



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA-UFRA
PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

ERIKA DA SILVA FREIRES

**BIOATIVIDADE DE *Piper aduncum* L. SOBRE *Ascia monuste orseis* Latreille
(LEPIDOPTERA: PIERIDAE) NA CULTURA DA COUVE (*Brassica oleracea* L. var.
acephala)**

BELÉM
2011



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA-UFRA
PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

ERIKA DA SILVA FREIRES

**BIOATIVIDADE DE *Piper aduncum* L. SOBRE *Ascia monuste orseis* Latreille
(LEPIDOPTERA: PIERIDAE) NA CULTURA DA COUVE (*Brassica oleracea* L. var.
acephala)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Agronomia, da Universidade Federal Rural da Amazônia, como requisito para obtenção do título de Mestre em Agronomia.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto Silva Farias

Co-Orientador: Prof. Dr. Milton Hélio Lima da Silva

Co-Orientadora: Prof. Dra. Telma Fátima Coelho Batista

**BELÉM
2011**

Freires, Erika da Silva

BIOATIVIDADE DE *Piper aduncum* L. SOBRE *Ascia monuste orseis* Latreille (LEPIDOPTERA: PIERIDAE) NA CULTURA DA COUVE (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*). Erika da Silva Freires. – Belém, 2011.

79 f.: il.

Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal Rural da Amazônia, 2011.

1. Inseticida botânico; dilapiol; curuquerê da couve .

CDD – 633.898



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA-UFRA
PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

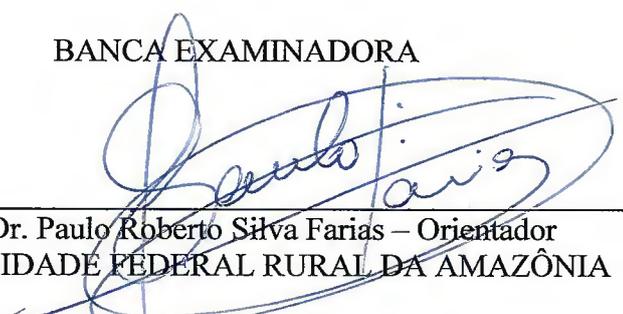
ERIKA DA SILVA FREIRES

BIOATIVIDADE DE *Piper aduncum* L. SOBRE *Ascia monuste orseis* Latreille (LEPIDOPTERA: PIERIDAE) NA CULTURA DA COUVE (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Federal Rural da Amazônia, como requisito para obtenção do título de Mestre em Agronomia.

Aprovada em 27 de abril de 2011

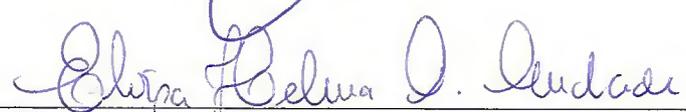
BANCA EXAMINADORA



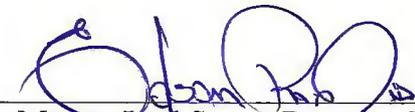
Prof. Dr. Paulo Roberto Silva Farias – Orientador
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA



Prof. Dr. Walkymário de Paulo Lemos – 1º Examinador
EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL



Prof. Dr^a. Eloísa Helena Aguiar Andrade – 2º Examinador
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ



Prof. Dr. Edson Marcos Leal Soares Ramos – 3º Examinador
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ

DEDICATÓRIA

“...Dedico este trabalho aos meus heróis Hilma e Danúbio, a minha irmã Amanda, minha avó Odete e ao meu futuro esposo Leonardo...”

AGRADECIMENTOS

A DEUS, acima de tudo.

Ao professor Paulo Roberto Silva Farias pela orientação.

Ao pesquisador Milton Hélio Lima da Silva, pela co-orientação e amizade.

A professora Telma Fátima Coelho Batista, pela co-orientação, ensinamentos, dedicação e carinho.

Ao professor Edson Ramos, pelas soluções estatísticas.

A secretária da Pós-graduação em Agronomia, Gracy Monteiro.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pelo apoio financeiro.

Ao professor e companheiro Leonardo Brasil Felipe, pelo amor e dedicação de todas as horas.

Aos estagiários dos Laboratórios de Biocontrole da UFRA: Mayara Figueiredo, Catiane Lima, Jeane Veloso e Ernando Monteiro; do Museu de Entomologia: Juliana Barroso e Nara Pontes; do Museu Paraense Emílio Goeldi: Ciro Jardim, Breno Carvalheiro e Wander Murilo Pereira, por toda ajuda prestada nesses dois anos de estudo.

Ao setor de Horticultura da UFRA, especialmente: Prof. Sérgio Gusmão, Raimundo Rosa (Dico) e Giovane Couto pela amizade e participação na execução deste trabalho.

As companheiras de Mestrado Renata Lima, Katiane Barros e Lorena Chagas, pela amizade força e união nos momentos difíceis.

Aos amigos mestrandos: Daniele Campinas, Shirley Cardoso, Bruno Lima e os já mestres do curso de Pós-graduação em Agronomia: Joseani Castro, Alessandra Moraes, Bruno Brabo e Daniel Pinheiro.

Aos meus pais, Hilma e Danúbio pelo apoio, incentivo e amor.

A minha irmã Amanda, pela ajuda incansável na fase final deste trabalho.

A minha avó querida Odete, pelo apoio de todos os dias.

A todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito obrigada!!!

“Mestre não é quem sempre ensina, mas quem de repente aprende.”

Guimarães Rosa

SUMÁRIO

	RESUMO	
	ABSTRACT	
1	CONTEXTUALIZAÇÃO	15
2	REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1	A CULTURA DA COUVE (<i>Brassica oleracea</i> Lin. var. <i>acephala</i>)	17
2.2	CURUQUERÊ DA COUVE (<i>Ascia monuste orseis</i> Latreille) (LEPIDOPTERA: PIERIDAE)	18
2.3	PRODUTOS DE ORIGEM BOTÂNICA COM ATIVIDADE INSETICIDA	19
2.3.1	Óleos Essenciais	21
2.3.2	Extratos de plantas	22
2.4	PIMENTA DE MACACO (<i>Piper aduncum</i> L.)	24
3	MATERIAL E MÉTODOS	26
3.1	OBTENÇÃO E CRIAÇÃO DOS INSETOS	26
3.2	OBTENÇÃO E EXTRAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL	27
3.2.1	Extração do Óleo Essencial	27
3.2.2	Extratos de massa seca	29
3.2.3	Extratos de massa fresca	29
3.3	BIOENSAIOS	29
3.3.1	Ação do óleo e extratos na mortalidade de lagartas e formação de indivíduos defeituosos de <i>Ascia monuste orseis</i>	29
3.3.2	Ação do óleo e extratos em diferentes concentrações na mortalidade, consumo foliar, biometria larval e formação de indivíduos defeituosos	31
3.3.3	Ação do óleo essencial por aplicação tópica e tempo de mortalidade	32
3.4	CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA A ESPECTOMETRIA DE MASSA	33
3.5	ANÁLISES ESTATÍSTICAS	33
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
4.1	CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Piper</i> <i>aduncum</i> POR CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA A	

ESPECTOMETRIA DE MASSA

4.2	AÇÃO DO ÓLEO E EXTRATOS DE <i>Piper aduncum</i> NA MORTALIDADE DE LAGARTAS DE <i>Ascia monuste orseis</i>	36
4.3	AÇÃO DO ÓLEO E EXTRATOS EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES	37
4.3.1	Mortalidade	37
4.3.2	Consumo foliar	49
4.3.3	Biometria larval	51
4.3.4	Efeito subletal	53
4.4	AÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL POR APLICAÇÃO TÓPICA X TEMPO DE MORTALIDADE	54
5	CONCLUSÕES	57
	REFERÊNCIAS	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Tratamentos utilizados para elaboração de soluções com efeito inseticida extraídas de <i>P. aduncum</i> no controle de <i>Ascia monuste orseis</i> (Lepidoptera: Pieridae). BELÉM/PA – 2011.	30
Tabela 2	Tratamentos utilizados a base de óleo e extratos de <i>P. aduncum</i> em diferentes concentrações para o controle de <i>Ascia monuste orseis</i> (Lepidoptera: Pieridae). BELÉM/PA – 2011.	31
Tabela 3	Consumo foliar médio de lagartas (cm ²) de <i>A. monuste orseis</i> em três instares, alimentadas com folhas de couve tratadas sob diferentes tratamentos à base de <i>P. aduncum</i> . BELÉM/PA – 2011.	49

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	<i>Ascia monuste orseis</i> (Lepidoptera: Pieridae), lagarta desfolhadora da couve.	18
Figura 2	Planta de <i>Piper aduncum</i> L. e componente químico presente no óleo essencial extraído da planta.	24
Figura 3	Localização da área de estudo.	26
Figura 4	Cromatograma do óleo essencial de <i>Piper aduncum</i> . BELÉM/PA – 2011.	35
Figura 5	Porcentagem (%) de mortalidade de lagartas de 3º ínstar de <i>A. monuste orseis</i> alimentadas com folhas de couve comum submetidas a oito tratamentos a base de <i>P. aduncum</i> . BELÉM/PA – 2011.	36
Figura 6	Mortalidade acumulada de lagartas de 3º ínstar de <i>A. monuste orseis</i> alimentadas com folhas de couve tratadas com diferentes tratamentos à base de <i>P. aduncum</i> . BELÉM/PA – 2011.	37
Figura 7	Médias de porcentagem de mortalidade (%) de lagartas de <i>A. monuste orseis</i> (Lepidoptera: Pieridae) alimentadas com folhas de couve tratadas em diferentes concentrações de óleo e extratos à base de <i>Piper aduncum</i> . BELÉM/PA – 2011.	38
Figura 8	Comparação das curvas de sobrevivência de indivíduos do tratamento controle em relação aos diferentes tratamentos de extratos e óleo de <i>Piper aduncum</i> , sobre <i>Ascia monuste orseis</i> . BELÉM/PA – 2011.	40
Figura 9	Comparação das curvas de sobrevivência de indivíduos do tratamento T2 – F10% em relação aos tratamentos T3 - F20% (A) e T4 – F30% (B) através do teste de Log-rank. BELÉM/PA – 2011.	41
Figura 10	Comparação das curvas de sobrevivência de lagartas de <i>Ascia monuste orseis</i> (Lepidoptera: Pieridae) após tratamento com extrato de folhas frescas a 10% de <i>Piper aduncum</i> com os demais tratamentos em diferentes concentrações, através do Teste Log-rank. BELÉM/PA – 2011.	42
Figura 11	Comparação das curvas de sobrevivência de lagartas de <i>Ascia monuste orseis</i> (Lepidoptera: Pieridae) após tratamento com extrato de folhas frescas a 20% de <i>Piper aduncum</i> com os demais tratamentos em diferentes concentrações, através do Teste Log-rank. BELÉM/PA – 2011.	43
Figura 12	Comparação das curvas de sobrevivência de lagartas de <i>Ascia monuste orseis</i> (Lepidoptera: Pieridae) após tratamento com extrato de folhas frescas a 30% de <i>Piper aduncum</i> com os demais tratamentos em diferentes concentrações, através do Teste Log-rank. BELÉM/PA – 2011.	44
Figura 13	Comparação das curvas de sobrevivência de lagartas de <i>Ascia monuste orseis</i> (Lepidoptera: Pieridae) após tratamento com extrato de inflorescências frescas a 10% de <i>Piper aduncum</i> com os demais tratamentos em diferentes concentrações, através do Teste Log-rank. BELÉM/PA – 2011.	46

Figura 14	Comparação das curvas de sobrevivência de lagartas de <i>Ascia monuste orseis</i> (Lepidoptera: Pieridae) após tratamento com extrato de inflorescências frescas a 20% de <i>Piper aduncum</i> com os demais tratamentos em diferentes concentrações, através do Teste Log-rank. BELÉM/PA – 2011.	47
Figura 15	Comparação das curvas de sobrevivência de lagartas de <i>Ascia monuste orseis</i> (Lepidoptera: Pieridae) após tratamento com extrato de inflorescências frescas a 30% de <i>Piper aduncum</i> com os demais tratamentos em diferentes concentrações, através do Teste Log-rank. BELÉM/PA – 2011.	47
Figura 16	Comparação das curvas de sobrevivência de lagartas de <i>Ascia monuste orseis</i> (Lepidoptera: Pieridae) após tratamento com extrato de massa fresca MIX a 10% e 20% de <i>Piper aduncum</i> com os demais tratamentos em diferentes concentrações, através do Teste Log-rank. BELÉM/PA – 2011.	48
Figura 17	Peso médio (g) de lagartas de <i>Ascia monuste orseis</i> em três instares, alimentadas com couve tratadas sob diferentes concentrações de óleo e extratos à base de <i>P. aduncum</i> . BELÉM/PA – 2011.	51
Figura 18	Comprimento médio (mm) de lagartas de <i>A. monuste orseis</i> em três instares, alimentadas com couve tratadas sob diferentes concentrações de óleo e extratos à base de <i>P. aduncum</i> . BELÉM/PA – 2011.	52
Figura 19	Adultos com má formação nas asas nos tratamentos Extrato de massa fresca de folhas - 5% (A) e Extrato de massa seca de folhas - 5% (B).	53
Figura 20	Indivíduos com má formação nas asas nos tratamentos extrato de massa fresca de folhas - 30% (A); Extrato de massa fresca mix - 10% (B); Extrato massa fresca de inflorescência - 10% (C) e Extrato massa fresca mix - 30% (D).	54
Figura 21	Tempo de ação de contato do óleo essencial em lagartas de <i>A. monuste orseis</i> em três instares diferentes. BELÉM/PA – 2011.	55

RESUMO: O presente trabalho avaliou a bioatividade de *Piper aduncum* L. (PIPERALES: PIPERACEAE) sobre *Ascia monuste orseis* Latreille (LEPIDOPTERA: PIERIDAE), importante praga desfolhadora na cultura da couve (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*). Os bioensaios foram conduzidos em sala climatizada sob condições controladas, à temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa do ar de $80\pm 10\%$ e fotofase de 12 h. Foram realizados três bioensaios: No primeiro, avaliaram-se os efeitos de mortalidade e formação de adultos, a partir de oito tratamentos: Água destilada (T1), óleo essencial (T2), extrato de massa seca de ramos (T3), extrato de massa seca de inflorescências (T4), extrato mix de massa seca - folhas, ramos e inflorescências (T5), extrato de massa seca de folhas (T6), extrato de massa fresca de folhas (T7) e extrato de massa fresca de inflorescências (T8), a 5% de concentração, sobre lagartas de 3º ínstar. No bioensaio 2, foram avaliados além da mortalidade e formação de adultos, o consumo alimentar e a biometria de lagartas de 3º ínstar submetidas aos tratamentos mais promissores encontrados no bioensaio 1, em diferentes concentrações: Água destilada (T1); extrato de massa fresca de folhas-10% (T2); extrato de massa fresca de folhas-20% (T3); extrato de massa fresca de folhas-30% (T4); extrato de massa fresca de inflorescências-10% (T5); extrato de massa fresca de inflorescências-20% (T6); extrato de massa fresca de inflorescências-30% (T7); extrato de massa fresca mix (folhas e inflorescências)-10% (T8); extrato de massa fresca mix (folhas e inflorescências)-20% (T9); extrato de massa fresca mix (folhas e inflorescências)-30% (T10); óleo essencial-1% (T11); óleo essencial-3% (T12); e óleo essencial-6% (T13). No bioensaio 3, realizou-se a aplicação tópica de 0,01 μL de solução de óleo essencial de *P. aduncum* em lagartas de 3º, 4º e 5º instares, objetivando quantificar o tempo de mortalidade e o efeito de contato sobre os insetos. Os resultados encontrados no bioensaio 1 demonstraram alta eficiência do óleo essencial e dos extratos de massa fresca de folhas e inflorescências. Sendo o óleo essencial, o tratamento mais eficiente quanto à mortalidade das lagartas (100%). Esses resultados foram encontrados no bioensaio 2, que confirmou alta toxicidade para os tratamentos a base de óleo essencial, provocando mortalidade de lagartas (100%) em curto espaço de tempo. Também apresentaram alta mortalidade os extratos de massa fresca de folhas a 20% e 10%. A presença de indivíduos adultos de *A. monuste orseis* com má formação nas asas foi observada nos bioensaios 1 e 2. O óleo essencial e os extratos aquosos de *P. aduncum* são tóxicos para a lagarta desfolhadora da couve e podem ser utilizados como alternativa de controle, particularmente para agricultores familiares da Amazônia.

Palavras-chave: Inseticida botânico; dilapiol; curuquerê da couve.

ABSTRACT: The present work examined the bioactivity of *Piper aduncum* L. (PIPERALES: PIPERACEAE) on *Ascia monuste orseis* (LEPIDOPTERA: PIERIDAE), an important defoliating pest in the cultivation of cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*). Some bioassays were conducted in a controlled conditions room with temperature at 25 ± 2 °C, relative humidity of $80 \pm 10\%$ and photophase of 12 hours. Three bioassays were performed: the 1st evaluated the consequences of mortality and adult development from eight treatments: distilled water (T1), essential oil (T2), extract of the dry mass of branches (T3), extract of mass dried flowers (T4), extract mix of dry matter - leaves, stems and inflorescences (T5), extract of leaf dry mass (T6), extract of fresh leaves (T7) and extract of fresh flowers (T8) to 5% concentration, larvae of 3rd instar. The 2nd bioassay evaluated food consumption and biometrics larval caterpillars 3rd instar, in addition to mortality and adult development, submitted to the most promising treatments found in bioassay 1 at different concentrations: Distilled water (T1), extract of fresh leaves-10% (T2), extract of fresh leaves-20% (T3), extract of fresh leaves-30% (T4), extract of fresh flowers-10% (T5), extract of mass fresh flowers-20% (T6), extract of fresh flowers-30% (T7), extract of fresh mix (leaves and flowers)-10% (T8), extract of fresh mix (leaves and flowers)-20% (T9), extract of fresh mix (leaves and flowers)-30% (T10), essential oil-1% (T11), essential oil-3% (T12) and essential oil-6% (T13) . In bioassay 3, there was a topical application 0.01 µL of essential oil solution of *P. aduncum* larvae of 3rd, 4th and 5th instars, aiming to quantify the time of death and the effect of contact on the insects. The results in the bioassay 1 showed a high efficiency of the essential oil and extracts of fresh leaves and flowers. The essential oil was the most effective treatment for the mortality of larvae (100%). These results were found in the second bioassay, which confirmed the high toxicity for treatments based on essential oil, causing mortality of larvae (100%) in short time. Also showed a high mortality extracts of fresh leaves to 20% and 10%. The adults presence of *A. monuste orseis* with malformed wings was observed in bioassays 1 and 2. The essential oil and aqueous extracts of *P. aduncum* are toxic to caterpillars defoliating of cabbage and can be used as an alternative control, particularly for small farmers in the Amazon.

Keywords: Botanical insecticide; dillapiol; leafworm cabbage.

1 CONTEXTUALIZAÇÃO

O consumo de hortaliças tem aumentado substancialmente nos últimos anos entre a população mundial, por serem alimentos nutritivos e ricos em vitaminas e sais minerais. Entretanto, com o aumento das áreas de plantio, tem se intensificado os problemas fitossanitários, os quais causam grandes prejuízos econômicos aos horticultores, gerando um aumento nos custos de produção, que por sua vez são repassados ao consumidor.

A couve (*Brassica oleracea* var. *acephala*) é uma hortaliça de grande importância na nutrição humana, pois nela são encontrados nutrientes essenciais, como: cálcio, ferro, enxofre e sódio (Wendling, 2001), mas assim como tantas outras culturas, sofre com o intenso ataque de insetos-praga.

Uma das pragas-chave da cultura em questão é *Ascia monuste orseis* Latreille (Lepidoptera: Pieridae), caracterizada por sua freqüente ocorrência nos cultivos de couve e pela elevada voracidade alimentar apresentada pela lagarta (Medeiros; Boiça Júnior, 2005).

A principal forma de controle desses insetos é a aplicação periódica de inseticidas sintéticos que, além de elevarem os custos de produção, geram inúmeros inconvenientes, tais como, resíduos nos alimentos, destruição dos inimigos naturais, intoxicação aos aplicadores, aparecimento de pragas resistentes à inseticidas sintéticos, além da mortalidade de animais domésticos e silvestres e contaminação do solo, do ar e da água, causando um desequilíbrio em toda a cadeia alimentar (Roel, 2001).

O conhecimento dos efeitos indesejáveis do uso de inseticidas químicos, associados à preocupação dos consumidores quanto à qualidade dos alimentos, têm gerado um grande avanço sobre os estudos pelo descobrimento de novas técnicas de controle, incluindo-se a utilização de produtos naturais de origem vegetal os quais são menos agressivos ao meio ambiente (Tavares; Vendramin, 2005). A importância dessa questão leva à necessidade da utilização de métodos de controle alternativos, menos poluentes e tóxicos ao homem, com poder residual baixo, e principalmente de baixo custo e fácil aquisição, preferencialmente produzido no próprio local de cultivo pelos próprios agricultores (Estrela et al., 2003).

As plantas em geral produzem substâncias com atividades biológicas desenvolvidas ao longo de sua existência, utilizadas essencialmente como garantia de sobrevivência. Essas substâncias são chamadas metabólitos secundários, os quais apresentam ações inseticidas, repelentes, antimicrobianas e medicinais, utilizadas para causar repelência e intoxicação aos insetos (Saito, 2004). Nesse sentido, o uso de plantas com atividade inseticida vem

ressurgindo como uma promissora alternativa no controle de insetos-praga (Aguiar-Menezes, 2005).

Piper aduncum L. é uma planta muito conhecida no Brasil, nativa da região Amazônica e popularmente denominada como pimenta de macaco. É produtora de óleo essencial rico em dilapiol e vem sendo avaliada com êxito como fungicida, moluscicida, acaricida, bactericida e larvicida (Sousa et al., 2008). E segundo Ahmad; Mawardi, (1993) possui fórmula estrutural $C_{12}H_{14}O_4$.

Diversos autores (Bizzo et al., 2001; Fazolin et al., 2005; Estrela et al., 2006; Almeida et al., 2009) têm estudado o efeito de *P. aduncum* como potencial defensivo natural.

Devido o intenso ataque de pragas na horticultura e as diversas formas de controle já utilizadas não apresentarem a eficiência e o custo-benefício desejados pelos produtores, pretende-se testar uma alternativa que seja economicamente viável para a praga alvo em estudo, a curuquerê da couve, *A. monuste orseis* Latreille (Lepidoptera: Pieridae), através de um método ainda pouco utilizado pelos agricultores, mas que tem demonstrado resultados satisfatórios em pesquisas realizadas.

Diante do exposto espera-se que o óleo essencial e os extratos aquosos extraídos de diferentes partes vegetais de *Piper aduncum* L., sejam eficientes no controle de lagartas de *A. monuste orseis*, importante praga das brassicáceas, e que assim haja a diminuição do uso de produtos químicos sintéticos e o aumento na utilização de produtos naturais, incentivando a preservação ambiental, causa de grande preocupação para a sociedade mundial.

Logo, essa pesquisa objetivou avaliar em laboratório a bioatividade de *Piper aduncum* L. através da eficiência de controle de lagartas de *A. monuste orseis* e sobre os parâmetros biológicos: consumo alimentar, peso e comprimento larval, ação de contato em lagartas e efeito subletal em adultos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A CULTURA DA COUVE (*Brassica oleracea* Lin. var. *acephala*)

A família brássicacea abrange o maior número de culturas oleráceas, destacando-se a couve flor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*), repolho (*Brassica oleracea* var. *capitata*), couve brócolis (*Brassica oleracea* var. *italica*), couve tronchuda (*Brassica oleracea* var. *tronchuda*), couve chinesa (*Brassica pekinensis*), couve manteiga (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*), couve de Bruxelas (*Brassica oleracea* L. var. *gemmifera*), couve rábano (*Brassica oleracea* L. var. *gongylodes*), mostarda de folha (*Brassica juncea*), rúcula (*Eruca sativa*), rabanete (*Raphanus sativus*), rábano (*Raphanus sativus* var. *acanthiformes*), nabo (*Brassica rapa* var. *rapa*) e agrião (*Rorippa nasturtium-aquaticum*) (Filgueira, 2008).

A couve manteiga destaca-se pela importância econômica, riqueza em sais minerais, vitaminas e pela facilidade de cultivo. Sendo originalmente de clima temperado (Fontes, 2005; Filgueira, 2008).

É a hortaliça mais plantada no Brasil e a que possui as mais altas concentrações de cálcio, ferro, fósforo e as vitaminas A, C e do complexo B, além de fibras (Steiner et al., 2009). Tendo sido muito utilizada no combate a doenças como gastrite e anemia (Luz, 2001).

Uma de suas características é a emissão constante de folhas em seu ápice, numerosos brotos na axila das folhas e a distribuição das folhas em forma de roseta ao redor do caule. A parte comestível é o limbo foliar bastante desenvolvido, arredondado, com pecíolo longo e nervuras bem destacadas (Filgueira, 2008). Possui ciclo curto e alto potencial reprodutivo, com elevado número de gerações por ano (Ulmer et al., 2002), podendo ainda permanecer produtiva por vários meses, quando irrigada, pois é altamente exigente em água (Hussar et al., 2004).

No entanto, essa cultura é alvo constante de insetos-praga, como *A. monuste orseis* (Lepidoptera: Pieridae), a curuquerê da couve, considerada uma das principais pragas desfolhadoras de brássicas (Santana, 2008).

2.2 CURUQUERÊ DA COUVE (*Ascia monuste orseis* Latreille) (LEPIDOPTERA: PIERIDAE)

Ascia monuste orseis é considerada uma das pragas-chave em brássicas, por ser altamente prejudicial a essa cultura (Figura 01), pois seu ataque as folhas inicia-se logo após a eclosão das lagartas, e persiste por todo período larval (Gallo et al., 2002). Os prejuízos causados por essa praga podem chegar até 100% de perdas na produção, devido à intensa desfolha (Pereira et al., 2003) exigindo muitas vezes uma rápida ação de controle. Esses insetos alimentam-se muito na fase imatura, pois os adultos emergem praticamente preparados para a reprodução (Santana, 2008).



Figura 1. *Ascia monuste orseis* (Lepidoptera: Pieridae), lagarta desfolhadora da couve.

Segundo Bittencourt-Rodrigues e Zucoloto (2005), uma das características dessa espécie é o fato das fêmeas ovipositarem na face inferior das folhas, preferencialmente as mais jovens, onde haverá a eclosão das lagartas após quatro ou cinco dias. A partir de então as lagartas passam a se alimentar de folhas, nos primeiros ínstares ainda no local onde o adulto ovipositou (Santana, 2008). Quando atingem o quarto e quinto ínstares são capazes até de mudar de uma cultivar para outra em busca de alimento, devido à grande mobilidade adquirida (Catta-Preta; Zucoloto, 2003).

O controle de *A. monuste orseis* tem sido feito, principalmente, pela aplicação de inseticidas sintéticos como o carbaril, deltametrina, paration metílico, permetrina e triclorfom (Crespo et al., 2002). Entretanto, outras formas de controle menos agressivas têm sido

avaliadas como, por exemplo, por Medeiros e Boiça Júnior (2005) os quais observaram repelência causada pela utilização de extratos aquosos de plantas na alimentação de lagartas de 3º ínstar de *Ascia monuste orseis*, as quais foram obrigadas a consumirem as folhas tratadas nas concentrações testadas, mesmo em menor quantidade, provocando a diminuição dos danos causados às plantas.

2.3 PRODUTOS DE ORIGEM BOTÂNICA COM ATIVIDADE INSETICIDA

O intenso ataque de insetos-praga tem provocado perdas na agricultura de aproximadamente 15% do total produzido no país, apesar dos altos custos com defensivos químicos (Araújo et al., 2001).

Esse fato demonstra ser um dos gargalos existentes frente à produção agrícola e florestal, principalmente na Amazônia brasileira, a qual possui alta suscetibilidade ao ataque de insetos-praga, especialmente em ambientes mal planejados e sem acompanhamento técnico (Lemos; Ribeiro, 2008).

Plantas em geral apresentam em sua composição química metabólitos primários e secundários. Os metabólitos primários são encontrados em todas as células vegetais e são essenciais ao desenvolvimento das plantas (Raven, 2001). O principal grupo de metabólitos primários são as proteínas, carboidratos e lipídios envolvidos nos processos fisiológicos fundamentais para o desenvolvimento da planta, além de serem nutrientes essenciais também para os herbívoros. Logo, a variação qualitativa e quantitativa de compostos vegetais primários podem ter efeitos profundos sobre a preferência e performance dos insetos (Schoonhoven et al., 2005).

Já os metabólitos secundários, são compostos produzidos pelas plantas como defesa aos microrganismos e a insetos herbívoros (Raven, 2001). Como exemplo tem-se o piretro encontrado no crisântemo (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev), nicotina em plantas de fumo (*Nicotiana tabacum* L.), azaractina no nim (*Azadirachta indica* A. Juss.) e gossipol no algodão (*Gossypium hirsutum* L.), além dessas plantas existe outro grupo que são facilmente reconhecidas por suas propriedades aromáticas, ou seja, plantas produtoras de óleos essenciais como as da família Piperaceae (Girard et al., 2007). Estudos têm demonstrado que essas plantas apresentam atividade tóxica contra insetos podendo ocasionar diretamente sua morte

ou por outros modos de ação, ou ainda causar somente repelência dos mesmos (Wiesbrook, 2004).

Dependendo da espécie vegetal e do tipo de utilização, os derivados botânicos podem ser utilizados sob forma pura, macerados, na forma de pós ou extratos, especialmente em soluções aquosas (Roel, 2001). Podem, ainda, ser misturados a solventes orgânicos, tais como álcool, éter, acetona, clorofórmio ou simplesmente produtos de destilação, como os óleos essenciais (Wiesbrook, 2004).

Diversos autores (Buss; Park-Brown, 2002; Kathrina; Antonio, 2004; Wiesbrook, 2004) consideram vantajosa a utilização de inseticidas botânicos, devido à rápida degradação, velocidade de ação, baixa a moderada toxicidade, seletividade, fitotoxicidade, baixo custo e a disponibilidade de matéria-prima.

Kathrina e Antônio (2004) ressaltam três tipos de mecanismos de ação diferentes que podem ser observados em uma substância de origem botânica sobre os insetos, como a ação tóxica, repelente ou antialimentar; ação sobre órgãos ou moléculas-alvo e ação por contato e ingestão. O primeiro ocorre quando o inseticida botânico provoca no inseto-alvo a morte por intoxicação, repelência ou inibição do início da alimentação. Costa et al. (2004) consideram que a falta de nutrientes, pela inibição da alimentação, pode ocasionar atraso no desenvolvimento, deformações e até a morte do inseto. A literatura cita que a ação tóxica deve-se à presença de componentes ativos que atuam no sistema nervoso central dos insetos, provocando interferências nas transmissões sinápticas e axônicas dos mesmos (Martinez, 2002; Aguiar-Menezes, 2005). A ação antialimentar ou repelente deve-se à interferência direta desses componentes nos quimiorreceptores dos insetos, promovendo ações deterrentes específicas (Martinez, 2002). O segundo tipo de mecanismo age sobre o sistema endócrino dos insetos, causando alterações no processo fisiológico de ecdise ou metamorfose, denominados reguladores de crescimento; e no sistema respiratório das células, provocando danos na síntese de ATP no inseto-alvo (Martinez, 2002; Aguiar-Menezes, 2005). Por fim, o terceiro mecanismo de ação mencionado corresponde à ação por contato através da absorção do inseticida pelo tegumento do inseto, agindo no sistema nervoso central ou nas vias respiratórias. Normalmente, provocam a morte rápida dos insetos; e finalmente a ação por ingestão, na qual o inseticida penetra no inseto via oral, afetando o sistema digestivo, a biossíntese de hormônios da ecdise ou a formação da camada de quitina presente na cutícula dos insetos (Aguiar-Menezes, 2005).

Além de provocar a mortalidade, outra forma de impedir o crescimento populacional de um inseto-praga é pela formação de adultos defeituosos. Esse fato foi observado por

Bogorni e Vendramin (2005), os quais verificaram a ocorrência de adultos de *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera: Noctuidae) com má formação de asas e antenas em tratamentos à base de extratos de folhas de *Trichilia pallida* Sw. (Meliaceae).

Na Amazônia brasileira, estudos com inseticidas botânicos no controle de pragas de interesse agrícola são recentes, considerando que as pesquisas nesse assunto intensificaram-se a partir do início do século XXI. Grande parte dessas pesquisas testou o efeito inseticida de plantas das famílias piperáceas e meliáceas sobre diferentes espécies, independentemente de serem insetos ou não. Contudo, há muito que se avançar sobre esse tema na região Amazônica, principalmente pela grande quantidade de plantas que apresentam diferentes tipos de utilização, principalmente com potencial inseticida, presentes nessa área e ainda pouco estudados pela classe científica (Lemos; Ribeiro, 2008).

2.3.1 Óleos Essenciais

Óleos essenciais são compostos químicos que apresentam cerca de 40-50 componentes de alta volatilidade, sendo eles monoterpenos, sesquiterpenos ou fenilpropanóides como as principais classes químicas encontradas, armazenados nas glândulas oleíferas, específicas em diversos órgãos vegetais, as quais são responsáveis pelo odor característicos das plantas aromáticas (Vieira et al., 2007).

Uma das classes de compostos derivados de plantas, que tem se destacado no controle de pragas, são os óleos essenciais, que já fazem parte de formulações de defensivos, capazes de matar e repelir insetos (Isman, 2000). Podendo atuar em enzimas digestivas e neurológicas bem como interagir com o tegumento do inseto (Isman, 2006).

Esses óleos têm sido bastante estudados como alternativa ao controle de pragas, a exemplo dos óleos essenciais de *Syzigium aromaticum* L., *Lippia sidoides* Cham. e *Hyptis martiusii* Benth, testados para combater o agente transmissor da dengue e da filariose, apresentando potencial de mortalidade de 100% sobre as lagartas, com acentuados efeitos tóxicos de alguns constituintes voláteis presentes nos óleos (Costa et al., 2005).

Em trabalho realizado por Brito et al. (2006) foram avaliados os efeitos dos óleos essenciais de *Eucalyptus citriodora* Hook. f., *E. globulus* Labill. e *E. staigeriana* F. Muell. ex F.M. Bailey sobre a mortalidade de adultos de *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae). Nesse estudo, o processo de fumigação com óleos essenciais de plantas do gênero

Eucalyptus mostrou-se eficiente no controle de *C. maculatus*; os Tempos Letais (TL) e as Doses Letais (DL) diminuíram conforme o aumento da dose aplicada de cada óleo ou do tempo de exposição do inseto, respectivamente; sendo o óleo de *E. citriodora* o mais eficiente para essa espécie de caruncho.

Pontes et al. (2007), verificaram o efeito fumigante de *Xylopiia sericea* A. St.-Hil. sobre *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae), avaliado pelo modelo experimental *in vitro* de papel de filtro impregnado e como resultados observaram a interferência na fecundidade de *T. urticae* e que o óleo das folhas foi 4; 3,5 e 5 vezes mais tóxico que o óleo dos frutos no tempo de exposição de 24, 48 e 72 h, respectivamente.

O potencial repelente/deterrente de óleos essenciais de anis-estrelado (*Illicium verum* Hook.) e capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf) foi avaliado sobre *Brevicoryne brassicae* L. (Hemiptera: Aphididae) sendo observado que ambos, na concentração de 0,1% e 0,5% possuem potencial repelente/deterrente (Lima et al., 2008).

Trabalhos desenvolvidos por Restello et al. (2009) avaliaram os efeitos de diferentes concentrações do óleo essencial de *Tagetes patula* L. sobre o comportamento (atratividade e/ou repelência) de adultos de *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae). Os resultados mostraram que o efeito repelente e inseticida do óleo essencial de *T. patula* na concentração de 10 µL foi eficaz no controle de adultos de *S. zeamais*.

Por fim, Lima et al. (2010) avaliaram a toxicidade de *Ageratum conyzoides* L. sobre a lagarta do cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera: Noctuidae), através da ingestão de seções foliares de milho tratadas com óleo essencial. Tendo o mesmo apresentado atividade inseticida para a lagarta, causando mortalidade acima de 70%, a partir da concentração de 0,5%.

2.3.2 Extratos de plantas

A utilização de produtos de origem vegetal, como extratos e óleos essenciais, no controle de insetos-praga de interesse econômico tem aumentado no Brasil e no mundo. Como exemplo desses estudos desenvolvidos em diversas classes de insetos tem-se, em estudos realizados em lagartas de *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera: Noctuidae) alimentadas com folhas submergidas em extrato de folhas de nim, provocando alta mortalidade (100%) e prejudicando seu desenvolvimento larval (Viana; Prates, 2003).

Boiça Júnior et al. (2005), verificaram que a mortalidade larval de *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) foi afetada pelos extratos aquosos das espécies vegetais, sendo os mais eficientes *Enterolobium contortisiliquum* Vell. Morong., *Nicotiana tabacum* L., *Sapindus saponaria* L. (frutos) e *Trichilia pallida* Sw. (ramos), causando 100% de mortalidade das lagartas, seguidos dos extratos de *T. pallida* (folhas) (93,8%), *Azadirachta indica* A. Juss. (89,6%), *Symphytum officinale* L. (77,1%), *Bougainvillea glabra* Choisy (72,9%), *Achillea millefolium* L. (70,8%) e *Chenopodium ambrosioides* L. (70,8%).

Foi observado por Matos et al. (2006) um alongamento da fase larval e a diminuição do peso pupal de *S. frugiperda* Smith alimentadas com dieta artificial tratada com os extratos orgânicos de ramos e folhas de *Trichilia catigua* A. Juss., *Trichilia clausenii* C. DC. e *Trichilia elegans* A. Juss. em relação ao tratamento controle (15,7 dias), sendo os extrato hexânico e metanólico de folhas e o hexânico de ramos de *T. clausenii* os mais promissores para uso no controle de *S. frugiperda*.

Extratos aquosos das plantas *A. indica* 2%, *T. pallida* 5%, *Quassia amara* L. 2% e *Melia azedarach* L. 2% e 5% e óleo de *A. indica* 1% e 2% com adição de tenso ativo não iônico, foram testados em *S. frugiperda* em condições de campo. O óleo ou extrato aquoso de *A. indica* tem efeito mais acentuado na diminuição da população da lagarta do cartucho em relação aos extratos aquosos de *M. azedarach*, *Q. amara* e *T. pallida* (Oliveira et al., 2007).

A eficiência do extrato e óleo de nim foi avaliada em diferentes concentrações para o controle dos pulgões *Brevicoryne brassicae* e *Myzus persicae* Sulz. (Hemiptera: Aphididae). Sendo o óleo de nim em todas as concentrações testadas o mais eficiente no controle de *B. brassicae*, e para *M. persicae* somente nas concentrações de 1% e 2% (Carvalho et al. 2008).

O efeito no comportamento mortalidade da lagarta do cartucho do milho, *S. frugiperda* foram estudados por Lima et al., (2009), onde os resultados constataram que o óleo essencial de pimenta longa (*Piper hispidinervum* C.DC) possui atividade inseticida sobre *S. frugiperda*, causando redução alimentar e mortalidade, sendo o safrol (82%) seu constituinte majoritário. Verificou-se ainda a mortalidade no teste de ingestão, em lagartas de 1º e 3º instares, ocasionando a redução alimentar. E de toxicidade aguda no teste de contato tópico após o intervalo de tempo de 96 horas.

Extratos aquosos de *Melia azedarach* e de sementes de *Azadirachta indica* sobre *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae), foram estudados por Brunherotto et al. (2010) apresentando efeito na duração e sobrevivência da fase larval do inseto, com apenas 34,4% atingindo a fase de pupa.

2.4 PIMENTA DE MACACO (*Piper aduncum* L.)

A família Piperaceae é uma das maiores famílias botânicas com cerca de 2.000 espécies distribuídas em todas as regiões tropicais (Maia et al., 1998; Jaramillo; Manos, 2001).

O gênero *Piper* possui mais de 1.000 espécies, dentre elas *Piper aduncum* L. (Nunes et al., 2007). Este grupo de plantas apresenta em sua composição as piperinas, substâncias que apresentam uma série de amidas que agem como neurotoxinas capazes de afetar as funções do sistema nervoso central dos insetos, provocando paralisia. Esses compostos caracterizam-se pelo alto efeito inseticida contra grande diversidade de insetos, principalmente lagartas e besouros. Em contrapartida, essas substâncias apresentam baixa toxicidade aos mamíferos (Lemos; Ribeiro, 2008).

Piper aduncum é considerada uma planta oportunista que invade áreas desflorestadas após a exploração de madeira, com alta rusticidade e elevada resistência às mudanças climáticas (Sousa et al., 2008). Diversos trabalhos têm sido realizados com essa espécie, a fim de verificar a eficácia de controle sobre variados tipos de insetos-praga.

A espécie *P. aduncum* é também conhecida por produzir óleo essencial, o qual possui alto teor do éter fenílico dilapiol (Maia et al., 1998) (Figura 2). Estudos têm demonstrado que o dilapiol, princípio ativo presente na composição do óleo essencial de *P. aduncum*, apresentou alta toxicidade sobre larvas de *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae), devido provavelmente a ação conjunta deste constituinte e outros compostos bioativos majoritários presentes na composição do óleo essencial, tais como o sarisan (Bizzo et al., 2001; Fazolin et al., 2007).

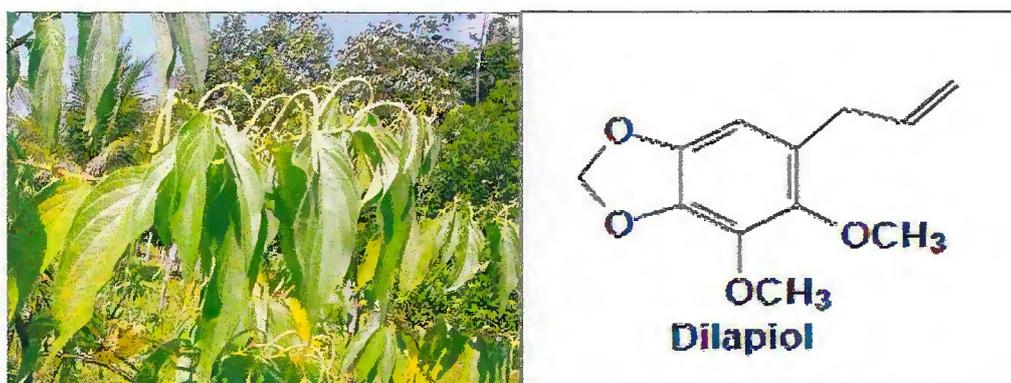


Figura 2. Planta de *Piper aduncum* L. e componente químico presente no óleo essencial extraído da planta.
Fonte: Fazolin et al., 2005.

Resultados promissores foram obtidos por Fazolin et al., (2005) avaliando o efeito da aplicação de contato tópica e da ação por contato com superfície contaminada (papel-filtro) de diferentes concentrações do óleo, por meio da mortalidade e consumo foliar de *Cerotoma tingomarianus* Bechyné (Coleoptera: Chrysomelidae). A mortalidade dos insetos alcançou praticamente 100% nas concentrações de 1% do óleo na avaliação por contato (papel-filtro) e de 5% a 30% nas concentrações aplicadas topicamente. O óleo de *P. aduncum* L. apresenta efeito inseticida para *C. tingomarianus* na concentração de 0,04% por contato (papel-filtro), provocando ainda distúrbios fisiológicos pela ação da aplicação tópica em concentrações superiores a 2,5%.

Testes foram feitos com adultos de *S. zeamais* para avaliação do efeito inseticida por ação de contato (impregnação em papel de filtro), tópica e fumigação com os óleos de *Piper hispidinervum* C. DC e *Piper aduncum* L. Foi observado que os óleos apresentam efeitos inseticidas, dependendo da via de exposição. O óleo essencial de *P. hispidinervum* foi mais eficaz pela via de contato e o de *P. aduncum* pela via de exposição por fumigação. Entretanto no método de contato por aplicação tópica, os índices de toxicidade dos óleos foram semelhantes (Estrela et al. 2006).

A alta toxicidade do óleo essencial de *P. aduncum* nas concentrações de 7,5 % (v v-1) e 10,0% (v v-1) a larvas de *T. molitor* foi observada por Fazolin et al. (2007) promovendo mortalidade acima de 80% através da via de aplicação tópica do óleo essencial.

Em estudos realizados em camundongos foi testada a avaliação da toxicidade aguda e subaguda do óleo essencial de *P. aduncum* pela determinação da DL50. Contudo, os resultados encontrados para DL50 e para os parâmetros hematológicos e bioquímicos sugerem que o óleo essencial possui baixa toxicidade (Sousa et al. 2008).

No ensaio inseticida contra *Anopheles marajoara* Galvão & Damasceno e *Aedes aegypti* Linnaeus (Diptera: Culicidae), o dilapiol promoveu 100% da mortalidade das larvas, após 48 h de exposição. Para o ensaio inseticida, a mortalidade de 100% dos adultos dos mosquitos de *A. marajoara* e *A. aegypti* foi conseguida depois de 60 e 180 minutos, respectivamente (Almeida et al. 2009).

3 MATERIAL E MÉTODOS

A coleta dos insetos e do material vegetal utilizados nesse estudo foi feita no município de Santo Antônio do Tauá/PA e os bioensaios desenvolvidos no Laboratório de Biocontrole da Universidade Federal Rural da Amazônia/UFRA – Belém/PA (Figura 3), no período de agosto de 2010 a janeiro de 2011, em sala climatizada sob condições controladas de umidade relativa do ar de $80\pm 10\%$, temperatura a $25\pm 2^\circ\text{C}$ e fotofase de 12 h.

Os parâmetros biológicos avaliados foram: mortalidade, consumo foliar, peso, comprimento e ação de contato sobre lagartas e efeito subletal nos adultos.

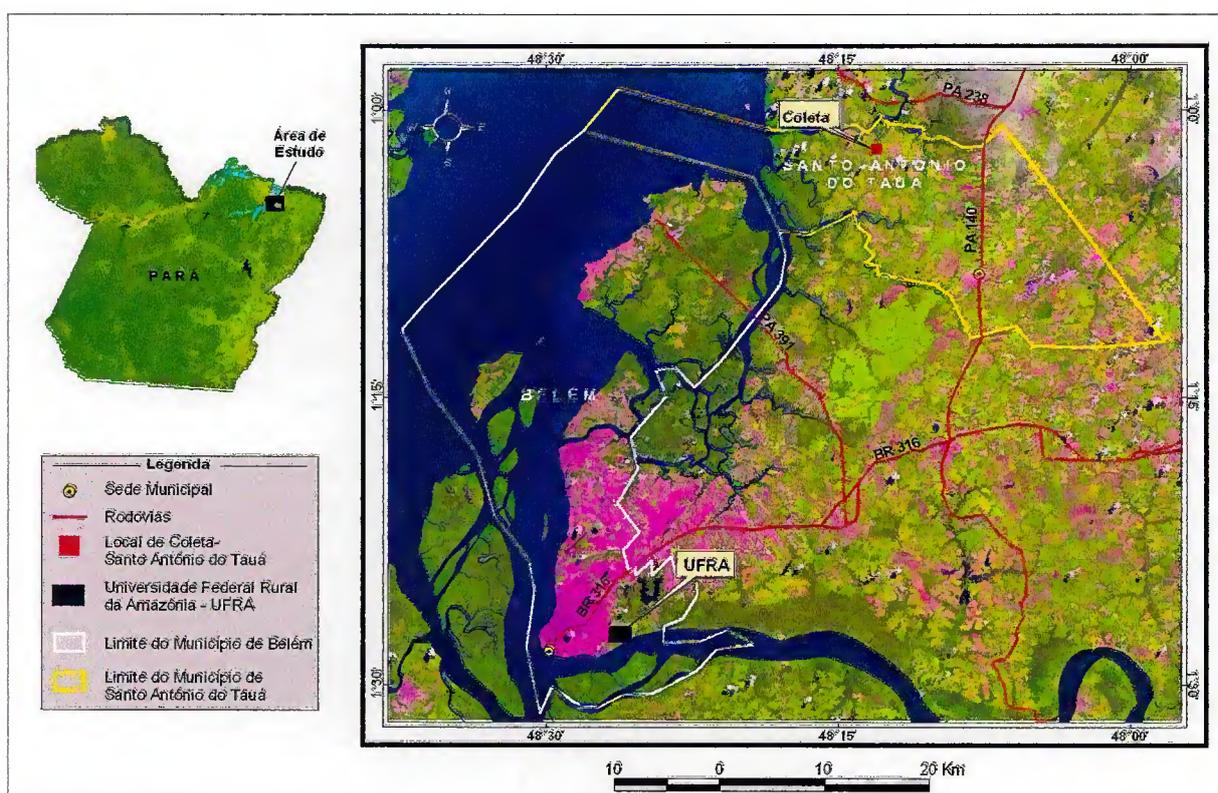


Figura 3. Localização da área de estudo.

3.1 OBTENÇÃO E CRIAÇÃO DOS INSETOS

Os insetos utilizados nos ensaios de bioatividade foram obtidos da criação permanente do Laboratório de Biocontrole da UFRA, a qual foi iniciada a partir de posturas de *A. monuste*

orseis coletadas em cultivos de couve em hortas certificadas da associação de produtores do município de Santo Antônio do Tauá-PA. Os ovos foram mantidos em placas de Petri, com diâmetro de 9 cm, até a eclosão das lagartas. Em seguida as lagartas foram acondicionadas em recipientes plásticos de boca larga, com capacidade de 500 mL. A alimentação foi feita diariamente com folhas de couve colhidas na horta da UFRA higienizadas com hipoclorito a 1%.

3.2 OBTENÇÃO E EXTRAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL

O material vegetal utilizado no trabalho foi retirado do cultivo experimental de *P. aduncum* do Museu Paraense Emílio Goeldi/MPEG, localizado na Comunidade Santa Maria de Umbituba, município de Santo Antônio do Tauá-PA. Plantas foram selecionadas aleatoriamente e cortadas a 20 cm do solo. Em seguida, foram separados galhos finos, folhas e inflorescências das demais partes vegetais da planta, para o processo de secagem e, posteriormente, destinadas para o processo de extração do óleo em campo e em laboratório para o preparo dos extratos.

3.2.1 Extração do Óleo Essencial

a) Destilação em campo

A biomassa de *P. aduncum* coletada em campo foi pesada e colocada em secador solar até atingirem peso constante. Após secagem, foi feita a extração do óleo essencial obtido pela técnica de destilação por “arraste à vapor d’água”, com o auxílio de um destilador de campo. A biomassa seca foi colocada no interior da caldeira já aquecida por fogo a lenha. Após uma hora iniciou-se o processo de destilação, no qual óleo e hidrolato foram extraídos por cerca de 4 h e separados por decantação. Ao final da extração obteve-se 1.120 mL de óleo essencial, a partir de 60 kg de massa seca, correspondendo a um rendimento médio de 1,86% de óleo

essencial. O óleo foi coletado com o auxílio de pipeta, pesado, colocado em frasco de alumínio e armazenado em freezer a 4°C.

b) Destilação em Laboratório

Nas análises de laboratório, folhas e inflorescências foram separadas, secas por 7 dias à temperatura ambiente e trituradas com o auxílio de liquidificador caseiro. Em seguida, foram pesadas 100g de matéria seca de cada parte vegetal e colocadas em balão de 1000 mL, com 500 mL de água destilada e hidrodestilado em aparelho tipo Clevenger por 3h. Após o processo de extração, o óleo foi coletado com o auxílio de pipeta, pesado e colocado em frasco de alumínio e posteriormente armazenado em freezer a 4°C.

Para cada destilação foi determinado o teor de umidade da planta (1) de acordo com Santos et al. (1998) e a secagem do óleo essencial foi feita com sulfato de sódio anidro, assim como o cálculo dos respectivos rendimentos (2).

$$U = \frac{Va}{Pa} \times 100 \quad (1)$$

Onde: Va = volume (mL) de água extraída da biomassa.

Pa = peso da amostra (g).

$$TO = \frac{Vo}{Bm - \left[\frac{Bm \times U}{100} \right]} \times 100 \quad (2)$$

Onde: TO = teor de óleo (mL de óleo essencial em 100 g de biomassa seca) ou rendimento de extração (%).

Vo = volume de óleo extraído (mL), lido diretamente na escala do tubo separador.

Bm = biomassa aérea vegetal (folhas e ramos finos), medida em gramas.

$Bm \times U$ = quantidade de umidade ou água presente na biomassa.

$$Bm - \left[\frac{Bm \times U}{100} \right] = \text{quantidade de biomassa seca, isenta de água ou livre de umidade.}$$

3.2.2 Extratos de massa seca

Folhas, ramos e inflorescências foram separados, pesados e colocados em sacos de papel para secagem em estufa de circulação forçada, a 40°C, por sete dias, até atingir peso constante. Em seguida, foram triturados, moídos e armazenados em geladeira à temperatura de 10°C, segundo metodologia descrita por Prista et al. (1981) para obtenção dos pós.

Os extratos foram obtidos pela adição dos pós, separadamente por parte vegetal, à água destilada. As soluções foram colocadas em frascos de vidros e agitadas manualmente para homogeneizar, mantendo-se em temperatura ambiente por 24 h para extração dos compostos hidrossolúveis. Após esse período, o material foi filtrado em peneira de malha 10 e gaze hidrófila estéril para retirada do material sólido, obtendo-se dessa forma os extratos aquosos de cada parte vegetal.

3.2.3 Extratos de massa fresca

Folhas e inflorescências foram separadas, pesadas e higienizadas em solução de hipoclorito de sódio a 1% por 5 minutos. Em seguida realizou-se a trituração das partes vegetais separadamente em liquidificador caseiro, utilizando-se matéria fresca e água destilada. Após a trituração, as soluções foram filtradas em peneira de malha 10 e gaze hidrófila estéril, descartando-se os resíduos sólidos.

3.3 BIOENSAIOS

3.3.1 Ação do óleo e extratos na mortalidade de lagartas e formação de indivíduos defeituosos de *Ascia monuste orseis*

Neste bioensaio, conduzido preliminarmente, foi avaliada a eficiência de 8 tratamentos (Tabela 1) a base de pimenta de macaco sobre lagartas de 3º ínstar de *A. monuste orseis*, objetivando comprovar a suscetibilidade do inseto à bioatividade de *P. aduncum*.

Tabela 1. Soluções à base de *Piper aduncum* testadas contra imaturos de *Ascia monuste orseis* (Lepidoptera: Pieridae). BELÉM/PA – 2011.

Tratamentos	Descrição	Concentração (%)	n
T1	Água Destilada (Controle)	-	10
T2	Óleo Essencial	5	10
T3	Massa Seca de Ramos	5	10
T4	Massa Seca de Inflorescências	5	10
T5	Massa Seca Mix (F+I+R)	5	10
T6	Massa Seca de Folhas	5	10
T7	Massa Fresca de Folhas	5	10
T8	Massa Fresca de Inflorescências	5	10

n= número de indivíduos utilizados por tratamento.

As soluções do óleo e dos extratos de massa fresca foram preparadas no momento da aplicação. Para a solução do óleo foi feita uma mistura de 5% v/v (5 mL de óleo em 95 mL de água destilada) mantida em becker para homogeneização.

Os extratos foram obtidos pela adição das massas seca e fresca, separadamente por parte vegetal, folhas, inflorescências e ramos para a composição dos extratos de massa seca e folhas e inflorescências para os extratos de massa fresca, em água destilada à 5% p/v.

Os insetos foram individualizados em potes plásticos de 500 mL contendo uma seção de folha de couve tratada (9 cm²) de acordo com os tratamentos, para alimentação somente no primeiro dia. Após 24 h, seguiu-se a dieta normal com folhas de couve devidamente higienizadas. De acordo com a troca de ínstar o tamanho de folha foi aumentado (16 cm² para 4º ínstar e 25 cm² para 5º ínstar). Os potes foram fechados com tecido tipo tnt e liga plástica, permitindo a entrada de ar. Em seguida, colocados em prateleiras distribuídos em delineamento inteiramente ao acaso.

Em cada tratamento foram utilizadas 10 repetições com uma lagarta cada, totalizando 80 lagartas avaliadas neste bioensaio. As avaliações foram feitas a cada dois dias, durante 16 dias, observando a mortalidade e troca de ínstar e desenvolvimento de adultos.

3.3.2 Ação do óleo e extratos em diferentes concentrações na mortalidade, consumo foliar, biometria larval e formação de indivíduos defeituosos

No bioensaio 2, avaliou-se a eficiência dos tratamentos mais promissores observados (acima de 80% de mortalidade) no bioensaio 1 para o efeito mortalidade, em lagartas de 3º instar de *A. monuste orseis*. Esses tratamentos foram subdivididos em três dosagens para cada tratamento escolhido, conforme Tabela 2.

Tabela 2. Tratamentos utilizados a base de óleo e extratos de *P. aduncum* em diferentes concentrações para o controle de *Ascia monuste orseis* (Lepidoptera: Pieridae). BELÉM/PA – 2011.

Tratamentos	Descrição	Concentração (%)	n
T1	Água Destilada (Controle)	-	35
T2	Massa Fresca de Folhas	10	35
T3	Massa Fresca de Folhas	20	35
T4	Massa Fresca de Folhas	30	35
T5	Massa Fresca de Inflorescências	10	35
T6	Massa Fresca de Inflorescências	20	35
T7	Massa Fresca de Inflorescências	30	35
T8	Massa Fresca Mix (F+I)	10	35
T9	Massa Fresca Mix (F+I)	20	35
T10	Massa Fresca Mix (F+I)	30	35
T11	Óleo Essencial	1	35
T12	Óleo Essencial	3	35
T13	Óleo Essencial	6	35

n= número de indivíduos utilizados por tratamento.

Nessa etapa adotou-se a mesma metodologia do teste anterior, quanto ao preparo das soluções e aplicação dos tratamentos, diferenciando-se apenas as concentrações utilizadas.

Da mesma forma, cada inseto foi colocado individualmente em potes plásticos com capacidade de 500 mL, totalizando 455 indivíduos utilizados, distribuídos em 35 repetições por tratamento, sendo cada repetição composta por uma lagarta e 13 tratamentos. A alimentação dos insetos foi feita de acordo com o instar observado. No dia de implantação do experimento, foram oferecidas folhas de couve com 9 cm² para as lagartas, de acordo com os tratamentos, para alimentação somente nas primeiras 48 h. Nos dias seguintes folhas se produto inseticida foram oferecidas as lagartas e à medida que observava-se a troca de instares pelos indivíduos, o tamanho da folha aumentava, correspondendo a 16 cm² para lagartas de 4º instar e 25 cm² para lagartas de 5º instar.

Em seguida, os potes foram fechados com tecido tipo tnt e liga plástica permitindo a entrada de ar e dispostos em prateleiras apropriadas, de modo inteiramente casualizado. As avaliações foram feitas a cada três dias, durante 24 dias.

*a) Consumo Foliar de *Ascia monuste orseis* (Lepidoptera: Pieridae) após a exposição a extratos de *Piper aduncum**

Como descrito no item 3.3.1, folhas de couve com 9, 16 e 25 cm², foram oferecidas respectivamente para lagartas de 3^o, 4^o e 5^o ínstars de *A. monuste orseis* durante todos os dias de avaliação, sendo estas coletadas diariamente e mensuradas em scanner portátil de mesa digital modelo AM 300, para se obter informações quanto à área foliar consumida pelo inseto após a ação dos tratamentos avaliados no segundo bioensaio.

b) Peso e comprimento de lagartas submetidas aos tratamentos

A biometria das lagartas foi mensurada através de régua milimetrada e o peso através balança digital de precisão, modelo AL 200 C, comparando-se lagartas sadias com as submetidas aos efeitos dos tratamentos (moribundas).

3.3.3 Ação do óleo essencial por aplicação tópica e tempo de mortalidade

No bioensaio 3, foram feitas aplicações tópicas do óleo essencial de *P. aduncum* sobre lagartas de 3^o, 4^o e 5^o instar de *A. monuste orseis*. Foi preparada uma solução aquosa de 25 mL a 5%. Posteriormente, os indivíduos foram colocados individualmente em placas de Petri, com diâmetro de 9 cm, e com o auxílio de uma micropipeta, foi aplicado 0,01 µL de solução no dorso torácico de cada lagarta. No tratamento controle, a lagarta recebeu a mesma quantidade de água destilada.

As placas contendo as lagartas foram distribuídas de forma inteiramente casualizada e a avaliação feita logo após a implantação do experimento até a morte de todos os indivíduos.

Neste ensaio foram utilizados 2 tratamentos (água destilada e óleo essencial) com 10 repetições, sendo cada repetição composta por uma lagarta.

3.4 CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA A ESPECTOMETRIA DE MASSA

A análise qualitativa do óleo essencial de *P. aduncum* foi feita em aparelho de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG-EM) Thermo modelo DSQII equipado com coluna capilar de sílica fundida (30m x 0,25mm d.i.) com fase estacionária DB-5ms (0,25 µm de espessura do filme); gás de arraste hélio, ajustado para fornecer uma velocidade linear de 32 cm/s, (medidos a 100 °C); temperatura do injetor 240 °C; temperatura da fonte e outras partes 200 °C; tipo de injeção: sem divisão de fluxo, 0,1 µL de uma solução 2:1000 de *n*-hexano; temperatura programada para 60°-240°C, com gradiente de 3°C/min. O filtro do quadrupolo varreu a faixa de 39 a 400 daltons a cada segundo. A ionização foi obtida pela técnica de impacto eletrônico, com energia de 70 eV.

Os constituintes químicos foram identificados através da comparação de seu espectro de massas (massa molecular e o padrão de fragmentação) com espectros existentes em literatura (ADAMS, 2001; ADAMS, 2007), com espectros avaliados pelo banco de dados (Willey, NIST) do equipamento e, também pela comparação do índice de retenção com aqueles existentes na literatura. Os índices de retenção foram determinados através de uma curva de calibração de uma série de *n*-alcanos (C₈-C₂₄) injetados nas mesmas condições cromatográficas das amostras.

3.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os parâmetros avaliados foram submetidos ao teste de Kolmogorov-Smirnov para verificar a normalidade das distribuições, à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5%, através do programa estatístico (STATSOFT - Statistica, 2009). As curvas de proporção de sobrevivência dos indivíduos foram calculadas no programa Bio Estat (Ayres et al., 2007), através da fórmula:

$$\text{Logrank } \chi^2 = \frac{(O_t - E_t)^2}{E_t} + \frac{(O_c - E_c)^2}{E_c} \quad (3)$$

Onde: O_t e E_t = Mortes observadas e esperadas no grupo tratamento.

O_c e E_c = Mortes observadas e esperadas no grupo controle.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Piper aduncum* POR CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA A ESPECTOMETRIA DE MASSA

Os principais constituintes químicos encontrados no óleo essencial de *P. aduncum* utilizado neste trabalho estão representados na Figura 4. Foi observado alto teor de dilapiol encontrado na amostra (72,73%), apresentando-se como componente majoritário, confirmando a atividade inseticida observada sobre lagartas de *A. monuste orseis*.

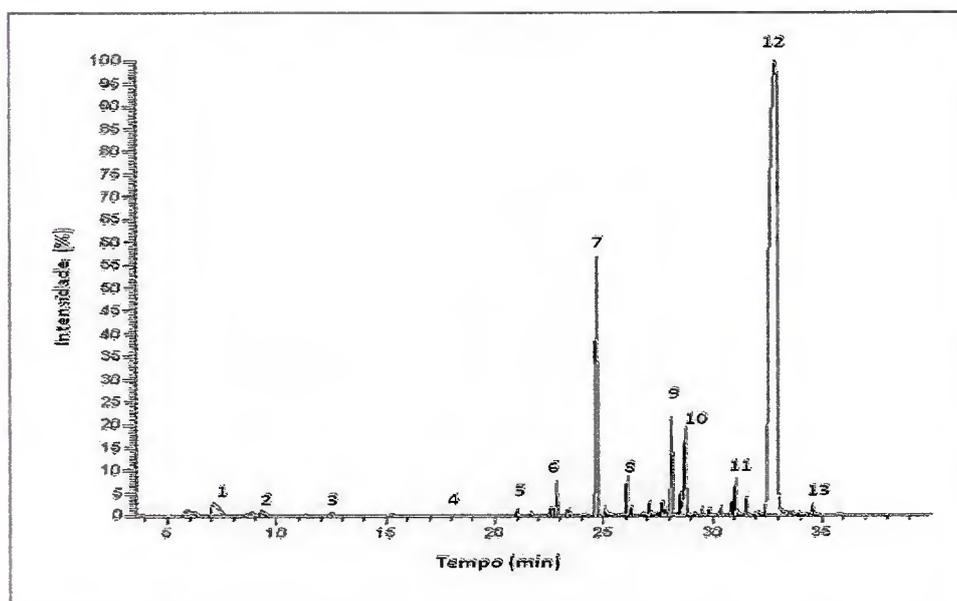


Figura 4. Cromatograma do óleo essencial de *Piper aduncum*. BELÉM/PA – 2011.

*1. β -pineno (1,88), 2. (*E*)- β -ocimeno (0,51), 3. aloocimeno (0,16), 4. δ -elemeno (0,16), 5. α -ilangeno (0,29), 6. α -copaeno (0,88), 7. β -cariofileno (8,11), 8. α -humuleno (1,24), 9. pentadecano (1,62), 10. miristicina (2,92), 11. óxido de cariofileno (1,00), 12. dilapiol (72,73), 13. apiol (0,36).

Dados obtidos por Maia et al. (1998), demonstraram o percentual de dilapiol variando entre 31,5 e 97,3% a partir da análise de diferentes amostras de óleo essencial de *P. aduncum* na região amazônica, e estudos realizados por Almeida et al., (2009), que apresentaram valores semelhantes (95,0-98,9%), corroboram com os resultados encontrados nesse estudo.

Em contrapartida, amostras de óleo essencial de *P. aduncum* coletadas em região de Mata Atlântica por Mesquita et al., (2005) e Almeida et al., (2009), não constataram o componente dilapiol, apresentando como componentes majoritários o (*E*)-nerolidol e linalol.

A partir desses estudos, pode-se observar que as condições ambientais e edafoclimáticas interferem no metabolismo do vegetal, apresentando diferenças entre os principais componentes majoritários.

4.2 AÇÃO DO ÓLEO E EXTRATOS DE *Piper aduncum* NA MORTALIDADE DE LAGARTAS DE *Ascia monuste orseis*

A partir dos tratamentos avaliados no bioensaio preliminar 1, foi observado que o óleo essencial e extrato aquoso de massa fresca da inflorescência de *P. aduncum* não diferiram estatisticamente entre si, mas diferiram dos demais tratamentos. E que os tratamentos extrato de massa fresca de inflorescências, folhas e extrato de massa seca de inflorescências não apresentaram diferenças significativas. Contudo, devido ao modo de ação e facilidade de preparo, os extratos de massa fresca e o óleo essencial foram apresentaram os resultados mais significativos no controle de lagartas de 3º instar de *A. monuste orseis*, com os maiores índices de mortalidade em relação aos demais tratamentos (Figura 5).

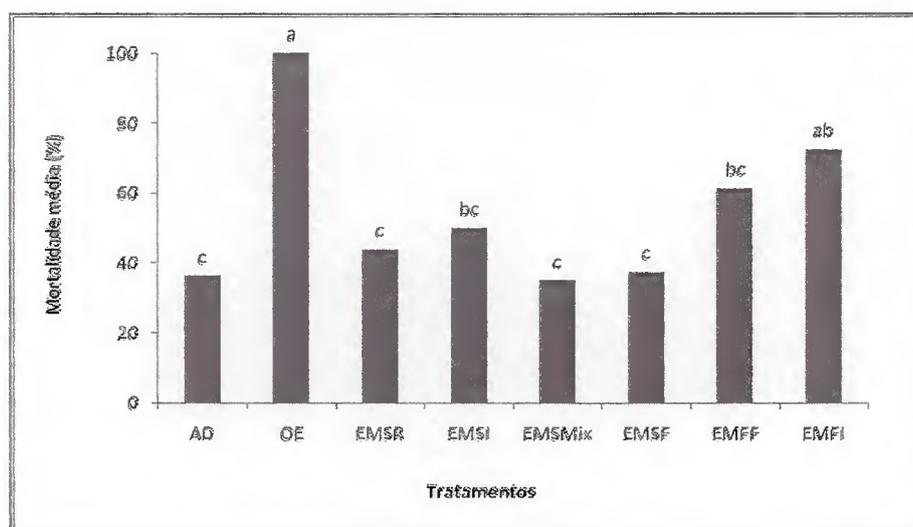


Figura 5. Porcentagem (%) de mortalidade de lagartas de 3º instar de *A. monuste orseis* alimentadas com folhas de couve comum submetidas a oito tratamentos a base de *P. aduncum*. BELÉM/PA – 2011.

* Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo Teste de Tukey (5%).

** AD – Água destilada (Controle); OE – Óleo essencial; EMSR – Extrato de massa seca de ramos; EMSI – Extrato de massa seca de inflorescência; EMSMix – Extrato de massa seca mix; EMSF – Extrato de massa seca de folhas; EMFF – Extrato de massa fresca de folhas; EMFI – Extrato de massa fresca de inflorescência.

Quanto ao tempo de mortalidade verificou-se a alta mortalidade das lagartas ainda no 1º dia de avaliação, atingindo 100% de mortalidade na concentração testada (5%). Os tratamentos extratos de massa fresca de inflorescência e folha apresentaram mortalidade de 80% no 5º e 9º dias de observação, respectivamente, não diferindo estatisticamente entre si, mas caracterizando-os como os tratamentos mais promissores, pois os demais tratamentos levaram mais de 13 dias para estabilizar a quantidade de indivíduos mortos (Figura 6). Os demais tratamentos testados não apresentaram diferenças significativas quando comparados ao tratamento controle (água destilada).

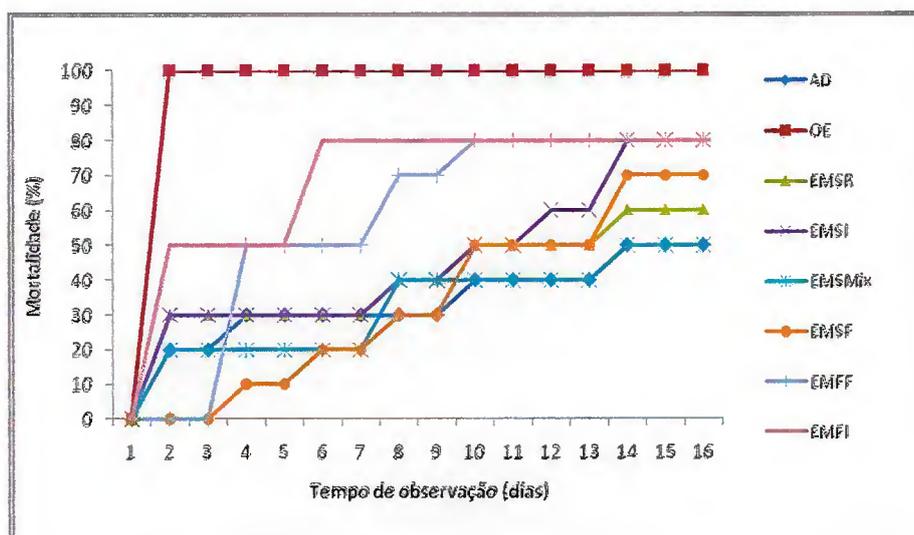


Figura 6. Mortalidade acumulada de lagartas de 3º instar de *A. monuste orseis* alimentadas com folhas de couve tratadas com diferentes tratamentos à base de *P. aduncum*. BELÉM/PA – 2011.

* AD – Água destilada; OE – Óleo essencial; EMRS – Ext. de massa seca de ramos; EMSI – Ext. de massa seca de inflorescência; EMSMix – Ext. de massa seca mix; EMSF – Ext. de massa seca de folhas; EMFF – Ext. de massa fresca de folhas; EMFI – Ext. de massa fresca de inflorescência.

Em virtude dos extratos de massa fresca terem apresentado maior eficiência de controle às lagartas, quando comparados aos demais extratos de massa seca, os mesmos foram utilizados no bioensaio seguinte.

4.3 AÇÃO DO ÓLEO E EXTRATOS EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES

4.3.1 Mortalidade

As diferentes concentrações dos tratamentos testados apresentaram diferenças significativas quando comparadas ao tratamento controle (água destilada), entretanto não diferiram entre si (Figura 7).

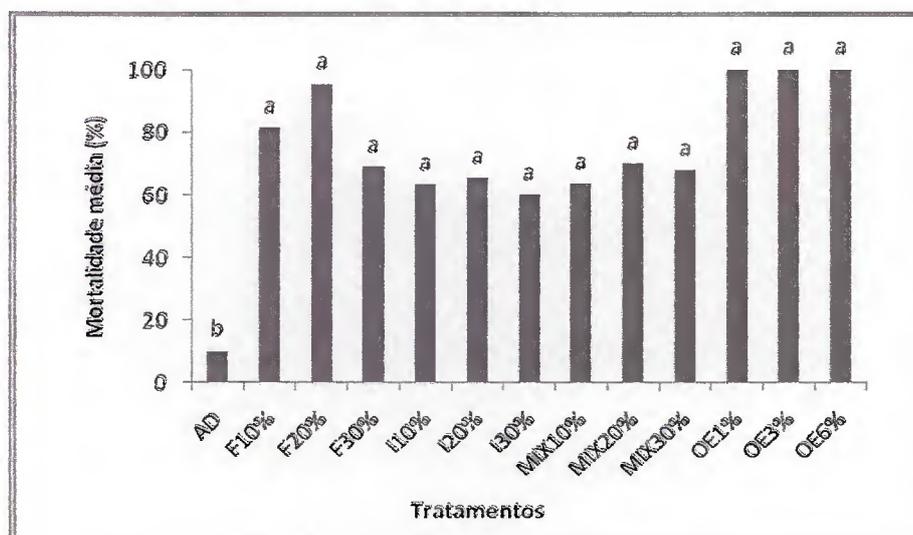


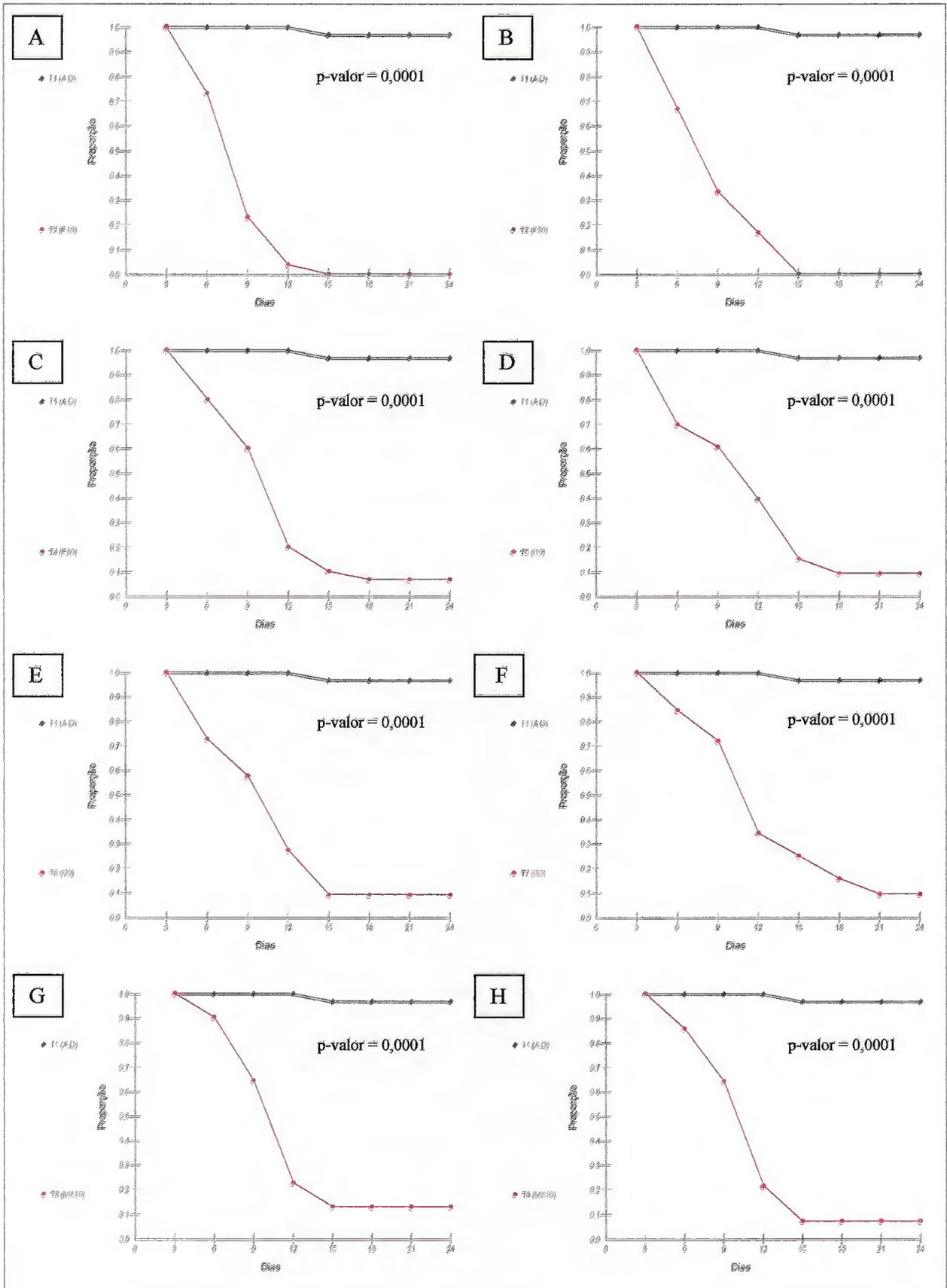
Figura 7. Médias de porcentagem de mortalidade (%) de lagartas de *A. momuste orseis* (Lepidoptera: Pieridae) alimentadas com folhas de couve tratadas em diferentes concentrações de óleo e extratos à base de *Piper aduncum*. BELÉM/PA – 2011.

* Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo Teste de Tukey (5%).

** AD – Água destilada; F10%, F20% e F30% - Ext. de massa fresca de folha; I10%, I20% e I30% - Ext. de massa fresca de inflorescência; MIX10% , MIX20% e MIX30%- Ext. de massa fresca mix; OE1%, OE3% e OE6% – Óleo essencial.

Avaliando-se, entretanto os valores de mortalidade obtidos através da aplicação do teste de Log-rank para comparação das curvas de sobrevivência de indivíduos entre os tratamentos separadamente, é possível observar diferença entre todos os tratamentos testados em relação ao controle. É importante ressaltar que nesse teste não foram utilizados os dados referentes aos tratamentos com óleo essencial, devido ter ocorrido mortalidade total das lagartas no 1º dia do ensaio.

De acordo com a Figura 8, nota-se que a linhas não se sobrepõem ao tratamento controle que apresenta proporção de sobrevivência maior e constante com 90% dos indivíduos vivos, enquanto que nos demais tratamentos a proporção de indivíduos vivos decrescem devido à mortalidade de lagartas ocorridas ao longo do período observado. O que reforça os resultados obtidos com a análise de Tukey 5% de significância onde foi observado que os tratamentos avaliados diferiram do tratamento controle.



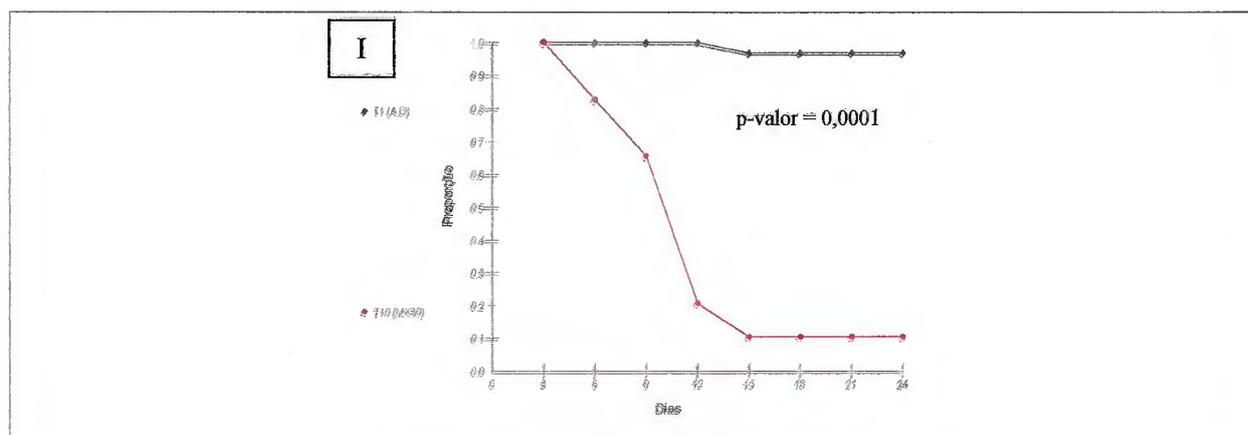


Figura 8. Comparação das curvas de sobrevivência de indivíduos do tratamento controle em relação aos diferentes tratamentos de extratos e óleo de *Piper aduncum*, sobre *Ascia monuste orseis*. BELÉM/PA – 2011.

** AD – Água destilada; F10%, F20% e F30% - Extrato de massa fresca de folha; I10%, I20% e I30% - Extrato de massa fresca de inflorescência; MIX10%, MIX20% e MIX30%- Extrato de massa fresca mix

Ao analisar a quantidade de lagartas mortas nos tratamentos a base extratos de folhas frescas (T2 (10%), T3 (20%) e T4 (30%)), observou-se que o tratamento mais promissor foi o extrato de folha a 20% (T3), no qual ocorreu um efeito incitante e estimulante na alimentação dos insetos, havendo alta mortalidade (100%) já nos primeiros dias do bioensaio, indicando ser possivelmente a concentração mais letal à lagarta, ou seja, uma dose intermediária dentre as utilizadas. Nota-se na Figura 9A, que apesar do extrato de massa fresca a 10% ter a mortalidade semelhante ao tratamento com 20%, a ação de controle para o tratamento com 20% foi mais rápido, com o tempo de mortalidade menor sobre as lagartas.

Observou-se também, que quando o tratamento a 10% é comparado ao de 30%, nota-se que ao longo dos 24 dias de avaliação alguns indivíduos continuaram vivos (10%), fato explicado, devido algumas lagartas rejeitarem o alimento que continha o tratamento, ou seja, a maior concentração de óleo nas folhas, que foi de 2%, ocorrendo efeito inibidor para alimentação, devido provavelmente, a maior presença do princípio ativo dilapiol, o que pode ter ocasionado efeito supressor e/ou deterrente, impedindo que o inseto inicie, iniba ou continue a alimentação na concentração mais alta que foi a de 30% (Figura 9).

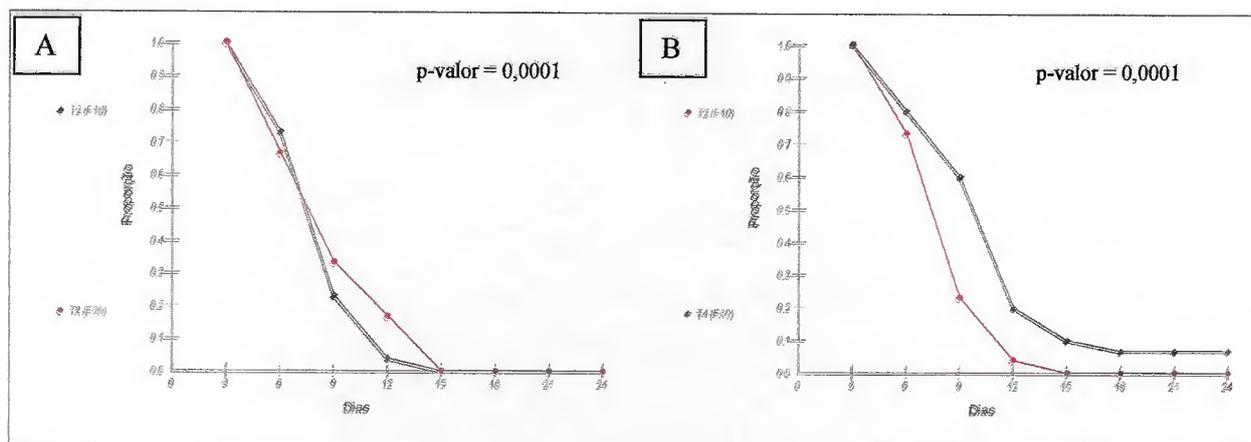
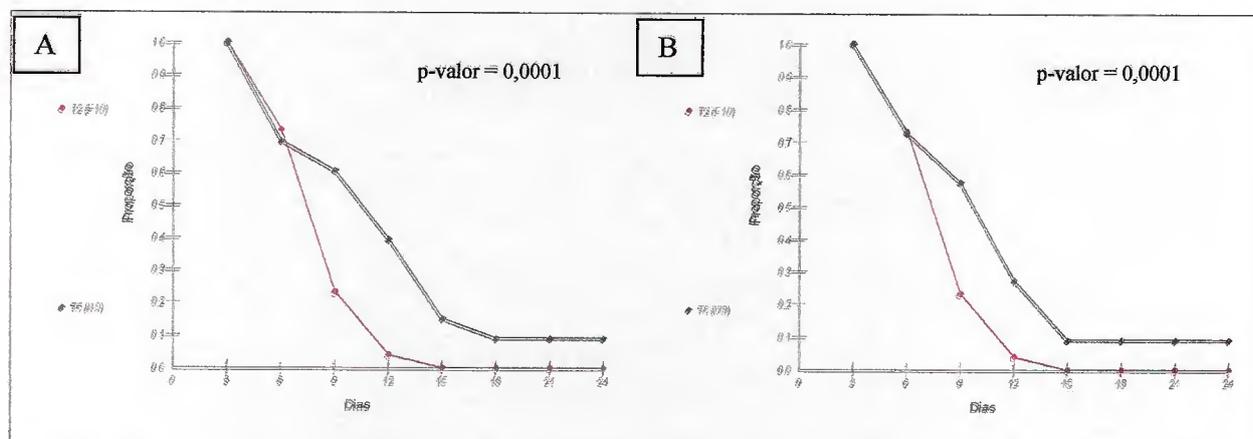


Figura 9. Comparação das curvas de sobrevivência de indivíduos do tratamento T2 – F10% em relação aos tratamentos T3 - F20% (A) e T4 – F30% (B) através do teste de Log-rank. BELÉM/PA – 2011.
* F10%, F20% e F30% - Extrato de massa fresca de folha em diferentes concentrações.

Lagartas de *S. frugiperda* alimentadas com folhas submergidas em extrato de folhas de nim (*A. indica*), praticamente, pararam de se alimentar dois dias após o fornecimento do alimento e a maioria morreu aos sete dias. As lagartas sobreviventes desses tratamentos sofreram redução no seu desenvolvimento (Viana; Prates, 2003).

Observa-se nas Figuras 10 e 11 que os tratamentos com extratos de folhas a 10% e 20% de concentração, foram melhores que os tratamentos com extratos a 30%, extratos de inflorescência 10%, 20%, 30% e extratos mix 10%, 20% e 30%, uma vez que estes atingiram mortalidade de 100% durante as avaliações, enquanto que os outros atingiram mortalidade entre 80 a 90%.



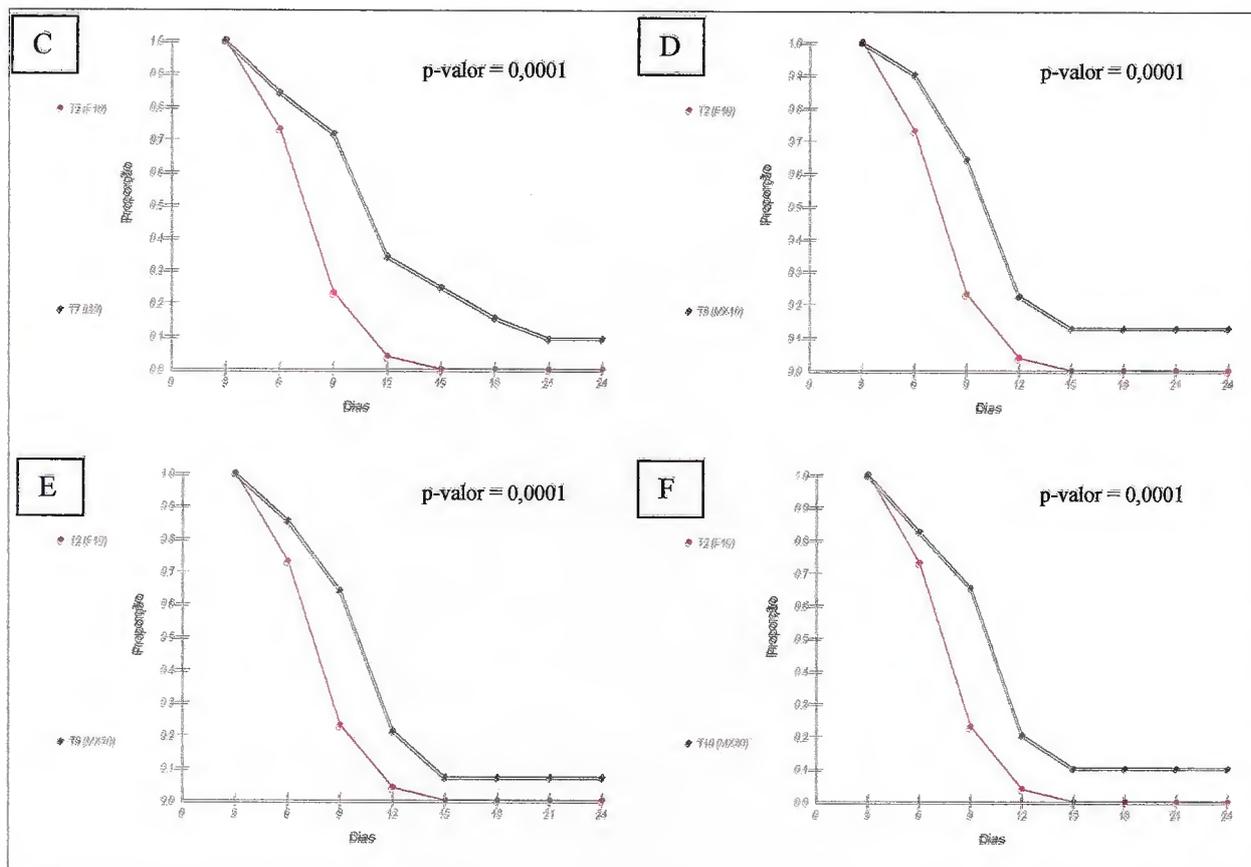
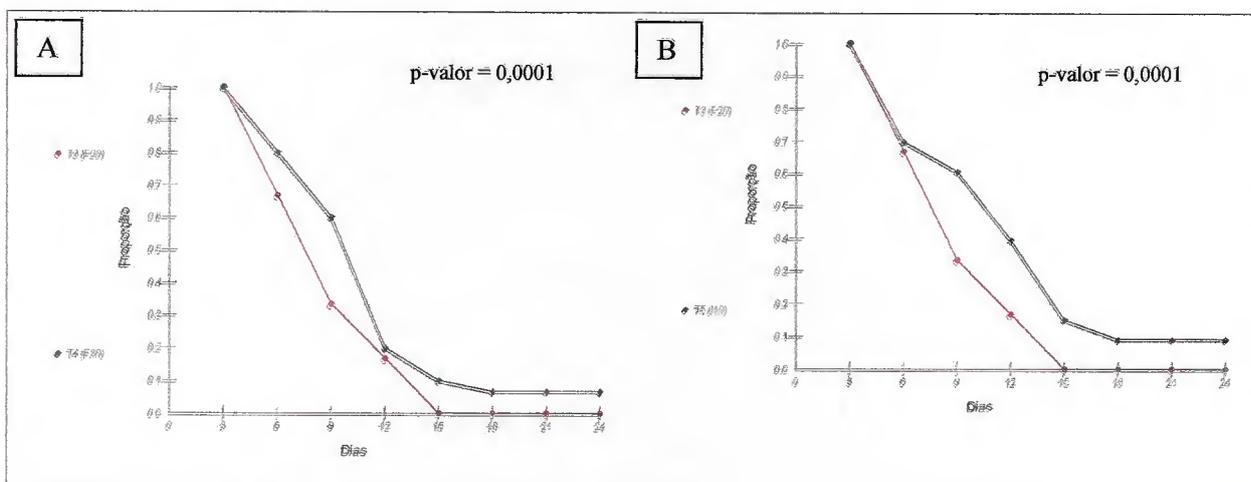


Figura 10. Comparação das curvas de sobrevivência de lagartas de *Ascia monuste orseis* (Lepidoptera: Pieridae) após tratamento com extrato de folhas frescas a 10% de *Piper aduncum* com os demais tratamentos em diferentes concentrações, através do Teste Log-rank. BELÉM/PA – 2011.

* I10%, I20% e I30% - Extrato de massa fresca de inflorescência, MIX10%, MIX 20% e MIX30% - Extrato de massa fresca mix em diferentes concentrações.



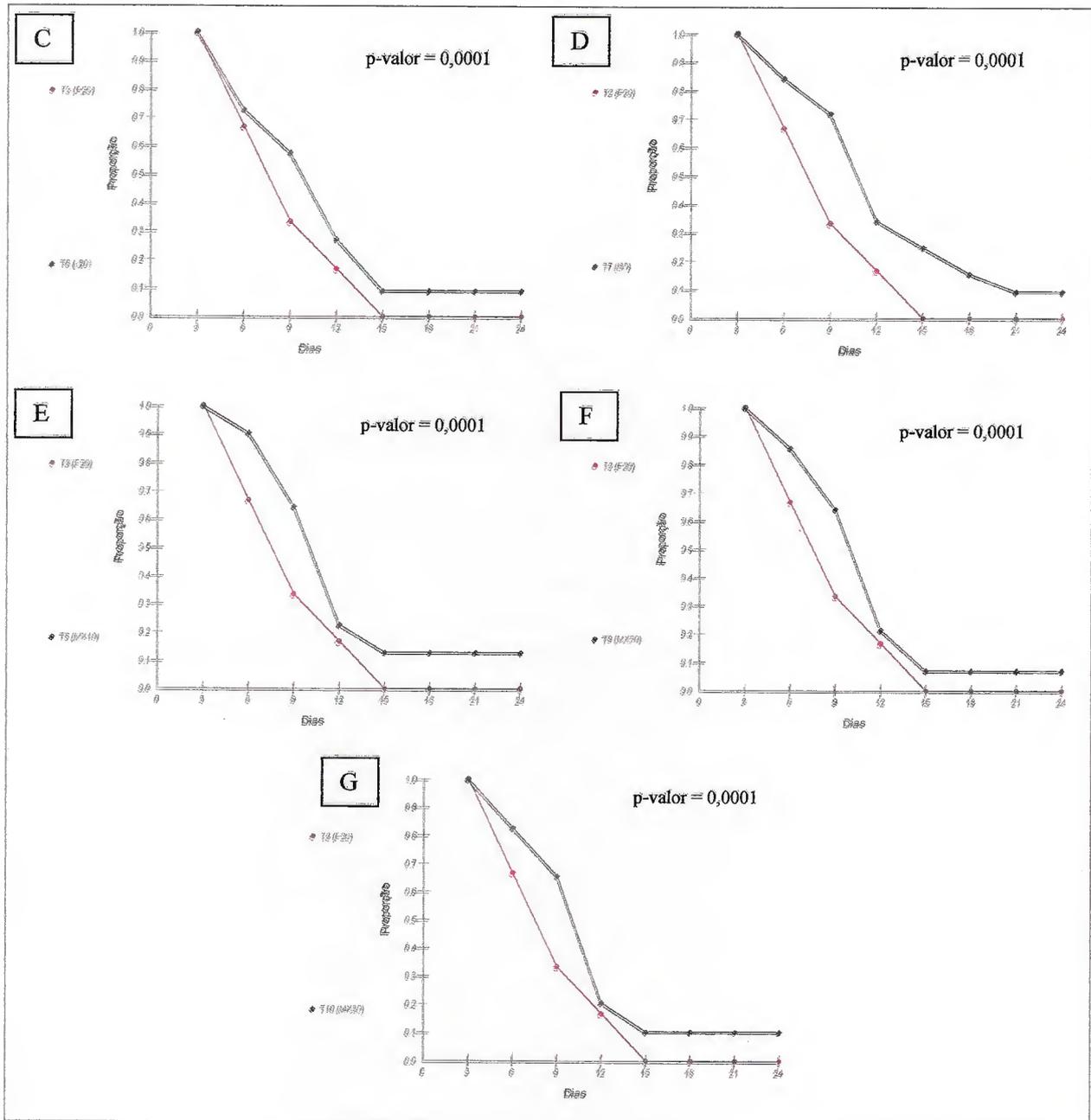


Figura 11. Comparação das curvas de sobrevivência de lagartas de *Ascia monuste orseis* (Lepidoptera: Pieridae) após tratamento com extrato de folhas frescas a 20% de *Piper aduncum* com os demais tratamentos em diferentes concentrações, através do Teste Log-rank. BELÉM/PA – 2011.

* F20%, F30% - Extrato de massa fresca de folha; I10%, I20% e I30% - Extrato de massa fresca de inflorescência; MIX10%, MIX 20% e MIX30% - Extrato de massa fresca mix em diferentes concentrações.

A Figura 12 mostra o comportamento da mortalidade no tratamento com extrato de folhas a 30% em relação aos demais. Observa-se que o referido tratamento apresenta curva de sobrevivência menor em relação aos extratos mix e inflorescência, obtendo mortalidade de 90%, enquanto que a mortalidade de lagarta nos outros tratamentos foi menor e taxa de

sobrevivência maior. Entretanto, não diferiu do tratamento com extrato de mix a 20%, onde as curvas se sobrepuseram quase que literalmente (Figura 12E).

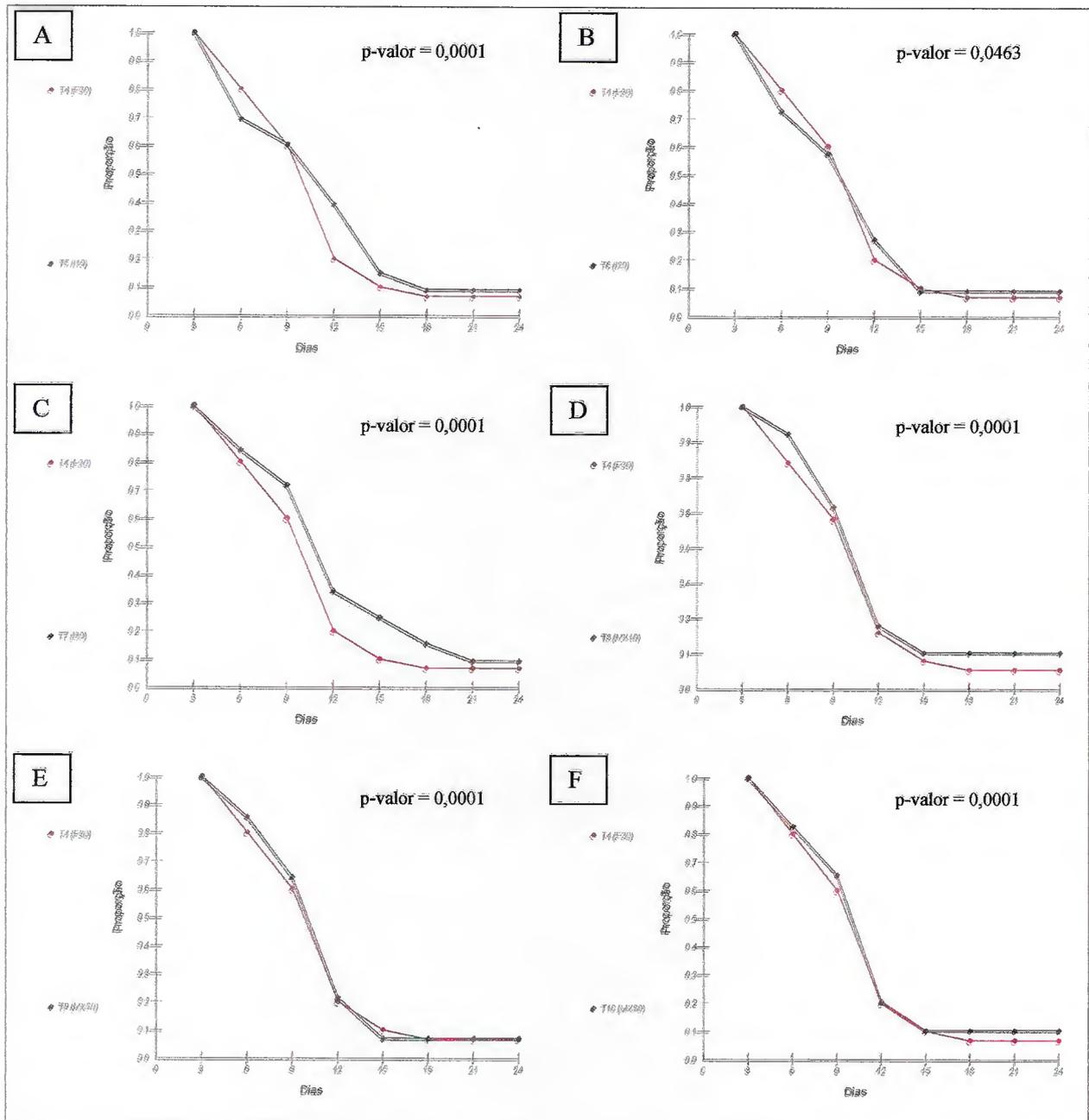


Figura 12. Comparação das curvas de sobrevivência de lagartas de *Ascia momuste orseis* (Lepidoptera: Pieridae) após tratamento com extrato de folhas frescas a 30% de *Piper aduncum* com os demais tratamentos em diferentes concentrações, através do Teste Log-rank. BELÉM/PA – 2011.

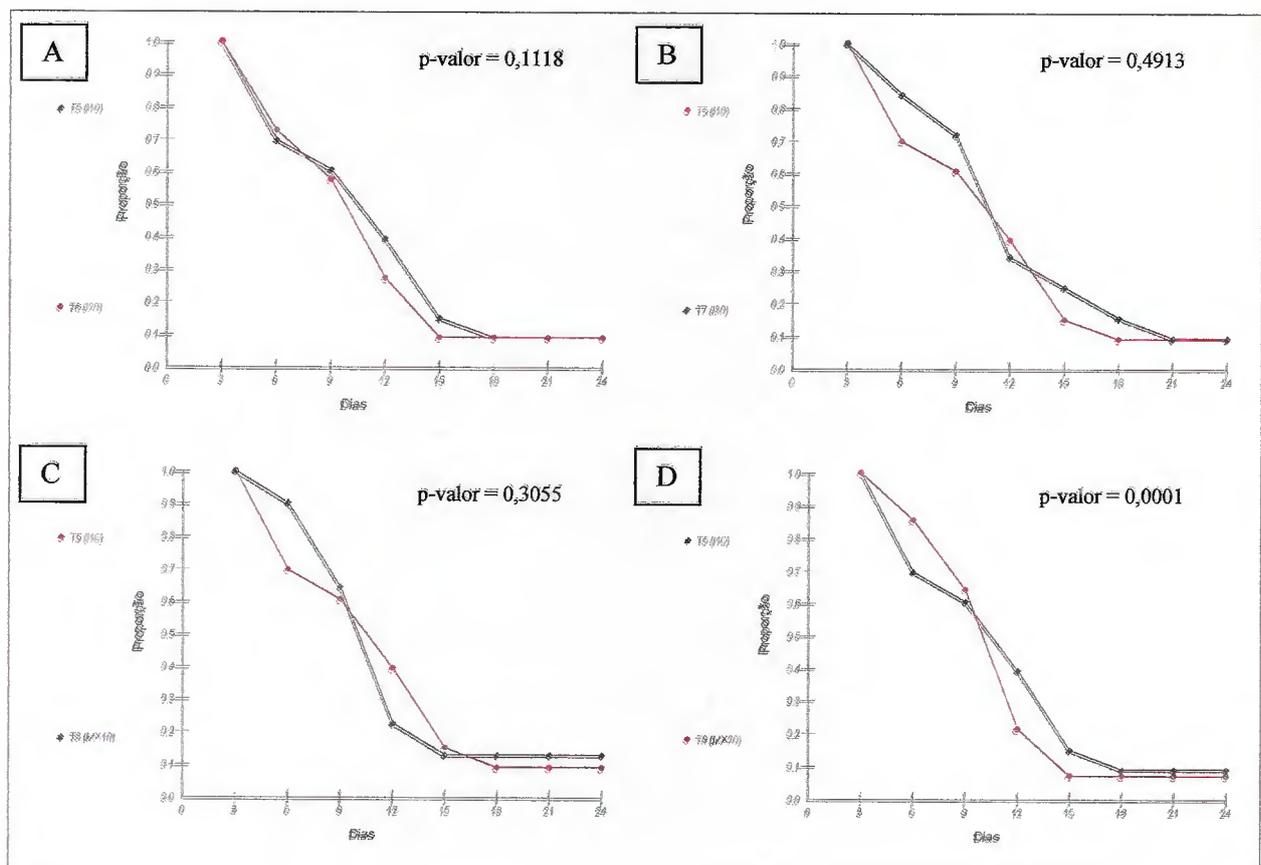
* F30% - Extrato de massa fresca de folha; I10%, I20% e I30% - Extrato de massa fresca de inflorescência; MIX10%, MIX 20% e MIX30% - Extrato de massa fresca mix em diferentes concentrações.

As Figuras 13, 14 e 15 apresentam o efeito dos extratos de inflorescência a 10, 20 e 30% respectivamente, sobre as lagartas, revelando haver semelhanças entre as curvas. Nota-

se que as curvas se sobrepõem, portanto não diferem significativamente entre si, sendo melhores somente em relação ao tratamento controle. Mesmo havendo menor teor de dilapiol no óleo essencial presente nas inflorescências da planta, em torno de 1,5%, essas concentrações conseguiram interferir na alimentação dos insetos, provocando cerca de 90% de mortalidade dos indivíduos. Os extratos nas três concentrações avaliadas apresentaram um efeito de mortalidade mais lento em relação aos extratos de folhas frescas e mais rápido em relação aos extratos mix.

O efeito no comportamento da mortalidade de lagartas de 1° e 3° ínstaes de *S. frugiperda* foram estudados por Lima et al. (2009), que constataram que o óleo essencial de pimenta longa (*P. hispidinervum*) possui atividade inseticida sobre essa praga, causando redução alimentar e mortalidade da mesma.

Estudando a toxicidade de *Ageratum conyzoides* (Asteraceae) sobre lagartas de *S. frugiperda* em teste de ingestão de seções foliares de milho tratadas com óleo essencial, Lima et al. (2010) constataram que o mesmo apresentou atividade inseticida contra a lagarta, causando mortalidade acima de 70%, a partir da concentração de 0,5%.



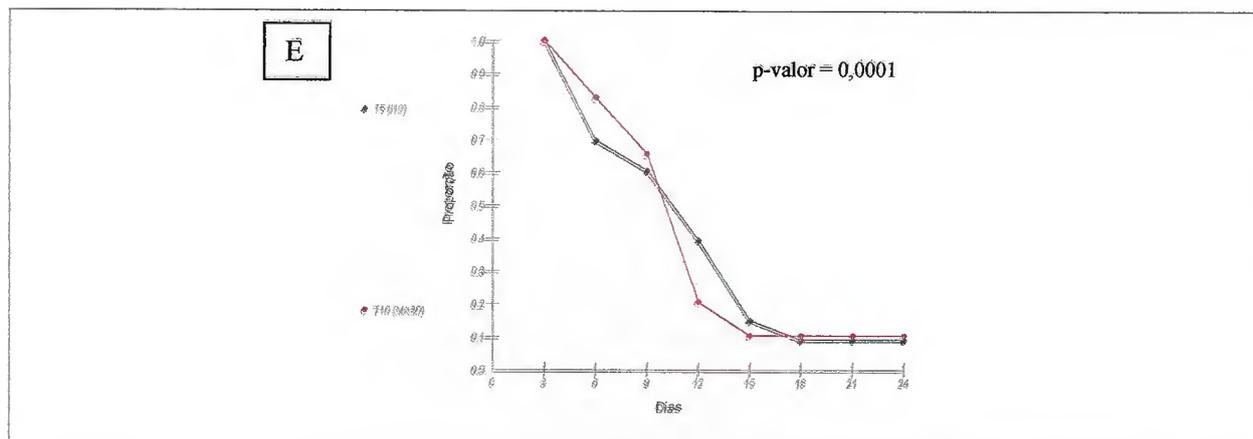


Figura 13. Comparação das curvas de sobrevivência de lagartas de *Ascia monuste orseis* (Lepidoptera: Pieridae) após tratamento com extrato de inflorescências frescas a 10% de *Piper aduncum* com os demais tratamentos em diferentes concentrações, através do Teste Log-rank. BELÉM/PA – 2011.
 * I10%, I20% e I30% - Extrato de massa fresca de inflorescência; MIX10%, MIX 20% e MIX30% - Extrato de massa fresca mix em diferentes concentrações.

Nota-se na Figura 14, que não houve diferença estatística entre os tratamentos de extratos de inflorescência em relação aos tratamentos com extratos mix, pois apesar de atingirem baixas proporções de sobrevivência e mortalidade de 90%, nota-se que a maioria das lagartas morre após o 15º dia.

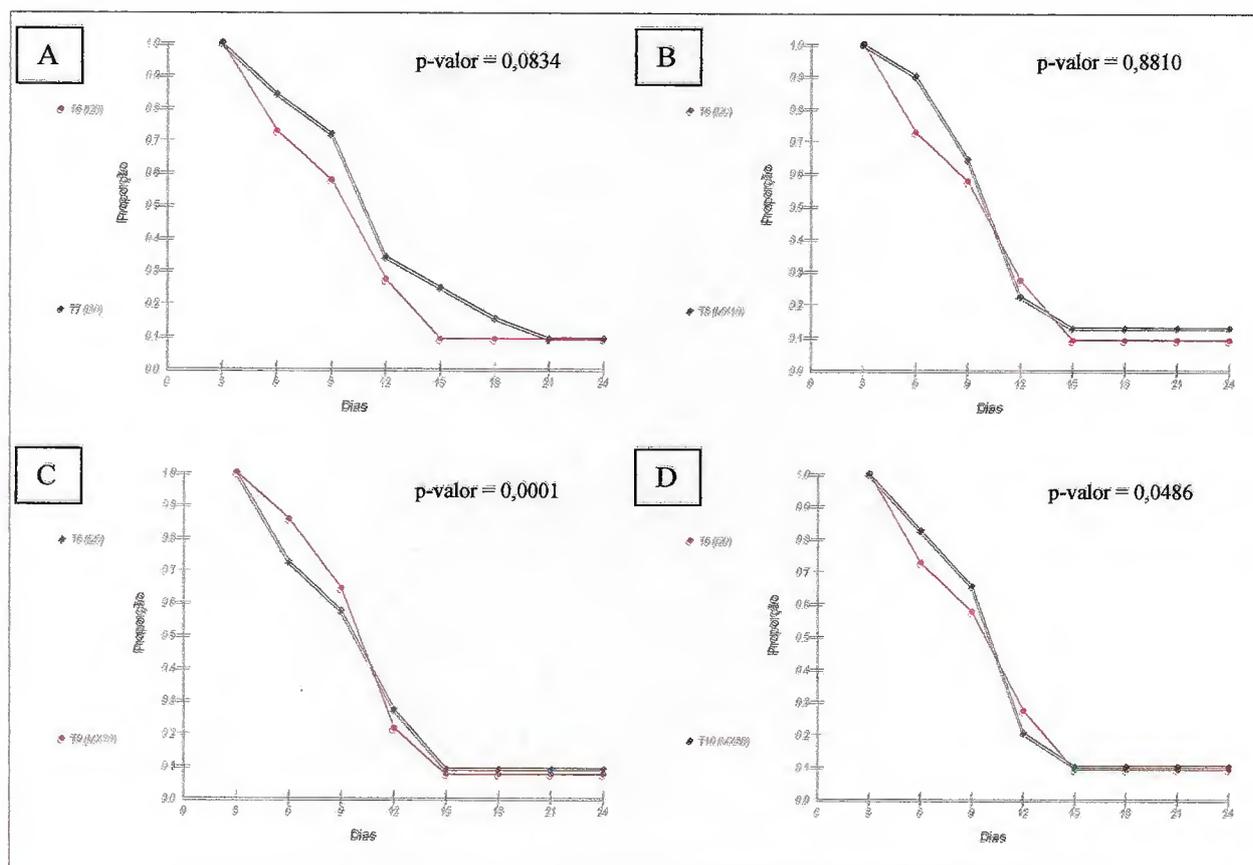


Figura 14. Comparação das curvas de sobrevivência de lagartas de *Ascia monuste orseis* (Lepidoptera: Pieridae) após tratamento com extrato de inflorescências frescas a 20% de *Piper aduncum* com os demais tratamentos em diferentes concentrações, através do Teste Log-rank. BELÉM/PA – 2011.

* I30% - Extrato de massa fresca de inflorescência; MIX10%, MIX20% e MIX 30% - Extratos de massa fresca mix em diferentes concentrações.

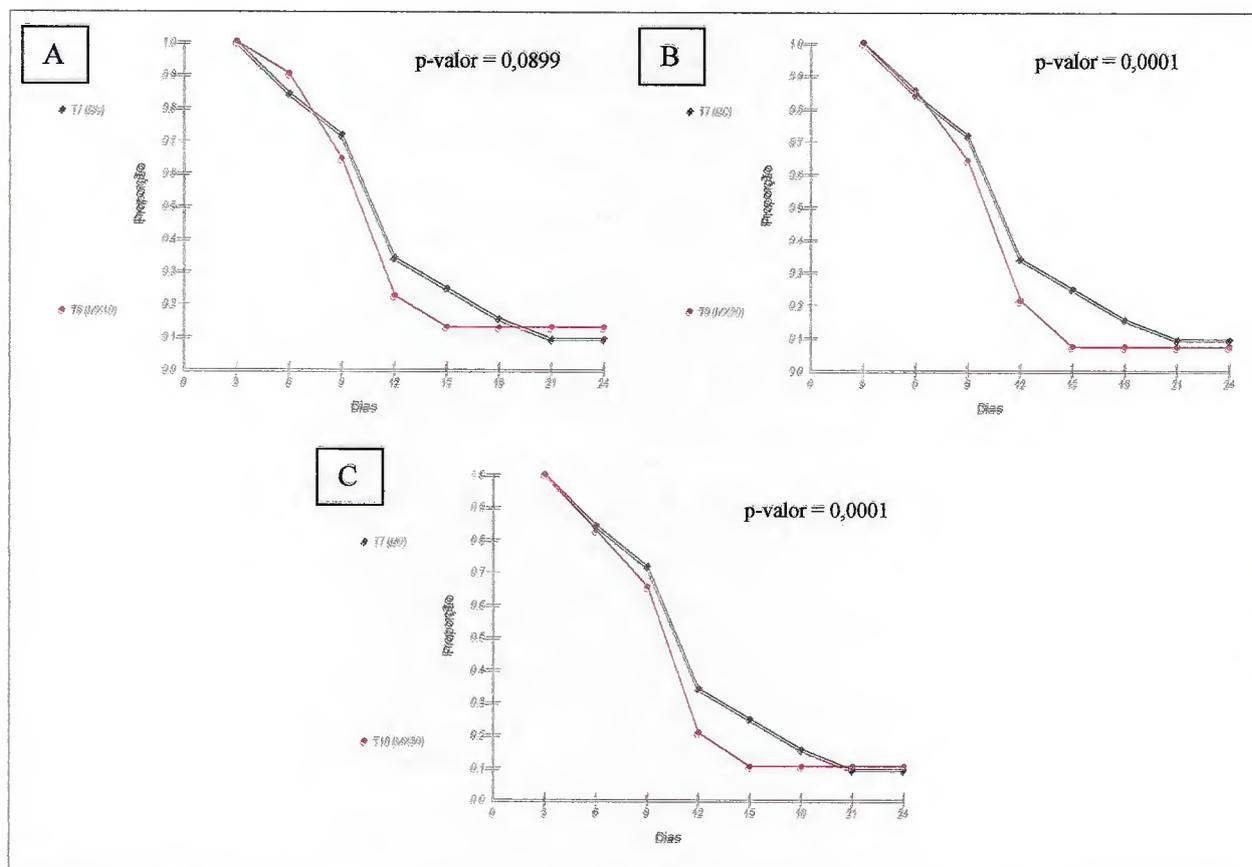


Figura 15. Comparação das curvas de sobrevivência de lagartas de *Ascia monuste orseis* (Lepidoptera: Pieridae) após tratamento com extrato de inflorescências frescas a 30% de *Piper aduncum* com os demais tratamentos em diferentes concentrações, através do Teste Log-rank. BELÉM/PA – 2011.

* MIX10%, MIX20% e MIX30% - Extratos de massa fresca mix.

Na Figura 16, é possível observar os tratamentos a base de extratos mix. A ação de controle através da mortalidade de insetos no tratamento a 10% foi menor quando comparado aos de 20% e 30%. Entretanto, dentre os tratamentos mix, a concentração a 20% foi o que apresentou maior eficiência de controle das lagartas em relação aos tratamentos 10 e 30%.

Oliveira et al., (2007) concluíram que os extratos aquosos das plantas *Azadirachta indica* 2%, *Trichilia pallida* 5%, *Quassia amara* 2% e *Melia azedarach* 2% e 5% e óleo de *A. indica* 1% e 2% com adição de tenso ativo não iônico, não possuem eficiência necessária como único método de controle de *S. frugiperda* em condições de campo. Entretanto, os

produtos começam a afetar o desenvolvimento da lagarta somente após sete dias da ingestão das folhas pulverizadas com os extratos.

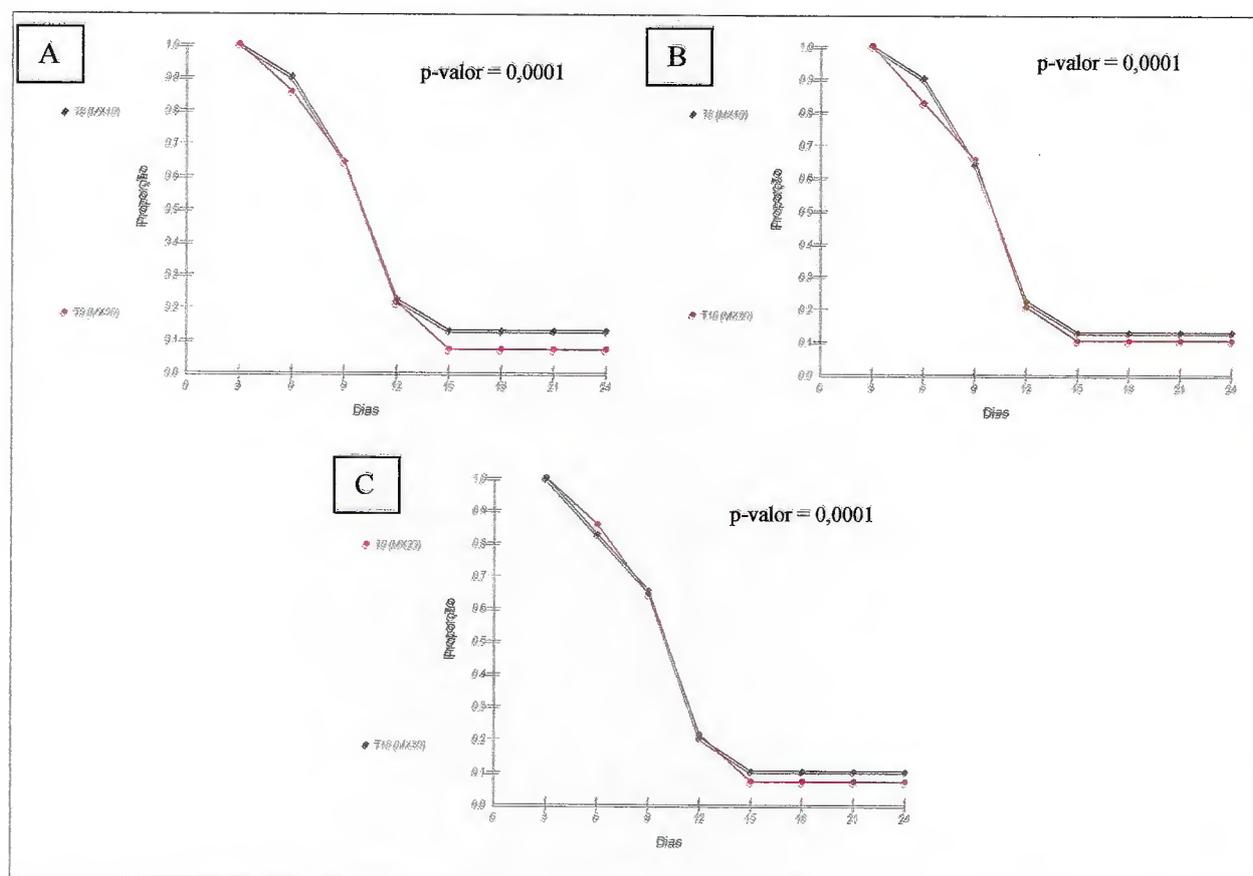


Figura 16. Comparação das curvas de sobrevivência de lagartas de *Ascia monuste orseis* (Lepidoptera: Pieridae) após tratamento com extrato de massa fresca MIX a 10% e 20% de *Piper aduncum* com os demais tratamentos em diferentes concentrações, através do Teste Log-rank. BELÉM/PA – 2011.

* MIX10%, MIX20% e MIX30% - Extratos de massa fresca mix.

Portanto, todos os tratamentos utilizados no bioensaio para controle de *A. monuste orseis* foram satisfatórios. Sendo que os tratamentos com óleo essencial em todas as concentrações foi o que causou mortalidade em 100% dos indivíduos em menor tempo, ou seja, logo após algumas horas da aplicação dos tratamentos. Os tratamentos com extrato de folhas a 20% e 10% também apresentaram os mais altos valores de mortalidade de lagartas, chegando a 100%, igual ao ocorrido com o óleo, entretanto, com menor velocidade de ação.

Assim como nos testes realizados neste trabalho, o dilapiol, composto químico presente no óleo essencial de *P. aduncum*, também apresentou alta toxicidade sobre larvas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae), devido provavelmente a ação conjunta deste constituinte e outros compostos bioativos majoritários presentes na composição do óleo essencial, tais como o sarisan (Bizzo et al., 2001; Fazolin et al., 2007).

A atividade inseticida de *P. aduncum* também foi relatada por Estrela et al., (2006) que confirmaram os valores de mortalidade de *S. zeamais*, no qual o óleo essencial de *P. hispidinervum* foi mais eficaz pela via de contato e o de *P. aduncum* pela via de exposição por fumigação. Entretanto, no método de contato por aplicação tópica, os índices de toxicidade dos óleos foram semelhantes, para *P. hispidinervum* e *P. aduncum*.

Com relação ao fator tempo, pode-se observar que a mortalidade nos tratamentos com óleo ocorreu no dia de instalação do experimento, ocasionando a morte de todos os indivíduos demonstrando efeito de choque pelo contato com o produto, confirmando os dados observados no bioensaio 1.

Do total de indivíduos utilizados nesse bioensaio 9,89% correspondem à quantidade de lagartas que conseguiram chegar à fase adulta. Sendo que 68,89% encontravam-se no tratamento controle e 31,11% distribuídos nos demais tratamentos.

4.3.2 Consumo foliar

Observando o consumo foliar total dos três ínstaes avaliados (Tabela 3), constatou-se que o tratamento controle (T1) foi significativamente diferente quanto ao consumo foliar obtido pelas lagartas que estavam sob a ação dos tratamentos com extratos de *P. aduncum*. Nota-se que no tratamento controle houve consumo foliar crescente para o 3º, 4º e 5º ínstaes, com 15, 62 e 87 cm², respectivamente. Pois, à medida que ocorreu o avanço dos ínstaes, maior foi o consumo foliar das lagartas, diferindo estatisticamente de todos os outros tratamentos avaliados. Notou-se que ocorreu redução do consumo foliar das lagartas que estavam sob o efeito dos diferentes extratos, principalmente para as lagartas do tratamento de extrato de folhas frescas a 20%, com 8, 11 e 9 cm² para o 3º, 4º e 5º ínstaes, respectivamente, enquanto as lagartas do tratamento controle se alimentaram de quase 90 cm² de folhas de couve, havendo redução drástica entre 70% a 90% no tratamento com extratos de *P. aduncum*, principalmente, no tratamento com extrato de folhas frescas a 20%, onde as mesmas consumiram média de apenas 9 cm². Esses resultados são interessantes para um controle alternativo de *A. monuste orseis* indicando que os tratamentos avaliados provocaram um efeito altamente inibidor para a alimentação nesta espécie de inseto.

Tabela 3. Consumo foliar médio de lagartas (cm²) de *A. monuste orseis* em três instares, alimentadas com folhas de couve tratadas sob diferentes tratamentos à base de *P. aduncum*. BELÉM/PA – 2011.

Tratamentos	3º ínstar	4º ínstar	5º ínstar
T1 - AD *	15,41 a **	62,45 a	87,29 a
T2 - F10%	9,37 bc	34,95 bc	12,05 cd
T3 - F20%	7,60 c	10,82 d	8,93 d
T4 - F30%	10,82 bc	38,41 bc	38,10 b
T5 - I10%	8,93 bc	43,17 b	41,03 b
T6 - I20%	11,18 b	49,01 b	31,03 bc
T7 - I30%	10,23 bc	37,05 bc	48,78 b
T8 - Mix10%	9,44 bc	33,95 bc	29,72 bc
T9 - Mix20%	8,16 bc	38,84 b	31,81 bc
T10- Mix30%	7,71 c	37,95 bc	26,12 bc
T11 - OE1%	8,25 bc	0,00 e	0,00 d
T12 - OE3%	7,99 bc	0,00 e	0,00 d
T13 - OE6%	7,99 bc	0,00 e	0,00 d

**Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey 5%.

*AD – Água destilada (Controle); F10%, F20% e F30% - Extrato de massa fresca de folha; I10%, I20% e I30% - Extrato de massa fresca de inflorescência; MIX10%, MIX20% e MIX30% - Extrato de massa fresca mix; OE1%, OE3% e OE6% – Óleo essencial.

Ressalta-se que para lagartas do 4º ínstar, foi observado que todos os tratamentos houve aumento significativo de consumo de área foliar, com exceção dos tratamentos com óleo essencial, uma vez que todas as lagartas morreram ainda no 3º ínstar.

Lagartas de 5º ínstar, que normalmente apresentam maior consumo foliar, demonstraram essa tendência apenas no tratamento controle, observando-se que, enquanto as lagartas controle se alimentaram de quase 90 cm² de folha de couve, houve redução drástica entre 70% a 90% das quais foram alimentadas com extratos de *P. aduncum*, principalmente, no tratamento com extrato de folhas a 20%, onde as mesmas consumiram média de apenas 9 cm².

Esses resultados apresentaram-se diferentemente do ciclo normal do inseto, em que a alimentação é crescente de acordo com a troca de ínstar, sendo que no 5º ínstar, as lagartas consomem maior quantidade de alimento, pois a partir desse ínstar elas passarão para uma nova fase do ciclo, a fase de pupa, por isso precisam alimentar-se mais para armazenar energia suficiente para sobreviver e para que ocorra o processo de degeneração dos tecidos larvais e produção dos tecidos do futuro adulto, através do processo de histogênese.

A redução significativa no consumo foliar no 5º ínstar na maioria das concentrações de extratos é explicada, também, devido à mortalidade ocorrida nas fases anteriores.

Quanto aos tratamentos com óleo essencial a 1%, 3% e 6%, a ingestão de folhas ocorreu somente no 3º ínstar, quando os indivíduos tiveram o primeiro contato com o óleo, pois em seguida ocorreu a morte das lagartas.

Testes realizados por Medeiros e Boiça Júnior (2005), observaram que o consumo de área foliar pela lagarta de *Ascia monuste orseis*, diminuiu devido o extrato de *Sapindus saponaria* L. (Sapindaceae), em todos os testes realizados. Quando não tinham opção de escolha para se alimentar de folhas sem os extratos, as lagartas consumiram as folhas tratadas nas concentrações testadas, porém em menor quantidade. Os extratos testados neste experimento demonstram ter efeitos sobre a alimentação das lagartas de *A. monuste orseis*, possivelmente com propriedades deterrentes e/ou supressoras de alimentação.

4.3.3 Biometria larval

Quanto à biometria dos indivíduos avaliados, observou-se que as lagartas submetidas aos tratamentos apresentaram peso e comprimento diferenciados. É importante ressaltar que alguns dados referentes a esses parâmetros não foram computados, pois muitos indivíduos apresentaram diversos efeitos como ressecamento total ou inchaço provocando o rompimento da epiderme do inseto e, conseqüentemente, a deteriorização, impedindo assim a mensuração desejada nas lagartas submetidas aos tratamentos.

A Figura 17 demonstra o peso médio de lagartas sob ação de *P. aduncum*, revelando ter sido menor que o peso obtido nas lagartas sadias. Nota-se que esta diferença é mais perceptível a partir do 5º ínstar, pois, enquanto as lagartas do tratamento controle atingiram média de quase 0,28 g, os demais tratamentos obtiveram no máximo 0,23 g, comprovando que ocorreu a redução de peso.

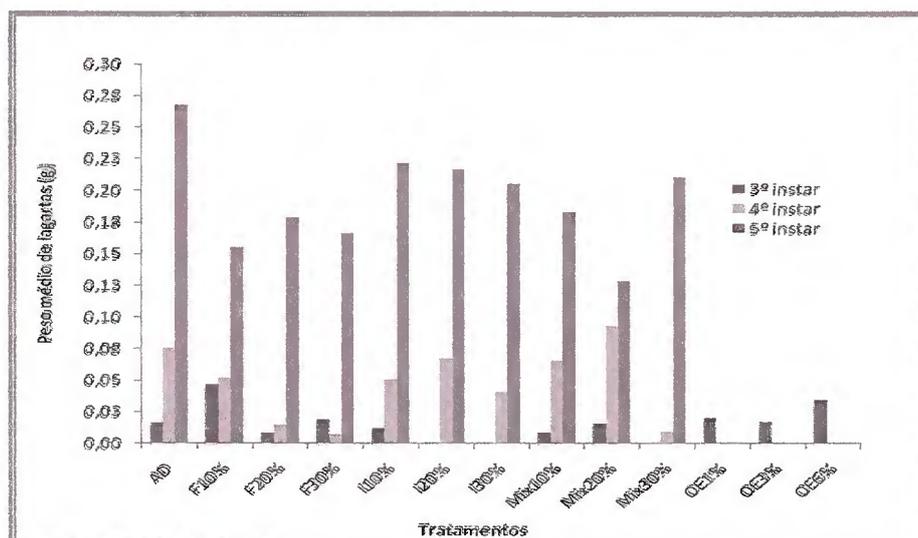


Figura 17. Peso médio (g) de lagartas de *Ascia monuste orseis* em três ínstares, alimentadas com couve tratadas sob diferentes concentrações de óleo e extratos à base de *P. aduncum*. BELÉM/PA – 2011.

*AD – Água destilada (Controle); F10%, F20% e F30% - Extrato de massa fresca de folha; I10%, I20% e I30% - Extrato de massa fresca de inflorescência; MIX10%, MIX20% e MIX30% - Extrato de massa fresca mix; OE1%, OE3% e OE6% – Óleo essencial

A baixa média de peso dos tratamentos com óleo essencial foi devido às lagartas terem ficado com aspecto ressecado, provavelmente pela perda de água e por não conseguirem trocar de ínstar por causa da mortalidade imediata.

Bogorni e Vendramin (2005) relatam que em estudos de biologia de insetos, a duração da fase larval e peso de lagartas apresentam frequentemente às mesmas tendências, já que o menor peso apresentado pelas lagartas num determinado estágio de desenvolvimento indica que elas estão atrasadas em seu desenvolvimento, sendo, portanto, esperado que elas demorem mais tempo para atingir a fase pupal.

Matos et al., (2006) observaram um alongamento da fase larval e a diminuição do peso pupal de *S. frugiperda* alimentadas com dieta artificial tratada com os extratos orgânicos de ramos e folhas de *T. catigua*, *T. clausenii* e *T. elegans* em relação ao tratamento controle (15,7 dias), sendo os extrato hexânico e metanólico de folhas e o hexânico de ramos de *T. clausenii* os mais promissores para uso no controle de *S. frugiperda*.

Para análise do comprimento das lagartas submetidas aos tratamentos (Figura 18), observou-se que houve variação do comprimento médio dos indivíduos estudados para todos os tratamentos, entre os três ínstares quando comparados ao tratamento controle, principalmente em comparação com o 5º ínstar, correspondendo às alterações desejadas pela ação dos produtos na biologia do inseto, onde as lagartas do controle obtiveram quase 3 cm, enquanto que os demais tratamentos obtiveram médias menores.

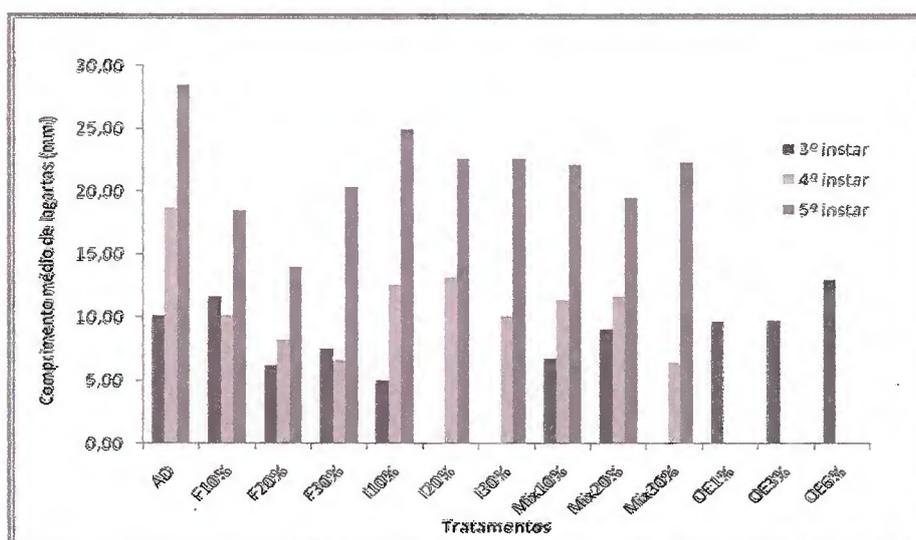


Figura 18. Comprimento médio (mm) de lagartas de *A. monuste orseis* em três instares, alimentadas com couve tratadas sob diferentes concentrações de óleo e extratos à base de *P. aduncum*. BELÉM/PA – 2011.

*AD – Água destilada (Controle); F10%, F20% e F30% - Extrato de massa fresca de folha; I10%, I20% e I30% - Extrato de massa fresca de inflorescência; MIX10%, MIX20% e MIX30% - Extrato de massa fresca mix; OE1%, OE3% e OE6% – Óleo essencial.

Nota-se que no tratamento controle (T1) as médias de comprimento durante os instares foram crescentes, comprovando que as lagartas não sofreram alterações significativas durante os instares avaliados, como aumento ou redução de comprimento, enquanto que nos outros tratamentos o crescimento foi desuniforme ao longo do desenvolvimento do inseto. Para os tratamentos com óleo essencial, assim como o peso médio, os dados de comprimento médio de lagartas de 4^o e 5^o instares não puderam ser obtidos devido à alta mortalidade ocorrida ainda no 3^o instar.

4.3.4 Efeito subletal

Além do efeito dos tratamentos sobre a alimentação de lagartas de 3^o instar de *A. monuste orseis*, também foi afetada a formação dos adultos. Os defeitos observados correspondem à má formação das asas. No bioensaio 1 a presença de adultos defeituosos foi observada em dois tratamentos, extratos de massa fresca e seca de folhas na concentração a 5%, com um indivíduo em cada tratamento (Figura 19).

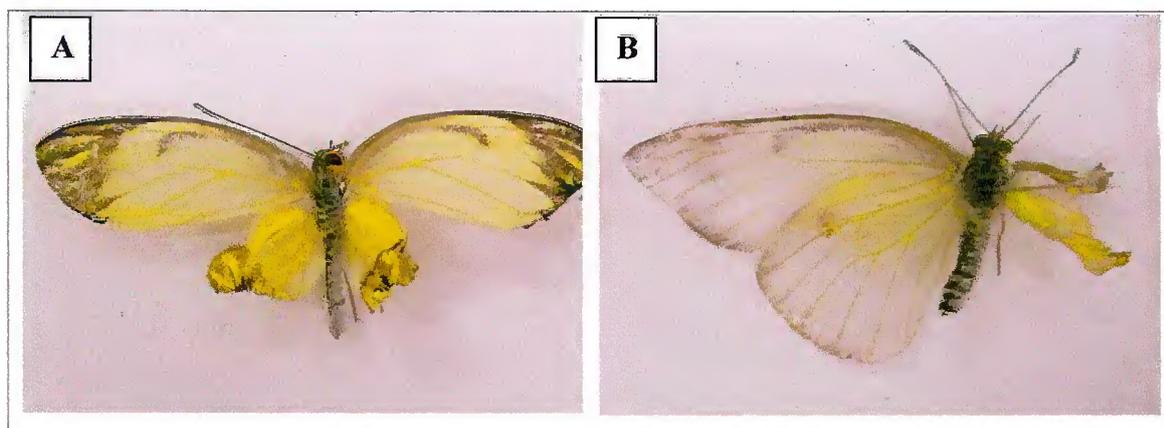


Figura 19. Adultos com má formação nas asas nos tratamentos Extrato de massa fresca de folhas - 5% (A) e Extrato de massa seca de folhas - 5% (B).

No bioensaio 2 esses efeitos mostraram-se em seis indivíduos adultos distribuídos em quatro tratamentos (extrato de massa fresca de folhas 30% - 1 indivíduo; Extrato massa fresca mix 10% - 1 indivíduo; Extrato massa fresca de inflorescência 10% - 2 indivíduos e extrato massa fresca mix 30% com 2 indivíduos) (Figura 20). Assim como, observaram Bogorni e Vendramim (2005) ao testarem extratos aquosos de folhas de *T. pallida* sobre *S. frugiperda*, ocasionando má formação de asas e antenas.

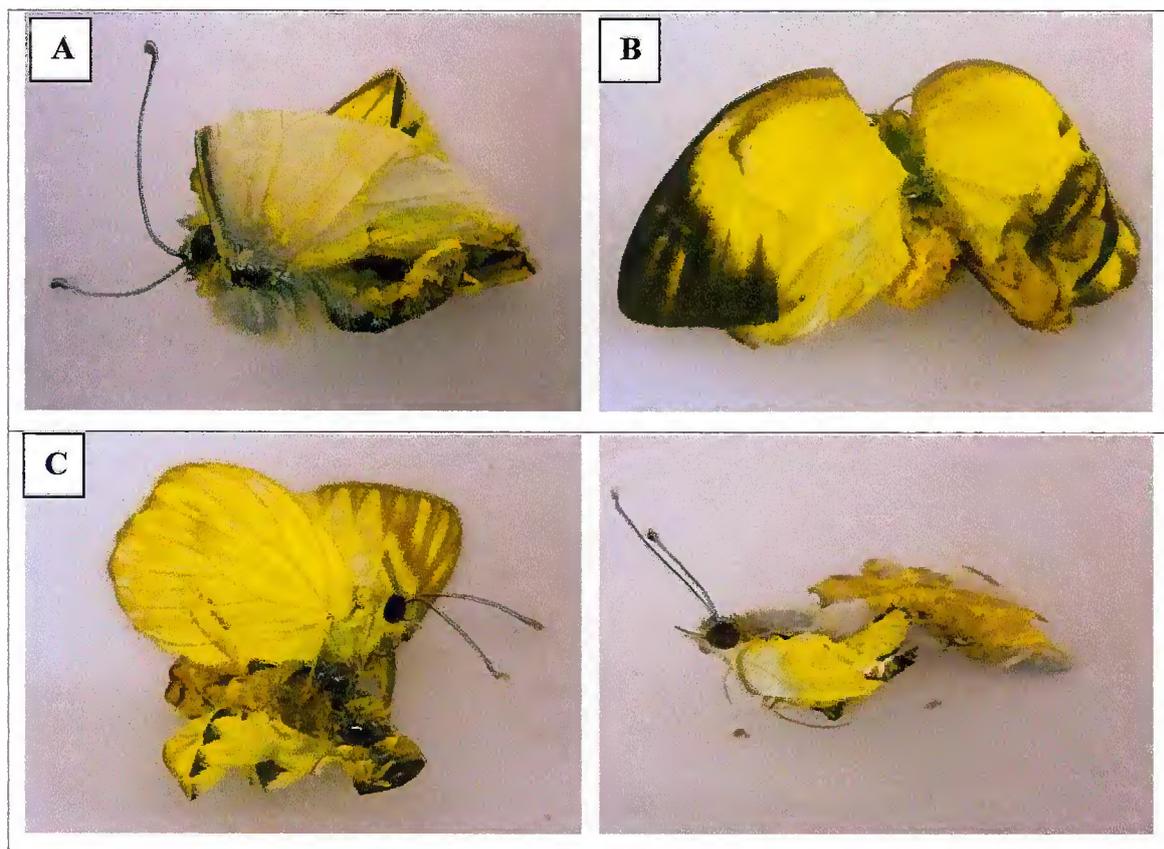




Figura 20. Indivíduos com má formação nas asas nos tratamentos extrato de massa fresca de folhas - 30% (A); Extrato de massa fresca mix - 10% (B); Extrato massa fresca de inflorescência - 10% (C) e Extrato massa fresca mix - 30% (D).

4.4 AÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL POR APLICAÇÃO TÓPICA X TEMPO DE MORTALIDADE

Nesse bioensaio, foi demonstrado que o óleo essencial de *P. aduncum* apresenta ação de contato sobre lagartas de *A. monuste orseis*, com o total de mortalidade dos indivíduos avaliados, quando comparados ao tratamento controle (T1), comprovando a ação do óleo essencial de pimenta de macaco por contato. À medida que o óleo entra em contato com o tegumento das lagartas, estas passaram a desenvolver reações nervosas, possivelmente, devido ao fato do óleo atingir o sistema nervoso central dos insetos.

O tempo de ação do óleo para mortalidade das lagartas de 3º e 4º ínstar, não apresentaram diferença significativa, ocorrendo à morte dos indivíduos de forma rápida, em no máximo 50 minutos. Entretanto, para lagartas de 5º ínstar, apesar de ter ocorrido a total mortalidade também dos indivíduos, o tempo de ação foi maior, atingindo em torno de 4 horas, quando comparados aos demais ínstar (Figura 21). Dessa forma, pode-se observar que a ação do óleo é mais lenta para lagartas de 5º ínstar.

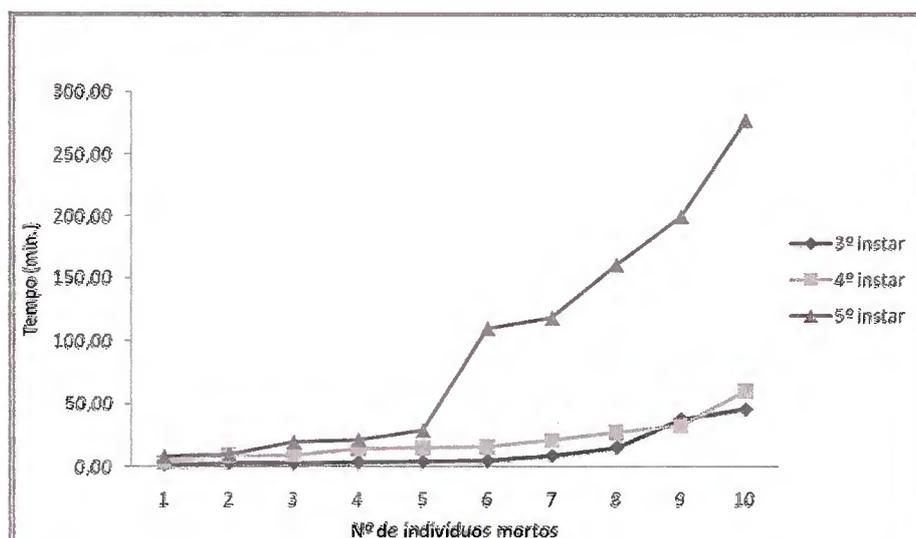


Figura 21. Tempo de ação de contato do óleo essencial em lagartas de *A. monuste orseis* em três instares diferentes. BELÉM/PA – 2011.

Ressalta-se ainda, que após a pulverização do óleo sobre o tórax das lagartas, foram observados sintomas como, regurgitação, contorcimentos rápidos, tremores, contrações, defecação e morte.

Resultados promissores foram obtidos por Fazolin et al., (2005) avaliando o efeito da aplicação de contato tópica e da ação por contato com superfície contaminada (papel-filtro) de diferentes concentrações do óleo de *P. aduncum*, por meio da mortalidade e consumo foliar de *C. tingomarianus*. A mortalidade dos insetos alcançou praticamente 100% nas concentrações de 1% do óleo na avaliação por contato (papel-filtro) e de 5% a 30% nas concentrações aplicadas topicamente. O óleo de *P. aduncum* apresentou efeito inseticida para *C. tingomarianus* na concentração de 0,04% por contato (papel-filtro), provocando ainda distúrbios fisiológicos pela ação da aplicação tópica em concentrações superiores a 2,5%.

A alta toxicidade do óleo essencial de *P. aduncum* nas concentrações de 7,5 % (v v⁻¹) e 10,0% (v v⁻¹) a larvas de *T. molitor* foi observada por Fazolin et al., (2007) promovendo mortalidade acima de 80% através da via de aplicação tópica do óleo essencial.

Em ensaio inseticida contra *A. marajoara* e *A. aegypti*, o dilapiol promoveu 100% da mortalidade das larvas, após 48 h de exposição. Para o ensaio inseticida, a mortalidade de 100% dos adultos dos mosquitos de *A. marajoara* e *A. aegypti* foi conseguida depois de 60 e 180 minutos, respectivamente (Almeida et al. 2009).

A toxicidade aguda foi observada no teste de contato tópico por óleo essencial de pimenta longa (*P. hispidinervum*) sobre *S. frugiperda*, após o intervalo de tempo de 96 horas, sendo também observados sintomas de neurotoxicidade (Lima et al., 2009).

5 CONCLUSÕES

- ✓ Óleo essencial e extratos aquosos de pimenta de macaco de *Piper aduncum* são tóxicos para a lagarta desfolhadora, *Ascia monuste orseis* na cultura da couve e podem ser utilizados como alternativa de controle visando à redução do uso de inseticidas químicos sintéticos em áreas hortícolas. Sendo o extrato de folhas frescas e o óleo essencial os mais promissores, pois causaram 100% de mortalidade das lagartas, entretanto com tempo de ação diferente, pois o óleo causa mortalidade muito rápida após alguns minutos da aplicação, enquanto que a ação do extrato de folhas fresca é mais lenta causando 100% de mortalidade somente após 15 dias.
- ✓ Óleo essencial de *Piper aduncum* causa mortalidade por ação de contato semelhante aos inseticidas químicos sintéticos. Lagartas de *Ascia monuste orseis* de 3º e 4º instares morrem com apenas 50 minutos após aplicação e lagartas do 5º instar o tempo de ação é maior em média 4 horas.
- ✓ Extrato de folhas frescas a 20% reduzem significativamente o consumo foliar de lagartas de *Ascia monuste orseis* do 3º, 4º o 5º instares, podendo chegar até 90%.
- ✓ Análise do óleo essencial por cromatografia gasosa e espectrometria de massa confirmou que o componente majoritário é o dilapiol, chegando em torno de 70% da amostra avaliada, e este possui ação bioinseticida sobre a espécie *Ascia monuste orseis*.
- ✓ A biometria de lagartas de *Ascia monuste orseis*, como peso e comprimento, é reduzida após a aplicação do óleo e de extratos aquosos de *Piper aduncum*, indicando que estes afetam a biologia do inseto.
- ✓ Ocorre efeito subletal sobre adultos de *Ascia monuste orseis* quando submetidos a diferentes tratamentos com extratos aquosos de *Piper aduncum*. Sendo o principal defeito a má formação das asas.

REFERÊNCIAS

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy**. Illinois: Allured, 2001. 455 p.

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography / mass spectrometry**. 4º edition. Illinois: Allured. 2007. 804p.

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

AHMAD F.; RAHMANI, M. Chemical Constituents of *Piper aduncum* L. (Piperaceae). **Pertanika J. Sci. & Techno**. v. 1, n. 2, p. 185-188, 1993.

ALMEIDA, R. R. P. DE; SOUTO, R. N. P.; BASTOS, C. N.; SILVA, M. H. L. DA; MAIA, J. G. S. Chemical variation in piper aduncum and biological properties of its dillapiole-rich essential oil. **Chemistry & Biodiversity**, v. 6, 2009.

ARAÚJO, S. M. M.; LEMOS, R. N. S.; QUEIROZ, M. E. R.; NUNES, G. S. Uso de inseticidas organofosforados nos pólos de produção na Ilha de São Luís (MA): Condições de trabalho e contaminação de hortaliças. **Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**. Curitiba. v. 11. p.159-179. Jan/dez. 2001.

AYRES, M.; AYRES JUNIOR, M.; AYRES, D. L.; SANTOS, A. A. S. dos. **Bio Estat: Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas**. 5.ed. Belém, 2007. 363p.

BITTENCOURT-RODRIGUES, R. S.; ZUCOLOTO, F. S. Effect of host age on the oviposition and performance of *Ascia monuste* Godart (Lepidoptera: Pieridae). **Neotropical Entomology**, v. 34, p. 169–175, 2005.

BIZZO, H. R.; LOPES, D.; ABDALA, R. V.; PIMENTEL, F. A.; SOUZA, J. A.; PEREIRA, M. V. G.; BERGTER, L.; GUIMARÃES, E. F. Sarisan from leaves of *Piper hispidinervum* C. DC (Long pepper). **Flavour and Fragrance Journal**, Scotland, v. 16, p. 113-115, 2001.

BOGORNÍ, 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**, v. 34, n. 2, p. 311-317, 2005.

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

BRITO, J. P.; OLIVEIRA, J. E. de M.; BORTOLI, S. A. de. Toxicidade de óleos essenciais de *Eucalyptus* spp. sobre *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) (Coleoptera: Bruchidae). **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 6, n. 1, 2006.

BRUNHEROTTO, R.; VENDRAMIM, J. D.; ORIANI, M. A. de G. Efeito de Genótipos de Tomateiro e de Extratos Aquosos de Folhas de *Melia azedarach* e de Sementes de *Azadirachta indica* sobre *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). **Neotropical Entomology**, v. 39, n. 5, p. 784-791, 2010.

BUSS, E. A.; PARK-BROWN, S. G. **Natural products for insect pest management**. Gainesville: UF/IFAS, 2002. Disponível em: <http://edis.ifas.ufl.edu/IN197>. Acesso em: 20 de novembro de 2009.

CARVALHO, G. A.; SANTOS, N. M.; PEDROSO, E. C.; TORRES, A. F. Eficiência do óleo de nim (*Azadirachta indica* a. Juss) no controle de *Brevicoryne brassicae* (Linnaeus, 1758) e *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) (Hemiptera: Aphididae) em couve-manteiga *Brassica oleracea* Linnaeus var. *acephala*. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.75, n.2, p.181-186, 2008.

CATTA-PRETA, P. D.; ZUCOLOTO, F. S. Oviposition behavior and performance aspects of *Ascia monuste* (Godart 1819) (Lepidoptera: Pieridae) on kale (*Brassica oleracea* var. *acephala*). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 47, p. 169-174, 2003.

COSTA, E. L. N.; SILVA, R. F. P.; FIUZA, L. M. Efeitos, aplicações e limitações de extratos de plantas inseticidas. **Acta Biologica Leopoldensia**, v. 26, n. 2, p. 173-185, 2004.

COSTA, J. G. M.; RODRIGUES, F. F. G.; ANGÉLICO, E. C.; SILVA, M. R.; MOTA, M. L.; SANTOS, N. K. A.; CARDOSO, A. L. H.; LEMOS, T. L. G.. Estudo químico-biológico

dos óleos essenciais de *Hyptis martiusii*, *Lippia sidoides* e *Syzigium aromaticum* frente às larvas do *Aedes aegypti*. **Revista Brasileira Farmacognosia**, João Pessoa, vol.15, n. 4, 2005.

CRESPO, A.L.B.; PICANÇO, M.C.; BACCI, L.; PEREIRA, E.J.G.; GONRING, A.H.R. Seletividade fisiológica de inseticidas a Vespidae predadores de *Ascia monuste orseis* (Lepidoptera: Pieridae). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 3, p. 237-242, 2002.

ESTRELA, J. L. V.; GUEDES, R. N. C.; MALTHA, C. R. A.; FAZOLIN, M. Toxicidade de amidas análogas à piperina a larvas de *Ascia monuste orseis* Godart (Lepidoptera: Pieridae) e *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 32, n. 2, p. 343-346, 2003.

ESTRELA, J. L. V.; FAZOLIN, M.; CATANI, V.; ALÉCIO, M. R.; LIMA, M. S. Toxicidade de óleos essenciais de *Piper aduncum* e *Piper hispidinervium* em *Sitophilus zeamais*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.41, n.2, p. 217-222. 2006.

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J. L. V.; CATANI, V.; LIMA, M. S.; ALECIO, M. R. Toxidade do óleo de *Piper aduncum* L. a adultos de *Cerotoma tingomarianus* Bechyné (Coleoptera: Chrysomelidae). **Neotropical Entomology**, Vacaria, v. 34, n. 3, p. 485-489, 2005.

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J.L.V.; CATANI, V.; ALÉCIO, M. R.; LIMA, M. S. Propriedade inseticida dos óleos essenciais de *Piper hispidinervium* C. DC. *Piper aduncum* L. e *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. & K. Shum sobre *Tenebrio molitor* L., 1758, **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, p. 113-120. 2007.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo Manual de Olericultura**. Viçosa: UFV, 2008. p. 421.

FONTES, P. C. T. R. **Olericultura: Teoria e prática**. Viçosa: UFV, 2005. p. 486.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BATISTA, G. C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, C. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920 p.

GIRARD, E. A.; KOEHLER, H. S.; PÉLLICO NETTO, S. Volume, Biomassa e Rendimento de Óleos Essenciais do Craveiro (*Pimenta pseudocaryophyllus* (Gomes) Landrum). **Revista Acadêmica Ciências Agrárias e Ambientais**, Curitiba, v. 5 n. 2, p. 147-165, 2007.

HUSSAR, G. J.; PARADELA, A. L.; SERRA, W.; JONAS, T. C.; GOMES, J. P. R. Efeito do uso do efluente de reator anaeróbio compartimentado na fertirrigação da couve. **Revista Ecosistema**, v. 29, p. 65-72. 2004.

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

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

JARAMILLO, M. S.; MANOS, P. S. Phylogeny and patterns of floral diversity in the genus *Piper* (Piperaceae). **American Journal of Botany**, n. 88, p. 706-716, 2001.

KATHRINA, G. A.; ANTONIO, L. O. J. **Controle biológico de insetos mediante extractos botánicos**. In: CARBALL, M.; GUAHARAY, F. (Ed.). **Controle biológico de pragas agrícolas**, Managua: CATIE, p. 137-160. 2004.

LEMOS, W. de P.; RIBEIRO, R. C. **Plantas com potencial inseticida: Experiências brasileiras**. In: **Ecologia Química**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2008. p. 366.

LIMA, R. K.; CARDOSO, M. G.; MORAES, J. C.; VIEIRA, S. S.; MELO, B. A.; FILGUEIRAS, C. C. Composição dos Óleos Essenciais de Anis-estrelado *Illicium verum* L. e de Capim-limão *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf: Avaliação do efeito repelente sobre *Brevicoryne brassicae* (L.) (Hemiptera: Aphididae). **BioAssay**, Piracicaba, v. 3, n.8, 2008.

LIMA, R. K.; CARDOSO, M. G.; MORAES, J. C.; MELO, B. A.; RODRIGUES, V. G.; GUIMARÃES, P. L. Atividade inseticida do óleo essencial de pimenta longa (*Piper hispidinervum* C. DC.) sobre lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Acta amazônica**, v. 39, n. 2, p. 377 – 382, 2009.

LIMA, R. K.; CARDOSO, M. das G.; MORAES, J. C.; ANDRADE, M. A.; MELO, B. A.; RODRIGUES, V. G. Caracterização química e atividade inseticida do óleo essencial de *Ageratum conyzoides* L. sobre a lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 26, n. 1, p. 1-5, 2010.

LUZ, F. J. F. Plantas medicinais de uso popular em Boa Vista, Roraima, Brasil. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 19, n. 1, p. 88-96, 2001.

MAIA, J. G. S.; ZOGHBI, M. G. S.; ANDRADE, E. H. A.; SANTOS, A. S.; SILVA, M. L.; LUZ, A. I. R.; BASTOS, C. N. Constituents of the essential oil of *Piper aduncum* L. growing in the Amazon Region. **Flavour and Fragrance Journal**, Scotland, v. 13, p. 269-272, 1998.

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

MATOS, A.; NEBO, L.; CALEGARI, E. R.; BATISTA-PEREIRA, L.; VIEIRA, P.; FERNANDES, J.; SILVA, M. F. da; FILHO, P. F.; RODRIGUES, R. R. Atividade Biológica de Extratos Orgânicos de *Trichilia* sp (Meliaceae) sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em Dieta Artificial. **BioAssay**, v.1, n. 7. 2006.

MEDEIROS, C. A. M.; BOIÇA JUNIOR, A. L. Efeitos da aplicação de extratos aquosos em couve na alimentação de lagarta de *Ascia monuste orseis*. **Bragantia**, Campinas, v. 64, n. 4, p. 633-641, 2005.

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 Farmacognosia**, v. 15, n.1, p. 6-12, 2005.

NUNES, J. D.; TORRES, G. A.; DAVIDE, L. C.; SALGADO, C. C. Citogenética de *Piper hispidinervum* e *Piper aduncum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n.7, Brasília, 2007.

OLIVEIRA, M. S. S.; ROEL, A. R.; ARRUDA, E. J.; MARQUES, A. S. Eficiência de produtos vegetais no controle da lagarta-do-cartucho-do-milho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 2, p. 326-331, 2007.

PEREIRA, T.; PASINI, A.; OLIVEIRA, E. D. M. Biologia e preferência alimentar de *Ascia monuste orseis* (Latreille) (Lepidoptera: Pieridae) na planta invasora *Raphanus raphanistrum* L. **Neotropical Entomology**, n. 32, p. 725–727. 2003.

POHLIT, A. M.; QUIGNARD, E. L.; NUNOMURA, S. M.; TADEI, W. P.; HIDALGO, A. de F.; SILVA, S. G.; PINTO, A. C. da S.; SANTOS, E. M.; MORAIS, S. K. R. de; SARAIVA, R. de C. G.; MING, L. C.; ALECRIM, A. M.; FERRAZ, A. de B.; PEDROSO, A. C. da S.; DINIZ, E. V.; FINNEY, K. E.; GOMES, E. O.; DIAS, H. B.; SOUZA, K. dos S.; OLIVEIRA, L. C. P. de ; HENRIQUE, M. C.; QUEIROZ, M. M. A ; SANTOS, M. dos; LACERDA JÚNIOR, O. da S.; PINTO, P. de S.; GRAÇA, Y. R. Screening of plants found in the State of Amazonas, Brazil for larvicial activity against *Aedes aegypti* larvae. **Acta Amazônica**, v. 34, n. 01, p. 97-105. 2004.

PONTES, W. J. T.; OLIVEIRA, J. C. S. de ; CÂMARA, C. A. G. da; GONDIM JÚNIOR, M. G. C.; OLIVEIRA, J. V. de; SCHWARTZ, M. O. E. Atividade acaricida dos óleos essenciais de folhas e frutos de *Xylopiya sericea* sobre o ácaro rajado (*Tetranychus urticae* KOCH). **Química Nova**, v. 30, n. 4, p. 838-841, 2007.

PRISTA, L. N.; ALVES, A. C.; MORGADO, R. M. R. **Técnica farmacêutica e farmácia galênica**. Lisboa: Calouste Gulbenkian, 1981.v.1. p. 147.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHLORN, S. E. **Biologia Vegetal**. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, 2001.

RESTELLO, R. M.; MENEGATT, C.; MOSSI, A. J. Efeito do óleo essencial de *Tagetes patula* L. (Asteraceae) sobre *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, v. 53, n. 2, 2009.

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

SAITO, M. L. **As plantas praguicidas**. Informativo Meio Ambiente e Agricultura, Jaguariúna, v. 12, n. 47, p. 1-11, jul./ago. 2004. Disponível em: <http://www.cnpma.embrapa.br/download/informativo/informativo_47.pdf>. Acesso em: 3 de dezembro 2009.

SANTANA, A. F. K. Performance e preferência de imaturos selvagens de *Ascia monuste* (Godart, 1819) (Lepidoptera: Pieridae) na mudança e privação de hospedeiros alimentares diferentes. Ribeirão Preto-São Paulo. 2008. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, 2008.

SANTOS, A. S.; ANDRADE, E. H. A.; ZOGHBI, M. G. B.; LUZ, A. I. R.; MAIA, J. G. S. Sesquiterpenes on Amazonian Piper Species. *Acta Amazônica*, v. 28, n. 2, p. 127-130, 1998.

SCHOONHOVEN, L. M.; LOON, J. J. A. VAN; DICKE, M. *Insect-Plant Biology*. New York: Oxford University, 2005. p. 421.

SOUSA, P. J. C.; BARROS, C, A., L.; ROCHA, J, C, S; LIRA, D, S; MONTEIRO, G, M; MAIA, J, G, S. Avaliação toxicológica do óleo essencial de *Piper aduncum* L.. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.18, n.2, p. 217-221, 2008.

STATSOFT. *STATISTICA for Windows (Computer program manual)*. Tulsa: StatSoft, 2009.

STEINER, F.; LEMOS, J. M.; SABEDOT, M. A.; ZOZ, T. Efeito do Composto Orgânico sobre a Produção e Acúmulo de Nutrientes nas Folhas de Couve Manteiga. *Revista Brasileira de Agroecologia*, v.4, n.2. 2009.

TAVARES, M. A. G. C.; VENDRAMIN, J. D. Bioatividade da erva-de-santa-maria, *Chenopodium ambrosioides* L., sobre *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). *Neotropical Entomology*, v. 34, n. 2, p. 319-323. 2005.

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

VIANA, P. A.; PRATES, H. T. Desenvolvimento e mortalidade larval de *Spodoptera frugiperda* em folhas de milho tratadas com extrato aquoso de folhas de *Azadirachta indica*. *Bragantia*, Campinas, v.62, n.1, p.69-74, 2003.

VIEIRA, P. C.; MAFEZOLI, J.; BIAVATTI, M. W. **Inseticidas de origem vegetal**. In: **Produtos naturais no controle de insetos**. São Carlos: EdUFSCar, 2007. p. 150.

WENDLING, P. **A vida cura a vida: o uso dos recursos naturais como terapia**. Novo Hamburgo: Berthier, 2001.

WIESBROOK, M. L. Natural indeed: Are natural insecticides safer and better than conventional insecticides. **Illinois Pesticide Review**, Urbana, v. 17, n. 3, 2004.