano, seguindo-se o acetato de etila e, por fim, o metanol (Figura 1).

Para isso, 2 g do extrato foram utilizadas, e as frações resultantes foram concentradas em rotaevaporador a 40ºC, à pressão reduzida, mediante o uso de trompa de água. Após esse processo as frações foram mantidas em capela com fluxo de ar permitindo que o excesso de umidade das amostras fosse perdido para o meio, aferindo-se ao final o rendimento (massa) dessas frações.

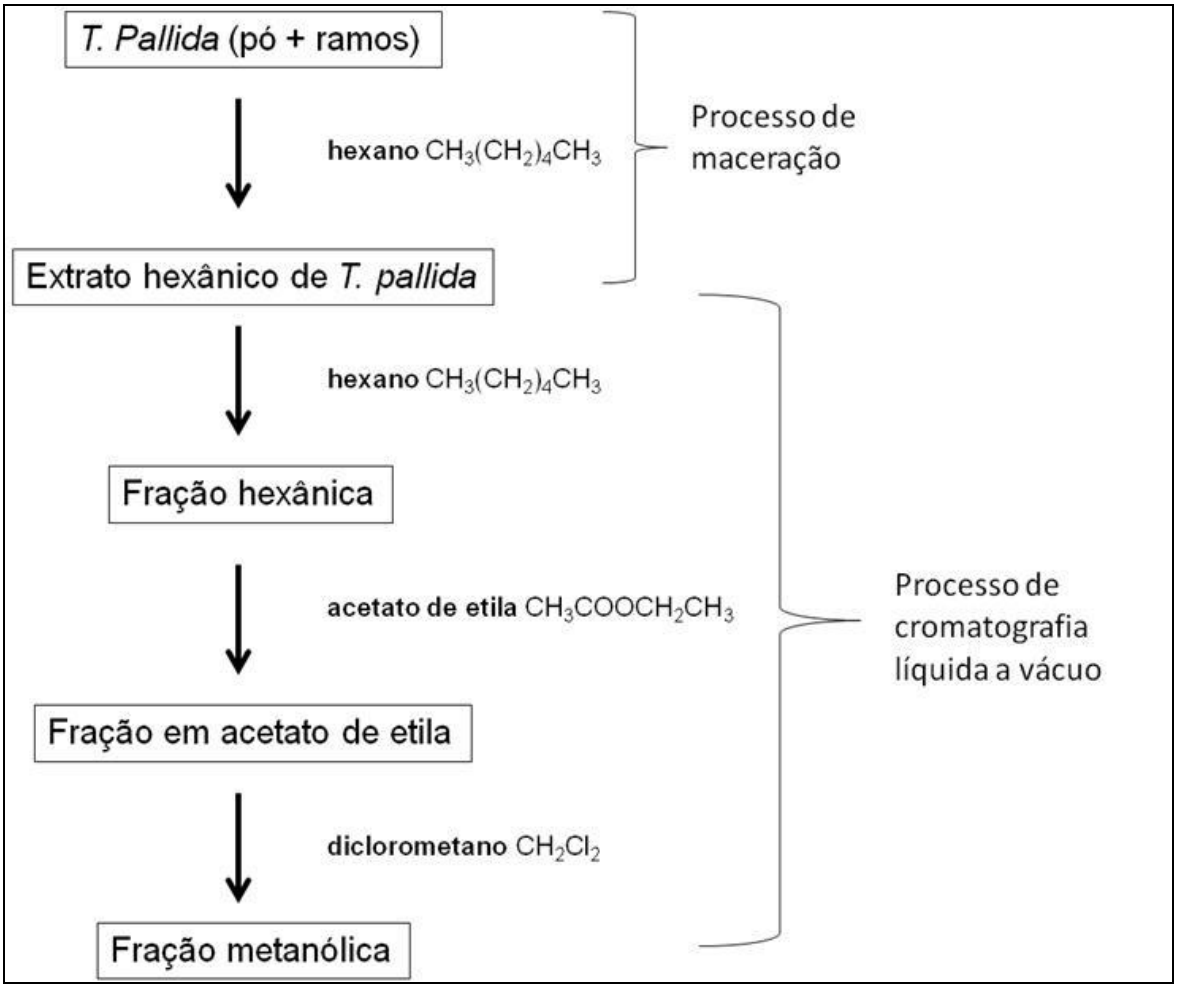

Figura 1 - Esquema para obtenção das frações do extrato hexânico de *T. pallida*

3.4.5 Seleção das frações do extrato hexânico de *T. pallida* com atividade inseticida sobre *R. maidis*

Após a obtenção das frações, realizou-se um ensaio seguindo o mesmo procedimento metodológico do item 3.4.3, a fim de selecionar uma fração para ser testada nos ensaios de caracterização dos modos de ação inseticida de *T. pallida* a pulgões.

3.4.6 Determinação da linha de suscetibilidade de *R. maidis* à fração hexânica de *T. pallida*

A linha de suscetibilidade tem por objetivo determinar níveis letais para uma determinada população. Para os estudos, estimou-se que a concentração letal a ser utilizada nos testes subseqüentes seria a que matasse 50 % dos indivíduos - $CL_{50.}$

Foram instalados dois experimentos com a fração hexânica diferindo os volumes das soluções. No primeiro experimento utilizaram-se 5 ml de solução por concentração, e no segundo experimento utilizaram-se 15 ml de solução. Os discos foram imersos nas soluções contidas em placas de Petri (85 x 19 mm) por 5 s e deixados secar por 30 min.

Devido à fração hexânica ser oleosa, ao invés de utilizar acetona como solvente, utilizou-se água acrescida de três gotas do espalhante adesivo alquil-fenol-poliglicoléter (Extravon®), sendo a mistura emulsionada em um agitador de tubos por 10 s. As concentrações testadas foram 0,5; 0,71; 1,0; 1,41 e 2 % (massa/massa) além do tratamento-controle (água mais espalhante adesivo).

Após a secagem, os discos foliares foram mantidos sobre uma camada de caragenina e infestados com 20 ninfas em 1º ínstar por repetição como descrito no item 3.4.3.

Posteriormente, realizou-se um ensaio para estimar o tempo que 50 % dos indivíduos levavam para morrer (Tempo Letal 50 - TL_{50}), realizando o mesmo procedimento anterior de preparação do extrato e contaminação dos discos foliares, utilizando a concentração de 2 % com volume de 15 ml de solução e avaliando o número de indivíduos sobreviventes a cada 6 h durante 36 h, considerando o tempo de cada avaliação como os tratamentos.

Os delineamentos experimentais dos três ensaios foram inteiramente casualizado com cinco repetições, e as avaliações foram realizadas diariamente até o quinto dia para o ensaio da CL_{50}, anotando-se o número de indivíduos sobreviventes. Após o término das avaliações, os dados foram submetidos à análise de Probit (LEORA SOFTWARE, 1987).

3.4.7 Ação de contato da fração hexânica de *T. pallida* sobre ninfas de *R. maidis*

O ensaio foi realizado utilizando placas de Petri (55 x 14 mm) com o fundo forrado com papel filtro, aplicando-se sobre este 375 µl de solução, volume que permitia o normal caminhamento das ninfas. As concentrações testadas foram 1 e 2 vezes a CL_{50} com períodos de caminhamento sobre a superfície contaminada de 15 e 30 min, além do tratamento-controle (água mais espalhante adesivo) o qual foi utilizado como solvente para diluição dos demais tratamentos.

Em seguida, ninfas em 1º ínstar foram colocadas sobre as superfícies contaminadas, e posteriormente mantidas em discos foliares não contaminados como descrito em 3.4.3.

O ensaio teve um delineamento experimental inteiramente casualizado com cinco repetições por tratamento, sendo cada repetição representada por um disco foliar com 20 ninfas. As avaliações foram realizadas diariamente até o quinto dia, anotando-se o número de indivíduos sobreviventes.

3.4.8 Ação translaminar da fração hexânica de *T. pallida* sobre ninfas de *R. maidis*

Plantas de sorgo em vasos com capacidade de 500 ml e em estádio fenológico de sete folhas desenvolvidas tiveram a penúltima folha pulverizada com a fração hexânica por uma pistola tipo gravidade (Arprex®, modelo 5, 20/30 lb/plo² com bico de 0,8 mm) adaptada como mini-atomizador de modo a obter uma cobertura homogênea das folhas. Para evitar que gotas da pulverização atingissem a superfície abaxial, uma folha de papelão foi colocada na parte inferior da folha enquanto se realizava a pulverização.

A concentração utilizada foi de 4 %, pois em testes preliminares com a concentração de 2 % não foi observado nenhum efeito, assim escolhendo essa concentração visando melhor discriminar a existência do efeito translaminar. Além desse tratamento, foram realizados dois outros: pulverização sobre a face abaxial da folha (lado em que os pulgões eram mantidos) e um controle (água mais espalhante adesivo pulverizado nos dois lados da folha). Em seguida, ninfas com idade de 48 h,

obtidas como descrito no item 3.4.3, foram transferidas para as plantas e mantidas em grupos de 10 indivíduos em pequenas gaiolas de *voil* (*clip cages*), confeccionadas de plástico transparente, em formato cilíndrico (3 cm de diâmetro x 1 cm de altura), tendo uma das bordas coberta com *voil* branco e a outra coberta por espuma de 3 mm de espessura (Figura 2).

O ensaio teve um delineamento experimental inteiramente casualizado com cinco repetições, sendo cada repetição uma planta com duas *clip cages*, e avaliando a mortalidade aos 3 e 4 dias. Em seguida, 30 adultos por tratamento foram separados em discos foliares sobre uma camada de caragenina em placas de Petri para avaliar a fecundidade destes.

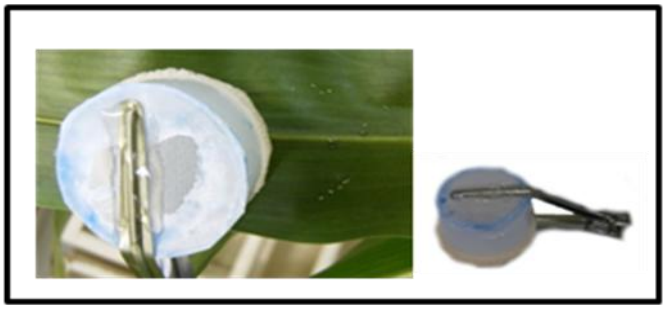

Figura 2 - Gaiolas do tipo *clip cage* utilizadas no ensaio de ação translaminar

3.4.9 Efeito da fração hexânica de *T. pallida* no comportamento alimentar de adultos ápteros de *R. maidis*

Para o estudo do efeito na alimentação de *R. maidis* foi empregada a técnica de *Eletrical Penetration Graph* – EPG, utilizando adultos ápteros com idade de 2 a 7 dias de emergência, que receberam sobre o pronoto um fio de ouro de 20 µm de diâmetro e 2 cm de comprimento, fixado com tintura de prata à base de água. Antes de instalar no inseto, a outra ponta do fio de ouro foi fixada a um eletrodo de cobre de 3 cm comprimento x 1 mm de diâmetro. Esse eletrodo foi acoplado a um amplificador de sinais e o inseto foi colocado sobre a folha de sorgo. Outro eletrodo de cobre (10 cm de comprimento x 2 mm diâmetro) foi inserido no solo do vaso da planta-teste. O processo

de monitoramento foi realizado dentro de uma gaiola de Faraday em sala climatizada (25 ± 2 ºC) com iluminação natural e artificial (Figura 3).

Antes do início dos registros, os insetos foram mantidos em jejum por uma hora, e as plantas foram pulverizadas 30 min antes de se iniciarem os registros.

Devido à baixa quantidade obtida no fracionamento, utilizou-se somente a concentração de 2 %, concentração esta suficiente para matar as ninfas conforme observado no ensaio para determinação da linha de susceptibilidade. A aplicação foi feita com uma pistola do tipo gravidade como descrito no item 3.4.8. As plantas utilizadas estavam na fase de 6 a 7 folhas distendidas, e cada planta recebeu uma pulverização de 0,5 ml da solução sobre a folha distendida mais nova. Água mais espalhante adesivo foram utilizados como tratamento-controle.

Os parâmetros avaliados (Figura 4) foram: np, sem penetração estiletar; c, caminhamento estiletar; nc, número de caminhamentos; E1, tempo de salivação em floema; n° E1, número de vezes de salivação; E2, tempo de alimentação em floema; n° E2, número de vezes de alimentação; G, tempo em xilema; n°G, número de vezes em xilema; pd, picada de prova; n°pd, número de picadas de prova; 1°pd, tempo para a primeira picada de prova; tp, tempo total de penetração do estilete (pd + c + G + E1 + E2); t 1°E2, tempo para atingir o floema pela primeira vez.

Cada pulgão foi monitorado por 5 h, utilizando o *software* Probe 3.0 (Laboratory of Entomology, Wageningem University) para registro das informações.

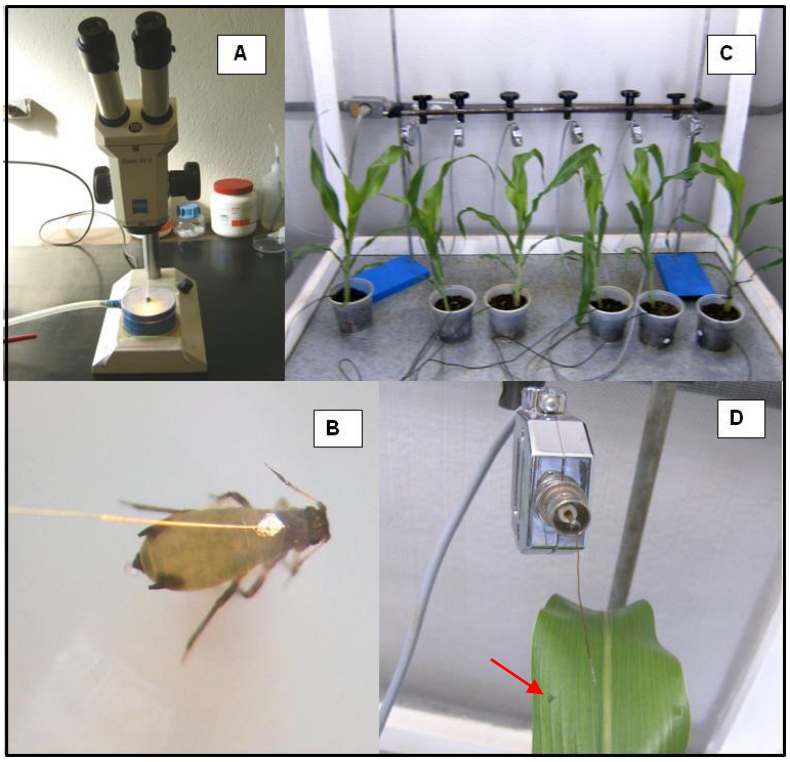

Figura 3 - Avaliação do comportamento alimentar de *R. maidis*, através do EPG, em plantas de sorgo pulverizadas com a fração hexânica de *T. pallida*. A: lupa acoplada à bomba a vácuo para imobilizar o pulgão, B: detalhe do pulgão imobilizado pela bomba a vácuo e colado ao fio de ouro com cola de prata, C: Gaiola de Faraday e D: detalhe do pulgão sobre a folha de sorgo e colado ao fio de ouro

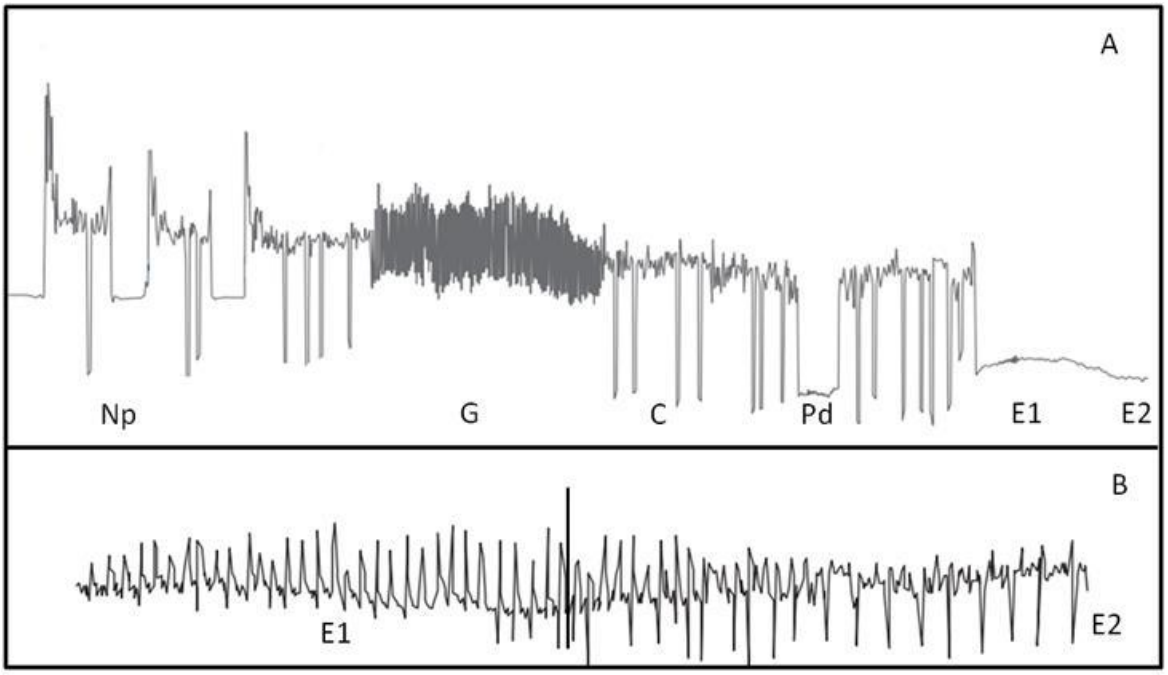

Figura 4 - Exemplo de um registro de EPG adaptado de Tjallingii (2006). A: padrões de onda onde np: período sem penetração, G: alimentação no xilema, c: caminhamento entre o parênquima, pd: picada de prova na célula, E1: salivação dentro do vaso do floema, E2: ingestão do líquido do floema, B: detalhe dos padrões de onda E1 e E2

3.5 Atividade inseticida e alterações comportamentais causadas pelos óleos essenciais de piperáceas sobre *R. maidis*

3.5.1 Coleta das plantas e obtenção dos óleos essenciais

As coletas de folhas das quatro espécies de piperáceas foram realizadas no campus da ESALQ (22º 42’ 44’’S e 47º 37’ 44’’O) entre maio e agosto de 2010, sempre ao final de tarde, pois o fotoperíodo pode influenciar na composição química dos óleos (REGNAULT-ROGER; PHILOGÈNE, 2008). Após as coletas, as estruturas vegetais foram pesadas e separadas em grupos de 120 g. Em seguida foram lavadas em água corrente e cortadas em pequenas tiras.

As plantas foram identificadas no Setor de Botânica do Departamento de Ciências Biológicas da ESALQ/USP como *Piper amalago*, *Piper umbellatum*, *Piper*

claussenianum, e uma outra espécie de *Piper*, ainda não identificada e que, neste trabalho, está sendo referida por *Piper* sp..

Os óleos essenciais foram obtidos pela técnica de “arraste a vapor d’água” utilizando um aparelho de Clevenger à temperatura de 100ºC, e mantidos por 90 min após a água atingir a fase de ebulição. A cada extração o óleo era retirado e armazenado em balão volumétrico de 50 ml e mantido em geladeira a 10 ºC a fim de minimizar eventuais perdas por volatilização ou degradação por temperatura. Ao fim das extrações de cada espécie os óleos eram retirados com o auxílio de uma micropipeta devido à diferença de densidade entre a água e o óleo. Por fim, os óleos foram armazenados em frascos âmbar, aferidos os rendimentos (massa) e acondicionados em *freezer* a -10ºC.

3.5.2 Seleção do óleo essencial com maiores atividades inseticida e repelente sobre *R. maidis*

Discos foliares de sorgo foram recortados num diâmetro máximo de 55 mm e mantidos em uma solução de água e hipoclorito de sódio (0,5 %) por 15 min e posteriormente enxaguados em água corrente.

A concentração utilizada para selecionar o melhor óleo essencial foi 1 % utilizando água destilada com a adição de três gotas de espalhante adesivo como solvente para diluição dos óleos. Água mais espalhante adesivo foi utilizada como tratamento-controle.

Os discos foliares foram mantidos imersos nas soluções por 10 s, deixando-os secar por 1 h. Em seguida, foram colocados em placas de Petri contendo uma solução de água e caragenina (5 %). Posteriormente, 20 ninfas em 1º ínstar foram colocadas por repetição num total de 100 ninfas por tratamento, e em seguida, as placas foram mantidas viradas para baixo e tampadas com *voil* preso com um elástico, porém com uma angulação que permitia troca gasosa, evitando possíveis efeitos de fumigação. O método para obtenção de ninfas com idade conhecida foi o mesmo descrito no item 3.4.3.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado sendo as avaliações realizadas diariamente até o quinto dia, tendo como parâmetros avaliados o número de indivíduos sobreviventes e o número de insetos que não estavam sobre a folha, indicando repelência de acordo com o trabalho de Isman (2000).

3.5.3 Efeito fumigante do óleo essencial de *P. claussenianum* sobre *R. maidis*

Este teste foi realizado para constatar se havia algum efeito fumigante que pudesse afetar os resultados do *screening* além de poder ser uma alternativa de controle de pulgões infestando plantas cultivadas em estufas que permitam boa vedação do ambiente.

Para a realização deste teste, foram utilizadas câmaras de fumigação (1,55 L de volume com as dimensões de 10,2 cm de diâmetro e 29 cm de altura) feitas de garrafas de Politereftalato de etileno **(**PET) cortadas no fundo. No ápice da câmara havia uma tampa na qual se mantinha fixado um pedaço de papel filtro (2 x 1 cm) impregnado com o óleo essencial e envolto com um tecido de *voil* para evitar que as ninfas pudessem entrar em contato direto com o óleo. Em cada câmara foi colocada uma planta, cultivada em vaso com capacidade de 500 ml, com 5 folhas expandidas e infestadas com 20 ninfas em 1º ínstar. Após encaixar a planta na abertura inferior da câmara, esta foi fechada com filme de cloreto de polivinil (PVC) para garantir perfeita vedação. As plantas foram mantidas na câmara por 48 h contando-se após esse período o número de insetos vivos.

As concentrações testadas foram 1, 5, 10 e 20 µl de óleo por litro de ar, sendo as concentrações de 1 e 5 µl diluídas em 10 µl de hexano devido ao baixo volume do óleo, assim evitando perdas do óleo nas paredes da ponteira. Como tratamento-controle foram utilizados 10 µl de hexano aplicados sobre o papel filtro.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco repetições.

3.5.4 Ação inseticida de contato do óleo essencial de *P. claussenianum* sobre ninfas de *R. maidis*

O ensaio foi realizado utilizando placas de Petri (55 x 14 mm) com o fundo forrado com papel filtro, e aplicando-se sobre ele 375 µl de solução, volume esse que permitia o normal caminhamento das ninfas.

Para determinar o tempo de caminhamento sobre a superfície contaminada, realizou-se um teste preliminar, sendo os tratamentos os tempos de 7,5; 10; 15; 21 e 30 min de caminhamento. Como tratamento-controle foi utilizada água mais espalhante adesivo, deixando as ninfas caminharem sobre a superfície por 30 min.

Posteriormente, testaram-se as concentrações 0,35; 0,5; 0,71 e 1 % com período de caminhamento sobre a superfície contaminada de 15 min, além do tratamento-controle (água mais espalhante adesivo) para estimar a CL_{50}.

Por ultimo, realizou-se um ensaio a fim de estimar o TL_{50}, utilizando a concentração de 1 %, deixando as ninfas caminhar sobre a superfície contaminada por 15 min, avaliando o número de indivíduos vivos a cada 6 h durante 36 h.

Em todos os ensaios, ninfas em 1º ínstar foram colocadas sobre as superfícies contaminadas, e posteriormente mantidas em discos foliares não contaminados como descrito no item 3.4.3.

Os ensaios foram em delineamento experimental inteiramente casualizado com cinco repetições cada, sendo cada repetição um disco foliar com 20 ninfas. As avaliações foram realizadas diariamente até o quinto dia, com exceção do ensaio do TL_{50}, anotando-se o número de indivíduos sobreviventes.

3.5.5 Efeito repelente do óleo essencial de *P. claussenianum* sobre alados de *R. maidis*

Como no *screening* foi observado um caminhamento excessivo dos insetos, levantou-se a hipótese que o óleo essencial de *P. claussenianum* tem efeito repelente. Então, para testar esse possível efeito, foi realizado um ensaio em olfatômetro de quatro vias composto de uma arena central e quatro braços (Figura 5). O ar foi

conduzido para a arena usando uma bomba a vácuo promovendo um fluxo de ar de 50 ml min^{-1} para cada braço.

Para verificar se havia ou não preferência dos insetos por algum dos braços, foi feito um teste prévio somente com ar liberando pulgões alados na arena e analisando se havia um caminhamento normal dos insetos por todos os braços. Ao final do teste, foi constatado que os insetos caminhavam normalmente em todas as direções, não havendo preferência por um dos braços.

O óleo essencial foi diluído em 10 µl de hexano e aplicado sobre uma seção de papel filtro (1 x 2 cm), a qual foi colocada em um dos braços, mantendo nos demais papel filtro tratado somente com hexano, utilizando como valores de contraste com os valores do braço tratado a média dos valores dos três braços.

Após a impregnação do óleo no papel, uma fêmea alada (2 a 7 dias de emergência) era colocada na arena por vez, anotando-se o tempo e o número de entradas em cada braço durante um período de 15 min. Para eliminar uma possível influência da luz incidida sobre a arena, a cada 3 min o foco de luz era girado 90º.

A cada 2 h os papéis impregnados com hexano somente ou com o óleo eram trocados e a cada 5 h a arena era lavada com detergente líquido neutro (Extran®) e deixada para secar.

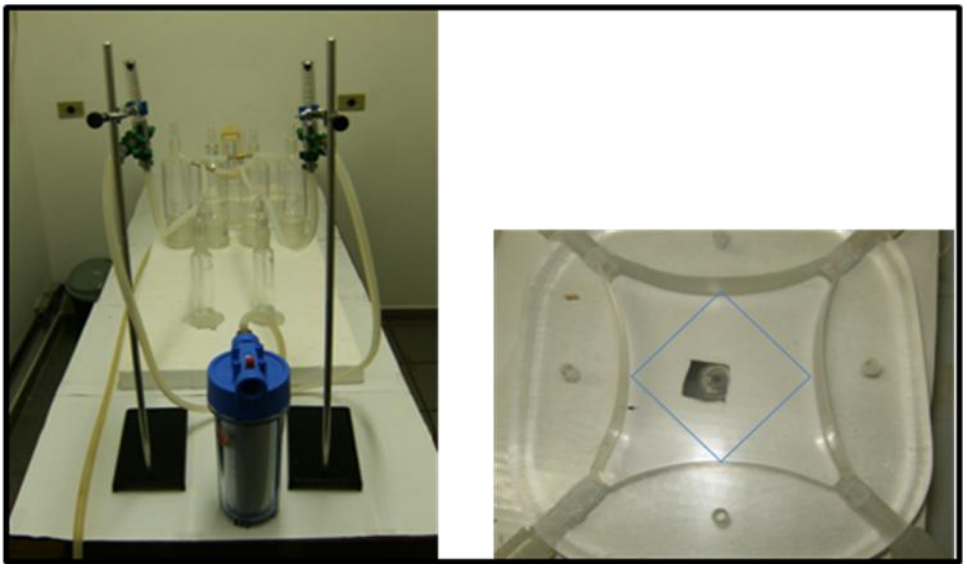

Figura 5 - Olfatômetro de quatro vias utilizado no ensaio de repelência do óleo essencial de *P. claussenianum* a *R. maidis*

3.5.6 Efeito do óleo essencial de *P. claussenianum* no comportamento alimentar de adultos ápteros de *R. maidis.*

O método utilizado para instalação do ensaio, os parâmetros avaliados e o *software* para interpretação dos dados de EPG foram os mesmos do item 3.4.9, alterando somente os tratamentos que foram: as concentrações de 0,5 e 1 % do óleo essencial diluídos em água mais espalhante adesivo e o tratamento-controle foi água mais espalhante adesivo.

3.6 Análises estatísticas

Os dados foram averiguados quanto a sua normalidade e homocedasticidade das variâncias. Quando atendidas as necessidades de normalidade (SHAPIRO; WILK, 1965) e homocedasticidade (SNEDECOR; COCHRAN, 1989), aplicou-se a análise de variância ANOVA e as médias foram contrastadas pelo teste de comparações múltiplas de Tukey a 5 % de probabilidade. Em casos onde através de transformação dos dados pelo Método Potência Ótima de Box-Cox (BOX; COX, 1964), os parâmetros de normalidade e homocedasticidade foram atendidos utilizaram-se testes paramétricos; caso contrário, aplicou-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis (KRUSKAL; WALLIS, 1952) para verificar se havia diferenças entre os tratamentos, e quando presentes as médias foram contrastadas pelo método de comparação múltipla desse teste.

Para análise do tempo de exposição das ninfas ao óleo essencial de *P. claussenianum* foi realizada a análise por Modelos Lineares Generalizados – GLM devido ao grande número de empates, sendo o modelo ajustado pela distribuição do tipo binomial negativa, e utilizando o intervalo de confiança a 95 % para os contrastes entre os tratamentos.

No *screening* dos óleos essenciais de piperáceas os dados foram analisados por variáveis canônicas utilizando a distância de Mahalanobis, pois esse ensaio constava

de mais de um parâmetro avaliado, diferenciando, assim, os tratamentos pelo conjunto de parâmetros ao invés de avaliar parâmetro a parâmetro.

Para os dados do comportamento alimentar com EPG, foi utilizada a análise de componentes principais devido ao grande número de variáveis analisadas.

Os cálculos de CL_{50} e TL_{50} foram feitos pelo software POLO-PC (LEORA SOFTWARE, 1987) baseado no método de Finney, análise de Variáveis Canônicas e Componentes Principais - CP pelo software STATISTICA 6.0 (STATISTICA, 2001), e as demais análises foram realizadas com o software “R” (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2008).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Seleção dos extratos orgânicos de meliáceas com atividade sobre *R. maidis*

Observa-se uma considerável diferença nos rendimentos tanto entre as espécies como entre os solventes utilizados (Tabela 1), sendo *T. catigua* a espécie com o menor (1,99 %) e o maior (10,40 %) rendimento nos solventes hexano e etanol, respectivamente. Essa diferença de rendimento devido ao solvente utilizado está relacionada com suas polaridades, permitindo que diferentes compostos sejam extraídos, propiciando assim diferentes rendimentos.

Cunha (2004) obteve um rendimento do extrato diclorometânico de folhas de *T. pallida* de 1,67 %, valor semelhante ao encontrado neste trabalho (2,49 %). No entanto, o autor utilizou somente folhas, diferentemente deste trabalho em que foram utilizadas folhas mais ramos. Bezerra (2009) obteve um rendimento bem mais elevado (8,12 %), porém o método de extração foi pelo aparelho de Soxhlet. Além disso, a autora utilizou um solvente para cada massa de pó para as extrações, diferente deste trabalho que seguiu uma escala crescente de polaridade, submetendo a mesma massa de pó por três solventes até a exaustão, podendo isto ser outra explicação dessa diferença. Segundo Gnoatto et al. (2007), diferentes métodos de extração influenciam diretamente no rendimento.

O rendimento do extrato diclorometânico de folhas de *T. ciliata* de Bezerra (2009) (7,02 %) também foi bem superior ao encontrado neste trabalho (2,62 %), sendo as possíveis explicações as mesmas descritas acima.

Tabela 1 - Rendimento dos extratos orgânicos de meliáceas submetidas ao processo de extração por maceração na proporção de 1: 10 (pó vegetal: solvente)

Espécie	Solvente	Rendimento (%)
Trichilia pallida	Hexano	2,14
	Diclorometano	2,49
	Etanol	4,97
Toona ciliata	Hexano	8,75
	Diclorometano	2,62
	Etanol	3,62
Guarea guidonia	Hexano	2,87
	Diclorometano	2,25
	Etanol	3,06
Trichilia claussenii	Hexano	4,99
	Diclorometano	4,94
	Etanol	5,66
Trichilia catigua	Hexano	1,99
	Diclorometano	2,13
	Etanol	10,40

Apesar de o tipo de solvente influenciar no rendimento da extração, o importante é extrair substâncias com um satisfatório nível de atividade. Sendo assim, pode-se afirmar que para o screening de extratos botânicos a utilização de somente um solvente pode levar ao descarte de uma planta com desejável atividade inseticida, pois os compostos que conferem a ação inseticida podem não ter sido extraídos pelo solvente.

Isto pode ser observado no extrato etanólico de *T. catigua* que, embora tenha apresentado o maior rendimento (10,40 %), evidenciou, ao ser submetido à análise por cromatografia de camada delgada, que era composto praticamente apenas por açúcares (Figura 6), o que pode explicar a diferença de mortalidade dos insetos ao testar mais de um solvente por planta. Variações na atividade dos extratos em função do solvente extrator foram encontradas por Roel et al. (2000a) que, estudando o efeito de extratos orgânicos de folhas e ramos de *T. pallida* sobre *Spodoptera frugiperda*, observaram que o extrato acetônico, com menor polaridade, foi mais ativo que o metanólico, mais polar.

Outro exemplo de variação na atividade inseticida em função do uso de diferentes solventes é observado no trabalho de Gonçalves-Gervásio (2003) que ao testar extratos com os solventes clorofórmio, etanol, metanol, água e hexano de folhas de *T. pallida* sobre *Tuta absoluta*, constatou que o extrato clorofórmico foi o mais efetivo, diferindo dos extratos aquoso e hexânico. Já Cunha et al. (2005), testando o extrato diclorometânico de *T. pallida*, também encontraram atividade inseticida sobre *T. absoluta*. Deve ser considerado, no entanto, que o fato de extratos obtidos com o uso de diferentes solventes apresentarem eficiência semelhante não indica que eles contenham os mesmos compostos químicos deletérios ao inseto, já que uma espécie vegetal pode ter um grande número de compostos inseticidas e são extraídos diferentemente em termos qualitativos e quantitativos em função da similaridade química com o solvente extrator.

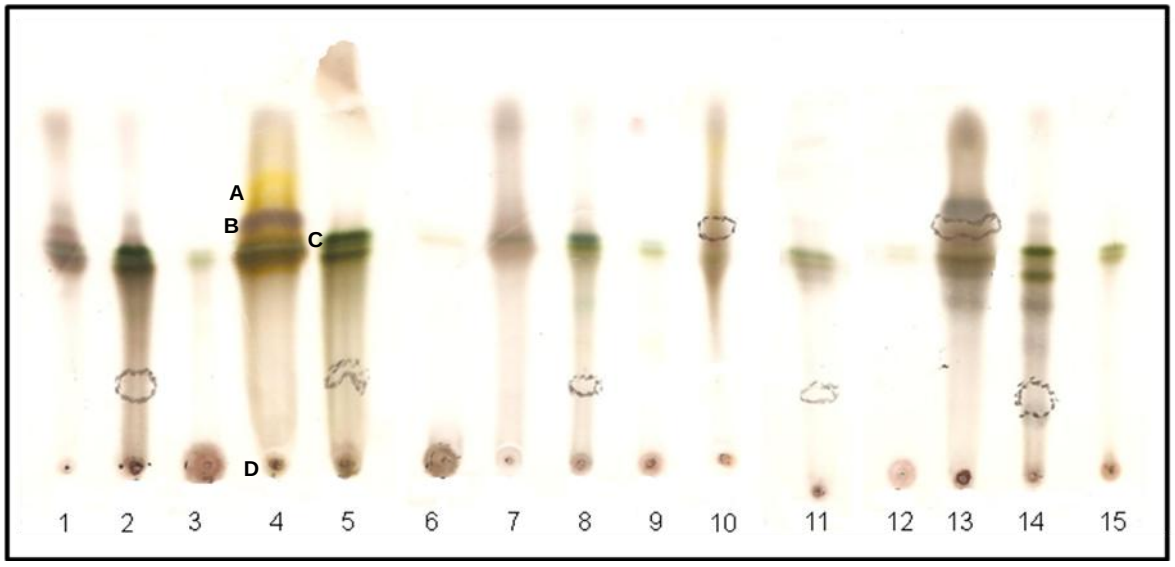

Figura 6 - Cromatografia de camada delgada dos extratos orgânicos das cinco meliáceas. Solvente de arraste hexano:acetona (5:3). 1: *G. guidonia* - hexano, 2: *G. guidonia* – diclorometano, 3: *G. guidonia* – etanol, 4: *T. pallida* – hexano, 5: *T. pallida* – diclorometano, 6: *T. pallida* – etanol,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

Entre os extratos testados, o extrato diclorometânico de G. guidonia causou a maior mortalidade no primeiro dia (12 %); contudo, a mortalidade ao longo do ensaio não foi acrescida significativamente. Para o extrato hexânico de T. pallida, apesar de causar uma baixa mortalidade no primeiro dia, proporcionou a maior mortalidade de R. maidis ao quinto dia (24,0 %), causando maior atividade somente a partir do quarto dia. Entre os extratos testados, o extrato etanólico de G. guidonia causou a menor mortalidade, sendo igual aos tratamentos-controle (Tabela 2).

Ao aplicar o teste de Kruskal-Wallis, foi constatado que pelo menos um tratamento diferia dos demais, no entanto, ao submeter os dados ao teste de comparação múltipla de Kruskal-Wallis, nenhuma diferenciação foi vista, podendo ser atribuída ao grande número de empates ao fazer o *rank*.

Tabela 2 - Médias ± erro padrão da mortalidade diária acumulada (%) de ninfas de *R. maidis* em discos foliares tratados com extratos orgânicos de cinco meliáceas. Temperatura 24 ± 2ºC, Umidade Relativa 50 ± 10 % e Fotoperíodo 14:10 h.

	Dias[1]				
Tratamentos	1	2	3	4	5
G. guidonia – hexano	3,0 ± 1,22	9 ,0 ± 2,45	11 ± 4,00	15,0 ± 4,18	15 ± 5,15
G. guidonia – dicloro	12,0 ± 4,35	12,0 ± 4,35	12,0 ± 4,35	12,0 ± 4,35	14,0 ± 4,84
G. guidonia – etanol	1,0 ± 1,00	1,0 ± 1,00	1,0 ± 1,00	1,0 ± 1,00	1,0 ± 1,00
T. catigua – hexano	0,0 ± 0,00	2,0 ± 1,22	2,0 ± 1,22	5,0 ± 1,58	9,0 ± 2,91
T. catigua – dicloro	1,3 ± 1,25	1,3 ± 1,25	1,3 ± 1,25	1,3 ± 1,25	1,3 ± 1,25
T. catigua – etanol	2,0 ± 2,00	2,0 ± 2,00	2,0 ± 2,00	2,0 ± 2,00	2, 0 ± 2,00
T. clausenii – hexano	4,0 ± 1,87	4,0 ± 1,87	4,0 ± 1,87	6,0 ± 1,87	8,0 ± 2,00
T. clausenii – dicloro	3,0 ± 1,22	5,0 ± 0,00	6,0 ± 1,00	10,0 ± 2,23	13,0 ± 3,39
T. clausenii – etanol	1,0 ± 1,00	1,0 ± 1,00	1,0 ± 1,00	1,0 ± 1,00	1,0 ± 1,00
T. pallida – hexano	1,0 ± 1,00	2,0 ± 2,00	4,0 ± 2,91	12,0 ± 2,54	24,0 ± 2,91
T. pallida – dicloro	10,0 ± 3,53	11,0 ± 3,67	13,0 ± 3,39	14,0 ± 4,00	16,0 ± 3,67
T. pallida – etanol	6,0 ± 1,87	6,0 ± 1,87	7,0 ± 2,55	11,0 ± 4,30	11,0 ± 4,00
Toona ciliata - hexano	3,0 ± 2,00	3,75 ± 3,75	6,25 ± 4,73	13,75 ± 5,54	18,75 ± 8,26
Toona ciliata – dicloro	0,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00	2,0 ± 2,00	3,0 ± 3,00
Toona ciliata – etanol	7,5 ± 4,79	7,5 ± 4,78	7,5 ± 4,78	8,75 ± 5,15	8,75 ± 5,15
Água	0,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00
Acetona	0,0 ± 0,00	1,0 ± 1,00	1,0 ± 1,00	1,0 ± 1,00	1,0 ± 1,00
p	0,009	0,005	0,002	< 0,001	< 0,001

[1]Dados submetidos à análise de Kruskal-Wallis a 5 % de probabilidade.

Portanto, optou-se em dar continuidade aos demais testes selecionando o extrato hexânico de *T. pallida*, o qual, além de provocar a maior mortalidade, é um extrato pouco pesquisado no que se refere à atividade inseticida, e é obtido de uma espécie vegetal abundante no local de trabalho, possibilitando fácil obtenção de material para preparo dos extratos, além de conter uma boa variabilidade de grupos de compostos como revelado pela análise de cromatografia de camada delgada (Figura 6).

Segundo Tandon et al. (2009), o hexano, por ser apolar, tem afinidade com substâncias graxas, as quais são pouco ativas contra insetos, fato esse que aumentou o interesse em estudar esse extrato pois os compostos presentes no extrato devem estar em baixa concentração, podendo, consequentemente, ter alta atividade sobre pulgões, tornando interessante sua síntese.

Chan e Taylor (1966) encontraram um limonoide em folhas de *Trichilia hirta* denominada de hirtina que Simmonds et al. (2001) encontraram em raízes de *T. pallida* e comprovaram sua atividade anti-alimentar a *Helicoverpa armigera*. Como hirtina é apolar, foi encontrada primeiramente em folhas de *T. hirta* e encontra-se em raízes de *T. pallida*, é possível que essa molécula possa estar presente no extrato hexânico de *T. pallida.*

De acordo com os dados encontrados neste trabalho, e comparados com trabalhos na literatura com outros insetos, sugere-se que os metabólitos produzidos por *T. pallida* presentes no extrato hexânico têm um espectro seletivo de ação, pois Souza e Vendramim (2004), comparando a bioatividade de extratos orgânicos (metanólico, etanólico, clorofórmico, e hexânico) de ramos de *T. pallida* sobre ninfas de *Bemisia tabaci*, obtiveram as menores mortalidades justamente com o uso do extrato hexânico.

Cunha et al. (2005), avaliando a mortalidade e redução de peso de lagartas de *T. absoluta* alimentadas em folhas de tomateiro tratadas com extratos hexânico, diclorometânico e metanólico de folhas de *T. pallida*, obtiveram os melhores resultados com o extrato diclorometânico, o qual foi selecionado para estudos futuros visando descobrir os compostos responsáveis pela ação inseticida.

Rocha (2004) testou os extratos hexânico, diclorometânico e metanólico dos frutos de *T. pallida* sobre lagartas de *S. frugiperda* constatando melhores resultados

com o extrato diclorometânico, submetendo-o assim a fracionamentos cromatográficos até a isolação de três limonoides.

4.1.1 Seleção das frações do extrato hexânico de *T. pallida* com atividade sobre *R. maidis*

Após o fracionamento, o rendimento da fração hexânica (2,9 %) foi muito inferior ao rendimento da fração em acetato de etila (78,35 %) (Figura 7). Entretanto, a mortalidade provocada pela fração hexânica foi muito superior quando comparada à fração em acetato de etila na mesma concentração, apesar de diferir somente dos tratamentos-controle acetona e água (Tabela 3), sendo assim selecionada para os testes posteriores.

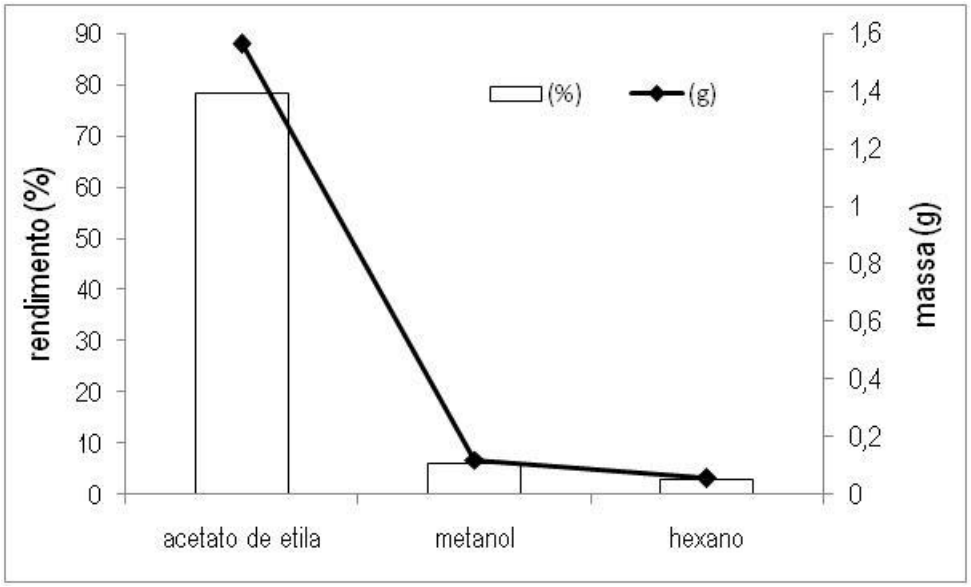

Figura 7 - Rendimento das frações do extrato hexânico de *T. pallida*

Tabela 3 - Médias ± erro padrão da mortalidade diária acumulada (%) de ninfas de *R. maidis* em discos foliares tratados com frações do extrato hexânico de *T. pallida*. Temperatura 24 ± 2ºC, Umidade Relativa 50 ± 10 % e Fotoperíodo 14:10 h.

	Dias				
Tratamentos	1	2	3	4	5
Acetona	0,0 ± 0,00 a	0,0 ± 0,00 a	0,0 ± 0,00 a	0,0 ± 0,00 a	0,0 ± 0,00 a
Água	4,0 ± 4,00 ab	4,0 ± 4,00 a	4,0 ± 4,00 a	4,0 ± 4,00 a	4,0 ± 4,00 a
Fração em metanol	3,0 ± 3,00 ab	5,0 ± 2,74 ab	16,0 ± 4,00 ab	18,0 ± 4,36 ab	21,0 ± 5,79 ab
Fração em acetato de etila	8,0 ± 3,74 ab	13,0 ± 5,83 ab	18,0 ± 5,15 ab	23,0 ± 5,83ab	28,0 ± 4,06 ab
Fração em hexano	45,0 ± 10,37 b	77,0 ± 7,35 b	88,0 ± 6,24 b	89,0 ± 6,20 b	89,0 ± 6,20 b
p	0,003	0,003	< 0,001	< 0,001	< 0,001

Medias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de comparação múltipla de Kruskal-Wallis a 5 % de probabilidade.

Ao efetuar o fracionamento, provavelmente os compostos bioativos presentes no extrato hexânico que provocaram uma mortalidade de 24 % (Tabela 2) foram concentrados na fração hexânica proporcionando assim uma mortalidade de 89 % (Tabela 3), muito superior quando comparado à mortalidade do extrato.

Os fracionamentos não continuaram até o isolamento dos compostos, pois para o isolamento de compostos bioativos de extratos de plantas, geralmente leva-se um longo período. Além do mais, somente uma pequena porcentagem deste é realmente significativo, uma vez que as substâncias ativas poderão representar apenas um pequeno volume, limitando o número de ensaios a serem realizados (ESCOUBAS et al., 1992).

A exemplo, Rocha (2004) testou a atividade inseticida de frações dos extratos brutos orgânicos de *Adiscanthus fusciflorus*, *T. pallida* e *Trichila rubra* sobre *S. frugiperda*, realizando posteriormente a identificação dos compostos presentes em cada fração.

4.1.2 Determinação da linha de suscetibilidade de *R. maidis* à fração hexânica de *T. pallida*

Analisando os valores estimados (Tabela 4), percebe-se que utilizando 5 ml de solução os resultados não se adequaram ao modelo de Probit devido ao maior coeficiente de angulação, maior valor da CL_{50} além do alto valor de χ^2. Isso pode ser atribuído à baixa uniformidade residual nos discos conforme eram tratados, pois os primeiros discos eram tratados com uma concentração maior do extrato do que os últimos discos, resultando em diferentes concentrações dentro do mesmo tratamento (concentração). Por outro lado, utilizando 15 ml esse fator não teve uma influência tão acentuada como no primeiro experimento, propiciando menores valores de coeficiente angular, χ^2 e CL_{50}.

O TL_{50} foi de 9 h, evidenciando que os compostos não são neurotóxicos, pois não houve o efeito *knockdown*, característico de inseticidas neurotóxicos. Lindquist, Madden e Schroeder (1946), ao testarem este efeito com DDT, inseticida neurotóxico, sobre A*nopheles quadrimaculatus*, consideraram como efeito *knockdown* a mortalidade dos insetos até 6 h após a contaminação.

Tabela 4 - Estimativa de CL_{50} e TL_{50}, e coeficiente angular da fração hexânica do extrato hexânico de *T. pallida* testados sobre ninfas de *R. maidis*. Temperatura 24 ± 2ºC, Umidade Relativa 50 ± 10 % e Fotoperíodo 14:10 h.

Parâmetro	N	Coeficiente angular ± erro padrão	CL_{50} / TL_{50}	X^2	Gl
CL_{50} - 5 ml	600	2,992 ± 0,313	1,36 %	30,64	2
CL_{50} - 15ml	600	2,732 ± 0,317	0,92 %	6,97	2
TL_{50} - 2 %	200	1,364 ± 0,183	9 h	5,55	3

Outro efeito que pode ser desconsiderado é o efeito regulador de crescimento, pois os indivíduos sobreviventes conseguiram mudar de ínstar, e não foram observadas ninfas mortas presas à exúvia, característica observada em insetos mortos por azadiractina, um conhecido regulador de crescimento (MORDUE (LUNTZ) e BLACKWELL, 1993).

Embora uma possível ação fagodeterrente não possa ser descartada, é possível afirmar que os insetos morreram intoxicados pelos compostos da fração hexânica, pois para ninfas em 1º ínstar mantidas sem alimentação, o TL_{50} (tempo para a ocorrência de mortalidade de 50 % dos indivíduos) ocorreu entre 23 e 28 h (Figura 8), tendo ocorrido correlação significativa entre tempo de jejum e mortalidade.

Existem substâncias que, além de serem fagodeterrentes, também podem ser tóxicas aos insetos. Sprawka e Golawska (2010) constataram que a lectina PHA age como fagodeterrente para o pulgão *Sitobion avenae*, mas Gatehouse et al. (1984) verificaram que PHA afeta o desenvolvimento larval do coleóptero *Callosobruchus masculatus*. Assim, apesar de esses insetos não pertencerem à mesma ordem, é possível verificar que uma mesma substância pode ser tóxica e fagodeterrente.

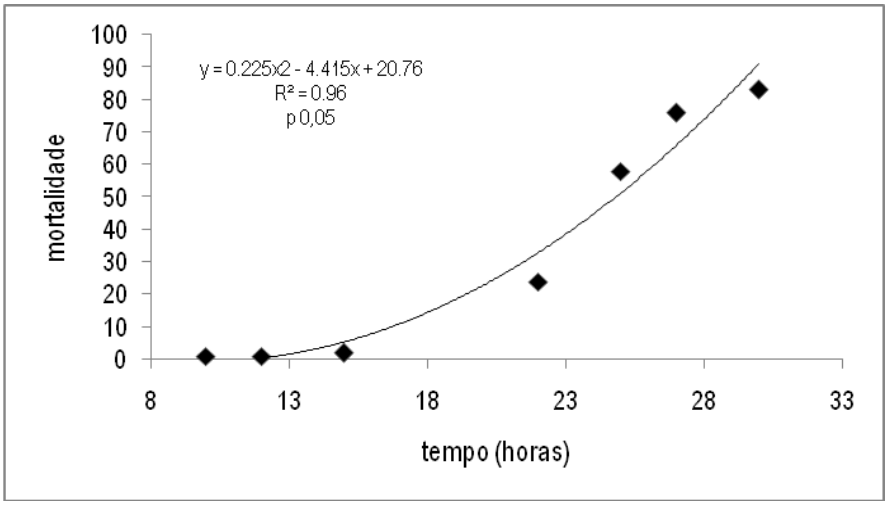

Figura 8 - Mortalidade de ninfas em 1º ínstar de *R. maidis* mantidas sem alimentação Temperatura 24 ± 2ºC, Umidade Relativa 50 ± 10 % e Fotoperíodo 14:10 h.

4.1.3 Ação de contato da fração hexânica de *T. pallida* sobre ninfas de *R. maidis*

Ao analisar os dados, pode-se afirmar que os compostos que causam a mortalidade de *R. maidis* não atuam por contato, pois o dobro do valor da CL_{50} com o maior tempo de exposição não causou mortalidade das ninfas (Tabela 5), permitindo que a maioria dos indivíduos avaliados atingisse a fase adulta.

O fato de esses compostos não apresentarem esse modo de ação, não inviabiliza seu uso no controle de afídeos, pois a maioria dos pulgões que infestam o milho e o sorgo, por exemplo, tem o hábito de permanecer na parte abaxial das folhas ou dentro do cartucho da planta (PITTA et al., 2007), alvos difíceis de serem atingidos por uma pulverização localizada, sendo então necessário que os compostos sejam translocados pelo floema (modo de ação sistêmica), local onde os afídeos se alimentam (PETTERSON; TJALLINGII; HARDIE, 2007), para que os mesmos se contaminem.

Além disso, a ação sistêmica é mais segura para a preservação de inimigos naturais quando comparados a inseticidas por contato que afetam significativamente a ocorrência de controle biológico natural (JOHNSON; OATMAN; WYMAN, 1980).

Tabela 5 - Médias ± erro padrão da Mortalidade de ninfas de *R. maidis* (%) em diferentes concentrações e tempos de exposição da fração hexânica de *T. pallida* por ação de contato. Temperatura 24 ± 2ºC, Umidade Relativa 50 ± 10 % e Fotoperíodo 14:10 h.

	dia[1]				
Tratamentos	1	2	3	4	5
Água	0,8 ± 0,49	0,8 ± 0,49	0,8 ± 0,49	0,8 ± 0,49	0,8 ± 0,49
0,92 % (15 min)	0,4 ± 0,40	0,4 ± 0,40	0,6 ± 0,60	0,6 ± 0,60	0,6 ± 0,60
0,92 % (30 min)	0,2 ± 0,20	0,2 ± 0,20	0,6 ± 0,40	1,4 ± 0,40	1,4 ± 0,40
1,84 % (15 min)	0,6 ± 0,60	0,6 ± 0,60	1,2 ± 0,73	1,4 ± 0,87	1,4 ± 0,87
1,84 % (30 min)	1,6 ± 0,60	1,8 ± 0,73	2,0 ± 0,63	2,2 ± 0,58	2,2 ± 0,58
p	0,25^{ns}	0,23^{ns}	0,27^{ns}	0,31^{ns}	0,31^{ns}

[1]Dados submetidos ao teste de Kruskal Wallis a 5 % de probabilidade. ^{ns} não significativo

4.1.4 Ação translaminar da fração hexânica de *T. pallida* sobre ninfas de *R. maidis*

Foi possível averiguar o efeito translaminar dos compostos da fração hexânica, pela maior mortalidade em comparação ao tratamento-controle (Figura 9), porém sem diferenciação significativa. Entretanto, ao pulverizar o lado abaxial, lado onde as ninfas foram mantidas, houve diferenciação somente do tratamento-controle, mas não diferindo da pulverização no lado adaxial, ocorrendo um valor de mortalidade intermediário. Portanto, o efeito translaminar ocorreu, mas com menor efetividade do que se a pulverização tivesse sido feita na superfície abaxial.

Provavelmente, com o aumento da concentração pulverizada, esse efeito se torna mais evidente, como no trabalho de Souza e Vendramim (2005) que comprovaram que o efeito translaminar dos compostos inseticidas do nim sobre ninfas de *B. tabaci* é dependente da concentração.

Banchio et al. (2003) também verificaram ação translaminar do extrato etanólico de frutos da meliácea *Melia azedarach* ao estudarem o controle da mosca-minadora *Liriomyza huidobrensis* em plantas de *Vicia faba*.

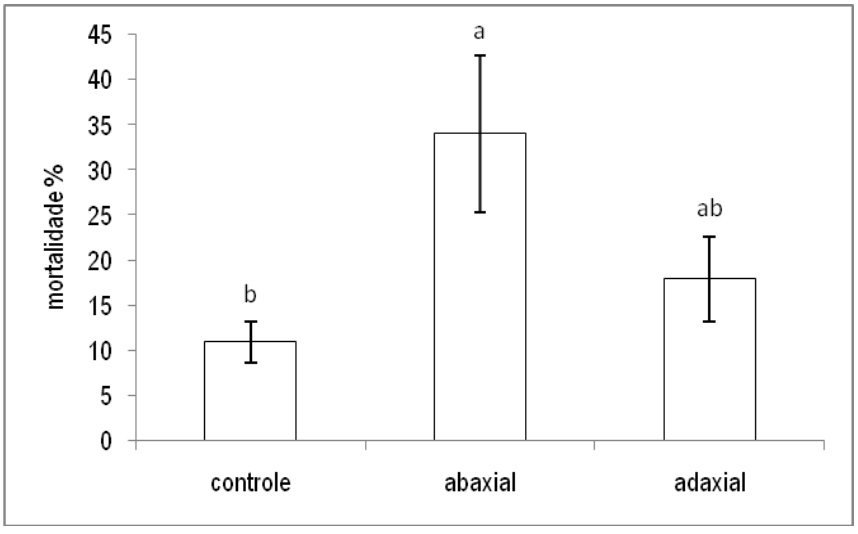

Figura 9 - Mortalidade de ninfas de *R. maidis* sobre folhas de sorgo pulverizadas com a fração hexânica de *T. pallida* nas superfícies abaxial ou adaxial. Temperatura 24 ± 2ºC, Umidade Relativa 50 ± 10 % e Fotoperíodo 14:10 h.

O fato de os compostos inseticidas da fração hexânica apresentarem efeito translaminar na planta pode favorecer uma maior proteção dos mesmos contra a rápida degradação, como por exemplo, os raios solares que degradam rapidamente moléculas do limonoide azadiractina (CABONI et al., 2006).

4.1.5 Efeito da fração hexânica de *T. pallida* no comportamento alimentar de adultos ápteros de *R. maidis*

De acordo com a análise de Componentes Principais (CP) observa-se diferenciação entre os tratamentos, sendo praticamente todas as repetições do tratamento-controle encontradas no lado direito do gráfico ao considerar o CP 1 que corresponde a 33 % da explicação dos dados (Figura 10). A interação entre os CP 1 e CP 2 resultou em 56 % da explicação da matrix de dados, sendo que as variáveis tempo sem penetração estiletar, caminhamento estiletar, número de caminhamentos, tempo de alimentação em floema, número de picadas de prova e tempo total de penetração do estilete foram as que mais contribuíram no CP 1 (Tabela 6). Entretanto, na soma total dos fatores (Fator 14) as variáveis que mais contribuíram foram tempo de caminhamento estiletar (38 %) e tempo de alimentação (52 %).

Analisando as médias das variáveis analisadas (Tabela 7), verifica-se alteração do comportamento alimentar dos pulgões alimentados em plantas tratadas com a fração hexânica quando comparados com os pulgões alimentados em plantas do tratamento-controle.

As variáveis tempo sem penetração, tempo de picada de prova, número de picadas de prova e tempo para atingir o floema demonstram que o inseto tem mais dificuldade para se alimentar, juntamente com a variável tempo de salivação que foi maior no tratamento com a fração hexânica devido também ao maior número de vezes em salivação, pois os insetos frequentemente atingiam o floema e começavam a salivar, porém não conseguiam iniciar o processo de ingestão.

Segundo Klingler et al (1998), para afídeos que se alimentam em plantas resistentes (presença de algum constituinte químico), a transição da salivação para a ingestão frequentemente falha ou se a ingestão não ocorre os afídeos geralmente voltam à salivação após um breve período de ingestão.

Zapata et al. (2010) obtiveram valores similares deste trabalho ao testarem a substância poligodial, um sesquiterpeno encontrado na casca de *Drimys winteri*, que impediu o pulgão *Nasonovia ribisnigri* de se alimentar em floema, e aumentou o tempo sem penetração estiletar.

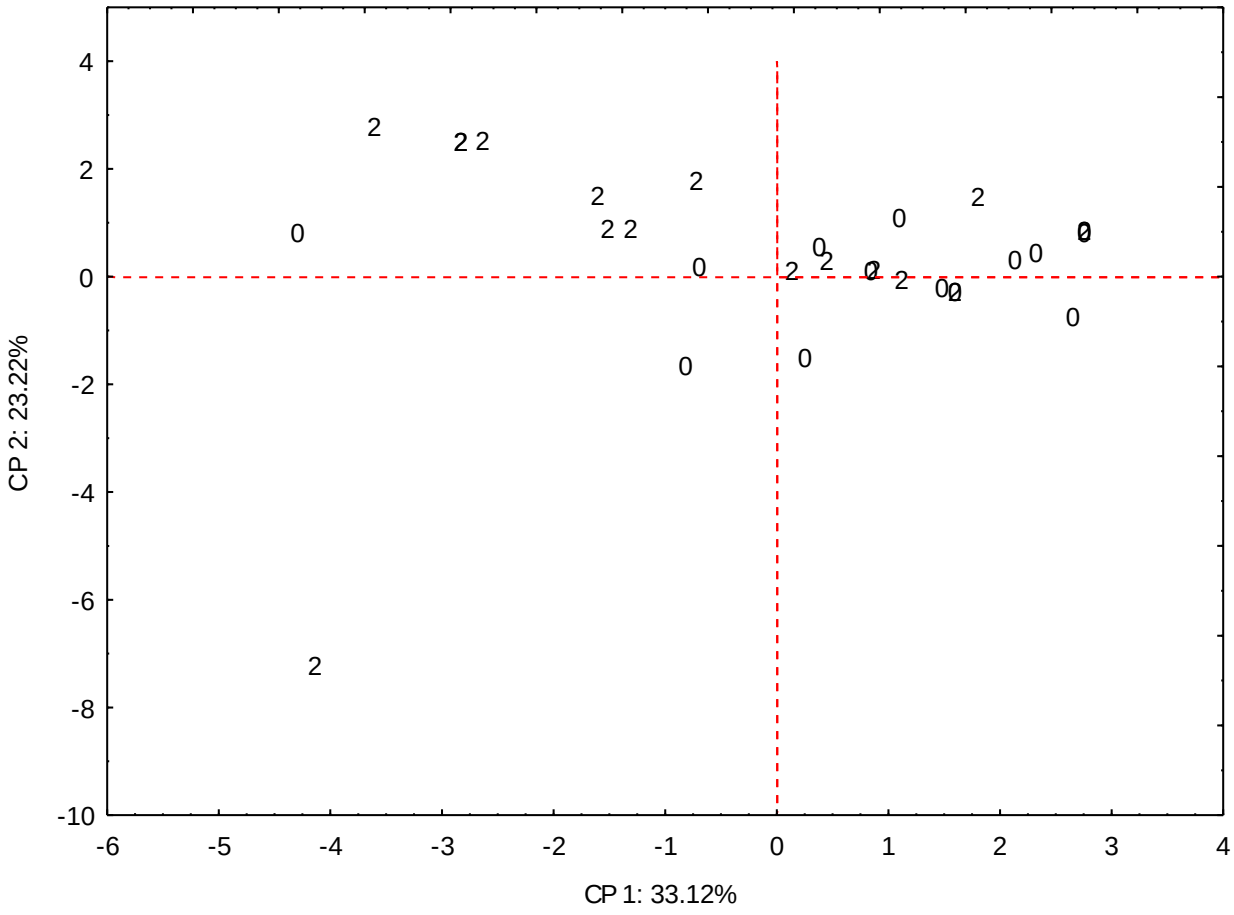

Figura 10 - Análise de Componentes Principais (CP) do comportamento alimentar de adultos ápteros de *R. maidis* em plantas de sorgo tratadas com a fração hexânica de *T. pallida* pela técnica de EPG. Temperatura 24 ± 2ºC, Umidade Relativa 50 ± 10 % e Fotoperíodo de 14:10 h.

Ao reduzir o tempo de alimentação em floema, o desempenho biológico dos pulgões é comprometido. Cui et al. (2010) constataram que *Rhopalosiphum padi*, ao se alimentar em plantas de trigo tratadas com uma concentração sub-letal da molécula neonicotinóide IPP 10, reduziu significativamente o tempo de alimentação em floema, prejudicando consequentemente sua taxa de crescimento e fecundidade.

Apesar de a fração hexânica reduzir o tempo de alimentação de *R. maidis* comprometendo sua biologia, o número de picadas de prova aumentou; consequentemente, a chance de *R. maidis* transmitir ou adquirir um fitovírus é aumentada, pois o processo de aquisição ou inoculação de vírus não persistentes por afídeos ocorre no momento da picada de prova (MARTÍN et al., 1997; FERERES; MORENO, 2009).

Tabela 6 - Contribuição das variáveis analisadas para diferenciação dos tratamentos (controle e fração hexânica) baseada nas correlações

	Fator													
Variáveis	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
np	0,10	0,05	0,05	0,02	0,10	0,13	0,02	0,01	0,02	0,00	0,46	0,00	0,00	0,03
c	0,09	0,06	0,00	0,12	0,13	0,00	0,05	0,02	0,01	0,11	0,01	0,00	0,00	0,38
nc	0,19	0,01	0,00	0,00	0,01	0,00	0,01	0,06	0,11	0,09	0,01	0,32	0,20	0,00
E1	0,02	0,22	0,03	0,01	0,03	0,06	0,01	0,08	0,00	0,04	0,00	0,24	0,25	0,01
n° E1	0,00	0,21	0,03	0,00	0,08	0,08	0,11	0,00	0,26	0,14	0,08	0,00	0,00	0,00
E2	0,18	0,01	0,03	0,04	0,02	0,00	0,01	0,03	0,00	0,13	0,01	0,01	0,01	0,52
n° E2	0,02	0,17	0,00	0,03	0,00	0,29	0,00	0,17	0,03	0,24	0,04	0,00	0,00	0,00
G	0,00	0,02	0,25	0,19	0,03	0,12	0,01	0,32	0,05	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00
n° G	0,05	0,00	0,31	0,03	0,02	0,04	0,06	0,18	0,27	0,01	0,02	0,00	0,00	0,00
pd	0,04	0,19	0,02	0,02	0,06	0,07	0,03	0,03	0,00	0,02	0,01	0,22	0,26	0,06
n° pd	0,18	0,02	0,01	0,00	0,02	0,00	0,00	0,06	0,09	0,10	0,03	0,21	0,27	0,00
1° pd	0,01	0,00	0,04	0,23	0,35	0,05	0,27	0,04	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00
tp	0,10	0,04	0,05	0,01	0,12	0,13	0,02	0,01	0,16	0,02	0,33	0,00	0,00	0,00
t. 1° E2	0,01	0,00	0,19	0,29	0,02	0,01	0,41	0,01	0,00	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00

np: sem penetração, c: caminhamento, nc: número de caminhamentos, E1: tempo de salivação em floema, n° E1: número de vezes de salivação, E2: tempo de alimentação em floema, n° E2: número de vezes de alimentação, G: tempo em xilema, n°G: número de vezes em xilema, pd: picada de prova, n°pd: número de picadas de prova, 1°pd: tempo para a primeira picada de prova, tp: tempo total de penetração do estilete, t 1°E2: tempo para atingir o floema pela primeira vez.

Tabela 7 - Média ± erro padrão dos parâmetros analisados no comportamento alimentar de adultos ápteros de *R. maidis* em plantas de sorgo tratadas com fração hexânica de *T. pallida* pela técnica de EPG. Temperatura 24 ± 2ºC, Umidade Relativa 50 ± 10 % e Fotoperíodo de 14:10 h

Tratamentos	Controle	Fração hexânica 2 %
Insetos testados	14	16
np	18,4 ± 3,1	38,2 ± 6,6
c	122,2 ± 20,3	178,5 ± 18,3
nc	67,8 ± 11,4	87,4 ± 10,8
E1	1,8 ± 0,4	4,9 + 3,1
n° E1	1,9 ± 0,4	1,7 ± 0,4
E2	151,4 ± 22,0	62,1 ± 19,8
n° E2	1,57 ± 0,3	1,0 ± 0,2
G	0,92 ± 0,6	0,29 ± 0,16
n° G	0,43 ± 0,3	0,3 ± 0,1
pd	5,22 ± 0,9	15,8 ± 10,5
n° pd	62,3 ± 10,3	76,1 ± 9,3
1° pd	19,5 ± 5,4	28,1 ± 11,9
tp	285,8 ± 5,6	261,6 ± 6,0
t1°E2	78,0 ± 14,1	83,3 ± 21,6

np: sem penetração, c: caminhamento, nc: número de caminhamentos, E1: tempo de salivação em floema, n° E1: número de vezes de salivação, E2: tempo de alimentação em floema, n° E2: número de vezes de alimentação, G: tempo em xilema, n°G: número de vezes em xilema, pd: picada de prova, n°pd: número de picadas de prova, 1°pd: tempo para a primeira picada de prova, tp: tempo total de penetração do estilete, t 1°E2: tempo para atingir o floema pela primeira vez.

4.2 Seleção dos óleos essenciais de piperáceas com atividades inseticida e repelente sobre *R. maidis*

Os rendimentos do óleo extraído de *Piper amalago* (0,7 %) e *Piper claussenianum* (0,63 %) foram bastante superiores aos obtidos de *Piper* sp. (0,03 %) e de *Piper umbellatum* (0,09 %) (Tabela 8). Baixos rendimentos de óleo como os obtidos de *Piper* sp. e de *P. umbellatum* tornam impraticável o seu uso no controle de pragas a menos que tais óleos apresentem alta atividade inseticida, pois caso contrário a necessidade de material para extração é muito elevada.

Mesquita et al. (2005), comparando os óleos essenciais de piperáceas, fizeram coletas durante três anos com um rendimento médio de *P. amalago* de 0,6 %. Entretanto, como os autores utilizaram folhas desidratadas para a extração dos óleos, pode-se inferir que, neste trabalho, onde foram utilizadas folhas frescas, o rendimento obtido tenha sido superior.

Outro fator que influência no rendimento de extração de óleo essencial é a época de coleta como, por exemplo, o trabalho de Dechamps et al. (2008) no qual foi verificado que plantas de menta coletadas no verão chegaram a produzir até o dobro quando comparadas a plantas coletadas no inverno.

Tabela 8 - Rendimento dos óleos essenciais de piperáceas submetidas ao processo de extração por hidrodestilação

Espécie	Massa folhas frescas (g)	Rendimento (g)	Rendimento (%)
P. amalago	193,34	1,36	0,70
P. umbellatum	612,83	0,55	0,09
Piper sp.	521,20	0,12	0,03
P. claussenianum	130,00	0,82	0,63

Analisando o valor canônico 1 que correspondeu a 91 % da explicação de todos os resultados (Figura 11) pode-se separar o tratamento com óleo essencial de *P. claussenianum* dos demais tratamentos, pois todas as repetições se encontram do lado esquerdo do gráfico, ao contrário dos demais tratamentos que se encontram sobrepostos no lado direito. Observa-se uma repetição de *P. amalago* que se localiza no mesmo lado de *P. claussenianum* devido aos valores de mortalidade e repelência semelhantes nos dias 4 e 5 das avaliações (Tabela 9); no entanto, os óleos obtidos de *P. amalago* nos três primeiros dias não provocaram consideráveis mortalidade e repelência, sendo que a repelência tardia pode ter se dado pela perda de qualidade alimentar dos discos foliares devido ao processo natural de morte dos tecidos vegetais, o que é confirmado pela análise de qui-quadrado que diferenciou significativamente somente de *P. claussenianum* dos demais tratamentos (Tabela 10).

Cabe ressaltar que não foram encontrados na literatura trabalhos avaliando a atividade inseticida ou repelente de *P. claussenianum*.

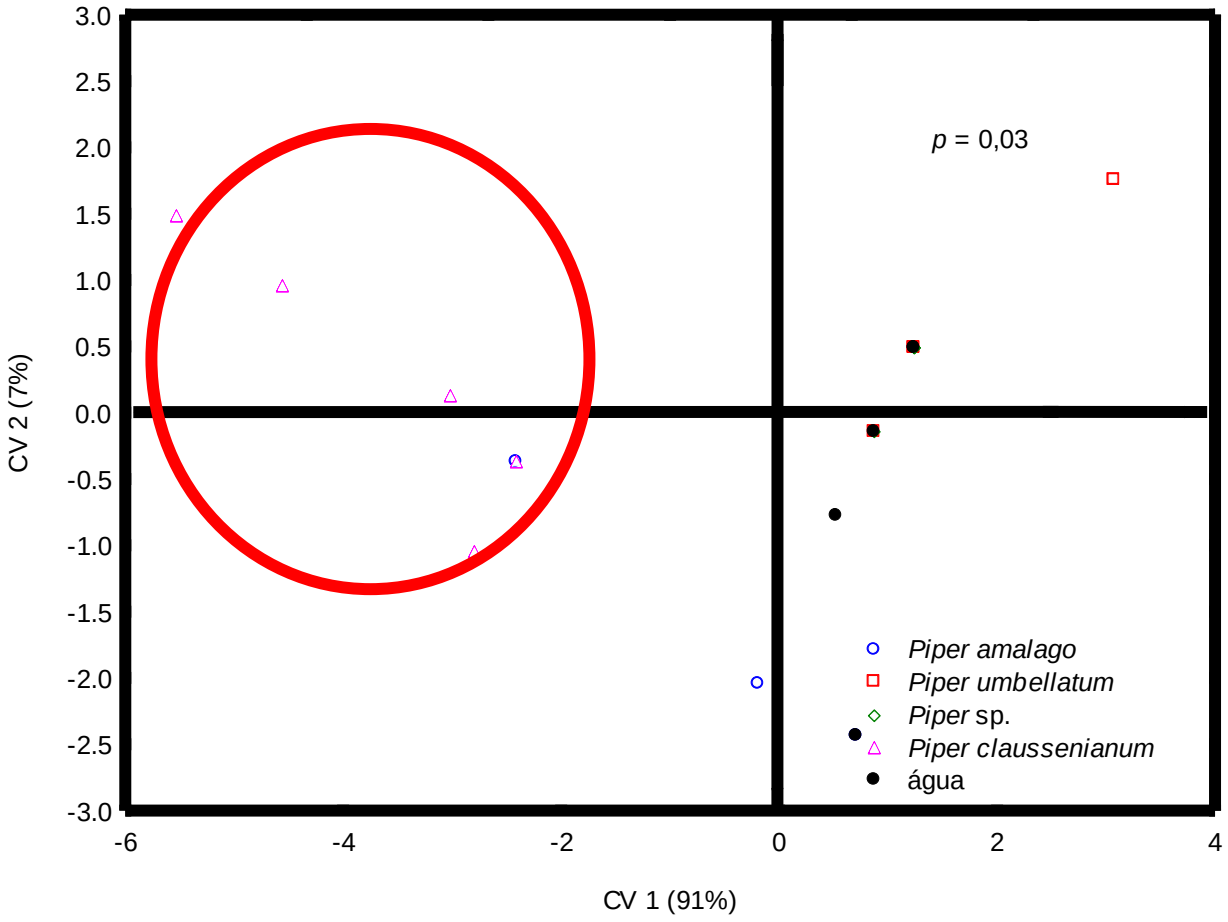

Figura 11 - Variáveis canônicas baseadas na mortalidade e repelência de ninfas de *R. maidis* causadas pelo uso do óleo essencial de quatro piperáceas. Distância de Mahalanobis utilizada como distância de similaridade. Temperatura 24 ± 2ºC, Umidade Relativa 50 ± 10 % e Fotoperíodo 14:10 h.

Tabela 9 - Média ± erro padrão de mortalidade e repelência (%) acumulada de *R. maidis* causadas pelo óleo essencial de quatro piperáceas. Temperatura 24 ± 2ºC, Umidade Relativa 50 ± 10 % e Fotoperiodo 14:10 h.

Tratamentos	Dia				
	1	2	3	4	5
	Mortalidade				
P. amalago	1,0 ± 1,00	1,0 ± 1,00	2,0 ± 1,22	5,0 ± 3,87	8,0 ± 4,36
P. umbellatum	1,0 ± 1,00	2,0 ± 2,00	2,0 ± 2,00	2,0 ± 2,00	3,0 ± 2,00
Piper sp.	0,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00	3,0 ± 3,00	8,0 ± 3,00
P. claussenianum	8,0 ± 3,39	11,0 ± 5,34	13,0 ± 7,18	17,0 ± 8,75	20,0 ± 7,91
Água	0,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00	1,0 ± 1,00	4,0 ± 2,92	7,0 ± 3,00
	Repelência				
P. amalago	0,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00	6,11 ± 4,03	12,7 ± 4,70	12,9 ± 6,50
P. umbellatum	0,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00	1,0 ± 1,00	1,0 ± 1,00	1,1 ± 1,05
Piper sp.	0,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00	1,0 ± 1,00	6,4 ± 3,05	4,5 ± 2,74
P. claussenianum	5,9 ± 3,43	5,0 ± 2,62	13,1 ± 9,42	8,2 ±4,03	13,6 ± 9,38
Água	0,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00	5,1 ± 2,30	2,1 ± 1,26	3,2 ± 2,05

Tabela 10 - Níveis de significância (qui-quadrado) das diferenças entre os tratamentos pela análise de variáveis canônicas (repelência + mortalidade)

Tratamentos	*P. amalago*	*P. umbellatum*	*Piper sp.*	*P. claussenianum*	água
P. amalago	-	0,33243	0,55886	0,00644	0,93740
P. umbellatum	0,33243	-	0,95422	0,00038	0,75710
Piper sp.	0,55886	0,95422	-	0,00083	0,92511
P. claussenianum	0,00644	0,00038	0,00083	-	0,00131
Água	0,93740	0,75710	0,92511	0,00131	-

4.2.1 Efeito fumigante do óleo essencial de *P. claussenianum* sobre *R. maidis*

Com base nos dados (Figura 12) verifica-se que o óleo essencial de *P. claussenianum* praticamente não provocou efeito fumigante sobre o pulgão *R. maidis*, já que, mesmo na maior concentração (20 µl L^{-1}), apenas 16 % dos indivíduos morreram após exposição ao óleo por 48 h, mortalidade essa próxima da obtida no tratamento-controle. Além disso, a maior mortalidade ocorreu na concentração de 10 %, ao invés da maior concentração (20 %), demonstrando a não atividade fumigante desse óleo.

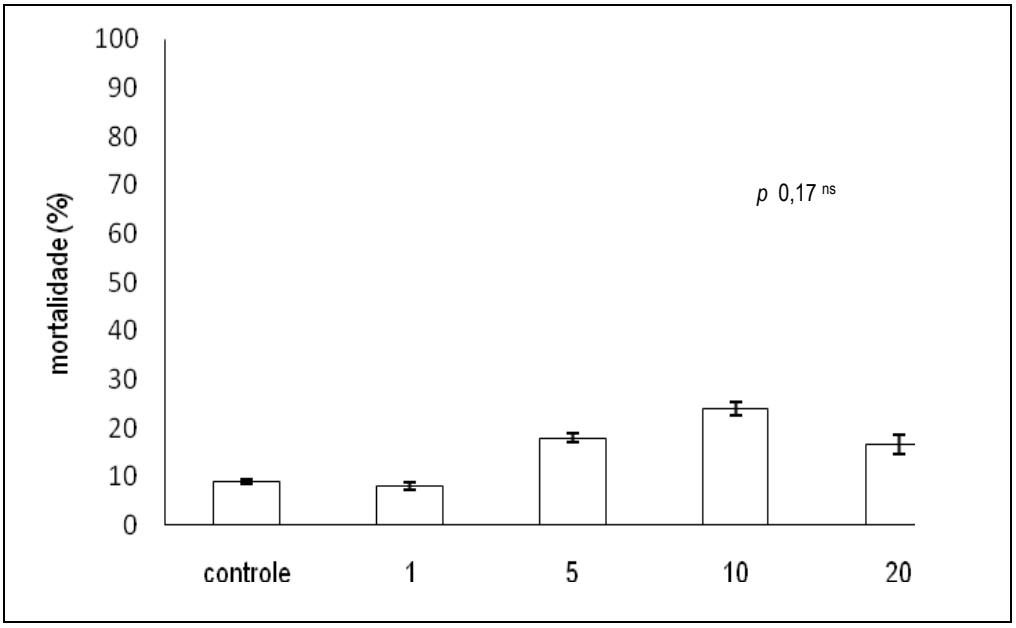

Figura 12 - Efeito fumigante do óleo essencial de *P. claussenianum* a ninfas de *R. maidis* durante 48 h de exposição. Temperatura 24 ± 2ºC, Umidade Relativa 50 ± 10 % e Fotoperíodo 14:10 h. Médias contrastadas pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade ^{ns} não significativo

Apesar de esse óleo essencial não atuar como fumigante, alguns trabalhos demonstram atividade de outras plantas sobre afídeos até mesmo em baixas concentrações como no trabalho de Tunç e Sahinkaya (1998) que controlaram 100 % dos indivíduos de *A. gossypii* com os óleos essenciais de *Cuminum cyminum*, *Pimpinella anisum*, *Origanum syriacum* e 77,6 % com *Eucalyptus camaldulensis*, utilizando a concentração de 2 µl L^{-1} de ar durante um tempo de exposição de 96 h.

Tomova, Waterhouse e Doberski (2005), ao avaliarem o efeito dos voláteis do óleo essencial de *Tagetes minuta* na sobrevivencia dos afídeos *Acyrthosiphom pisum*, *Myzus persicae*, *Aulacorthum solani* obtiveram, na dose de 1 µl, um controle de 100 % para *A. pisum* e redução significativa na sobrevivência de *A. solani* e *M. persicae*. Entretanto, os autores não informaram as dimensões da placa de Petri que utilizaram, assim, impedindo o calculo do volume da placa, e impedindo consequentemente o cálculo da concentração de óleo por litro de ar.

Kimbaris et al. (2010) testaram os óleos essenciais de *Ocimum basilicum*, *Mentha piperita*, *Citrus sinensis* e duas variedades de *Mentha pulegium* que diferiam nas quantidades dos compostos pulegone e piperitone, sobre os pulgões *Aphis fabae*, *Macrosiphoniella sanborni*, *A. pisum* e *M. persicae.* Expondo os pulgões aos óleos por 24 h os autores obtiveram as Cl_{50} mínima de 0,46 µl L^{-1} de *M. piperita* para *A. fabae* e máxima de 1,12 µl L^{-1} de *M. pulegium*, rica em piperitone, para *M. persicae*.

4.2.2 Efeito repelente do óleo essencial de *P. claussenianum* sobre alados de *R. maidis*

A análise dos dados referentes ao parâmetro número de entradas por braço permite constatar que, nas três concentrações do óleo essencial de *P. claussenianum*, não ocorreu diferença significativa entre os valores registrados no braço tratado e a média entre os braços em branco (não tratados), demonstrando que o inseto se movimentou normalmente na arena e não houve tendência de se direcionar para nenhum braço. No entanto, houve diferença significativa no tempo permanecido na comparação entre a média dos braços não tratados e o braço tratado com 2 µl do óleo, pois os insetos permaneceram em média menos tempo no braço tratado (1,78 min) do que a média dos três braços-controle (2,92 min), comprovando seu efeito repelente sobre *R. maidis* (Tabela 11).

Segundo Pickett, Wadhams e Woodcock (1992), o estímulo para pouso dos pulgões pode ser cessado por voláteis de plantas não hospedeiras. Assim, óleos essenciais obtidos dessas plantas poderiam ser aplicados em uma planta provocando repelência no indivíduo alado que não conseguiria identificar a planta tratada como

hospedeira. Isso certamente diminuiria o número de colônias na cultura, pois os alados são responsáveis pela formação das novas colônias (POWELL; TOSH; HARDIE, 2006). Entretanto, as interações entre voláteis de plantas e afídeos são complexas, podendo apresentar diferentes respostas a depender da espécie testada. Visser, Piron e Hardie (1996) testaram 35 voláteis de plantas sobre os afídeos oligófagos *Megoura viciae*, *A. fabae* e *Brevicoryne brassicae* e o polífago *M. persicae.* Os autores concluem que afídeos polifágos são atraídos por uma maior gama de voláteis do que especialistas, assim o controle de pulgões especialistas pode ser mais efetivo do que os polífagos, por evitar que reconheçam seu hospedeiro.

Bruce et al. (2005) utilizaram sachês com o óleo essencial de *Hemizygia petiolata* em parcelas experimentais, em campo de feijão e trigo, visando à redução de alados pousando sobre as culturas. Os autores constataram uma redução significativa do número de *A. pisum* nas parcelas tratadas de feijão; no entanto, para *Sitobion avenae* essa redução nas parcelas tratadas de trigo não foi significativa, demonstrando a variabilidade de resposta em função da espécie testada.

Hori (1998) avaliou o número de alados de *M. persicae* pousados sobre plantas de tabaco, em casa de vegetação, envoltas por liberadores de voláteis do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* e constataram uma redução de pouso de 30 % nessas plantas quando comparado à área controle demonstrando a influência desses odores como repelente.

Tabela 11 - Média ± erro padrão da resposta de alados de *R. maidis* ao óleo essencial de *P. claussenianum* em olfatômetro: tempo médio de permanência (min) e número médio de entradas nos braços tratado e controle. Temperatura 24 ± 2ºC, Umidade Relativa 50 ± 10 % e Fotoperíodo 14:10 h.

	Nº insetos		Nº de entradas[1]			Tempo (min)[1]		
Tratamento	Testados	Responderam	Tratado	Controle	*p*[2]	Tratado	Controle	*p*[3]
0,5 µl	32	20	1,68 ± 0,24	1,45 ± 0,27	0,4	2,22 ± 0,53	2,96 ± 0,23	0,18
1 µl	33	21	1,00 ± 0,22	0,90 ± 0,13	0,71	1,51 ± 0,50	2,61 ± 0,40	0,14
2 µl	54	26	1,23± 0,22	1,35 ± 0,17	0,59	1,78 ± 0,37	2,92 ± 0,29	0,05

[1] Análise dos dados realizados de forma pareada. [2] nível de significância pelo teste t. [3] nível de significância pelo teste de Wilcox.

4.2.3 Ação inseticida de contato do óleo essencial de *P. claussenianum* sobre ninfas de *R. maidis*

Apenas para o tempo de exposição de 7,5 min, não ocorreu diferença significativa entre o tratamento com óleo de *P. claussenianum* e o tratamento-controle água (Tabela 12), assim demonstrando que mesmo um rápido contato do inseto (10 a 30 min) com a superfície contaminada já é suficiente para causar mortalidade do mesmo, o que sugere que o referido óleo possuia ação neurotóxica. Segundo Isman (2006), Isman (2000), Rossel et al. (2008) e Regnault-Roger (1997), diversos óleos essenciais apresentam efeito neurotóxico sobre insetos, explicando porque, no presente teste os pulgões após 10 minutos de caminhamento, começavam a perder o movimento.

Grundy e Still (1985) verificaram que a substância pulegone-1,2-epoxide, obtida do óleo essencial de *Lippia steochadifolia*, inibiu *in vitro* a atividade da enzima acetilcolinesterase de *Musca domestica* e *Gromphadorhina portentosa*. Priestley et al. (2003), por outro lado, comprovaram que a substância timol, do óleo essencial de *Thymus vulgaris*, atua nos receptores do ácído gama-aminobutírico (GABA).

Tabela 12 - Média ± erro padrão da mortalidade acumulada (%) de ninfas de *R. maidis* por ação de contato em cinco períodos de exposição ao óleo de *P. claussenianum.* Temperatura 24 ± 2ºC, Umidade Relativa 50 ± 10 % e Fotoperíodo 14:10 h.

	Dia[1/2]			
Tratamentos	1	3	4	5
Água	1,0 ± 0,20 a	2,0 ± 0,24 a	2,0 ± 0,24 a	3,0 ± 0,40 a
7,5 min	17,0 ± 1,47 a	30,0 ± 1,67 a	31,0 ± 1,65 a	32,0 ± 1,63 a
10 min	42,0 ± 1,36 b	63,0 ± 2,20 b	65,0 ± 2,32 b	65,0 ± 2,32 b
15 min	52,0 ± 1,47 b	59,0 ±0,86 b	63,0 ± 0,93 b	67,0 ± 0,98 b
21 min	74,0 ± 0,37 b	76,0 ± 0,49 b	79,0 ± 0,49 b	79,0 ± 0,49 b
30 min	55,0 ± 0,55 b	72,0 ± 0,93 b	73,0 ± 0,81 b	73,0 ± 0,81 b
p	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001

[1] Dados analisados por modelos lineares generalizados - GLM com modelo ajustado pela distribuição do tipo binomial negativa [2] Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si utilizando os intervalos de confiança dos tratamentos a 95 %.

A eficiência de controle de pulgões com o óleo essencial de *P. claussenianum* pode ser aumentada quando se considera sua comprovada ação repelente (Tabela 11), pois insetos não atingidos pela pulverização podem ser forçados a entrar em contato com o produto devido ao caminhamento provocado pela ação repelente. Entretanto, esse contato com a solução pulverizada deve ocorrer logo após a aplicação antes da secagem, em razão do seu baixo poder residual. Isso pode ser comprovado quando se comparam os efeitos de uma mesma concentração (1 %) do óleo de *P. claussenianum* em dois experimentos distintos. Assim, no experimento em que as folhas já estavam secas quando o inseto entrou em contato com o óleo, a mortalidade (20 %) (Tabela 9) foi bastante inferior à registrada neste ensaio em que o tempo máximo para o primeiro contato foi de 30 min e no qual a mortalidade chegou a atingir 71 % (Tabela 13), com um valor estimado de CL_{50} de 0,77 % (Tabela 14), viabilizando seu uso, pois a necessidade requerida de óleo não é muito elevada.

Tabela 13 - Média ± erro padrão da mortalidade acumulada (%) de ninfas de *R. maidis* por ação de contato em quatro concentrações do óleo de *P. claussenianum.* Temperatura 24 ± 2ºC, Umidade Relativa 50 ± 10 % e Fotoperíodo 14:10 h.

	Dias[1]				
Tratamentos	1	2	3	4	5
Água	1,0 ± 0,20 a	1,0 ± 0,20 a	2,0 ± 0,24 a	2,0 ± 0,24 a	3,0 ± 0,40 a
0,35 %	11,0 ± 0,37 ab	13,0± 0,51 ab	15,0 ± 0,71 ab	15,0 ± 0,71 ab	15,0 ± 0,71 ab
0,50 %	18,0 ± 1,44 ab	19,0 ± 1,59 ab	22,0 ± 1,72 ab	22,0 ± 1,72 ab	26,0 ± 1,83 ab
0,71 %	34,0 ± 0,86 b	37,0 ± 0,75 b	39,0 ± 0,86 b	40,0 ± 0,95 b	42,0 ± 1,03 b
1,00 %	67,0 ± 1,12 b	68,0 ± 1,12 b	68,0 ± 1,12 b	68,0 ± 1,12 b	71,0 ± 1,46 b
p	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001

[1] Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de comparações múltiplas de Kruskal Wallis a 5 % de probabilidade.

Não foi possível estimar o TL_{50}, pois os dados não se enquadraram na análise de Probit. Isso provavelmente ocorreu porque os indivíduos que morreram o fizeram logo nas primeiras horas, cessando praticamente a mortalidade a partir de 18 h (Figura 13), impossibilitando assim a estimativa do tempo para que ocorresse a morte da população.

Tabela14 - Estimativas de CL_{50} e coeficiente angular do óleo essencial de *P. claussenianum* sobre ninfas de *R. maidis* por ação de contato. Temperatura 24 ± 2ºC, Umidade Relativa 50 ± 10 % e Fotoperíodo 14:10 h

Volume	N	Coeficiente angular ± erro padrão	CL_{50}	X^2	Gl
375 µl	500	3,751 ± 0,506	0,768	1,80	2

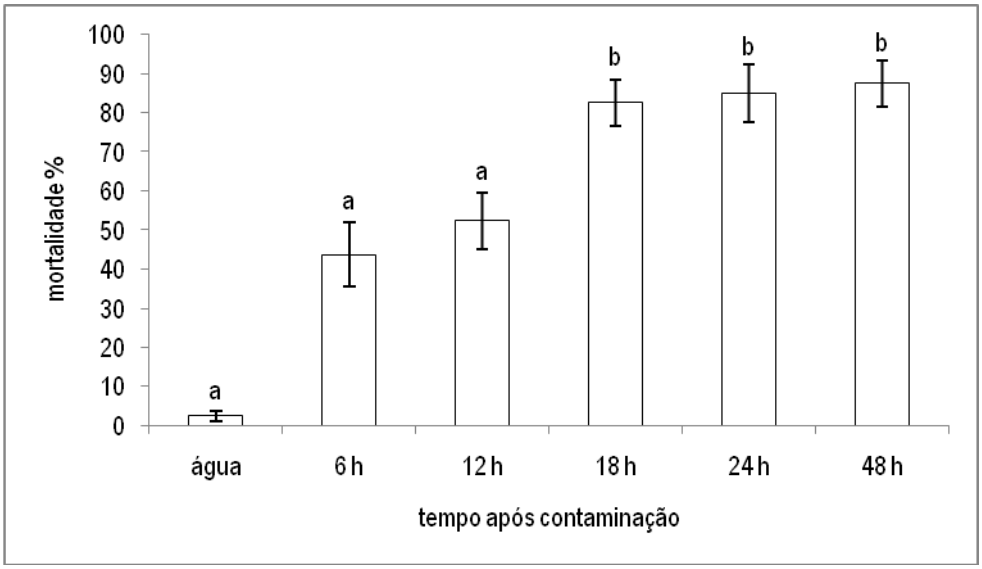

Figura 13 - Mortalidade acumulada (%) de ninfas de *R. maidis* contaminadas por contato com óleo essencial de *P. claussenianum* a 1 % de concentração. Temperatura 24 ± 2ºC, Umidade Relativa 50 ± 10 % e Fotoperíodo 14:10 h.

A utilização da ação repelente juntamente com a ação inseticida é desejável no controle de afídeos e seguindo essa linha de pesquisa Su et al. (2006) relatam que estudos iniciais indicam que a combinação do feromônio de alarme dos pulgões com inseticidas com ação de contato pode aumentar a mortalidade de afídeos. Griffiths e Pickett (1980) relatam que o feromônio de alarme usado junto com um inseticida de contato melhora a eficiência do inseticida, pois o feromônio provoca maior caminhamento dos indivíduos (BRUCE et al., 2005), aumentando a exposição do inseto ao inseticida. Entretanto, o uso de feromônio de alarme como sinergista do inseticida pode nem sempre funcionar bem, pois um dos custos adaptativos de pulgões a

piretróides, inseticida de contato, é a baixa resposta ao feromônio de alarme (FOSTER et al., 1999; FOSTER et al., 2003; FOSTER et al., 2007).

Assim, como alternativa ao uso do feromônio de alarme, pode-se utilizar o óleo essencial de *P. claussenianum,* ou a substância isolada presente no óleo que confere repelência aos pulgões. Além disso, o óleo possui ação inseticida, aumentando a eficiência de controle.

4.2.4 Efeito do óleo essencial de *P. claussenianum* no comportamento alimentar de adultos ápteros de *R. maidis.*

Analisando o gráfico de Componentes Principais (CP), observa-se que o óleo essencial de *P. claussenianum* afeta o comportamento alimentar de *R. maidis,* sendo essa alteração dependente da concentração testada ao analisar as repetições da concentração de 1 % as quais foram agrupadas no mesmo quadrante (Figura 14), onde a interação do CP 1 com o CP 2 detiveram uma explicação de 67,5 %, valor este aceitável para esse tipo de análise estatística, podendo-se, assim, afirmar que a concentração de 1 % diferiu dos demais tratamentos (0,5 % e controle), por estar agrupada sozinha em um lado oposto ao considerar o CP 1 que deteve 51,43 % da explicação total.

Entre as variáveis analisadas as que mais contribuíram no CP 1 (Tabela 15) foram caminhamento, número de caminhamentos, tempo de salivação em floema, número de vezes de salivação, número de vezes de alimentação, picada de prova, número de picadas de prova, tempo total de penetração do estilete e tempo para atingir o floema pela primeira vez. Entretanto, no somatório total (fator 14), as variáveis que mais contribuíram foram tempo de alimentação (22 %) e tempo total de penetração do estilete (48 %). Analisando os valores médios dessas variáveis (Tabela 16) os insetos mantidos sobre o tratamento-controle apresentaram maiores tempo de alimentação e caminhamento, sendo o último relacionado à variável tempo sem penetração que foi menor no tratamento-controle evidenciando que nos demais tratamentos os insetos tiveram seu comportamento de alimentação alterado.

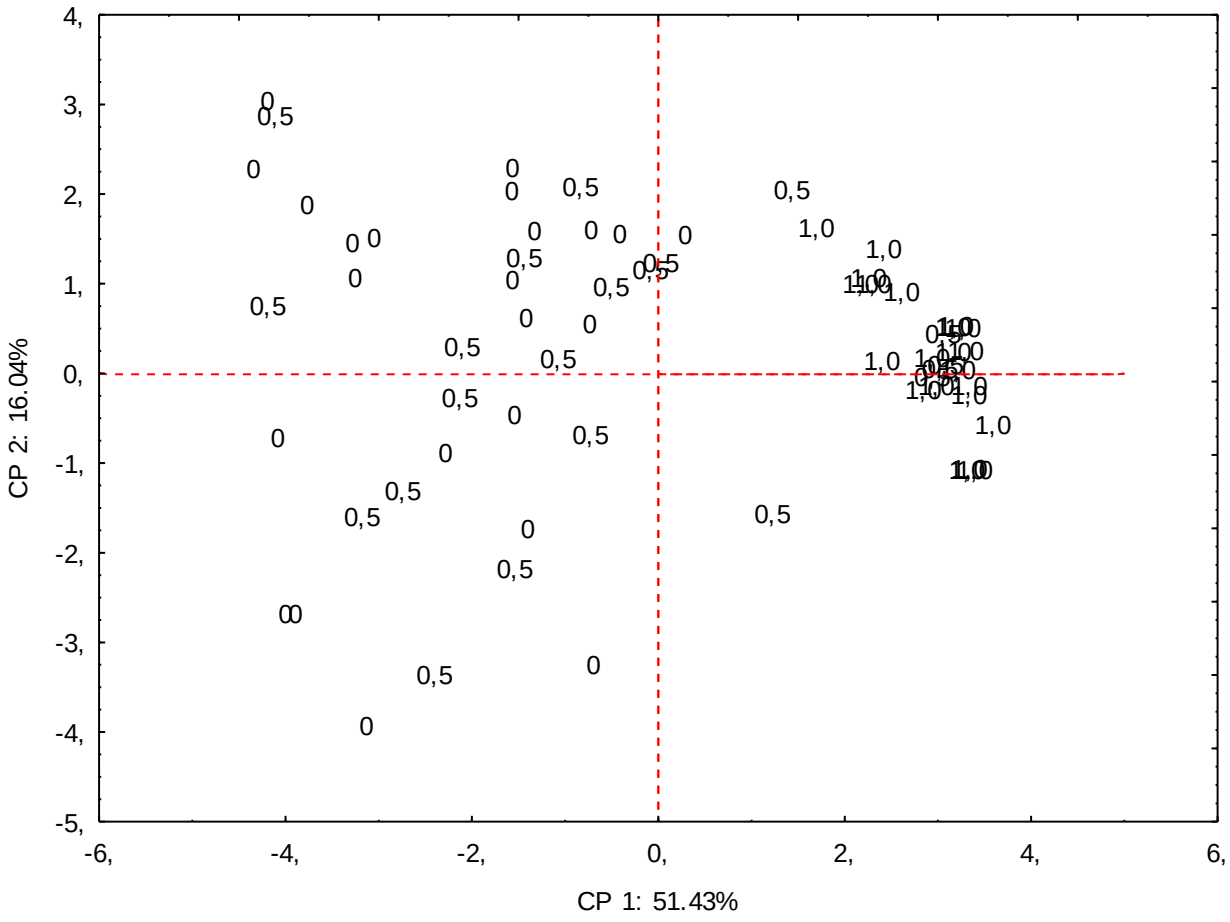

Figura 14 - Análise de Componentes Principais (CP) do comportamento alimentar de adultos ápteros de *R. maidis* em plantas de sorgo tratadas com óleo essencial de *P. claussenianum* pela técnica de EPG. Temperatura 25 ± 2ºC, Umidade Relativa 35 ± 10 % e Fotoperíodo 14:10 h.

Tabela 15 - Contribuição das variáveis analisadas para diferenciação dos tratamentos (água, 0,5 % e 1 % do óleo essencial de *P. claussenianum*) baseada nas correlações

	Fator													
Variáveis	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
np	0,01	0,01	0,05	0,17	0,72	0,00	0,00	0,00	0,01	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00
c	0,11	0,00	0,05	0,00	0,01	0,01	0,07	0,01	0,21	0,29	0,02	0,12	0,00	0,10
nc	0,11	0,00	0,11	0,00	0,01	0,01	0,00	0,00	0,00	0,03	0,04	0,18	0,48	0,01
E1	0,08	0,09	0,03	0,06	0,01	0,09	0,02	0,60	0,00	0,00	0,01	0,01	0,00	0,00
n° E1	0,08	0,11	0,03	0,10	0,01	0,01	0,02	0,19	0,06	0,02	0,30	0,08	0,00	0,00
E2	0,02	0,10	0,03	0,42	0,15	0,00	0,03	0,00	0,00	0,02	0,01	0,00	0,00	0,22
n° E2	0,08	0,10	0,07	0,07	0,00	0,00	0,06	0,09	0,01	0,03	0,35	0,14	0,00	0,00
G	0,03	0,24	0,03	0,00	0,04	0,06	0,18	0,00	0,22	0,12	0,00	0,00	0,00	0,07
n° G	0,04	0,23	0,00	0,00	0,00	0,25	0,16	0,01	0,23	0,07	0,00	0,00	0,00	0,00
pd	0,11	0,00	0,11	0,00	0,01	0,00	0,01	0,00	0,08	0,14	0,22	0,31	0,00	0,00
n° pd	0,11	0,00	0,12	0,00	0,01	0,01	0,01	0,00	0,00	0,04	0,04	0,14	0,50	0,00
1° pd	0,03	0,11	0,24	0,01	0,01	0,26	0,11	0,04	0,06	0,12	0,00	0,00	0,00	0,00
tp	0,11	0,00	0,00	0,16	0,01	0,01	0,02	0,00	0,00	0,08	0,00	0,00	0,01	0,58
t. 1° E2	0,08	0,02	0,11	0,00	0,00	0,28	0,32	0,05	0,10	0,02	0,00	0,01	0,00	0,00

np: sem penetração, c caminhamento, nc: número de caminhamentos, E1: tempo de salivação em floema, n° E1: número de vezes de salivação, E2: tempo de alimentação em floema, n° E2: número de vezes de alimentação, G: tempo em xilema, n°G: número de vezes em xilema, pd: picada de prova, n°pd: número de picadas de prova, 1°pd: tempo para a primeira picada de prova, tp: tempo total de penetração do estilete, t 1°E2: tempo para atingir o floema pela primeira vez.

Segundo Prado e Tjallingii (1997), a penetração estiletar por afídeos é um importante processo na seleção e aceitação ou rejeição da planta hospedeira. Annan et al. (1997) também identificaram que a variável tempo de penetração foi importante para discriminar a alteração alimentar do afídeo *Aphis craccivora* sobre plantas de feijão-caupi tratadas com extratos de variedades resistentes ao pulgão.

Dessa forma, é possível demonstrar a preferência dos pulgões para se alimentarem sobre plantas sem o tratamento com o óleo essencial. Cabe ainda salientar que no campo os insetos têm a chance de escolher entre permanecer ou não sobre a planta, enquanto que durante o teste com EPG ele fica confinado e consequentemente obrigado a se alimentar de uma planta que pode ser não atrativa para a alimentação, podendo os efeitos com chance de escolha ser ainda mais marcantes. Aliado a isto, existe o fato de que no ensaio em olfatômetro foi comprovada a ação repelente sobre alados.

As variáveis tempo em xilema e número de vezes no xilema estiveram presentes na maioria dos insetos analisados; no entanto, esse padrão não é muito comum em pulgões adultos ápteros (POWELL; HARDIE, 2002), pois a ingestão de xilema está relacionada à reidratação, principalmente de alados devido seus longos vôos sem alimentação (POWELL; HARDIE, 2001), sendo uma possível explicação desse fenômeno no presente ensaio a baixa umidade na época que poderia ter provocado maiores perdas de umidade do inseto para o ambiente, desidratando-o.

Tabela16 - Média ± erro padrão dos parâmetros analisados no comportamento alimentar de adultos ápteros de *R. maidis* em plantas de sorgo tratadas com óleo essencial de *P. claussenianum* pela técnica de EPG. Temperatura 25 ± 2ºC, Umidade Relativa 35 ± 10 % e Fotoperíodo 14:10 h.

Tratamentos	Controle	*P. claussenianum* 0,5 %	*P. claussenianum* 1 %
Insetos testados	23	21	22
np	23,8 ± 4,5	51,6 ± 13,2	54,9 ± 10,7
c	109,4 ± 10,2	111,1 ± 13,1	111,5 ± 10,9
nc	66,0 ± 5,5	76,5 ± 10,0	76,1 ± 9,1
E1	2,1 ± 0,3	1,4 ± 0,3	1,2 ± 0,2
n° E1	2,0 ± 0,3	1,2 ± 0,2	1,4 ± 0,3
E2	108,1 ± 17,6	96,5 ± 17,3	77,2 ± 17,0
n° E2	1,7 ± 0,2	1,2 ± 0,2	1,2 ± 0,2
G	51,1 ± 13,8	32,6 ± 9,5	49,0 ± 10,7
n° G	1,7 ± 0,4	1,9 ± 0,4	2,1 ± 0,4
pd	5,5 ± 0,5	6,4 ± 0,9	6,1 ± 0,7
n° pd	59,1 ± 5,0	68,4 ± 9,3	66,5 ± 8,0
1° pd	34,2 ± 9,1	17,1 ± 3,3	26,0 ± 6,8
tp	277,5 ± 5,7	248,1 ± 13,1	246,4 ± 10,7
t1° E2	110,0 ± 15,9	109,9 ± 19,8	91,9 ± 19,0

np: sem penetração, c caminhamento, nc: número de caminhamentos, E1: tempo de salivação em floema, n° E1: número de vezes de salivação, E2: tempo de alimentação em floema, n° E2: número de vezes de alimentação, G: tempo em xilema, n°G: número de vezes em xilema, pd: picada de prova, n°pd: número de picadas de prova, 1°pd: tempo para a primeira picada de prova, tp: tempo total de penetração do estilete, t 1°E2: tempo para atingir o floema pela primeira vez.

5 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos neste trabalho com extratos orgânicos de Meliaceae e óleos essenciais de Piperaceae sobre *R. maidis*, conclui-se que:

- A fração hexânica do extrato hexânico de *T. pallida* apresenta substâncias com atividade inseticida sobre *R. maidis*, sendo uma possível fonte para síntese de novos inseticidas;

- Os compostos presentes na fração hexânica não apresentam ação de contato sobre os pulgões, portanto, os compostos obrigatoriamente atingem os vasos de floema da planta;

- O valor do TL_{50} indica que os compostos presentes na fração hexânica não atuam de forma neurotóxica sobre os pulgões;

- Apesar de interferir negativamente na alimentação de *R. maidis*, os insetos morrem por intoxicação pelos compostos e não devido ao efeito fagodeterrente;

- O óleo essencial de *P. claussenianum* pode ser utilizado no controle de pulgões, e apresenta efeito inseticida por contato porém com baixo efeito residual.

- A rápida mortalidade dos pulgões em contato com o óleo essencial de *P. claussenianum* indica haver uma ação neurotóxica.

- O óleo essencial de *P. claussenianum* possui efeito repelente e fagodeterrente sobre *R. maidis*.

REFERÊNCIAS

AKHTAR, Y.; YEOUNG, Y.-R.; ISMAN, M.B. Comparative bioactivity of selected extracts from Meliaceae and some commercial botanical insecticides against two noctuid caterpillars, *Trichoplusia ni* and *Pseudaletia unipuncta*. **Phytochemical Review**, Leyden, v. 7, p. 77-88, 2008.

ANNAN, I.B.; SCHAEFERS, G.A.; TINGEY, W.M.; TJALLINGII, W.F. Stylet activity of Cowpea aphid (Homoptera: Aphididae) on leaf extracts of resistant and susceptible cowpea cultivars. **Journal of Insect Behavior**, New York, v. 10, n. 5, p. 603-618, 1997.

BACKUS, E.A.; BENNETT, W.H. The AC-DC correlation monitor: new EPG design with flexible input resistor to detect both R and F components for any piercing-sucking hemipteran. **Journal of Insect Physiology**, London, v. 55, p. 869-884, 2009.

BALANDRIN, M.J.; KLOCKE, J.A.; WURTELE, E.S.; BOLLINGER, W.H. Natural plant chemicals: source of industrial and medicinal materials. **Science**, New York, v. 228, p. 1154-1160, 1985.

BALDIN, E.L.; VENDRAMIM, J.D.; LOURENÇÃO, A.L. Interaction between resistant tomato genotypes and plant extractions on *Bemisia tabaci* (Genn.) biotype B. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 64, n. 5, p. 476-481, 2007a.

BALDIN, E.L.; SOUZA, D.R.; SOUZA, E.S.; BENEDUZZI, R.A. Controle de mosca-branca com extratos vegetais, em tomateiro cultivado em casa-de-vegetação. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 4, p. 602-606, 2007b.

BANCHIO, E.; VALLADARES, G.; DEFAGÓ, M.; PALACIOS, S.; CARPINELLA, C. Effects of *Melia azedarach* (Meliaceae) fruit extracts on the leafminer *Liriomyza huidobrensis* (Diptera, Agromyzidae): assessment in laboratory and field experiments. **Annals of Applied Biology**, Cambridge, v. 143, p. 187-193, 2003.

BEZERRA, G.C.D. **Efeito de extratos brutos e frações de meliáceas (Rutales: Meliaceae) na sobrevivência e no comportamento de *Bemisia tabaci* Gennadius) biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae) em tomateiro**. 2009. 137 p. Tese (Doutorado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 08 set. 2010.

BLACKMAN, R. L.; EASTOP, V. F. **Aphids on the world’s crops**: an identification and information guide. Chichester: John Wiley, 1984. 466 p.

BOEKE, S.J.; BOERSMA, M.G.; ALINK, G.M.; LOON, J.J.A.V.; HUIS, A.V.; DICKE, M.; RIETJENS, I.M.C.M. Safety evaluation of neem (*Azadirachta indica*) derived pesticides. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausane, v. 94, p. 25-41, 2004.

BOGORNI, P.C.; VENDRAMIM, J.D. Bioatividade de extratos aquosos de *Trichlia* spp. sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 32, n. 4, p. 665-669, 2003.

BOGORNI, 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, n. 2, p. 311-317, 2005.

BOX, G.E.P.; COX, D.R. An anlysis of transformations. **Journal of the Royal Statistical Society**, London, v. 26, n. 2, p. 211-252, 1964.

BRUCE, T.J.A.; BIRKETT, M.A.; BLANDE, J.; HOOPER, A.M.; MARTIN, J.L.; KHAMBAY, B.; PROSSER, I.; SMART, L.E.; WADHAMS, L.J. Response of economically important aphids to components of *Hemizygia petiolata* essential oil. **Pest Management Science**, London, v. 61, p. 1115-1121, 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.

CHAMPAGNE, D.E.; ISMAN, M.B.; TOWERS, G.H.N. Insecticidal activity of phytochemical and extracts of the Meliaceae. In: ARNASON, 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.

CHAN, W.R.; TAYLOR, D.R. Hirtin and deacetylhirtin: new “limonoids” from *Trichilia hirta.* **Journal of the Chemical Society Chemical Communications**, London, n. 7, p. 206-207, 1966.

CHAPMAN, R.F.; BERNAYS, E.A.; SIMPSON, S.J. Attraction and repulsion of the aphid, *Cavariella aegopodii*, by plant odours. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 7, p. 881-868, 1981.

CHIASSON, H.; VINCENT, C.; BOSTANIAN, N.J. Insecticidal properties of a *Chenopodium*-based botanical. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 97, n. 4, p. 1378-1383, 2004.

COELHO, A.A.M.; PAULA, J.E.; ESPÍNDOLA, L.S. Inseticidal activity of cerrado plant extracts on *Rhodnius milesi* Carcavallo, Rocha, Galvão & Jurbeg (Hemiptera: Reduvidae), under laboratory conditions. **Neotropical Entomology**, Vacaria, v. 35, n. 1, p. 133-138, 2006.

COPPING, L.G.; MENN, J.J. Biopesticides: a review of their action, applications and efficacy. **Pest Management Science**, London, v. 56, p. 651-676, 2000.

CUI, L.; SUN, L.; SHAO, X.; CAO, Y.; YANG, D.; LI, Z.; YUAN, H. Systemic action of novel neonicotinoid insecticide IPP-10 and its effect on the feeding behavior of *Rhopalosiphum padi* on wheat. **Pest Management Science**, London, v. 66, p. 779-785, 2010.

CUNHA, U.S. da. **Busca de substâncias de *Trichilia pallida* e *Trichilia pallens* (Meliaceae) com atividade sobre a traça-do-tomateiro *Tuta absoluta* (Meyrick) (LEP.: Gelechiidae)**. 2004. 126 p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

CUNHA, U.S da; VENDRAMIM, J.D.; ROCHA, W.C.; VIEIRA, P.C. Frações de *Trichilia pallens* com atividade inseticida sobre *Tuta absoluta*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 11, p. 1579-1585, 2006.

CUNHA, U.S. da; 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, n. 4, p. 667-673, 2005.

DECHAMPS, C.; ZANATTA, J.L.; BIZZO, H.R.; OLIVEIRA, M.C.; ROSWALKA, L.C. Avaliação sazonal do rendimento de óleo essencial em espécies de menta. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 3, p. 725-730, 2008.

DOE, M.; SHIBUE, T.; HARAGUCHI, H.; MORIMOTO, Y. Structure, biological activities, and total syntheses of 13-Hydroxy- and 13-Acetoxy-14-nordehydrocalohastine, novel modified Furanoeremophilane-type sesquiterpenes from *Trichilia cuneata*. **Organic Letters**, London, v. 7, n. 9, p. 1765-1768, 2005.

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**, Pretoria, v. 73, p. 366-371, 2007.

EMBRAPA. **Sistemas de produção 2**. 4. ed. Sete Lagoas: EMBRAPA Milho e Sorgo, 2008. Disponível em: <http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/sorgo_4_ed/index.htm>. Acesso em: 22 set. 2010.

ENAN, E. Insecticidal activity of essential oils: octopaminergic sites of action. **Comparative Biochemistry and Physiology**, New York, v. 130, p. 325-337, 2001.

ESCOUBAS, P.; FUKUSHI, Y.; LAJIDE, L.; MIZUTANI, J. A new method for fast isolation of insect antifeedant compounds from complex mixtures. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 18, n. 10, p. 1819-1832, 1992.

FERERES, A.; MORENO, A. Behavioural aspects influencing plant virus transmission by homopteran insect. **Virus Research**, Amsterdan, v. 141, p. 158-168, 2009.

FONSECA, A.R.; CRUZ, I.; CARVALHO, C.F.; SOUZA, B. Desenvolvimento de *Rhopalosiphum maidis* (Fitch, 1856) (Hemiptera: Aphididae) em sorgo, cultivar BR 304. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, ed. esp., p. 1470-1478, 2003.

FONSECA, A.R.; CRUZ, I.; CARVALHO, C.F.; SOUZA, B. Resistência de genótipos de sorgo ao pulgão *Rhopalosiphum maidis* (Fitch, 1856) (Hemiptera: Aphididae): III. Efeito no desenvolvimento da planta. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 3, p. 585-592, 2004.

FOSTER, S.P.; WOODCOCK, C.M.; WILLIAMSON, M.S.; DEVONSHIRE, A.L.; DENHOLM, I.; THOMPSON, R. Reduced alarm response for peach-potato aphids (*Myzus persicae*) with knock-down resistance to insecticides (kdr) may impose a fitness cost through increased vulnerability to natural enemies. **Bulletin of Entomological Research**, London, v. 89, p. 133-138, 1999.

FOSTER, S.P.; TOMICZEK, M.; THOMPSON, R.; DENHOLM, I.; POPPY, G.; KRAAIJEVELD, A.R.; POWELL, W. Behavioural side-effects of insecticide resistance in aphids increase their vulnerability to parasitoid attack. **Animal Behaviour**, London, v. 74, p. 621-632, 2007.

FOSTER, S.P.; KIFT, N.B.; BAVERSTOCK, J.; SIME, S.; REYNOLDS, K.; JONES, J.E.; THOMPSON, R.; TATCHELL, G.M. Association of MACE-based insecticide resistance in *Myzus persicae* with reproductive rate, response to alarm pheromone and vulnerability to attack by *Aphidius colemani*. **Pest Management Science**, London, v. 59, p. 1169-1178, 2003.

FURIATTI, R.S.; LAZZARI, S.M.N. Relação entre a atividade de esterases e a resistência de *Myzus persicae* (Sulz.) (Sternorrhyncha: Aphididae) a pirimicarb. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 32, n. 4, p. 693-697, 2003.

GASSEN, D.N. **Manejo de pragas associadas à cultura do milho**. Passo Fundo: Aldeia Norte, 1996. 134 p.

GATEHOUSE, A.M.R; DEWEY, F.M.; DOVE, J.; FENTON, K.; PUSZTAI, A. Effect of seed lectins from *Phaseolus vulgaris* on the development of the larvae of *Callosobruchus masculatus*: mechanism of toxicity. **Journal of Science Food Agricultural**, London, v. 35, p. 373-380, 1984.

GIBSON, R.W.; RICE, A.D. Modifying aphid behavior. In: MINKS, A.K.; HARREWIJN, P. **Aphids:** their biology, natural enemies and control. Amsterdan: Elsevier, 1989. chap. 11.3, p. 209-221.

GNOATTO, S.C.B.; BASSANI, V.L.; COELHO, G.C.; SCHENKEL, E.P. Influência do método de extração nos teores de metilxantinas em erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil., Aquifoliaceae). **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 304-307, 2007

GONÇALVES, M.C.; MAIA, I.G.; GALLETI, S.R.; FANTIN, G.M. Infecção mista pelo *Sugarcane mosaic virus* e *Maize rayado fino virus* provoca danos na cultura do milho no estado de São Paulo. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 33, n. 4, p. 348-352, 2007.

GONÇALVES-GERVÁSIO, R.C.R. **Efeito de extratos de *Trichilia pallida* Swartz e *Azadiractina indica* A. Juss (Meliaceae) sobre *Tuta absoluta* (Meyrick) e seu parasitóide *Trichogramma pretiosum* Riley.** 2003. 100 p. (Doutorado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

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.

GRIFFITHS, D.C.; PICKETT, J.A. A potential application of aphid alarm pheromones. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdan, v. 27, p. 199-201, 1980.

GRUNDY, D.L.; STILL, C.C. Inhibition of acetylcholinesterase by pulegone-1,2-epoxide. **Pesticide Biochemistry and Phisiology**, New York, v. 23, p. 383-388, 1985.

HORI, M. Repellency of rosemary oil against *Myzus persicae* in a laboratory and in a screenhouse. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 24, n. 9, p. 1425-1432, 1998.

ISMAN, M.B. Plant essential oils for pest and disease management. **Crop Protection**, Guilford, v. 19, p. 603-608, 2000.

_____. The role of botanical insecticides, deterrentes, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 51, p. 45-66, 2006.

JIMENEZ, A.; VILLARREAL, C.; TOSCANO, R.A.; COOK, M.; ARNASON, J.T.; BYE, R.; MATA, R. Limonoids from *Swietenia humilis* and *Guarea grandiflora* (Meliaceae). **Phytochemestry**, Oxford, v. 49, n. 7, p. 1981-1988, 1998.

JOHNSON, M.W.; OATMAN, E.R.; WYMAN, J.A. Effects of inseticides on populations of the vegetable leafminer and associated parasites on fall pole tomatoes. **Journal of Economic Entomology**, Lanhan, v. 73, p. 67-71, 1980.

KIMBARIS, A.C.; PAPACHRISTOS, D.P.; MICHAELAKIS, A.; MARTINOU, A.F.; POLISSIOU, M. Toxicity of plant essential oil vapours to aphids pests and their coccinelid predators. **Biocontrol Science and Technology**, New York, v. 20, n. 4, p. 411-422, 2010.

KLINGLER, J.; POWELL, G.; THOMPSON, G.A.; ISAACS, R. Phloem specific aphid resistance in *Cucumis melo* line AR 5: effects on feeding behaviour and performance of Aphis *gossypii*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdan, v. 86, n. 1, p. 79-88, 1998.

KOSCHIER, E.H.; SEDY, K.A. Labiate essential oils affecting host selection and acceptance of *Thrips tabaci* Lindeman. **Crop Protection**, Guilford, v. 22, p. 929-934, 2003.

KOUL, O. Feeding deterrence induced by plant limonoids in the larvae of *Spodoptera litura* (F.) (Lepidoptera: Noctuidae). **Zeitschrift für Angewandte Entomologie**, Berlin, v. 95, n. 1, p. 166-171,1983.

KOUL, O.; SINGH, G.; SINGH, R.; SINGH, J.; DANIEWSKI, W.M.; BERLOZECKI, S. Bioefficacy and mode-of-action of some limonoids of salannin group from *Azadirachta indica* A. Juss and their role in a multcomponent system against lepidopteran larvae. **Journal of Bioscience**, Bangalore, v. 29, p. 409-416, 2004.

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.

LAGUNES, T.A.; RODRIGUEZ, H.C. **Búsqueda de tecnologia apropriada para el combate de plagas del maíz almacenado em condiciones rústicas**. Chapingo: CONACYT - CP, 1989. 150 p. (Informe final Del Proyecto CONACYT/PVT/AI/NAL/85/3149).

LEES, G.; BURT, P.E. Neurotoxic actions of a lipid amide on the cockroach nerve cord and on locust somata maintained in short-term culture: a novel preparation for the study of Na^+ channel pharmacology. **Pesticide Science**, London, v. 24, p. 189-191, 1988.

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

LESEMANN, DE.; SHUKLA D.D.; TOSIC, M.; HUTH, W. Differentiation of the four viruses of the sugarcane mosaic virus subgroup based on cytopathology. **Archives of Virology Supplement**, Vienna, v. 5, p. 353-361, 1992.

LINDQUIST, A.W.; MADDEN, A.H.; SCHROEDER, H.O. Mosquitoes and bedbugs exposed to DDT. **Journal of the Kansas Entomological Society**, Manhattan, v. 19, n. 1, p. 13-15, 1946.

LOWERY, D.T.; ISMAN, M.B. Insect growth regulating effects of neem extract and azadirachtin on aphids. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdam, v. 72, n. 1, p. 77-84, 1994.

MAIA, W.J.M.S.; CARVALHO, C.F.; CRUZ, I.; SOUZA, B.; MAIA, T.J.A.F. Influência da temperatura no desenvolvimento de *Rhophalosiphum maidis* em condições de laboratório. **Ciência e Agrotecnologia**. Lavras, v. 28, n. 3, p. 520-529, 2004

MAIA, W.J.M.S.; LOUZADA, J.N.C.; CRUZ, I.; ECOLE, C.C. MAIA; T.J.A.F. Efeito da umidade do solo na biologia de *Rhopalosiphum maidis* (Fitch, 1856) (Hemiptera: Aphididae) em milho**. Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 5, n. 1, p. 37-47, 2006.

MAIA, W.J.M.S.; CRUZ, I.; CARVALHO, C.F.; SOUZA, B.; WAQUIL, J.M.; RENZO, G.V.P.; CARVALHO, S.P.; MAIA, T.J.A.F.; LOUREIRO, I. Efeito do estádio fenológico do milho (*Zea mays*.) sobre a infestação pelo pulgão *Rhopalosiphum maidis* (Fitch, 1856). **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 4, n. 3, p. 308-315, 2005.

MARTÍN, B.; COLLAR, J.L.; TJALLINGII, W.F.; FERERES, A. Intracelular ingestion and salivation by aphids may cause the acquisition and inoculation of non-persistently transmitted plant viruses. **Journal of General Virology**, London, v. 78, p. 2701-2705, 1997.

MARTINEZ, S.S. (Ed.) **O Nim:** *Azadirachta indica* - natureza, usos múltiplos, produção. Londrina: IAPAR, 2002. 142 p.

MATOS, A.P.; NEBO, L.; PAULO, C.V.; FERNANDES, J.B.; DA SILVA, M.F.G.F. Constituintes químicos e atividade inseticida dos extratos de frutos de *Trichilia elegans e T. catigua* (Meliaceae). **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 6, p. 1-4, 2009.

McFERREN, M.A.; CARDOVA, D.; RODRIGUEZ, E.; RAULTH, J.J. *In vitro* neuropharmacological evaluation of piperovatine, na isobutylamide from *Piper piscatorum* (Piperaceae). **Journal Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 83, p. 201-207, 2002.

MESQUITA, J.M.O.; CAVALEIRO, C.; CUNHA, A.P.; LOMBARDI, J.A.; OLIVEIRA, A.B. Estudo comparativo dos óleos voláteis de algumas espécies de Piperaceae. **Revista Brasileira de Farmacologia**, João Pessoa, v. 15, n. 1, p. 6-12, 2005.

MORAIS, S.M. de; FACUNDO, V.A.; BERTINI, L.M.; CAVALCANTI, E.S.B.; ANJOS JÚNIOR, J.F.; FERREIRA, S.A.; BRITO, E.S. de, NETO SOUZA, M.A de. Chemical composition and larvicidal activity of essential oils from *Piper* species. **Biochemical Systematic and Ecology**, Elmsford, v. 35, n. 10, p. 670-675, 2007.

MORDUE (LUNTZ), A.J.; BLACKWELL, A. Azadiractin: an update. **Journal of Insect Physiology**, London, v. 39, n. 11, p. 903-924, 1993.

MORDUE (LUNTZ), A.J.; NISBET, A.J. Azadiractin from the neem tree *Azadirachta indica*: its action against insects. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 29, n. 4, p. 615-632, 2000.

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J.L.V.; CATANI, V.; COSTA, C.R. da. **Potencialidades da pimenta-de-macaco (*Piper aduncum* L.):** características gerais e resultados de pesquisa. Rio Branco: EMBRAPA Acre, 2006. 53 p. (Documentos ,103).

NAKATANI, M.; IWASHITA, T.; NAOKI, H.; HASE, T. Structure of a limonoid antifeedant from *Trichilia roka.* **Phytochemistry**, Oxford, v. 24, n. 1, p. 195-196, 1985.

NISBET, A.J.; WOODFORD, J.A.T.; STRANG, R.H.C.; CONRDLY, J.D. Systemic antifeeding effects of azadiractin on the peach-potato aphid *Myzus persicae.* **Entomologia Experimentalis et Aplicatta**, Amsterdam, v. 68, n. 1, p .87-98, 1993.

NOTTINGHAM, S.F.; HARDIE, J. Migratory and targeted flight in seasonal forms of the bean aphid, *Aphis fabae*. **Physiological Entomology**, London, v. 14, p. 451-458, 1993.

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.

ORTEGO, F.; LOPES-OLGUIN, J.; RUIZ, M.; CASTANERA, P. Effects of toxic and deterrent terpenoids on digestive protease and detoxication enzyme activities of Colorado potato beetle larvae. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 63, p. 76-84, 1999.

PEREIRA, P.R.V.S.; SALVADORI, J.R. **Identificação de adultos ápteros das principais espécies de pulgões (Hemiptera: Aphididae) associadas a cereais de inverno no Brasil**. Passo Fundo: EMBRAPA Trigo, 2005. 8 p. (Comunicado Técnico, 21).

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.

PETTERSON, J.; TJALLINGI, W.F.; HARDIE, J. Host-plant selection and feeding. In**:** EMDEN, H.F van.; HARRINGTON, R (Ed.). **Aphids as crop pests**. Oxford: CABI International, 2007. chap. 4, p. 86-113.

PICKETT, J.A.; WASHAMS, L.J.; WOODCOCK, C.M. The chemical ecology of aphids. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 37, p. 67-90, 1992.

PIRONE, T.P. ***Sugarcane mosaic virus***. Kew: CMI; AAB, 1972. (Descriptions of Plant Viruses, 88).

PITTA, R.M.; DUARTE, A.P.; BOIÇA JUNIOR, A.L.; YUKI, V.A. Dinâmica populacional de afídeos em cultivares de milho safrinha e influência sobre seus parasitóides. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 6, n. 2, p. 131-139, 2007.

POWELL, G.; HARDIE, J. A potent, morph-specific parturition stimulant in the overwintering host plant of the black bean aphid, *Aphis fabae*. **Physiological Entomology**, London, v. 26, p. 194-201, 2001.

_____. Xylem ingestion by winged aphids. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdam, v. 104, p. 103-108, 2002.

POWELL, G.; PIRONE, T.; HARDIE, J. Aphids stylet activity during potyvirus acquisition from plants and an *in vitro* system that correlates with subsequent transmission. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 101, p. 411-420, 1995.

POWELL, G.; TOSH, C.R.; HARDIE, J. Host plant selection by aphids: behavioral, evolutionary, and applied perspectives. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 51, p. 309-330, 2006.

PRADO, E.; TJALLINGII, F. Effects of previous plant infestation on sieve element acceptance by two aphids. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdam, v. 82, p. 182-200, 1997.

PRIESTLEY, C.M.; WILLIAMSON, E.M.; WAFFORD, K.A.; SATTELLE, D.B. Thymol, a constituent of thyme essential oil, is a positive allosteric modulator of human GABAA receptors and a homo-oligomeric GABA receptor from *Drosophila melanogaster*. **British Journal of Pharmacology**, London, v. 140, n. 8, p. 1363-1372, 2003.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R:** a language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2008.

REGNAULT-ROGER, C. The potential of botanical essential oils for insect pest control. **Integrated Pest Management Reviews**, Dordrecht, v. 2, p. 25-34, 1997.

REGNAULT-ROGER, C.; PHILOGÈNE, B.J.R. Past and current prospects for the use of botanicals and plant allelochemicals in integrated pest management. **Pharmaceutical Biology**, Lisse, v. 46, n. 1, p. 41-52, 2008.

REGNAULT-ROGER, C.; HAMRAOUI, A.; HOLEMAN, M.; THERON, E.; PINEL, R. *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera: Bruchidae), a pest of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 19, p. 1233-1244, 1993

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 HERNÁNDES, C.; VENDRAMIM, J.D. Avaliação da bioatividade de extratos aquosos de Meliaceae sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 72, n. 3, p. 306-318, 1997.

RODRÍGUEZ HERNÁNDES, C.; VENDRAMIM, J.D. Toxicidad de extractos acuosos de Meliaceae em *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Manejo Integrado de Plagas**, San Jose, n. 42, p. 14-22, 1996.

ROEL, A.R.; VENDRAMIM, J.D. Efeito residual do extrato de etila de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) para lagartas de diferentes idades de *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith, 1979) (Lepidoptera: Noctuidae). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 4, p. 1049-1054, 2006.

ROEL, A.R.; VENDRAMIM, J.D.; FRIGHETTO, R.T.S.; FRIGUETTO, 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, n. 4, p. 799-808, 2000a.

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

ROSSEL, G.; QUERO, C.; COLL, J.; GUERREIRO, A. Biorational insecticides in pest management, **Journal of Pest Science**, Berlin, v. 33, n. 2, p. 103-121, 2008.

SAMPSON, B.J.; TABANCA, N.; KIRIMER, N.; DEMIRCI, B.; BASER, K.H.C.; KHAN, I.A.; SPIERS, J.M.; WEDGE, D.E. Insecticidal activity of 23 essential oils and their major compounds against adult *Lipaphis pseudobrassicae* (Davis) (Aphididae: Homoptera). **Pest Management Science**, London, v. 61, p. 1122-1128, 2005.

SANTOS, T.M.; COSTA, N.P.; TORRES, A.L.; BOIÇA JUNIOR, A.L. Effect of neem extract on the cotton aphid. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 11, p. 1071-1076, 2004.

SCHMUTTERER, H. Potencial of azadirachtin-containing pesticides for integrated pest control in developing and industrialized countries. **Journal of Insect Physiology**, London, v. 34, n. 7, p. 713-719, 1988.

_____. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 35, p. 271-297, 1990.

SCOTT, I.M.; JENSEN, H.; NICOL, R.; LESAGE, L.; BRADBURY, R.; SÁNCHES-VINDAS, L.P.; ARNASON, J.T.; PHILOGÈNE, B.J.R. Efficacy of *Piper* (Piperaceae) extracts for control of common home and garden insect pest. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 97, n. 4, p. 1390-1403, 2004.

SCOTT, I.M.; JENSEN, H.R.; PHILOGÈNE, B.J.R.; ARNASON, J.T. A review of *Piper* spp. (Piperaceae) phytochemistry, insecticidal activity and mode of action. **Phytochemical Review**, Leyden, v. 7, p. 65-75, 2008.

SEFRIN, R.C.A.S.; COSTA, E.C.; LONGHI, S.J.; LOPES, S.J.; SANTOS, V.J. Comportamento alimentar de adultos de *Diabrotica speciosa* na presença de extratos aquosos de Meliacea. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 8, p. 2115-2118, 2008.

SERTKAYA, E.; KAYA, K.; SOYLU, S. Acaricidal activities of the essential oils from several medicinal plants against the carmine spider mite (*Tetranychus cinnabarinus* Boisd.) (Acarina: Tetranychidae). **Industrial Crops and Products**, New York, v. 31, p. 107-112, 2010.

SHAPIRO, J.P. Phytochemical at the plant-insect interface. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, London, v. 17, p. 191-200, 1991.

SHAPIRO, S.S.; WILK, M.B. An analysis of variance test for normality (complete samples). **Biometrika**, Cambridge, v.52, n.3, p.591–611, 1965.

SHUKLA, D.D.; WARD, C.W.; BRUNT, A.A. **The potyviridae**. Cambridge: Cambridge University Press; CAB International, 1994. 516 p.

SILVA, C.S.; ALVES, G.A.R.; OLIVEIRA NETO, C.F.; MAIA, W.J.M.S.; LOBATO, A.K.S. Efeito do óleo vegetal de copaiba (*Copaifera* sp.) sobre *Rhopalosiphum maidis* (Fitch, 1856) (Hemiptera: Aphididae) em sorgo, cultivar BR700. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MILHO E SORGO, 27., 2008, Londrina. **Anais**... Londrina: SBMS, 2008 1 CD-ROM.

SIMMONDS, M.S.J.; BLANEY, W.M.; LEY, S.V.; ANDERSON, J.C.; TOOGOOD, P.L. Azadiractin: structural requirements for reducing growth and increasing mortality in lepidopterous larvae. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdam, v. 55, p. 169-181, 1990.

SIMMONDS, M.S.J.; STEVENSON, P.C.; PORTER, E.A.; VEITCH, N.C. Insect antifeedant activity of three new tetranortriterpenoids from *Trichilia pallid*. **Journal of Natural Products**, Pittsburg, v. 64, p. 1117-1120, 2001.

SNEDECOR, G.W.; COCHRAN, W.G. **Statistical methods**. Ames Iowa University Press, 1989. 503 p.

SOUZA, A.P.; VENDRAMIM, J.D. Bioatividade de extratos orgânicos e aquosos de meliáceas sobre *Bemisia tabaci* (Genn.) biótipo B em tomateiro. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 71, n. 4, p. 493-497, 2004.

_____. Efeito translaminar, sistêmico e de contato de extrato aquoso de sementes de nim sobre *Bemisia tabaci* (Genn.) biótipo B em tomateiro. **Neotropical Entomology**, Vacaria, v. 34, n. 1, p. 83-87, 2005.

SOUZA-SILVA, C.R.; ILHARCO, F.A. **Afídeos do Brasil e suas plantas hospedeiras**: lista preliminar. São Carlos: EDUFSCar, 1995. 85 p.

SPRAWKA, I.; GOLAWSKA, S. Effect of the lectin PHA on the feeding behavior of the grain aphid. **Journal of Pest Science**, Berlin, v. 83, p. 149-155, 2010.

STATISTICA. **STATSOFT** (Data Analysis Software System and User's Manual). Version 6. Tulsa: StatSoft, 2001.

SU, J.; ZHU, S.; ZHANG, Z.; GE, F. Effect of synthetic aphid alarm pheromone (*E*)-*β*-*Farnesene* on development and reproduction of *Aphis gossypii* (Homoptera: Aphididae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 99, n. 5, p. 1636-1640, 2006.

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 oblique* (Lepidoptera: Arctiidae). **International Journal of Tropical Insect Science**, Cambridge, v. 29, n. 4, p. 180-184, 2009.

TJALLINGII, W.F. Electrical recordings of stylet penetration activities. In: MINKS, A.K.; HARREWIJN, P. **Aphids: their biology, natural enemies and control**. Amsterdan: Elsevier, 1988. cap. 8.8, p. 95-108.

_____. Salivary secretions by aphids interacting with proteins of phloem wound responses. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 57, n. 4, p. 739-745, 2006.

TOMOVA, B.S.; WATERHOUSE, J.S.; DOBERSKI, J. The effect of fractionated *Tagetes* oil volatiles on aphid reproduction. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdam, v. 115, p. 153-159, 2005.

TUNÇ, I.; SAKINKAYA. Sensitivity of two greenhouse pests to vapours of essential oils. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdan, v. 86, p. 183-187, 1998.

VENDRAMIM, J.D. Uso de plantas inseticidas no controle de pragas. In: CICLO DE PALESTRAS SOBRE AGRICULTURA ORGÂNICA, 2., 1997, Campinas. Campinas: Fundação Cargil, 1997. p. 64-69.

VENDRAMIM, J.D.; CASTIGLIONI, E. Aleloquímicos, resistência e plantas inseticidas. In: GUEDES, J.C.; DRESTER da COSTA, I.; CASTIGLIONI, E. **Bases e técnicas do manejo de insetos**. Santa Maria: UFSM, CCR, DFS; Palloti, 2000. cap. 8, p. 113-128.

VENDRAMIM, J.D.; FRANÇA, S.C. Indução de resistência a insetos. In: CAVALCANTI, L.S.; DI PIERO, R.M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S.F.; RESENDE, M.L.V.; ROMEIRO, R.S. (Org.). **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2005. cap. 11, p. 219-238.

VISSER, J.H.; PIRON, P.G.M.; HARDIE, J. The aphids's peripheral perception of plant volatiles. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdam, v. 80, p. 35-38, 1996.

WELLINGS, P.W.; WARD, S.A.; DIXON, A.F.G.; RABBINGE, R. Crop loss assessment. In: MINKS, A.K.; HARREWIJN, P. **Aphids:** their biology, natural enemies and control. Amsterdan: Elsevier, 1989. chap. 10.2, p. 49-63.

WEST, A.J.; MORDUE (LUNTZ), A.J. The influence of azadiractin on the feeding behavior of cereal aphids and slugs. **Entomologia Experimentalis et Aplicatta**, Amsterdam, v. 62, n. 1, p. 75-79, 1992.

WHEELER, D.A.; ISMAN, M. Antifeedant and toxic activity of *Trichilia Americana* extract against the larvae of *Spodoptera litura*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Amsterdam, 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 frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Biochemical Systematic and Ecology**, Oxford, v. 29, p. 347-358, 2001.

XIE, Y.S.; ISMAN, M.B.; GUNNING, P.; MACKINNON, S.; ARNASON, J.T.; TAYLOR, D.R.; SÁNCHES, 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**, Elmsford, v. 22, n. 2, p. 129-136, 1994.

ZAPATA, N.; VARGAS, M.; MEDINA, P.; VIÑUELA, E.; RODRÍGUEZ, B.; FERERES, A. The activity of a selected extract of *Drimys winteri* bark and polygodial on settling and probing behavior of the lettuce aphid *Nasonovia ribisnigri.* **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v. 38, p. 191-199, 2010.