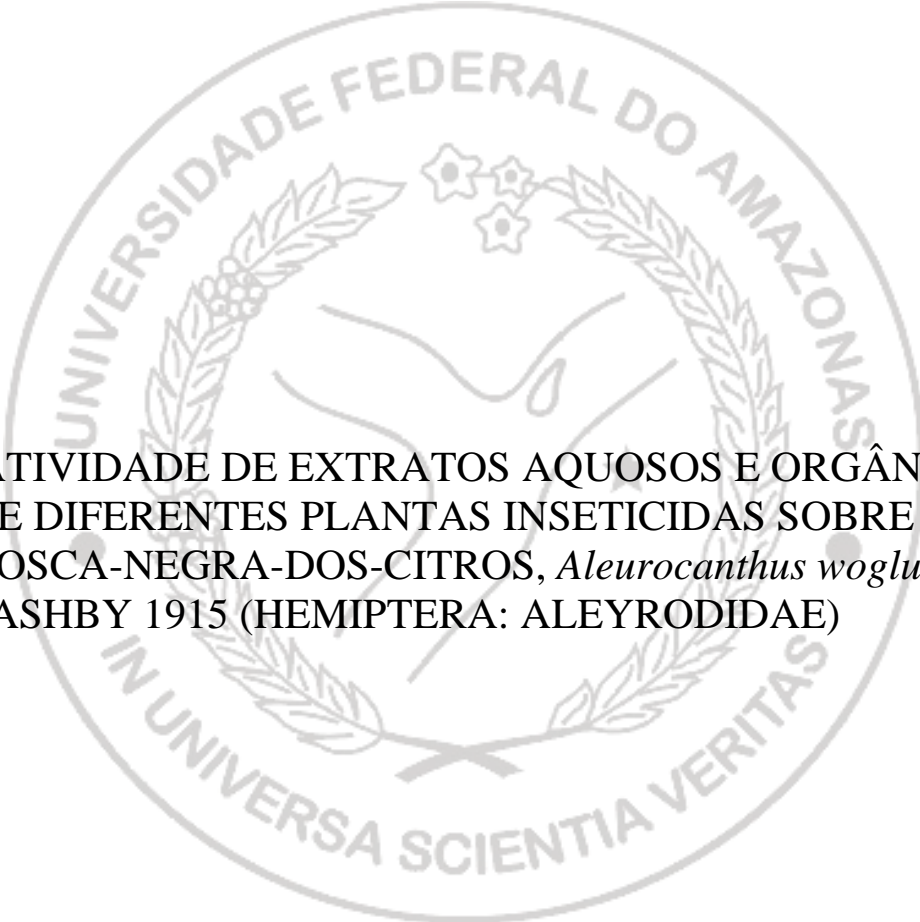


UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
TROPICAL

The seal of the Universidade Federal do Amazonas is a circular emblem. It features a central figure of a bird, possibly a toucan, with its wings spread. Above the bird are three stars. The bird is flanked by two laurel branches. The outer ring of the seal contains the text "UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS" at the top and "IN UNIVERSA SCIENTIA VERITAS" at the bottom.

BIOATIVIDADE DE EXTRATOS AQUOSOS E ORGÂNICOS
DE DIFERENTES PLANTAS INSETICIDAS SOBRE A
MOSCA-NEGRA-DOS-CITROS, *Aleurocanthus woglumi*
ASHBY 1915 (HEMIPTERA: ALEYRODIDAE)

MÁRCIA REIS PENA

MANAUS
2012

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
TROPICAL

MÁRCIA REIS PENA

BIOATIVIDADE DE EXTRATOS AQUOSOS E ORGÂNICOS
DE DIFERENTES PLANTAS INSETICIDAS SOBRE A
MOSCA-NEGRA-DOS-CITROS, *Aleurocanthus woglumi*
ASHBY 1915 (HEMIPTERA: ALEYRODIDAE)

Tese apresentada ao Programa de Pós
Graduação em Agronomia Tropical da
Universidade Federal do Amazonas, como
requisito parcial para obtenção do título de
Doutor em Agronomia Tropical, área de
concentração em Produção Vegetal.

Orientador: Dr. Neliton Marques da Silva FCA/UFAM
Co-Orientador: Dr. José Djair Vendramim ESALQ/USP

MANAUS
2012

Ficha Catalográfica
(Catalogação realizada pela Biblioteca Central da UFAM)

P397b Pena, Márcia Reis

Bioatividade de extratos aquosos e orgânicos de diferentes plantas inseticidas sobre a mosca- negra- dos citros, *Aleurocanthus woglumi ashby 1915* (Hemiptera: aleyrodidae) / Márcia Reis Pena.- Manaus: UFAM, 2012.

190f.; il. color.

Tese (Doutorado em Agronomia Tropical)— Universidade Federal do Amazonas, 2012.

Orientador: Prof.º, Dr.º Neliton Marques da Silva

Co-orientador: Prof.º Dr.º José Djair Vendramim

1. Praga dos citros 2. Controle alternativo de pragas 3. Plantas bioativas I. Silva, Neliton Marques (Orient.) II. Vendramim, José Djair (Co -orient.) III. Universidade Federal do Amazonas IV. Título

CDU (1997) 632(043.2)

MÁRCIA REIS PENA

BIOATIVIDADE DE EXTRATOS AQUOSOS E
ORGÂNICOS DE DIFERENTES PLANTAS
INSETICIDAS SOBRE A MOSCA-NEGRA-DOS-
CITROS, *Aleurocanthus woglumi* ASHBY 1915
(HEMIPTERA: ALEYRODIDAE)

Tese apresentada ao Programa de Pós
Graduação em Agronomia Tropical da
Universidade Federal do Amazonas, como
requisito parcial para obtenção do título de
Doutor em Agronomia Tropical, área de
concentração em Produção Vegetal.

Aprovada em 20 de março de 2012

BANCA EXAMINADORA

Dr. Neliton Marques da Silva
Universidade Federal do Amazonas/UFAM

Dra. Beatriz Ronchi Teles
Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/INPA

Dr. Marcos Vinícius Bastos Garcia
Embrapa Amazônia Ocidental

Dr. Jefferson Rocha de Andrade Silva
Universidade Federal do Amazonas/UFAM

Dr. Murilo Fazolin
Embrapa Acre

DEDICO

À minha irmã Marcele, pela presença constante na minha vida
e pelo apoio para que eu pudesse realizar esse trabalho.

OFEREÇO

Ao Vilmar, meu companheiro, pelo incentivo.

À minha extensa e amada família.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof^o Dr. Neliton Marques da Silva, pela confiança depositada em nosso trabalho, amizade, conhecimentos repassados nestes anos e apoio em todas as fases desta pesquisa.

Ao meu co-orientador, Prof^o Dr. José Djair Vendramim, também pela confiança em todo o desenvolvimento deste estudo, amizade e paciência nas nossas trocas de e-mails, sempre muito presente.

À Universidade Federal do Amazonas (UFAM), pelo apoio na minha formação profissional desde a Iniciação Científica.

À CAPES/PROCAD, pela concessão da bolsa de pesquisa e também pelo apoio no doutorado sanduiche na Escola Superior de Agricultura 'Luiz de Queiroz' da Universidade de São Paulo.

Ao meu querido amigo, Geraldo Vasconcelos, pela ajuda na análise estatística e troca de conhecimentos entomológicos no Laboratório de Entomologia e Acarologia Agrícola (LEA), além da companhia no cafezinho.

À pesquisadora Ana Amaral, do Laboratório de Produtos Naturais/Farmanguinhos da Fundação Oswaldo Cruz /Rio de Janeiro, pelas análises em CGAR-EM e sugestões neste trabalho.

Ao professor Jefferson Rocha, pelos conhecimentos repassados e análises químicas no Laboratório de Cromatografia da UFAM. Aos bolsistas Júnior Carvalho, Dominique Moura, Aimée Oliveira e Ednilze Oliveira, pelo apoio.

À professora Maria Lúcia Belém e Diego Rabelo da química, pelas valiosas sugestões.

Aos alunos de Iniciação Científica e estagiários do Laboratório de Entomologia e Acarologia Agrícola (LEA) que participaram deste estudo: Maiara Gonçalves, Igor

Bahia, Alexandre Buzaglo, Rodrigo Seixas, Matheus Ferreira, Silvio Gonzaga e Mário Rocha. Muito obrigada pelo apoio nas coletas e trabalhos em laboratório; sem vocês não teria sido possível a montagem de vários bioensaios. E também aos amigos do LEA: Raquel Corrêa, Francisco Clóvis, Sabrina Lima, Kedma Pereira, Bruna Leite, Evandro Konrad, Jéssica Barroncas, pela harmoniosa convivência.

Ao Prefeito do *Campus* da UFAM, Marcos Mendonça e Sr. Francisco Oliveira do Setor de Transporte, pelo apoio logístico para a coleta dos insetos, sempre buscando com todas as dificuldades atender-nos; assim como a todos os motoristas designados.

Ao Sr. Osires Silva, proprietário da Fazenda Brejo do Matão, pela permissão de coleta em seu pomar; aos funcionários Luiz e Domingos, pelos avisos quando da presença de moscas-negra para coleta e condições meteorológicas; assim como ao proprietário da Fazenda Progresso, Sr. Cláudio Decaris, também pela permissão de coleta dos insetos. Ao técnico agrícola William Roberto do IDAM, pelo auxílio nas coletas no município de Rio Preto da Eva.

Ao Sr. Roberto Malimpence (Empresa Baraúna), pela doação de sementes de nim; ao Murilo Fazolin e Márcio Alécio, pelo envio de *Piper hispidinervum*; à Gerane Cely, Márcio Silva e Leandro Ribeiro, pelo envio de algumas meliáceas.

Ao Sr. Nilton Passos e Adilson, pela atenção no fornecimento de mudas de citros.

Aos amigos do Programa de Pós-Graduação em Agronomia Tropical da UFAM: Valdemir Câmara (*in memoriam*), Silfran Rogério; Lucifrancy Vilagerim, Cristóvão Gomes, Gilson Santis, Deiziane Martins, Liane Demóstenes e Marcos Mendonça, pelos momentos de descontração e apoio. E também aos amigos do Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Laboratório de Resistência de Plantas e Plantas Inseticidas da ESALQ/USP: Gerane Cely, Mônica Silva, Rafael Pitta, Erika Pessoa, Márcio Alves, Marcos Lima, Cherre Sade, Élio Guzzo e Paulo Bogorni.

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para realização deste trabalho;

Os filósofos limitaram-se a interpretar o mundo de diversas maneiras;
o que importa é modificá-lo.

Karl Marx

RESUMO

O Brasil é o maior produtor mundial de laranja. A partir da década de 1980 consolidou-se também como o maior produtor mundial de suco dessa fruta. A citricultura é afetada por inúmeros problemas fitossanitários, representados pelas pragas e doenças, estando entre os cultivos com mais perdas em vista do ataque de insetos, ácaros e patógenos. Atualmente, a mosca-negra-dos-citros é uma das principais pragas dessa cultura e pode levar à redução da frutificação em até 80% e perdas de 20 a 80% na produção. Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de extratos (aquosos e orgânicos) de plantas inseticidas, nativas e exóticas, no controle da mosca-negra-dos-citros, *Aleurocanthus woglumi*, em condições de laboratório (29,10±0,15°C; 68,44±0,75%UR). Para isso, buscou selecionar as plantas inseticidas mais promissoras (*screening*); selecionar o melhor extrator dentro de cada planta promissora; realizar bioensaios de ação translaminar, sistêmica e tópica e realizar a análise química dos extratos promissores. Os extratos ou frações foram aplicados com auxílio de um aerógrafo de precisão sobre ninfas de segundo estágio ou ovos de *A. woglumi*. Após sete ou oito dias da aplicação do extrato, foram avaliadas as mortalidades ninfais e inviabilidade dos ovos, respectivamente. Inicialmente, foi determinada a CL₅₀ com o uso de extratos aquosos de amêndoas de *Azadirachta indica*, em seguida foi realizado um *screening* com quatorze espécies de plantas com potencial inseticida, incluindo diferentes estruturas. Foram selecionadas as três espécies de plantas inseticidas mais promissoras. Dessas espécies foram selecionados os melhores extratores (hexano, diclorometano e metanol) e frações (extração com metanol do extrato hexano, extração líquido-líquido e fracionamento cromatográfico); além de bioensaios referentes aos modos de ação (traslaminar, sistêmico e tópico) e pré-testes de atividade ovicida e ninficida. Foram realizadas análises químicas dos extratos em Cromatografia Gasosa de Alta Resolução Acoplada a Espectrômetro de Massa (CGAR-EM) e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência Acoplada a Detector de Arranjo de Diodos – CLAE/DAD. Os dados dos bioensaios foram submetidos à ANOVA ou seu equivalente não-paramétrico Kruskal-Wallis. As diferenças foram consideradas significativas ao nível de probabilidade $p < 0,05$. Entre os extratos aquosos testados, o mais promissor no controle da mosca-negra-dos-citros foi o obtido a partir das raízes do ecótipo C do timbó *Derris floribunda* seguindo-se os extratos de amêndoas de *A. indica* e de folhas de *Melia azedarach*. Na comparação entre os solventes hexano, diclorometano e metanol, de diferentes polaridades, a maior bioatividade para as três espécies de plantas citadas é obtida com o uso do solvente mais apolar (hexano). Entre os timbós, em especial, o ecótipo C (*D. floribunda*) apresenta elevada toxicidade sobre a mosca-negra tanto com o uso de extratos aquosos quanto com o extrato obtido por meio de extrações sucessivas com solventes em ordem crescente de polaridade, e principalmente na partição hexano solúvel. As análises em CLAE-DAD indicam que, isoladamente, as substâncias da classe dos rotenoides nos extratos dos timbós, não provocam elevada mortalidade de *A. woglumi*, sugerindo que o efeito tóxico pode estar relacionado à presença de outros metabólitos secundários, além do sinergismo entre eles. As análises por CGAR-EM registram a presença de ácidos graxos, que são importantes no mecanismo da bioatividade, porém, o mecanismo de ação sobre a mosca-negra não está elucidado. Os extratos em metanol de amêndoas de *A. indica*, de raízes do ecótipo C do timbó *D. floribunda* e de folhas de *M. azedarach* embora não tenham ação translaminar e nem sistêmica, apresentam ação tópica sobre *A. woglumi*.

PALAVRAS-CHAVE: Praga dos citros, plantas bioativas e controle alternativo de pragas.

ABSTRACT

Brazil is the world's largest orange producer. As of the 1980s Brazil also became the top orange juice producer. Citrus growing faces a series of agricultural problems, especially in the form of pests and diseases, placing citrus among the crops with the highest losses due to insects, mites and pathogens. Currently, the citrus blackfly (*Aleurocanthus woglumi*) is one of the main pests, causing a reduction of fruit production as high as 80% and fruit losses of 20-80%. This study evaluates the effectiveness of insecticidal plant extracts (aqueous and organic), both native and exotic, in the control of *Aleurocanthus woglumi*, in laboratory conditions (29,10±0,15°C; 68,44±0,75% RH). We screened for the most promising plants, selected the best extractor from those plants, conducted bioassays of translaminar, systemic, and topical action, and conducted chemical analyses of the most promising extracts. The extracts or fractions were applied using an aerógrafo specific to second stage nymphs or eggs of *A. woglumi*. After seven or eight days of extract applications, we examined nymph mortality and egg viability. Initially, we determined CL₅₀ with the use of aqueous almond (*Azadirachta indica*) extracts; subsequently we screened 14 plant species containing possible insecticides with different structures. We selected the three most promising plant species and from these the best extractors (hexane, dichloromethane and methanol) and fractions (methanol extraction of hexane extract, liquid-liquid extraction and chromatographic fractioning); also bioassays based on mode of action (translaminar, systemic, or topical) and pretests of ovicidal and nymphicidal activity. Extracts were analyzed with joint gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS) and with high-performance liquid chromatography (HPLC). Bioassay results were analyzed with ANOVA or its non-parametric equivalent, Kruskal-Wallis. Differences were considered significant at $p < 0.05$. Among the aqueous extracts tested, the most promising in the control of the citrus blackfly came from roots of “ecotype C” of the plant “timbó” (*Derris floribunda*), followed by almond *A. indica* extract and leaf extracts from *Melia azedarach*. In comparisons among solvents of different polarities, greatest bioactivity for the three plant species cited was obtained using the most apolar solvent (hexane). Among “timbós” (*D. floribunda*), ecotype C presented elevated toxicity to the blackfly, as much with aqueous extraction as with extraction solvents with successively increasing polarity, especially in the hexane-soluble partition. HPLC indicated that in isolation the rotenoids in timbó extracts do not cause high mortality in *A. woglumi*, suggesting that the toxic effect may be related to the presence of other secondary metabolites or the synergy among them. GC-MS analyses detected the presence of fatty acids, which are important in bioactivity, but whose mechanism with respect to the blackfly is not clear. Methanol-based extracts of nuts of *A. indica*, those of roots of *D. floribunda* and of leaves of *M. azedarach*, although lacking both translaminar and systemic action, present topical action on *A. woglumi*.

KEY WORDS: Citrus pest; bioactive plant and alternative pest control.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Fluxograma do processo de maceração das raízes de timbó C (*D. floribunda*), amêndoas de *A. indica* e folhas de *M. azedarach* em hexano (HEX), diclorometano (DCM) e metanol (MeOH).....86
- Figura 2. Fluxograma do processo de partição líquido-líquido das raízes de timbó C (*D. floribunda*), amêndoas de *A. indica* e folhas de *M. azedarach* em metanol (MeOH).....87
- Figura 3. Fluxograma da cromatografia em coluna *flash* das raízes de timbó C (*D. floribunda*) em diclorometano (DCM).....89
- Figura 4. Fluxograma da cromatografia em camada delgada (CCD preparativa) de extratos brutos de timbó C (*D. floribunda*) em diclorometano (DCM).....90
- Figura 5. Cromatograma de íons totais obtido por CGAR-EM do extrato bruto de raízes de timbó C (*D. floribunda*) em HEX.....109
- Figura 6. Cromatograma de íons totais obtido por CGAR-EM do extrato bruto de raízes de timbó C (*D. floribunda*) em DCM.....110
- Figura 7. Cromatograma de íons totais obtido por CGAR-EM do extrato bruto de raízes de timbó C (*D. floribunda*) em MeOH.....111
- Figura 8. Cromatograma de íons totais obtido por CGAR-EM de frações das raízes de timbó C (*D. floribunda*) em HEX (precipitado).....112
- Figura 9. Cromatograma de íons totais obtido por CGAR-EM de frações das raízes de timbó C (*D. floribunda*) em HEX (solúvel).....113
- Figura 10. Cromatograma de íons totais obtido por CGAR-EM do extrato bruto de amêndoas de *A. indica* em HEX.....114
- Figura 11. Cromatograma de íons totais obtido por CGAR-EM do extrato bruto de amêndoas de *A. indica* em DCM.....115
- Figura 12. Cromatograma de íons totais obtido por CGAR-EM do extrato bruto de folhas de *M. azedarach* em HEX.....116
- Figura 13. Cromatograma de íons totais obtido por CGAR-EM do extrato bruto de folhas de *M. azedarach* em DCM.....117
- Figura 14. A) Cromatograma da rotenona (Padrão); B) Espectro UV.....118

Figura 15. Mortalidade de ovos de <i>A. woglumi</i> com o uso de extratos de diferentes espécies de plantas inseticidas.....	121
Figura 16. Mortalidade de ninfas de <i>A. woglumi</i> com o uso de diferentes espécies de plantas inseticidas	122
Figura 17. A) Cromatograma das raízes de timbó C (<i>D. floribunda</i>) aquoso simples; B) Espectro UV.....	134
Figura 18. A) Cromatograma das raízes de timbó C (<i>D. floribunda</i>) aquoso simples liofilizado; B) Espectro UV.....	135
Figura 19. A) Cromatograma das raízes de timbó J (<i>D. rariflora</i>) aquoso simples; B) Espectro UV.....	135
Figura 20. A) Cromatograma das raízes de timbó J (<i>D. rariflora</i>) aquoso simples liofilizado; B) Espectro UV.....	136
Figura 21. Cromatograma das raízes de timbó O (<i>D. rariflora</i>) aquoso simples; B) Espectro UV.....	136
Figura 22. A) Cromatograma das raízes de timbó O (<i>D. rariflora</i>) aquoso simples liofilizado; B) Espectro UV.....	137
Figura 23. A) Cromatograma do extrato bruto de timbó C (<i>D. floribunda</i>) em DCM; de B ao U espectros UV relativos aos sinais do cromatograma.....	144
Figura 24. A) Cromatograma da fração de raízes de timbó C (<i>D. floribunda</i>) HEX (solúvel); de B ao R espectros UV relativos aos sinais do cromatograma.....	147
Figura 25. Frações obtidas a partir de preparativa CCD de timbó C (<i>D. floribunda</i>) em DCM (Fração A (13)). A) Cromatograma; do B ao H espectros UV relativos aos sinais do cromatograma.....	152
Figura 26. Frações obtidas a partir de preparativa CCD de timbó C (<i>D. floribunda</i>) em DCM (Fração C e D (12+13) + (7+8)). A) Cromatograma; do B ao R espectros UV relativos aos sinais do cromatograma.....	154
Figura 27. Frações obtidas a partir de preparativa CCD de timbó C (<i>D. floribunda</i>) em DCM (Fração C e D (11) + (6.1)). A) cromatograma; do B ao I espectros UV relativos aos sinais do cromatograma.....	155
Figura 28. Frações obtidas a partir de preparativa CCD de timbó C (<i>D. floribunda</i>) em DCM (Fração A e B (11) + ((18(0) + 18(1) + 18(2))). A) cromatograma; do B ao G espectros UV relativos aos sinais do cromatograma.....	156
Figura 29. Frações obtidas a partir de preparativa CCD de timbó C (<i>D. floribunda</i>) em DCM (Fração C e D (16) + (12)). A) cromatogramas; do B ao L espectros UV relativos aos sinais do cromatograma.....	158

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Produção (mil frutos) de citros no Estado do Amazonas no período de 2006 a 2010.....	25
Tabela 2 – Dados de coleta das espécies de plantas com potencial inseticida utilizadas nos bioensaios.....	82
Tabela 3 - Rendimentos (%) dos extratos aquosos.....	102
Tabela 4 - Rendimentos de extrações a frio de amêndoas de <i>A. indica</i> , folhas de <i>M. azedarach</i> e raízes de <i>D. floribunda</i> em hexano (HEX), diclorometano (DCM) e metanol (MeOH).....	103
Tabela 5 - Rendimentos das frações obtidas após partição dos extratos brutos de raízes de timbó C (<i>D. floribunda</i>), amêndoas de <i>A. indica</i> e folhas de <i>M. azedarach</i> em HEX.....	105
Tabela 6 – Rendimentos das frações obtidas após partição dos extratos brutos de raízes de timbó C (<i>D. floribunda</i>), amêndoas de <i>A. indica</i> e folhas de <i>M. azedarach</i> em MeOH.....	105
Tabela 7 – Rendimentos das frações de raízes de <i>D. floribunda</i> em DCM obtidos em cromatografia em coluna <i>flash</i>	106
Tabela 8 – Análise CGAR-EM (substâncias, tempo de retenção e área) dos extratos e frações de plantas inseticidas utilizadas nos bioensaios.....	107
Tabela 9 – Médias (\pm EP) da inviabilidade de ovos de <i>A. woglumi</i> com o uso de extratos de diferentes espécies de plantas inseticidas sob condições de laboratório.....	120
Tabela 10 – Médias (\pm EP) de mortalidade de ninfas de <i>A. woglumi</i> com o uso de extratos de diferentes espécies de plantas inseticidas.....	123
Tabela 11 - Médias (\pm EP) de mortalidade de <i>A. woglumi</i> e CL_{50} com o uso de extratos de folhas e de amêndoas de <i>A. indica</i> e folhas de <i>T. ciliata</i>	125
Tabela 12 - Médias (\pm EP) de mortalidade com o uso de extratos aquosos de diferentes plantas inseticidas sobre a mosca-negra-dos-citros, <i>A. woglumi</i>	129
Tabela 13 - Médias (\pm EP) de mortalidade com o uso de extratos aquosos simples de diferentes espécies/ biotipos de timbós sobre a mosca-negra-dos-citros, <i>A. woglumi</i>	130
Tabela 14 – Médias (\pm EP) de mortalidade de <i>A. woglumi</i> com o uso de extratos de amêndoas de <i>A. indica</i> em diclorometano (DCM). Bioensaio 1.....	138

Tabela 15 – Médias (\pm EP) de mortalidade de <i>A. woglumi</i> com o uso de extratos de amêndoas de <i>A. indica</i> em diclorometano (DCM). Bioensaio 2.....	139
Tabela 16 – Médias (\pm EP) de mortalidade de <i>A. woglumi</i> com o uso de extratos de timbó C (<i>D. floribunda</i>) em hexano (HEX), diclorometano (DCM) e metanol (MeOH).....	140
Tabela 17 – Médias (\pm EP) de mortalidade de <i>A. woglumi</i> com o uso de extratos de amêndoas de <i>A. indica</i> em hexano (HEX), diclorometano (DCM) e metanol (MeOH).....	140
Tabela 18 – Médias (\pm EP) de mortalidade de <i>A. woglumi</i> com o uso de extratos de folhas de <i>M. azedarach</i> em hexano (HEX), diclorometano (DCM) e metanol (MeOH).....	141
Tabela 19 - Médias (\pm EP) de mortalidade com o uso das frações obtidas após partição dos extratos brutos de raízes de timbó C (<i>D. floribunda</i>) em hexano (HEX) sobre <i>A. woglumi</i>	145
Tabela 20 - Médias (\pm EP) de mortalidade com o uso das frações obtidas após partição dos extratos brutos de amêndoas de <i>A. indica</i> em hexano (HEX) sobre <i>A. woglumi</i>	149
Tabela 21 - Médias (\pm EP) de mortalidade com o uso das frações obtidas após partição dos extratos brutos de folhas de <i>M. azedarach</i> em hexano (HEX) sobre <i>A. woglumi</i>	149
Tabela 22 - Médias (\pm EP) de mortalidade com o uso das frações obtidas após partição dos extratos brutos de raízes de timbó C (<i>D. floribunda</i>) em metanol (MeOH) sobre <i>A. woglumi</i>	149
Tabela 23 - Médias (\pm EP) de mortalidade com o uso das frações obtidas após partição dos extratos brutos de amêndoas de <i>A. indica</i> em metanol (MeOH) sobre <i>A. woglumi</i>	150
Tabela 24 - Médias (\pm EP) de mortalidade com o uso das frações obtidas após partição dos extratos brutos de folhas de <i>M. azedarach</i> em metanol (MeOH) sobre <i>A. woglumi</i>	150
Tabela 25 - Médias (\pm EP) de mortalidade com o uso de frações de timbó C (<i>D. floribunda</i>) em diclorometano (DCM) obtidas a partir de cromatografia em camada delgada (CCD) preparativa sobre <i>A. woglumi</i>	151
Tabela 26 – Médias (\pm EP) de mortalidade de <i>A. woglumi</i> com o uso de extratos de três espécies de plantas em ação translaminar.....	160
Tabela 27 – Médias (\pm EP) de mortalidade de <i>A. woglumi</i> com uso de extratos de três espécies de plantas em ação sistêmica.....	161
Tabela 28 – Médias (\pm EP) de mortalidade de <i>A. woglumi</i> submetida à ação tópica de extratos de três espécies de plantas.....	162

LISTA DE ABREVIATURAS

CCD - Cromatografia em Camada Delgada

CCD-Prep - Cromatografia em Camada Delgada Preparativa

CGAR-EM - Cromatografia Gasosa de Alta Resolução Acoplada a Espectrômetro de Massa

CL₅₀ - Concentração necessária para causar mortalidade de 50% da população

CLAE-DAD - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência Acoplada a Detector de Arranjo de Diodos

DCM - Diclorometano

HEX – Hexano

HPLC - High-performance liquid chromatography

MeOH – Metanol

NI – Ninfas de primeiro estágio

NII - Ninfas de segundo estágio

NIII - Ninfas de terceiro estágio

PA – Para análise

UV - Ultravioleta

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	20
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	22
2.1 Citricultura brasileira.....	22
2.2 Mosca-negra-dos-citros, <i>Aleurocanthus woglumi</i> Ashby, 1915.....	26
2.2.1 Taxonomia.....	26
2.2.2 Biologia	27
2.2.3 Dinâmica Populacional.....	30
2.2.4 Distribuição Geográfica.....	31
2.2.5 Danos.....	32
2.2.6 Controle	33
2.2.6.1 Controle Biológico.....	33
2.2.6.2 Controle Químico.....	34
2.3 Plantas Inseticidas.....	35
2.3.1 Meliaceae.....	38
2.3.1.1 Bioatividade de <i>Azadirachta indica</i> A. Juss (nim) sobre insetos.....	41
2.3.1.2 Bioatividade de <i>Melia azedarach</i> L. (cinamomo) sobre insetos.....	46
2.3.1.3 Bioatividade de <i>Trichilia pallida</i> Swartz (baga-de-morcego ou catiguá) sobre insetos.....	49
2.3.1.4 Bioatividade de <i>Trichilia pallens</i> C. DC. sobre insetos.....	51
2.3.1.5 Bioatividade de <i>Toona ciliata</i> M. Roem (cedro-australiano) sobre insetos.....	51
2.3.1.6 Bioatividade de <i>Carapa guianensis</i> Aubl. (andiroba) sobre artrópodes.....	53
2.3.1.7 <i>Carapa procera</i> D.C. (andirobinha).....	55
2.3.2 Fabaceae.....	55
2.3.2.1 Bioatividade dos Timbós (<i>Derris</i> spp.) sobre insetos e ácaros.....	55
2.3.3 Piperaceae.....	69
2.3.3.1 Bioatividade <i>Piper aduncum</i> L. (pimenta-de-macaco) sobre insetos.....	70
2.3.3.2 Bioatividade <i>Piper hispidinervum</i> C. DC. (pimenta longa) sobre insetos.....	72
2.3.3.3 Bioatividade de <i>Piper hispidum</i> Kunth (jaborandi ou falso-jaborandi) sobre insetos.....	73
2.3.3.4 Bioatividade <i>Piper peltatum</i> L. (caapeba) sobre ácaros.....	75
2.3.4 Rubiaceae.....	76
2.3.4.1 Bioatividade de <i>Palicourea marcgravii</i> ST. Hil sobre insetos.....	76
2.3.5 Annonaceae.....	77
2.3.5.1 Bioatividade de <i>Rollinia mucosa</i> (Jacq.) Baill)) (biribá).....	78
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	79
3.1 Local de Estudo.....	79
3.2 Obtenção da mosca-negra-dos-citros, <i>A. woglumi</i> , e das plantas hospedeiras.....	79
3.3 Obtenção das plantas inseticidas.....	80
3.4 Obtenção dos extratos.....	84
3.4.1 Extratos aquosos.....	84
3.4.2 Extratos brutos.....	85
3.5 Obtenção de Frações.....	86
3.5.1 Extração com metanol do extrato hexano.....	86
3.5.2 Extração líquido-líquido.....	87

3.5.3 Fracionamento cromatográfico.....	88
3.5.3.1 Cromatografia em Camada Delgada – CCD.....	88
3.5.3.2 CCD preparativa (CCD-Prep).....	88
3.5.3.3 Cromatografia em coluna <i>flash</i>	88
3.5.3.4 Cromatografia Gasosa de Alta Resolução Acoplada a Espectrômetro de Massa (CGAR-EM).....	90
3.5.3.5 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência Acoplada a Detector de Arranjo de Diodos – CLAE/DAD.....	91
3.6 Aplicação dos extratos e frações e avaliação dos bioensaios.....	92
3.7 Análise estatística e estimativa da Concentração Letal Mediana (CL ₅₀).....	93
3.8 Bioensaios.....	94
3.8.1 Pré-testes	94
3.8.1.1 Atividade ovicida.....	94
3.8.1.2 Atividade ninficida.....	95
3.8.2 Estimativa da Concentração Letal Mediana (CL ₅₀) com o uso de extratos aquosos de meliáceas sobre <i>A. woglumi</i>	95
3.8.3 Seleção das plantas inseticidas promissoras – <i>Screening</i>	96
3.8.3.1 Diferentes famílias botânicas.....	96
3.8.3.2 Espécies/Ecótipos de timbós.....	96
3.8.4 Seleção dos extratores.....	97
3.8.5 Seleção das frações.....	98
3.8.5.1 Da extração com metanol do extrato hexano.....	98
3.8.5.2 Da extração líquido-líquido.....	98
3.8.5.3 Do fracionamento cromatográfico.....	99
3.8.6 Modos de Ação.....	99
3.8.6.1 Ação translaminar.....	100
3.8.6.2 Ação sistêmica.....	100
3.8.6.3 Ação tópica.....	100
3.9 Solventes utilizados.....	101
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	101
4.1 Rendimentos dos extratos.....	101
4.1.1 Extratos aquosos liofilizados.....	101
4.1.2 Extratos brutos.....	102
4.1.3 Frações.....	104
4.1.3.1 Da extração com metanol do extrato hexano.....	104
4.1.3.2 Da extração líquido-líquido.....	105
4.1.3.3 Do fracionamento cromatográfico.....	106
4.2 Análises químicas.....	106
4.2.1 Cromatografia Gasosa de Alta Resolução Acoplada a Espectrômetro de Massa (CGAR-EM).....	106
4.2.2 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência Acoplada a Detector de Arranjo de Diodos – CLAE-DAD.....	118
4.2.2.1 Rotenona (Padrão).....	118
4.3 Bioensaios.....	119
4.3.1 Pré-Testes.....	119
4.3.1.1 Atividade ovicida.....	119
4.3.1.2 Atividade ninficida.....	121
4.3.2 Estimativa da Concentração Letal Mediana (CL ₅₀) com o uso de extratos de meliáceas sobre <i>A. woglumi</i> para utilização nos demais bioensaios.....	124

4.3.3 Seleção das plantas inseticidas promissoras – <i>Screening</i>	125
4.3.3.1 Diferentes famílias botânicas.....	125
4.3.3.2 Espécies/Ecótios de timbós, <i>Derris</i> spp.....	130
4.3.4 Seleção dos extratores.....	137
4.3.5 Seleção das frações.....	145
4.3.5.1 Da extração com metanol do extrato hexano.....	145
4.3.5.2 Da extração líquido-líquido.....	149
4.3.5.3 Do fracionamento cromatográfico.....	150
4.3.6 Modos de Ação.....	159
4.3.6.1 Ação translaminar.....	159
4.3.6.2 Ação sistêmica.....	161
4.3.6.3 Ação tópica.....	161
5 CONCLUSÕES.....	162
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	163

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor mundial de laranja. A partir da década de 1980 consolidou-se também como o maior produtor mundial de suco de laranja. Em 2003, participou com 78% do suco de laranja concentrado e congelado comercializado no mundo. Cerca de 98% do suco é exportado, principalmente para os Estados Unidos e União Européia, além do Japão e outros 45 países (DONADIO et al., 2005).

A citricultura no Amazonas é uma atividade que paulatinamente vem se incorporando ao processo de integração agroindustrial, por se adaptar bem às condições edafoclimáticas da região, ser portadora de alta densidade-renda e possuir mercado tanto para o produto *in natura*, quanto para seus subprodutos, no resto do Brasil e do Mundo (BENEDITO, 1995; GASPAROTTO et al., 1998). A produção de laranja no Estado despertou o interesse dos produtores em virtude do bom preço que a fruta tem alcançado no mercado (SILVA; SOUZA, 2002) e atualmente, essa atividade tem sido um dos sustentáculos da economia de certos municípios (SILVA et al., 2007a).

A citricultura é afetada por inúmeros problemas fitossanitários, representados pelas pragas e doenças, estando entre os cultivos com mais perdas em vista do ataque de insetos, ácaros e patógenos. Muitas dessas pragas ocorrem com maior ou menor intensidade, dependendo de condições climáticas, desequilíbrios biológicos advindos da aplicação irracional de produtos químicos, ou mesmo do descuido do citricultor. De fato, especialmente em anos nos quais os preços da laranja estão aquém da expectativa, o produtor deixa de controlar as pragas, levando a explosões populacionais de muitas delas (PARRA et al., 2005).

Uma das principais pragas da citricultura nacional é a mosca-negra-dos-citros (*Aleurocanthus woglumi* Ashby), cuja origem geográfica é asiática (DIETZ; ZETEK,

1920), e encontra-se disseminada nas Américas, África, Ásia e Oceania (OLIVEIRA; SILVA; NÁVIA, 1999; OLIVEIRA; SILVA; NÁVIA, 2001).

Esse inseto foi detectado pela primeira vez no Brasil no estado do Pará, em 2001 (SILVA, 2005; MAIA et al., 2005) e, atualmente, já está disseminado por outros nove estados de acordo com MAPA (2012).

Trata-se de uma praga de hábito alimentar polífago que infesta diferentes espécies de plantas, tanto cultivadas quanto silvestres (ANGELES et al., 1972). São relatadas cerca de 300 plantas hospedeiras desse inseto, sendo citros o hospedeiro preferido para o desenvolvimento da população (NGUYEN; HAMON, 2003).

Tanto os adultos quanto as formas imaturas desse inseto causam danos ao se alimentarem do floema da planta. As plantas ficam debilitadas, levando ao murchamento e, na maioria das vezes, à morte (OLIVEIRA; SILVA; NÁVIA, 2001). Durante a alimentação eliminam uma excreção açucarada na superfície da folha, facilitando o aparecimento da fumagina (*Capnodium* sp.). A presença desse fungo reduz a fotossíntese, impede a respiração (NGUYEN; HAMON, 2003) e diminui o nível de nitrogênio nas folhas. O ataque dessa praga pode levar à redução da frutificação em até 80% (BARBOSA et al., 2004) e perdas de 20 a 80% na produção, afetando a exportação, não apenas dos citros como de outras frutíferas (LOPES; RONCHI-TELES, 2003).

Segundo Martínez (1983), o controle químico da mosca-negra-dos-citros é oneroso e pouco eficiente, especialmente quando se realiza sobre as posturas desse inseto. Além disso, a abundância de hospedeiros tanto de plantas cultivadas como silvestres facilita as reinfestações.

A busca de novos compostos para uso no manejo de pragas que não apresentem problemas como contaminação ambiental, resíduos nos alimentos, efeitos prejudiciais

sobre organismos benéficos e aumento na frequência de insetos resistentes têm despertado o interesse de vários pesquisadores com relação aos extratos vegetais (VENDRAMIM, 1997).

No âmbito do Manejo Integrado de Pragas (MIP), a utilização de inseticidas botânicos apresenta-se como uma alternativa promissora para o controle de pragas. Esses inseticidas são produzidos a partir de vegetais (HIRATA, 1995) e podem atender aos requisitos de eficácia, segurança e seletividade (VIEGAS JÚNIOR, 2003).

Justifica-se o presente estudo pela necessidade de se desenvolver métodos alternativos de controle dessa praga. O uso indiscriminado e incorreto de agrotóxicos leva à necessidade de métodos de controle menos poluentes, de baixo poder residual, menos tóxico ao homem e ao ambiente, de baixo custo e que possam ser produzidos localmente com menor dependência externa. Além disso, são poucos os estudos realizados com o uso de plantas inseticidas no controle da mosca-negra no mundo, e no Brasil.

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de extratos (aquosos e orgânicos) de plantas inseticidas, nativas e exóticas, no controle da mosca-negra-dos-citros, *A. woglumi*, em condições de laboratório. Para isso, buscou selecionar as plantas inseticidas mais promissoras (*screening*); selecionar o melhor extrator dentro de cada planta promissora; realizar bioensaios de ação translaminar, sistêmica e tópica e realizar a análise química dos extratos promissores.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Citricultura brasileira

A citricultura brasileira pode ser caracterizada como uma das mais típicas atividades agroindustriais, apoiada em demanda de produtos *in natura*, ou seja, frutas

frescas, e produtos processados, representados por suco concentrado, pectina e óleos essenciais (INSTITUTO DE ECONOMIA AGRÍCOLA, 1997).

O Brasil já conseguiu uma boa eficiência na cadeia citrícola. Desde mudas e viveiros certificados, plantio e cultivo da laranja, produção do suco de laranja até a distribuição internacional em sistemas integrados a granel com caminhões-tanques, terminais portuários e navios que levam ao consumidor europeu, norte-americano e asiático produtos citrícolas com dezenas de especificações e *blends* para as mais variadas aplicações com uma excelência inigualável. Tudo isso com competência e *know-how* nacional. O país produz metade do suco de laranja do planeta, cujas exportações trazem de US\$ 1,5 bilhão a US\$ 2,5 bilhões por ano. Em praticamente 50 anos, a cadeia produtiva trouxe diretamente do consumidor mundial de suco de laranja quase US\$ 60 bilhões ao Brasil a preços de hoje (NEVES et al., 2012).

Ainda de acordo com Neves et al. (2012), essa riqueza está distribuída em centenas de empresas diretamente ligadas ao setor, em milhares de propriedades rurais, gerando mais de 200 mil empregos diretos e indiretos, recolhendo impostos e movimentando estabelecimentos. Só o estado de São Paulo possui 53% do total da produção mundial de suco e, juntamente com o estado da Flórida (EUA), detêm 81% desse total.

A produção de citros (laranja, limão e tangerina) no Brasil em 2010 foi de 20.244.783 t. A Região Sudeste deteve 80% da produção, seguida das Regiões Nordeste, Sul, Norte e Centro-Oeste com 10, 8, 1 e 1% da produção, respectivamente. Na Região Norte, a produção de citros está concentrada no estado do Pará com 77%, seguido dos estados do Amazonas, Amapá, Acre, Rondônia, Roraima e Tocantins com 10, 5, 3, 3, 1 e 1%, respectivamente (IBGE, 2011).

A produção brasileira de laranja em 2010 foi de 18.340.240 t. A Região Sudeste deteve 83%, seguida das Regiões Nordeste (10%), Sul (5%), Centro-Oeste (1%) e Norte com 1%. São Paulo é o estado brasileiro com maior produção de laranja, com aproximadamente 78% da produção total do país (FNP CONSULTORIA E COMERCIO, 2011).

Pragas e doenças foram responsáveis pela erradicação de 40 milhões de árvores de citros nesta década (NEVES et al., 2012).

A produção paulista diminuiu de mais de 400 milhões de caixas em 1999 para perto de 280 milhões em 2010. Na Flórida (EUA), a produção caiu pela metade, de 300 milhões de caixas no início do ano 2000 para 150 milhões atualmente. A diminuição das colheitas deveu-se a diversos fatores econômicos e fitossanitários, que ainda precisam ser convenientemente avaliados. Mas é certo que um dos agentes do encolhimento foi o HLB ou *greening* (FNP CONSULTORIA E COMERCIO, 2011).

Nesse contexto, a citricultura carece de ações regulatórias, estimativas de safra, seguros e, principalmente, ações de defesa fitossanitária nos diversos estados brasileiros. A atividade demanda uma coordenação específica e apoio incondicional do Ministério da Agricultura (FNP CONSULTORIA E COMERCIO, 2011).

A citricultura praticada no Amazonas teve início na década de 70 e se expandiu até o começo da década de 90, quando foram introduzidas, por mudas contaminadas provenientes de outras regiões produtoras, pragas como a leprose-cítrica (doença viral transmitida pelo ácaro *Brevipalpus phoenicis*) e o minador-das-folhas (*Phyllocnistis citrella*), ocasionando prejuízos aos produtores. O reinício da atividade da citricultura veio com a multiplicação e distribuição pela Embrapa de borbulhas pré-imunizadas, saudáveis, aos viveiristas credenciados, no final da década de 90 (SILVA et al., 2007b). Os

citros são cultivados nos municípios de Manaus, Rio Preto da Eva, Iranduba, Manacapuru, Presidente Figueiredo e Itacoatiara (SILVA et al., 2006).

A produção de citros no estado do Amazonas tem aumentado nos últimos anos, passando de 71.298,55 em 2006 para 130.478,54 frutos em 2010 (Tabela 1). Em 2010, a produção de laranja se concentrou na região do Rio Negro/Solimões, principalmente nos municípios de Rio Preto da Eva, Vila Rica de Caviana (Manacapuru), Iranduba, Manaquiri e Manaus (PENA, 2011).

Tabela 1 – Produção (mil frutos) de citros no Estado do Amazonas no período de 2006 a 2010.

Citros	2006	2007	2008	2009	2010
Laranja	57335,55	103994,90	56340,60	92845,10	108759,30
Limão	13963,00	15480,00	18105,00	10085,30	19066,44
Tangerina	----	1648,00	1126,40	993,00	2652,80
Total	71298,55	121122,90	75572,00	103923,40	130478,54

Fonte: IDAM

São muitas as pragas que afetam a produção de citros no estado do Amazonas. Destas, destacam-se cinco que mais têm prejudicado a cultura atualmente: 1) Mosca-negra-dos-citros, *Aleurocanthus woglumi*; 2) Ácaros: ácaro-mexicano, *Tetranychus mexicanus* (viveiro) e ácaro-da-leprose, *Brevipalpus phoenicis* (campo); 3) Lagarta minadora, *Phyllocnistis citrella*; 4) Pulgões: pulgão-preto, *Toxoptera citricida* e pulgão-verde, *Aphis spiraecola*; Cochonilhas: escama-farinha, *Pinnaspis aspidistrae* e escama-farinha-do-tronco, *Unaspis citri* (PENA, 2011).

2.2 Mosca-negra-dos-citros, *Aleurocanthus woglumi* Ashby, 1915.

2.2.1 Taxonomia

A mosca-negra-dos-citros pertence à Ordem Hemiptera, subordem Sternorrhyncha (rosto aparentemente separado da cabeça, emergindo entre as pernas anteriores), superfamília Aleyrodoidea, compreendendo uma única família de importância agrícola – Aleyrodidae (asas membranosas recobertas com substância pulverulenta); subfamília Aleyrodinae. Pertence ao gênero *Aleurocanthus* (NGUYEN; HAMON, 2003; GALLO et al., 2002), estando representado no Brasil por uma única espécie – *A. woglumi* Ashby, 1915.

Os aleirodídeos são insetos pequenos com quatro asas membranosas. Na fase adulta, a maioria, é recoberta por substância pulverulenta branca (mosca-branca) (GALLO et al., 2002), mas há aqueles com pulverulência escura (mosca-negra). A reprodução é sexuada com oviparidade, ocorrendo também partenogênese arrenótoca (BYRNE; BELLOWS, 1991; GALLO et al., 2002). Os ovos são pedunculados e, como as ninfas, ficam presos à face inferior das folhas, envolvidos (ou não) por cera branca. Possuem desenvolvimento com curto período, com quatro ecdises. Entre as espécies mais importantes estão: *Aleurothrixus floccosus*, que ataca folhas de citros e *Bemisia tabaci* em feijoeiro, soja, algodoeiro etc. (GALLO et al., 2002).

Os aleirodídeos apresentam metamorfose incompleta, sendo observada uma grande variação na biologia de espécies dentro da mesma família. O ciclo de vida envolve, basicamente, uma fase de ovo, três ínstarés ninfais ativos que se alimentam, seguidos de um quarto ínstar que é inativo. Essa fase é dividida em três estádios morfológicamente distintos, sendo usualmente o último referido como pupário. Após a quarta ecdise ocorre a emergência dos adultos (BYRNE; BELLOWS, 1991 apud RAMOS, 2001). A diferenciação dos ínstarés pode ser feita pela avaliação de caracteres

morfológicos como formato, tamanho e secreção de cera (CABALLERO, 1996 apud RAMOS, 2001).

Dos quatro grupos de hemípteros Sternorrhyncha registrados, as moscas-brancas, no sentido lato, constituem o grupo com menor número de espécies conhecidas (cerca de 1.450) (MARTIN; RAPISARDA, 2000).

2.2.2 Biologia

Os ovos da mosca-negra são colocados em forma de espiral no lado inferior da folha. Cada fêmea coloca de 2 a 3 espirais de ovos durante seu ciclo de vida, que é de 10 a 14 dias. As ninfas eclodem dentro de 7 a 10 dias (DOWELL et al., 1981).

Os ovos são depositados de forma agregada com média de 25, variando de 7 a 52 ovos por espiral (MARTÍNEZ, 1983). Outros autores registraram intervalos de posturas variando de 30 a 35 ovos por espiral (JORDÃO; SILVA, 2006); 35 a 50 ovos por espiral (WEEMS, 1962); 28 a 32 ovos por espiral (DOWELL; FITZPATRICK; HOWARD, 1978) e, 10 a 61 ovos por espiral (LEMOS et al., 2006).

As ninfas de primeiro ínstar duram de 7 a 16 dias apresentando corpo oval-alongado (0,30 mm x 0,15 mm), de coloração marrom, com dois filamentos transparentes que curvam em cima do corpo (DIETZ; ZETEK, 1920). São móveis por diversas horas e geralmente se movimentam uns poucos centímetros do espiral antes de se fixarem para se alimentar (DOWELL; FITZPATRICK; HOWARD, 1978).

O segundo ínstar dura de 7 a 30 dias, sendo o corpo mais ovalado e convexo (0,40 mm x 0,20 mm) em relação ao primeiro ínstar, apresentando coloração marrom-escura com numerosas cerdas cobrindo o corpo (DIETZ; ZETEK, 1920).

O terceiro ínstar dura de 6 a 20 dias, sendo o corpo mais convexo (0,87mm x 0,74) que o segundo. Este é preto-brilhante com numerosas cerdas e mais robusto que o

segundo ínstar (DIETZ; ZETEK, 1920; SMITH et al., 1964). Segundo Martinez e Angeles (1973) e Dowell et al. (1981), é possível distinguir machos de fêmeas a partir do terceiro instar, já que as fêmeas são maiores.

No quarto ínstar, também chamado de pupa, o corpo é ovalado, preto-brilhante e com cera branca na borda. O sexo é prontamente distinguível. As fêmeas têm em média 1,24 mm de comprimento x 0,71 de largura; os machos medem 0,99 mm de comprimento x 0,61 de largura. A fase pupal compreende um período de 16 a 50 dias (DIETZ; ZETEK, 1920; DOWELL et al., 1981).

O ciclo de vida de ovo a adulto varia de 45 a 133 dias, dependendo da temperatura (DIETZ; ZETEK, 1920). Outros autores como Dowell e Fitzpatrick (1978) e Jimenez (1963) obtiveram valores que variaram de 60 a 150 dias e de 8 a 16 semanas, variando conforme a temperatura ambiente, respectivamente.

A duração do ciclo biológico de *A. woglumi* registrada em ambiente de laboratório variou de 65 a 108 dias (MARTÍNEZ; ANGELES, 1973). Posteriormente, Martínez (1983) estudou o ciclo de vida da mosca-negra-dos-citros em ambiente de campo, tendo obtido resultado semelhante. Cunha (2003), em estudos sob condições de campo em Belém/PA, obteve uma média de 74 dias (59-88), equivalendo a 2,5 meses.

Segundo Pena et al. (2009a), em estudos envolvendo a biologia de *A. woglumi* em três hospedeiros (*Citrus sinensis*, *C. latifolia* e *Mangifera indica*), sob condições de laboratório ($27,43 \pm 1,05^{\circ}\text{C}$ e $79,43 \pm 4,64\%$), a duração do ciclo ovo-adulto é de 70 dias em média para os três hospedeiros avaliados e a duração do desenvolvimento embrionário é de 15 dias em média para os três hospedeiros, sendo o estágio de ninfa 4 (pupário) o mais longo da fase imatura.

Estudos de biologia foram feitos por Patel e Patel (2001) na Índia utilizando a lima, *Citrus aurantifolia* Swingle como hospedeiro, à temperatura média de $25,9^{\circ}\text{C}$ e

52,5% UR. Os autores observaram que a fêmea põe em média 90,6 ovos/espíral, sendo os ovos branco-leitosos inicialmente e tornando-se marrom-escuros antes da eclosão. O período de desenvolvimento embrionário foi, em média, de 15,27 dias e a viabilidade dos ovos de 75,61%. O período ninfal foi, em média, de 24,32 dias. A duração do pupário (machos) foi de 73,38 dias, enquanto o da fêmea foi de 71,39 dias. O adulto recém-emergido possui a cabeça vermelha cor de tijolo, tórax e abdome vermelho-laranja. A longevidade de adultos machos foi de 6,5 dias e de fêmeas de 7,65 dias. Os períodos médios de pré-oviposição, oviposição e pós-oviposição foram de 1,0; 5,9 e 2,1, respectivamente.

Em estudos realizados sob condições de campo por Cunha (2003) no Pará utilizando laranja Pêra como hospedeira, os períodos de desenvolvimento embrionário, de ninfas 1, 2, 3, 4, e o ciclo ovo-adulto de *A. woglumi* duraram (dias), respectivamente: 10 (7-12); 10 (8-11); 8 (7-9); 11(8-14); 36 (29-38) e 74 (59-88). A sobrevivência dos diferentes estágios foi variável; desenvolvimento embrionário (65,4%), ninfa 1 (41,7%), ninfa 2 (26,3%); ninfa 3 (19,2%) e ninfa 4 (13,6%). Segundo o autor, a baixa taxa de sobrevivência pode estar relacionada à ação de parasitoides, predadores e à alta precipitação pluviométrica ocorrida durante a pesquisa.

Pesquisas em laboratório na Venezuela utilizando *C. aurantifolia* como hospedeiro, nas condições de temperatura e umidade de 25°C (19-31°C) e 73,66% UR, Martínez e Angeles (1973) verificaram que o desenvolvimento embrionário variou (dias) de 10-18; ninfa 1 (11-15); ninfa 2 (8-13); ninfa 3 (9-19); ninfa 4 (23-39) e o ciclo ovo-adulto de 65-108 dias. As viabilidades do desenvolvimento embrionário, de ninfa 1, 2, 3 e 4 foram: 95,3; 74,3; 86,0; 89,0 e 60%, respectivamente. A viabilidade ninfal foi de 56% e a viabilidade da fase imatura (incluindo o desenvolvimento embrionário) de 44,7%.

Segundo Martínez (1983), em estudos de campo em variedades cítricas com temperatura média de 25°C e umidade relativa de 73-66%, foi observado que as durações (dias) do desenvolvimento embrionário, de ninfa 1, 2, 3, 4 e do ciclo ovo-adulto foram: 19,83 (12-26); 11,26 (6-19); 6,92 (6-7); 12,16 (9-19); 27,77 (21-32) e 77,94 (54-103), respectivamente. As percentagens de sobrevivência de *A. woglumi* em condições de campo para as fases de ovo, ninfa 1, 2, 3 e 4 foram de 58,26; 59,07; 53,85; 76,71 e 74,44%, respectivamente. A viabilidade ninfal foi de 80,75% e a viabilidade dos imaturos de 16,88%.

2.2.3 Dinâmica Populacional

Em estudos realizados no município de São Luís/MA, Medeiros et al. (2009) verificaram que os maiores níveis populacionais de *A. woglumi* ocorreram no período de baixa precipitação pluviométrica; a distribuição do número de posturas, ovos e ninfas de *A. woglumi* foi semelhante nos quadrantes norte, leste, sul e oeste das árvores no período chuvoso e houve maior concentração de posturas, ovos e ninfas de *A. woglumi* nos quadrantes leste e oeste no período seco. Figueredo (2002) relatou que, na Venezuela, os maiores níveis populacionais da mosca-negra-dos-citros ocorreram também durante a época seca.

Menezes et al. (2008) observaram que chuvas intensas podem funcionar como importante fator de mortalidade de adultos de mosca-negra na cultura de citros, o que provavelmente afetaria a ocorrência de ovos e ninfas.

Para basear ações de controle, amostragens mensais foram feitas em um pomar comercial de laranja 'Pêra Rio', no município de Capitão Poço, PA, de dezembro de 2006 a novembro de 2007. A densidade populacional do inseto no campo durante o período avaliado foi influenciada pela precipitação. Em 66% das amostragens valores

da relação variância/média menores que 1,0 foram obtidos, indicando disposição regular da mosca-negra no campo, porém em 34% das amostragens a dispersão foi agregada. A distribuição binomial negativa foi o modelo que melhor se ajustou à distribuição da população de *A. woglumi* no campo, portanto este foi utilizado para a construção do plano de amostragem sequencial (MAIA, 2008).

A partir dos dados levantados, construiu-se um plano de amostragem seqüencial, de acordo com o Teste Sequencial da Razão de Verossimilhança (TSRV). Os resultados mostraram que 80 é o número máximo esperado de amostras para definir-se a necessidade de controle. Na análise geoestatística, os semivariogramas ajustaram-se ao modelo esférico e mostraram que a distribuição espacial de *A. woglumi* apresentou agregações em todas as amostragens com um alcance variando de 16 a 35 m (MAIA, 2008).

2.2.4 Distribuição Geográfica

A mosca-negra-dos-citros é uma praga de origem asiática (DIETZ; ZETEK, 1920). Foi descoberta no Hemisfério Ocidental em 1913 na Jamaica. Propagou-se para Cuba em 1916, México em 1935 (SMITH et al., 1964) e foi descoberta em Key West na Flórida em 1934 de onde foi erradicada em 1937 (NEWELL; BROWN, 1939). Redescoberta em Ft. Lauderdale, Flórida em 1976 (DOWELL et al., 1981), atualmente, encontra-se amplamente disseminada no centro e sul da Flórida de Cross Creek a Key West (NGUEN; HAMON, 2003).

A mosca-negra está presente nas Américas, África, Ásia e Oceania. Na América do Norte ocorre nos seguintes países: Bermudas, EUA (Flórida, Hawai, Texas) e México; na América Central: Bahamas, Barbados, Costa Rica, Cuba, República Dominicana, El Salvador, Guatemala, Haiti, Ilhas Caimã, Jamaica, Nicarágua, Panamá, Porto Rico, Antilhas Holandesas e Trinidad e na América do Sul: Colômbia, Venezuela,

Equador, Peru, Guiana, Suriname e Brasil. Segundo Angeles et al. (1972; 1974); Angeles, Oakley e Osório (1968) e Martínez (1983), a mosca-negra está presente na Venezuela desde 1965 e atualmente está disseminada em todas as regiões citrícolas do país. Na África, ocorre no Quênia, Ilhas Seycheles, África do Sul, Tunísia, Tanzânia, Uganda e Zimbábwe; na Ásia em Bangladesh, Butão, Camboja, China, Emirados Árabes, Filipinas, Hong Kong, Índia, Indonésia, Irã, Laos, Malásia, Maldivas, Myanmar, Nepal, Omã, Paquistão, Singapura, Sri Lanka, Tailândia, Taiwan, Vietnã e Iêmen; e na Oceania nas Ilhas Salomão e Papua – Nova Guiné (OLIVEIRA; SILVA; NÁVIA, 1999; EPPO n° 103; WEEMS, 1962).

No Brasil esse inseto foi detectado pela primeira vez no estado do Pará, em 2001 (SILVA, 2005; MAIA et al., 2005) e foi registrado nos estados do Amapá em 2002 (JORDÃO; SILVA, 2006; MAPA, 2012), Maranhão em 2003 (LEMOS et al., 2006), Amazonas e Tocantins em 2004 (PENA; SILVA, 2007; RONCHI TELES et al., 2009; MAPA, 2012), São Paulo e Goiás em 2008 (PENA et al., 2008; MAPA, 2012), Paraíba e Roraima em 2009 (LOPES et al., 2009; CORREIA et al., 2011; MAPA, 2012), Bahia (SILVA et al., 2010) e Ceará (LUIZ A.N DE SÁ, 2010, INFORMAÇÃO PESSOAL).

Portanto, atualmente essa praga encontra-se disseminada na maioria das regiões brasileiras, exceto a Região Sul.

2.2.5 Danos

A mosca-negra apresenta aparelho bucal sugador labial e tanto os adultos como as formas imaturas causam danos ao se alimentarem do floema da planta. As plantas ficam debilitadas, levando ao murchamento e na maioria das vezes à morte (OLIVEIRA; SILVA; NÁVIA, 2001). Durante a alimentação eliminam uma excreção açucarada na superfície da folha, facilitando o aparecimento da fumagina (*Capnodium* sp.). A

presença desse fungo reduz a fotossíntese, impede a respiração (NGUYEN; HAMON, 2003) e diminui o nível de nitrogênio nas folhas. O ataque dessa praga pode levar à redução da frutificação em até 80% (BARBOSA et al., 2004) e perdas de 20 a 80% na produção, afetando a exportação, não apenas dos citros como de outras frutíferas (LOPES; RONCHI-TELES, 2003).

2.2.6 Controle

2.2.6.1 Controle Biológico

Em diversas partes do mundo o controle biológico da mosca-negra tem sido mais eficiente que o controle químico. Para o controle biológico têm sido utilizados parasitóides (pequenas vespas) como: *Eretmocerus serius*, *Encarsia clypealis*, *E. opulenta* (Hymenoptera: Aphelinidae); *Amitus hesperidum* (Hymenoptera: Platygasteridae) e predadores como as joaninhas: *Delphastus pellidus*, *D. pusillus* e *Scymnus* spp. (Coleoptera: Coccinellidae) e *Chrysoperla* spp. (bicho-licheiro) (Neuroptera: Chrysopidae) (OLIVEIRA; SILVA; NÁVIA, 1999).

O fungo *A. aleyrodis* (teleomorfo: *Hypocrella libera*, Clavicipitaceae, Hypocreales) está entre os primeiros fungos utilizados no controle biológico de pragas na América do Norte. Seu uso bem sucedido nas plantações de citros na Flórida data do início do século XX, quando ramos de citros com *A. aleyrodis* foram introduzidos nestas plantações para disseminar epizootias na população de mosca-branca (BERGER, 1921; FAWCETT, 1936 apud LIU et al., 2006). Com o aumento do uso de pesticidas químicos iniciado na década de 40 e 50, a demanda pelo controle biológico diminuiu. Fungos do gênero *Aschersonia* podem ser encontradas nas populações de moscas-brancas e em plantações abandonadas (árvores de quintais) que não são tratadas com

pesticidas. O interesse em utilizar esses fungos para o controle dessas pragas começou nos anos 60 (LIU et al., 2006).

Em observações de campo foi verificado o crescimento de *Aschersonia* sp. causando a morte de *A. woglumi* no Amazonas (PENA, 2007) e no Pará (SILVA, 2005; BATISTA et al., 2007).

Em bioensaios realizados em laboratório verificou-se que *Aschersonia* cf. *aleyrodis* (fungo isolado do pomar do Campus da Universidade Federal do Amazonas) teve melhor eficiência no controle da mosca-negra-dos-citros, em concentrações mais elevadas, a partir de $2,3 \times 10^7$ conídios/ml, revelando-se como um bom agente de controle biológico dessa praga, embora tenha apresentado crescimento lento no meio de cultura testado. As maiores mortalidades com o uso de *Aschersonia* cf. *aleyrodis* ocorrem nas fases mais jovens de *A. woglumi* como ovo, ninfa 1 e ninfa 2, não havendo diferença estatística entre elas, com menor mortalidade no estágio de ninfa 4. As mortalidades nas fases de ovo, ninfas 1, 2 e 3 se iniciam no quarto dia após a inoculação de *Aschersonia* com acmes de mortalidade no décimo dia (PENA et al., 2009b).

2.2.6.2 Controle Químico

Segundo Martínez (1983), o controle químico da mosca-negra é oneroso e pouco eficiente, especialmente quando se realiza sobre as posturas desse inseto e, além disso, a abundância de hospedeiros, tanto de plantas cultivadas como silvestres, facilitam as reinfestações.

Heu e Nagamine (2001) apud Cunha (2003), embora concordem com o uso de inseticidas para o controle da mosca-negra-dos-citros, enfatizam que os resultados são de natureza temporária e prejudicam os inimigos naturais.

Os produtos registrados junto ao Ministério da Agricultura são: Ampligo [chlorantraniliprole (antranilamida) + lambda-cialotrina (piretroide)]; Kohinor 200 SC [imidacloprido (neonicotinoide)]; Provado 200 SC [imidacloprido (neonicotinoide)]; Timon [imidacloprido (neonicotinoide)] (BRASIL, 2012).

2.3 Plantas Inseticidas

O uso de extratos e de plantas pulverizadas como inseticidas datam de 400 A.C., nos tempos do rei Jerjes, da Pérsia, hoje Irã, no controle de piolhos, espalhando um pó obtido de flores secas de piretro (*Chrysanthemum cinerariaefolium*). O primeiro uso definido de inseticida natural, foi efetuado em 1736, quando folhas de tabaco trituradas foram utilizadas na França para exterminar afídios (HOMMA, 2007).

No período de 1890 a 1920, os praguicidas mais utilizados eram o pó de enxofre, enxofre molhável, arsenicais (verde-de-paris, arsenatos de cálcio e chumbo), fumo, piretro, rotenona, petróleo, óleo de baleia, resinas, sabão, dissulfeto de carbono e ácido hidrocianico. No período de 1920 a 1940, os praguicidas mais utilizados eram o arseniato de chumbo e de cálcio, pó de enxofre, enxofre molhável, fluossilicato de bário, criolita (fluoaluminato de sódio), piretro, timbó, fumo, quássia, heléboro e selenossulfeto de potássio e amônio para o controle de ácaros (SAITO; LUCHINI, 1998; PRATES, 2003).

As limitações do uso do timbó e de outras plantas inseticidas em grande escala para a agricultura levaram ao desenvolvimento de inseticidas sintéticos. A síntese do DDT (diclorodifeniltricloroetano) e a descoberta das suas atividades inseticidas foi efetuada em 1939 pelo suíço Paul Hermann Müller (1899-1965), sendo o produto patenteado naquele país, em 07/03/1940, pela companhia de corantes J.R. Geigy S/A, com o nome de Gesarol. Esse produto tinha sido sintetizado em 1873, por Othmar

Zeidler, um estudante de química alemão, que trabalhava no laboratório de Adolph von Bayer, na Universidade de Strasbourg, mas que não recebeu nenhuma atenção na época. As primeiras recomendações para o combate de pragas de grãos armazenados apareceram por volta de 1947, com o uso do DDT em pó. Posteriormente, em 1965, surgiu o Malathion em pó, que foi intensamente usado durante os 30 anos seguintes (HOMMA, 2007).

Em 1934, o Japão produziu 7.700 toneladas de piretro e no ano seguinte 12.900 toneladas, fazendo com que a descoberta das propriedades inseticidas do DDT levasse a Companhia J. R. Geigy S.A a propor ao governo inglês, em 1942, a substituição do piretro pelo DDT para o combate de vetores de tifo e malária. Isso levou à difusão comercial do DDT, com o fim da II Guerra Mundial e o início do domínio dos inseticidas sintéticos, que não estavam sujeitos às incertezas da produção e da flutuação de princípios ativos (MATHEW, 2004 apud HOMMA, 2007).

Publicado em 1962, *Silent Spring*, da bióloga marinha norte-americana Rachel Carson, foi a primeira obra a detalhar os efeitos adversos da utilização dos pesticidas e inseticidas químicos sintéticos, iniciando o debate acerca das implicações da atividade humana sobre o ambiente e o custo ambiental dessa contaminação para a sociedade humana. A mensagem era diretamente dirigida para o uso indiscriminado do DDT: barato e fácil de fazer, foi aclamado como o pesticida universal e tornou-se o mais amplamente utilizado dos novos pesticidas sintéticos antes que seus efeitos ambientais tivessem sido intensivamente estudados (HOMMA, 2007).

A busca de praguicidas naturais, que causem menores desequilíbrios ecológicos e de riscos para os aplicadores e para os consumidores, tem sido uma preocupação permanente, sobretudo a partir da década de 1960 (HOMMA, 2007).

Na primeira metade do século 20, o Brasil foi um grande produtor e exportador de inseticidas botânicos, como rotenona (extraídas das raízes e rizomas de *Degeelia* sp. e *Derris* sp.), piretro (extraído de flores de *C. cinerariaefolium*) e nicotina (extraída de folhas de *Nicotiana tabaci*). Entretanto, seguindo a tendência internacional após os anos 50, o controle de pragas no País passou a ser realizado principalmente com compostos químicos sintéticos (MARTINEZ, 2011).

São inúmeras as conseqüências negativas com o uso de compostos químicos sintéticos ao ambiente e à saúde humana, entre elas: contaminação do solo, do ar e da água; intoxicações no homem e animais; redução da biodiversidade; redução da população de inimigos naturais; redução da população e do número de espécies de abelhas e outros polinizadores; resistência de pragas e surgimento de pragas secundárias (MARTINEZ, 2011).

São relatados que 50% das intoxicações e 75% dos casos de mortes por agrotóxicos ocorrem em países da região tropical, embora esses países utilizem apenas 15% dos agrotóxicos empregados no mundo (MARTINEZ, 2011).

Há um número muito grande de plantas, cuja atividade inseticida tem sido estudada. As plantas das famílias Meliaceae (ordem Rutales), Rutaceae (Sapindales), Asteraceae (Asterales), Annonaceae (Magnoliales), Lamiaceae (Lamiales) e Canellaceae (Canellales) são consideradas as mais promissoras (JACOBSON, 1989). A ordem Rutales inclui plantas que são fontes mais ricas e diversas de metabólitos secundários em Angiospermas (WATERMAN, 1993).

O Brasil é um país megabiodiverso, possui um grande número de ecossistemas, espécies que interagem dentro desses ecossistemas, e de alelos que diferenciam os indivíduos em cada população de cada espécie (CLEMENT, 2001). Nesse sentido, a biodiversidade da floresta amazônica destaca-se por apresentar um elevado potencial

para a produção de compostos secundários de plantas (PLETSCH; SANT'ANA, 1995) com ação inseticida.

2.3.1 Meliaceae

A família Meliaceae, pertencente à ordem Rutales, apresenta 51 gêneros e 550 espécies distribuídas principalmente na região Neotropical. Mais de 50% das espécies encontram-se agrupadas em apenas cinco gêneros: *Aglaia* (100 espécies), *Trichilia* (66), *Turraea* (65), *Dysoxylum* (61) e *Guarea* (35) (JUDD et al., 1999).

Atualmente, a família Meliaceae vem se destacando, entre as diversas famílias botânicas, como uma das mais importantes fontes de produtos inseticidas devido ao número de espécies com bioatividade e à eficiência de seus extratos. Muitas meliáceas vêm sendo pesquisadas como fontes de extratos inseticidas como o nim *Azadirachta indica*, o cinamomo *Melia azedarach* (VENDRAMIM, 1997) e ainda espécies do gênero *Trichillia* (MIKOLAJCZAK; REED, 1987; MIKOLAJCZAK; ZILKOWSKI; BARTELT, 1989; RODRÍGUEZ; LAGUNES, 1992; RODRÍGUEZ; VENDRAMIM, 1996; THOMAZINI; VENDRAMIM; LOPES, 2000; SOUZA; VENDRAMIM, 2001; BOGORNI; VENDRAMIM, 2003 apud ROEL; VENDRAMIM, 2006). Plantas dessa família são conhecidas por conter uma variedade de compostos descritos como inseticidas, antialimentar e regulador do crescimento (NAKATANI et al., 2004).

Os limonoides são substâncias também conhecidas como meliacinas, assim denominadas devido ao seu sabor amargo, ou tetranotriterpenoides (SIMÕES et al., 2007; VIEIRA; MAFEZOLI; BIAVATTI, 2007). Essa classe de substâncias é isolada apenas de plantas pertencentes às famílias Meliaceae, Rutaceae e Cneoraceae (VIEIRA; MAFEZOLI; BIAVATTI, 2007); e suas principais fontes são espécies das famílias Meliaceae e Rutaceae (VIEGAS JUNIOR, 2003). São conhecidas pelo fato de

apresentarem atividade contra insetos, seja interferindo no seu crescimento, seja pela inibição na ingestão de alimentos (SIMÕES et al., 2007).

Os limonoides são tetraano triterpenoides e talvez os maiores representantes dessa classe como substâncias inseticidas, no entanto, os monoterpenos simples, como o limoneno e mirceno, desempenham um papel de proteção contra insetos nas plantas que os produzem. Sua rota biossintética em plantas prevê como precursor um triterpeno que, no final, dá origem aos tetraano triterpenoides pela perda de quatro átomos de carbono do precursor original (SIMÕES et al., 2007).

A partir da formação do esqueleto básico de um limonoide pode ocorrer uma série de transformações levando aos diferentes grupos de limonoides (MENEZES, 2001).

Existe uma grande diversidade de limonoides isolados da família Meliaceae, entre eles azedarachinas (HUANG et al., 1995), sendaninas e trichilinas (TAKEYA et al., 1996), além dos que apresentam o anel *C-seco* (ARAÚJO et al., 2009).

Os limonoides com anel *C-seco* restringem-se aos gêneros *Azadirachta* sp. e *Melia* sp. (CHAMPAGNE et al. 1992). Essas substâncias são comuns naquelas plantas que têm maior atividade inseticida e possuem o anel C do núcleo dos tetranotriterpenoides aberto como pode ser observado na azadiractina, que é o maior representante dessa classe (MULLA; TIANYUN, 1999).

Champagne et al. (1992) propuseram uma correlação entre os vários tipos de esqueletos de limonoides com sua ação contra insetos e classificaram os limonoides em ordem decrescente de atividade biológica: 1. Limonoides com o anel *C-seco*. Ex: Azadiractina; 2. Limonoides com esqueleto *apo-eufol* intacto; epóxido a C14/C15 e ciclohexanona no anel A. Ex: Cedrelona; 3. Limonoides com anel *D-seco*. Ex: Gedunina;

4. Limonoides com anéis A, D-*seco*. Ex: Limonina; 5. Limonoides com anéis A, B ou B-*seco*. Ex: Toonacilina.

A azadiractina foi isolada das sementes de nim por Butterworth e Morgan (1968), período em que a comunidade científica estava revendo seus conceitos com relação ao controle de insetos, principalmente devido à publicação do livro “Silent Spring” de Raquel Carson em 1962. Vários esforços de pesquisa foram voltados ao estudo dos limonoides com ênfase para a azadiractina (MORGAN, 2009). A sua estrutura molecular foi proposta primeiramente por Nakanishi (ZANNO et al., 1975), contudo na década de 80 foi demonstrado haver erros nessa proposta, e somente em 1987 estudos simultâneos e independentes realizados nos laboratórios de S. Ley, W. Kraus e Nakanishi elucidaram a estrutura da azadiractina (BILTON et al., 1987; KRAUS et al., 1987; TURNER et al., 1987).

A molécula da azadiractina é muito complexa (VEITCH; BOYER; LEY, 2008). Após 22 anos de esforços a síntese completa da azadiractina foi realizada em 71 etapas, com o rendimento de 0,00015 % (VEITCH et al., 2007). Todo o processo de síntese ao longo dos 22 anos foi registrado (LEY et al., 2008).

A azadiractina é altamente polar, sendo, conseqüentemente, solúvel em solventes orgânicos polares (etanol, metanol) e ligeiramente solúvel em água. Outras substâncias com polaridade próxima à da azadiractina geralmente são extraídas em conjunto, como, por exemplo, a salanina e o 3-tigloilazadiractol, assim como outros compostos correlacionados (MORGAN, 2009).

Em nível fisiológico, a azadiractina causa interferência no sistema neurosecretor do cérebro, afetando a síntese do hormônio protoracicotrópico e ou dos neuropeptídeos (alostatinas e alatotropinas), que controlam respectivamente a função das glândulas protorácicas e dos *corpora allata*. Na ausência da estimulação do

hormônio protoracicotrópico, as glândulas protorácicas não produzem o hormônio da muda (ecdisteróides), que por sua vez tem a função de controlar a ecdise e a formação da nova cutícula, enquanto que a produção elevada de hormônio juvenil pelos *corpora allata*, dada pela inibição das alatostatinas ou indução das alatotropinas, induz a manutenção dos indivíduos no estágio larval (MORDUE (LUNTZ); NISBET, 2000).

Atualmente, alguns produtos disponíveis no mercado como inseticidas contêm azadiractina como componente principal. Segundo Morgan (2009), azadiractina é um limonoide encontrado apenas em três espécies vegetais, todas do gênero *Azadirachta* (*A. indica*, *A. excelsa* e *A. siamensis*).

Em estudos agronômicos, Souza e Vendramim (2000a) verificaram que extratos aquosos a 3% (p/v) de frutos verdes de *M. azedarach*, de sementes de *A. indica* e de ramos de *Trichillia pallida* apresentam ação ovicida sobre *Bemisia tabaci*, biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae), sendo o extrato de *T. pallida* o mais eficiente. Esses extratos também causam a mortalidade de ninfas dessa mosca-branca, sendo o de sementes de *A. indica* o mais eficiente.

Os extratos de folhas e de ramos de *A. indica*, *M. azedarach*, *Toona ciliata* e *T. pallida* em diclorometano apresentaram atividade inseticida sobre ovos e ninfas e em etanol apenas sobre ninfas de *B. tabaci* biótipo B. Entre os extratos testados, os mais promissores para uso no controle de ninfas de mosca-branca são os em diclorometano de folhas de *T. ciliata* e de ramos de *T. pallida* (BEZERRA-SILVA et al., 2010).

2.3.1.1 Bioatividade de *Azadirachta indica* A. Juss (nim) sobre insetos

O gênero *Azadirachta*, pertencente à ordem Rutales, subordem Rutinae, família Meliaceae, subfamília Melioideae, tribo Melieae (PENNINGTON; STYLES, 1975), contém apenas três espécies: *Azadirachta indica* A. Juss, *A. siamensis* Valetton e *A.*

excelsa (Jack) Jacobs (KANOKMEDHAKUL et al., 2005), sendo a primeira delas a mais estudada e difundida por todo o mundo.

O nim é uma planta perene bastante resistente e de crescimento rápido, com tronco semirreto a reto de 30 a 80 cm de diâmetro, relativamente curto e duro, de coloração marrom-avermelhada. O seu porte varia normalmente de 15 a 20 m de altura, mas caso haja condições edafoclimáticas favoráveis pode atingir até 25 m. Possui uma copa com folhagem verde-escura que pode atingir até 15 m de diâmetro e flores com odor de mel. O sistema radicular da planta é composto por uma raiz pivotante, que é a sua principal sustentação e que possibilita a retirada de água e nutrientes de profundidades consideráveis, e por raízes laterais auxiliares (HEDGE, 1993).

As folhas são compostas e imparipinadas, ficando aglomeradas nos extremos dos ramos, simples e sem estípulas. As flores são de coloração branca e reunidas em inflorescências densas com estames crescentes formando um tubo, actinomórficas, pentâmeras e hermafroditas (SCHMUTTERER, 1990).

De modo geral, a floração se inicia a partir do segundo ano de idade da planta e a produção de frutos começa a ser significativa após três anos, com 2,4 kg por árvore, podendo atingir cerca de 8 kg / planta no terceiro ano e superando 25 kg / planta a partir do quinto ano (GRUBER, 1992).

As épocas de floração e de produção de frutos variam muito de região para região. No Brasil, dada a grande amplitude de condições climáticas, as floradas ocorrem em diversas épocas nas diferentes regiões. As primeiras floradas ocorrem nas Regiões Central, Norte e Nordeste do Brasil com a produção de frutos iniciando-se em dezembro, indo até março; na Região Sudeste, a produção de frutos predomina de fevereiro a abril, e na Região Sul, inicia-se em maio e chega até julho, podendo haver

uma segunda florada improdutiva em setembro/outubro (MARTINEZ; LIMA; BOIÇA JUNIOR, 1998).

A família Meliaceae destaca-se por possuir espécies com alta atividade biológica sobre insetos, entre as quais se inclui *A. indica* (nim), considerada uma das mais eficientes plantas inseticidas já estudadas (SCHMUTTERER, 1988; BREUER; DEVKOTA, 1990; MORDUE (LUNTZ); BLACKWELL, 1993; MARTINEZ, 2011).

O nim, *A. indica*, é originário da Índia e de Myanmar, onde é usado há séculos, principalmente na Índia, como planta medicinal, planta sombreadora e, mais recentemente, como planta inseticida, adubo, na produção de madeira etc. No Brasil, as primeiras introduções da planta para estudo como planta inseticida foram feitas pelo Instituto Agrônomo do Paraná, em Londrina em 1986, com sementes originadas das Filipinas, e em 1989, com sementes da Nicarágua e da República Dominicana (MARTINEZ, 2011).

Até 1995, cerca de 400 espécies de insetos tinham sido relatadas como sensíveis a algum tipo de ação do nim. Os principais efeitos sobre insetos incluem efeito antialimentar, efeito regulador de crescimento, efeitos sobre a reprodução com redução da fecundidade e da fertilidade, repelência de postura, além de efeitos sobre o sistema hormonal afetando a ecdise, a diapausa, o comportamento e a síntese de proteínas (MARTINEZ, 2011).

Os derivados do nim possuem vários modos de ação sobre insetos, entre os quais é interessante destacar a sua atuação como repelente, deterrente alimentar (KOUL, 2005), deterrente de oviposição (NAUMANN; ISMAN, 1995), regulador de crescimento e esterilizante. Diversos outros efeitos também podem ser observados, tanto em nível fisiológico, hormonal e celular, como em nível comportamental

(SCHUMUTTERER, 1990; MORDUE (LUNTZ); BLACKWELL, 1993; MARTINEZ, 2011).

O nim apresenta diversas das mais importantes características desejáveis em uma planta inseticida: é rústica, não invasora, perene, não necessita ser destruída para a obtenção dos compostos, tem alto teor de compostos ativos e tem possibilidade de outros usos, seus compostos são solúveis em água, sendo a extração simples e de baixo custo, os compostos são mais tóxicos às pragas do que aos inimigos naturais, sendo praticamente inócuos ao homem e ao ambiente e em razão de serem totalmente biodegradáveis e com baixa persistência no ambiente, além de dificilmente levarem ao surgimento de resistência dos insetos (MARTINEZ, 2011).

O nim apresenta compostos nas cinco escalas propostas por Champagne et al. (1992). De diferentes partes da planta já foram isolados mais de 200 compostos, dos quais cerca de 130 são limonoides (KANOKMEDHAKUL et al., 2005). Entre os limonoides já isolados dessa árvore, a azadiractina é o mais investigado e considerado o tetranortriterpenóide com maior potencial para o manejo de pragas.

O mais abundante limonoide encontrado em sementes é usualmente o azadiradione, inicialmente isolado do óleo da semente (LAVIE; JAIN, 1967) e posteriormente sintetizado (COREY; HAHN, 1989). Entre os limonoides mais polares extraídos juntamente com a azadiractina, a salanina é o mais abundante, seguido pela própria azadiractina e em menor escala pelo 3-tigloilazadiractol (JOHNSON; MORGAN; PEIRIS, 1996).

As salaninas são triterpenóides que têm sido descritas como compostos biologicamente ativos em insetos encontrados em plantas da família Meliaceae, como *A. indica* e *M. azedarach* (YAMASAKI et al., 1988).

Sundaram (1996) analisou amostras de sementes, cascas, folhas, raízes e ramos oriundos de árvores do sul da Índia e, com base no peso seco da amostra, registrou os seguintes resultados: sementes (0,03%), folhas ($0,9 \times 10^{-3}\%$), cascas ($0,5 \times 10^{-3}\%$), raízes ($0,3 \times 10^{-3}\%$) e ramos ($0,2 \times 10^{-3}\%$) de azadiractina.

Forim (2006) investigou diversas estruturas da planta (amêndoa em diferentes estágios de maturação, casca, ramo, flor e folha) e registrou a presença de azadiractina em diferentes quantidades, exceto nas folhas. Sundaram (1996) indica que as folhas possuem uma quantidade bastante inferior de azadiractina, sendo que o resultado obtido por Forim (2006) pode ter sido influenciado pelo método de extração.

Os lepidópteros são bastante sensíveis à azadiractina, dependendo da espécie, apresentando efetiva inibição de alimentação, em concentrações que variam de <1 a 50 ppm (MORDUE (LUNTZ); NISBET, 2000). Coleoptera e Hemiptera são menos sensíveis, com inibição da alimentação em concentrações variando de 100 a 600 ppm, embora existam algumas espécies de afídeos que também mostram alta sensibilidade (MORDUE (LUNTZ); NISBET, 2000), enquanto Orthoptera mostra enorme variação na sensibilidade (SCHUMUTTERER, 1985).

Torres et al. (2006) verificaram que a CL_{50} para amêndoas de nim em larvas de primeiro instar de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) foi de 0,06%. Foi observado também que o extrato afetou o desenvolvimento do inseto principalmente na fase larval. Na fase de pupa, os extratos reduziram a massa e a viabilidade.

Gonçalves-Gervásio e Vendramim (2007) observaram que compostos inseticidas presentes no extrato aquoso de sementes de nim são capazes de penetrar a epiderme foliar do tomateiro, atingindo lagartas de *Tuta absoluta* que se alimentam do mesófilo. Esses compostos atuam sobre as lagartas na parte aérea, mesmo quando este é aplicado

no solo. Quando aplicado de maneira tópica sobre as lagartas também provoca mortalidade significativa.

Os derivados do nim podem ser empregados na forma de pós, extratos aquosos, extratos orgânicos e óleos (fixos ou essenciais). Os óleos podem ser obtidos a partir da prensagem do material vegetal (geralmente frutos ou sementes), os quais podem ser frescos ou secos (geralmente ao sol). Após a prensagem, o óleo é extraído e armazenado em recipientes apropriados. Estes são os chamados óleos “fixos”. Os óleos essenciais ou voláteis podem ser obtidos de diferentes maneiras, sendo que uma das formas mais utilizadas é o arraste com vapor d’água (SANTOS et al., 2004; TAVARES, 2006).

Para obtenção dos pós, após a coleta do material vegetal (sementes, frutos, folhas, caules e ou raízes), este é submetido à secagem e moído na granulometria desejada. No caso dos extratos aquosos, após a coleta, secagem e moagem, os pós são submetidos à imersão em água (configurando o período de extração) e posterior filtração. O extrato aquoso deve ser utilizado até 24 h após a extração ou submetido à liofilização e posterior armazenamento. Existem diferentes formas para obtenção de extratos orgânicos provenientes de plantas. O fato comum entre os procedimentos é a utilização de solventes em polaridade crescente: hexano (apolar), acetato de etila (polaridade intermediária) e metanol (polar). Dessa forma, os extratos vegetais obtidos apresentaram diferença na sua constituição, pois solventes polares dissolvem os seus semelhantes (substâncias polares), apolares dissolvem apolares e, assim, sucessivamente (SILVA, 2010).

2.3.1.2 Bioatividade de *Melia azedarach* L. (cinamomo) sobre insetos

M. azedarach, comumente conhecida por lírio, lilás-da-Índia ou cinamomo, margosa ou santa-bárbara, tem sido cultivada há muitos anos (GUHA; NIJI, 1965) e

usada frequentemente como medicinal (ARAÚJO et al., 2009). É uma árvore com altura superior a 10 m, com folhas alternadas, longo-pecioladas, glabras, bipinadas, com folíolos ovais ou lanceolados e agudos. Flores pequenas, em grandes panículas eretas e multifloras, cheirosas, lilases na cor e de anteras amarelas (BRAGA, 1976). Cresce rapidamente, quer por semente, quer por estaca. Em certas regiões da Índia é forragem comum dos bovinos, ovinos e caprinos. Nativa da região nordeste da Índia, hoje se encontra distribuída em quase todos os países tropicais (BURKS, 1997).

Diversos trabalhos têm descrito essa planta como possuidora de inúmeras propriedades, como atividade antifúngica (CARPINELLA et al., 1999), inseticida (GAJMER et al., 2002), antiviral, antimalárica (KHAN et al., 2001) e anti-helmíntica (McGRAW; JÄGER; van STADEN, 2000; JOSHI; JOSHI, 2000).

Segundo Srivastava e Gupta (1985), *M. azedarach* apresenta atividades medicinal e inseticida, atribuídas à presença de limonoides com ação antialimentar em insetos (HUANG et al., 1995).

Segundo Matias et al. (2002), além dos limonoides, outras classes de metabólitos (triterpenóides e esteróides, alcalóides, proteínas, fenóis e fitoesteróis) também estão presentes em *M. azedarach*.

Huang et al. (1996) isolaram limonoides das raízes de *M. azedarach* e testaram a inibição da alimentação de *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae). Os compostos salanal e meliacarpinina E mostraram a melhor atividade, enquanto outros compostos também isolados, como salanina, diacetilsalanina, nimbolina e ninbolina B, apresentaram com menor atividade.

Os frutos de *M. azedarach* são conhecidos por conterem o alcalóide azaridina, taninos e ácidos benzóicos (OELRICHS et al., 1983). O extrato metanólico de sementes de *M. azedarach* aplicado sobre ninfas de *Rhodnius prolixus* (Hemiptera: Reduviidae) e

Oncopeltus fasciatus (Hemiptera: Lygaeidae) tiveram ação sobre a muda do inseto, tendo como substâncias responsáveis os fitoesteróis, lignanas e triterpenos (CABRAL et al., 2000).

Maciel et al. (2006), analisando a atividade larvicida e ovicida de *M. azedarach* sobre *Haemonchus contortus* (Trichostrongylidae: Nematoda), verificaram após análise fitoquímica a presença de taninos condensados, triterpenos e alcalóides.

Bohnenstengel et al. (1999) isolaram constituintes das folhas de *M. azedarach* com atividade inseticida, derivados da meliacarpina que foram denominados 1,3-dicinnamoyl-11-hidroximeliacarpin, 1-cinnamoyl-3-methacrilil-11-hidroximeliacarpina e 1-cinnamoyl-3-acetil-11-hidroximeliacarpin. As propriedades inseticidas das meliacarpinas foram testadas sobre larvas de *S. litorallis* e comparadas com a atividade da azadiractina e foram prejudiciais à metamorfose larval.

Analisando os efeitos de lignanas e neolignanas na inibição da ecdise da larva de *R. prolixus*, Cabral et al. (2000) verificaram que o pinosinol, isolado da *M. azedarach*, apresentou o maior efeito inibitório da ecdise quando administrado oralmente na dose de 100 µg/mL.

Nakatani et al. (1998) pesquisaram o extrato das partes aéreas, raízes e do caule de *M. azedarach* e obtiveram os seguintes compostos: azedaralide e 12-hidroxiamoorastatina. O azedaralide apresentou atividade ictiotóxica e antialimentar sob *Oryzias latipes* (Adrianichthyidae: Actinopterygii) e larvas de *S. littoralis*, respectivamente.

Na área da saúde, os extratos metanólicos de folhas e sementes da *M. azedarach* foram testados contra *Anopheles stephensi* (Diptera: Culicidae) e mostraram ação contra larva, pupa, adultos e ovos. O extrato metanólico obtido das sementes demonstrou elevada bioatividade em todas as doses testadas, sendo capaz de suprimir a fase adulta

do *A. stephensi* com uma dose de 0,5%, enquanto o obtido das folhas apresentou-se ativo apenas nas doses maiores de 1 e 2% (NATHAN et al., 2006). Cabral et al. (1996) relataram que o extrato metanólico de sementes de *M. azedarach* constitui-se uma ferramenta importante no controle de *R. prolixus*, vetor da doença de Chagas.

Atividade supressora do crescimento larval foi observada com o extrato da semente da referida meliácea contra *Cnaphalocrocis medinalis* (Lepidoptera: Pyralidae), maior inseto do arroz (*Oryza sativa*) (NATHAN, 2006).

Os extratos aquosos de *M. azedarach*, em concentrações variáveis de 1 a 3%, têm efeito ovicida sobre *B. tabaci*, biótipo B, mas, mesmo na maior concentração, esses extratos não afetam a duração da fase imatura do inseto (SOUZA; VENDRAMIM, 2000b).

O efeito do extrato aquoso de *M. azedarach* foi avaliado sobre a traça-do-tomateiro, *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). Foi possível constatar que as folhas foram a estrutura vegetal com maior bioatividade sobre a traça, vindo em seguida os frutos verdes, ramos e frutos maduros (BRUNHEROTTO; VENDRAMIM, 2001).

2.3.1.3 Bioatividade de *Trichilia pallida* Swartz (baga-de-morcego ou catiguá) sobre insetos

O gênero *Trichilia* possui aproximadamente 70 espécies distribuídas pela América Tropical, África e região Indo-Malaia. É um dos gêneros que possui o maior número de espécies na família e dentro da subfamília Melioideae, é o gênero que apresenta maior número e tipos de limonoides (PENNINGTON, 1981).

Além do nim, vários pesquisadores têm isolado limonoides de diferentes espécies do gênero *Trichilia* e demonstrado sua atividade sobre insetos, incluindo efeitos fagodeterrente e regulador do crescimento (NAKANISHI, 1982; NAKATANI et

al., 1985; XIE et al., 1994; ORTEGO et al., 1999); e apresentarem compostos com atividade inseticida conhecida (triquilinas) (NAKATANI; JAMES; NAKANISHI, 1981).

O extrato acetato de etila de *T. pallida* a 0,001% afeta o desenvolvimento de *S. frugiperda*, alongando a fase larval e diminuindo o peso de lagartas e pupas; não houve interação entre os fatores genótipo de milho e extrato (ROEL; VENDRAMIM, 1999).

O extrato acetato de etila de folhas e ramos de *T. pallida*, impregnado em folhas de milho, causa mortalidade larval de 100% em *S. frugiperda* em concentração igual ou superior a 0,05%, afeta a sobrevivência e alonga a fase larval do inseto a 0,006% (ROEL et al., 2000).

De acordo com Thomazini, Vendramim e Lopes (2000), extratos aquosos de folhas e ramos de *T. pallida* prejudicam o desenvolvimento de *T. absoluta*, afetando principalmente a fase larval, sendo que o extrato de folhas apresenta maior atividade que o de ramos.

Extratos aquosos e clorofórmicos de folhas de *T. pallida* em concentrações maiores do que 5% prejudicam o desenvolvimento de *T. absoluta*, atuando de forma translaminar, sistêmica e tópica, sendo o efeito translaminar mais pronunciado que os demais (GONÇALVES-GERVÁSIO; VENDRAMIM, 2004).

Roel e Vendramim (2006) observaram que o extrato acetato de etila de ramos (com folhas) de *T. pallida* causa mortalidade e atrasa o desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda*, tanto em lagartas recém-eclodidas como naquelas alimentadas a partir dos 10 dias de idade, sendo os efeitos mais pronunciados nas lagartas mais jovens.

Souza e Vendramim (2004) verificaram que todos os extratos aquosos e orgânicos (metanólico, etanólico, clorofórmico e hexânico) de ramos de *T. pallida* e aquosos de sementes de nim, *A. indica*, têm bioatividade contra a mosca-branca, *B.*

tabaci biótipo B, sendo o extrato aquoso de sementes de nim mais eficiente que os demais. Nas concentrações utilizadas, a ação inseticida pelas vias translaminar, sistêmica e de contato foi constatada apenas com o extrato aquoso de sementes de nim.

2.3.1.4 Bioatividade de *Trichilia pallens* C. DC. sobre insetos

Foi avaliado o efeito de extratos aquosos de ramos e folhas de seis espécies de *Trichilia* (*T. casaretti*, *T. catigua*, *T. claussemi*, *T. elegans*, *T. pallens* e *T. pallida*), sobre o desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* em condições de laboratório. Folhas de milho foram imersas nos extratos a 1% (peso/volume) e, depois de evaporado o excesso de água, fornecidas a lagartas de primeiro ínstar. Avaliou-se o efeito na sobrevivência, duração e peso de lagartas e de pupas. Os extratos de ramos de *T. pallida* e de folhas de *T. pallens* foram os mais eficientes, entre as seis espécies de *Trichilia* testadas, embora os extratos de folhas de *T. pallida*, *T. catigua*, *T. casaretti* e *T. elegans* e os extratos de ramos de *T. claussemi* e *T. pallens* também tenham afetado o desenvolvimento do inseto (BOGORNÍ; VENDRAMIM, 2005).

Os extratos aquosos e aquoso/etanólico de folhas e de ramos de *T. pallida* e de ramos de *T. pallens* apresentam boas perspectivas para sua adoção dentro de um sistema de manejo integrado de *S. frugiperda* em milho. O extrato de *T. pallens* foi repelente às lagartas de *S. frugiperda* (GABRIEL; TAVARES; VENDRAMIM, 2006).

2.3.1.5 Bioatividade de *Toona ciliata* M. Roem (cedro-australiano) sobre insetos

Entre as espécies que vêm sendo plantadas visando à produção de madeira para serraria está *T. ciliata*, cuja origem se estende desde a Índia e Malásia até o norte da Austrália. A espécie possui similaridade botânica com os cedros nativos do gênero

Cedrella da Mata Atlântica e o mogno (*Swietenia macrophylla* King) da Floresta Amazônica (LORENZI et al., 2003; PINHEIRO; LANI; COUTO, 2003).

Essa espécie encontrou no Brasil condições favoráveis ao seu crescimento e possui resistência contra a broca-da-gema-apical (*Hypsipyla grandella*), que ataca outras meliáceas e é encontrada na América (OIANO NETO, 2000; CASTRO-GAMBOA, 2000). Porém, o cedro-australiano é também atacado por *Hypsipyla robusta*, praga florestal que não ocorre naturalmente na América (CUNNINGHAM et al., 2005).

A madeira de *T. ciliata* é bem conhecida quimicamente como fonte de cedrelona, enquanto as folhas são fonte de toonacilina. Estudos realizados com extratos foliares de *T. ciliata* mostraram uma forte inibição da alimentação e atividade inseticida contra *Hypsipyla grandella* (Lepidoptera: Pyralidae) e *Epilachna varivestis* (Coleoptera: Coccinellidae) (OIANO NETO, 2000).

Os limonoides toonacilina e 6-acetoxitoonacilina, isolados de *T. ciliata*, agem como deterrente alimentar para *E. varivestis* (KRAUS; GRIMMINGER; SAWITZKI, 1978). O limonoide cedrelona é capaz de interromper a muda em *Oncopeltus fasciatus* (CHAMPAGNE; ISMAN; TOWERS, 1989 citados por CHAMPAGNE et al., 1992) e *Pectinophora gossypiella* (KUBO; KLOCKE, 1986 citados por CHAMPAGNE et al., 1992), contudo esta atividade não ocorre com *Peridroma saucia* (CHAMPAGNE; ISMAN; TOWERS, 1989 e CHAMPAGNE, 1989, citados por CHAMPAGNE et al., 1992), *Ostrinia nubilalis* (ARNASON et al., 1987), *Heliothis* (=Helicoverpa) *zea* e *S. frugiperda* (KUBO; KLOCKE, 1986, citados por CHAMPAGNE et al., 1992). Entretanto, todos estes estudos foram realizados com a mesma amostra de cedrolona, que foi repassada de um laboratório a outro (CHAMPAGNE et al., 1992).

Rodríguez e Vendramim (1997), avaliando o efeito de extratos aquosos de 12 espécies de meliáceas (entre elas *T. ciliata*) sobre a duração e viabilidade larval e pupal e o peso de pupas de *S. frugiperda*, observaram que extratos de folhas de *T. ciliata* ocasionaram a maior duração da fase larval (31,4 dias) diferindo da testemunha (17,2 dias) e dos demais tratamentos. A viabilidade larval e pupal não foram afetadas com valores de 97 e 100% respectivamente, contudo o peso das pupas diminuiu, diferindo dos demais tratamentos. Extratos de caules de *T. ciliata* não apresentaram atividade tóxica.

Apesar do potencial inseticida que essa espécie de Meliaceae apresenta, poucos trabalhos foram realizados a fim de verificar o seu efeito sobre diferentes espécies de insetos (BEZERRA, 2009).

2.3.1.6 Bioatividade de *Carapa guianensis* Aubl. (andiroba) sobre artrópodes

Essa espécie tem ampla distribuição nos Neotrópicos e na África Tropical. Ocorre no sul da América Central, Colômbia, Venezuela, Suriname, Guiana Francesa, Peru, Paraguai, ilhas do Caribe e Brasil. No Brasil, ocorre na bacia Amazônica, principalmente nas várzeas próximas ao leito de rios e faixas alagáveis ao longo dos cursos d'água, sendo encontrada também em terra firme (SAMPAIO, 2000; FERRAZ, 2003).

O óleo de andiroba, *Carapa* sp., é utilizado como repelente de insetos (RIBEIRO et al., 1999). De acordo com Pinto (1963), algumas tribos indígenas e determinadas comunidades tradicionais vêm usando o óleo de andiroba como repelente de insetos. A Fundação Osvaldo Cruz lançou no mercado velas de andiroba que são indicadas para repelir mosquitos transmissores de doenças, como o da dengue e o da malária (FERRAZ, 2003).

Uma pequena porcentagem do óleo, de 2 a 5%, é constituída por limonoides, entre eles: andirobina, epoxiazadiradiona, 6a-acetoxiepoxiazadiradiona, 6a-acetoxigedunina, 6b-acetoxi gedunina, 11b-acetoxigedunina, 6a,11b-diacetoxigedunina, 6b,11b-diacetoxigedunina 6a-hidroxigedunina e 7-desacetoxi-7-oxogedunina (TAYLOR, 1984).

Foi descrito o isolamento dos limonoides angolensato de metila e 1,2-diidro-3b-hidroxi-7-desacetoxi-7-oxogedunina do óleo de andiroba. A continuação do estudo químico permitiu o isolamento de outros cinco limonoides: 17b-hidroxiiazadiradiona, gedunina, 6a-acetoxigedunina, 7-desacetoxi-7-oxogedunina e xilocensina k (AMBROZIN et al., 2010).

Silva et al. (2004) comprovaram a ação larvicida do óleo de andiroba em larvas de terceiro e quarto estádios de *Aedes albopictus*. Farias et al. (2007 e 2009) verificaram atividade biológica *in vitro* do óleo de andiroba sobre três espécies de carrapatos ixodídeos: *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, *Anocentor nitens* e *Rhipicephalus sanguineus*.

A exposição de adultos machos e fêmeas de *A. egypti* ao óleo de *C. guianensis*, na concentração de 0,05%, não interfere na mortalidade destes, entretanto, causa redução no número de ovos depositados pelas fêmeas do inseto (FONSECA et al., 2009).

Em condições de laboratório, o substrato pólen foi preferencialmente utilizado para realização das posturas por fêmeas de forídeos (Diptera: Phoridae) em contraste com os substratos óleo de andiroba (*Carapa* sp.) ou de copaíba (*Copaifera* sp.) misturado ao pólen que demonstraram efeito repelente, levando a inibição de até 100% da postura. Os óleos de andiroba ou copaíba podem ser utilizados como tratamento para

colônias infestadas por forídeos ou ainda como preventivo antes que haja infestação (FREIRE et al., 2006).

2.3.1.7 *Carapa procera* D.C. (andirobinha).

Ocorre na África e nos Neotrópicos. Na África, apresenta ampla distribuição na região central e oeste do continente. Nos Neotrópicos, ocorre ao norte da América do Sul, abrangendo o Brasil, o Suriname e a Guiana Francesa. No Brasil, foi registrada, até agora, somente no estado do Amazonas. Os habitats de *C. procera* são similares ao de *C. guianensis*: floresta de terra firme, ao longo dos rios e riachos e, muitas vezes, em solos arenosos (FERRAZ, 2004).

As espécies *C. procera* e *C. guianensis* são conhecidas pelo mesmo nome vulgar (andirobinha), sendo utilizadas no comércio sem distinção. Uma possível hibridação ainda não foi verificada nos locais onde ambas ocorrem. As duas espécies podem ser diferenciadas pelo porte da árvore, sendo *C. procera* menor; as plântulas e as sementes são distintas (FERRAZ, 2004).

Um novo tetranortriterpenoide, o proceranone, foi isolado das sementes de *C. procera* e sua estrutura elucidadas por IR, NMR e espectrômetro de massa (SONDENGAM et al., 1981).

2.3.2 Fabaceae

2.3.2.1 Bioatividade dos Timbós (*Derris* spp.) sobre insetos e ácaros

Timbó é o nome pelo qual são conhecidas na Amazônia, diversas plantas de cultura pré-colombiana, ainda hoje utilizadas nas pescarias dos índios. As raízes são utilizadas para o combate aos insetos em geral, a ectoparasitas dos animais domésticos e também na erradicação de peixes predadores, em águas represadas (LIMA, 1987). A

palavra timbó é de origem tupi: (ti) - sumo, suco e (mbo) - cobra, significando, portanto, sumo de cobra, suco venenoso, suco que mata (CORBETT, 1940; LIMA, 1987).

Esse vegetal é amplamente encontrado na região Amazônica, tanto em floresta primária como em áreas já desbravadas (TOZZI, 1998). As espécies de timbó de maior importância pertencem aos gêneros *Derris* e *Deguelia* (COSTA et al., 1986; LIMA, 1987).

As plantas do gênero *Derris* pertencem a família Leguminosae ou Fabaceae, sub-família Papilionoideae (FIRMINO, 1998) e tribo Dalbergieae (MCINDOO, 1919 *apud* SAITO e LUCCHINI, 1998). Plantas deste gênero são encontradas na Malásia, na Índia e nas Filipinas (MCINDOO, 1919 *apud* SAITO e LUCCHINI, 1998). Sua distribuição geográfica no Brasil é verificada no Norte (Amapá, Pará, Amazonas, Acre, Rondônia), Nordeste (Maranhão), Centro-Oeste (Goiás) (TOZZI, 2010).

As espécies que mais se destacam quanto à toxicidade são: *D. elliptica*, *D. urucu*, *D. nicou*, *D. sericea*, *D. amazonica*, *D. raiflora* e *D. floribunda* (ROCHA e ZOGHBI, 1982). As duas últimas espécies são endêmicas do Brasil, com pré dominância na Amazônia, principalmente no Estado do Amazonas (TOZZI, 2010).

A espécie *D. rariflora* Benth possui ramos escandentes ou prostados, lenhosos, castanho avermelhados, cilíndricos, finamente estriados, esparso e obscuramente lenticelados, puberulentos a glabros, quando novos são flexíveis, angulosos, estriados, pubescentes, com estípulas lenhosas, deltóides. Folhas com 3 ou 5 folíolos, com estipelas rudimentares, pecíolos e raquis com estrias bem marcantes. A inflorescência é pseudo- racemosa e terminal, esparso fasciculada nos dois terços superiores e nua no terço inferior basal, mais longa que as folhas, com uma bráctea oval mínima na base. Enquanto *Derris floribunda* Benth possui arbusto escandente, pequeno, rasteiro em lugares abertos e secos, na floresta atinge grandes dimensões, subindo em

árvores altas. As flores são róseo- violáceas (SILVA et al. 1977). Folhas com 7 ou 9 folíolo (raramente 5 ou 11), estípulas ausentes, pecíolo estriado no geral com um sulco ventral, raquis semelhante ao pecíolo, sub- angular. Inflorescência ereta, pseudo-racemosa, auxiliar, multiflora e bractéolas (TOZZI, 1989).

Os timbós podem ser propagados assexualmente por meio de estacas de 30 cm de comprimento, provenientes da haste, com um mínimo de 3 nós, os quais se planta imediatamente em forma diagonal. Não é comum que se propague sexualmente (sementes). O espaçamento recomendado é de 70 cm entre plantas e um metro entre linhas, obtendo-se uma densidade média de 14 mil plantas por hectare. Várias cartilhas com recomendações sobre preparo de solo, preparo das estacas, transplântio, adubações, tratos culturais, culturas consorciadas, colheita, secagem das raízes, embalagem e transporte e pulverização das raízes foram publicadas nos Estados Unidos e no Brasil, durante as décadas de 1930 e 1940 (GOMES, 1946; HIGBEE, 1948).

O uso de sumo de plantas extraídas de troncos ou raízes para efetuar a captura de peixes mediante envenenamento é conhecida desde os primórdios da civilização humana. Essa prática era bastante utilizada pelas tribos indígenas na Ásia, África e América do Sul, quando os europeus tomaram conhecimento. O botânico Georg Eberhard Rumpf (1627-1702), autor de *Herbarium Amboinense*, escrita entre 1653 e 1692 e publicada em 1741, descreveu três espécies de plantas venenosas para captura de peixes, dos quais parecem ser *D. elliptica*, *D. trifoliata* e uma outra que não pode ser identificada (ONGE, 2003 apud HOMMA, 2007).

O conhecimento da toxicidade dos timbós para insetos não é recente. Essas plantas já eram usadas para o controle de pragas e em pescarias pelos indianos e chineses desde o século VIII. Outras referências remontam aos tempos de Anchieta, Piso, Castelnau, Wallace, Spruce e Martius (Séculos X a XIII) (CORBETT, 1940).

De acordo com Lima (1987), os timbós já eram cultivados ou apenas explorados pelos nativos, mesmo antes do descobrimento da América por Cristóvão Colombo. No Brasil, sabe-se que os indígenas de diversas regiões, particularmente da Amazônia, fazem suas pescas com o uso dessas plantas, principalmente em ocasiões de grandes festas, quando necessitam de maiores quantidades de alimentos. Nessas pescarias, os indígenas empregam raízes frescas dos timbós que, batidas e agitadas na água, produzem um líquido leitoso, com cheiro muito forte e peculiar. Sob a ação desse suco, mesmo muito diluído, os peixes perdem o equilíbrio, sobem aturdidos à superfície e nadam descontrolados para as margens dos rios e se deixam apanhar facilmente. Em águas paradas a mortalidade é total (CORBETT, 1940; LIMA, 1987).

De acordo com Pires (1978), na região Amazônica, é freqüente encontrar plantações de timbó em fundos de quintal ou em locais onde existiram antigas habitações de índios ou de caboclos. Este autor relatou que os habitantes dessa região usavam raízes de timbó para a pesca e, eventualmente, para matar os piolhos dos animais domésticos.

Em 1849, Robert Little, um médico de Cingapura, descrevia a utilização de raízes de *Derris*, pelos jardineiros chineses, para combater as pragas da noz-moscada e que era utilizado para coceiras. Essa utilização induziu a domesticação de *D. elliptica* pelos chineses e a venda de suas raízes, cujo cultivo atingiu a Índia. A sua importância despertou a atenção para o seu patenteamento, a sua popularização e o crescimento das exportações desse produto da Maláia Inglesa (BURKILL, 1935). Epp, em 1851, descreveu o uso de *Derris*, para eliminar os insetos nas hortaliças (HOMMA, 2007).

Em 1890, Dymock, Wraden e Hooper, autores do livro *Pharmacographia Indica*, descreviam a presença de duas resinas e de um glucosídeo aliado à saponina nas

raízes de *Derris*, o que representou o começo da identificação química dos componentes dessa planta (HOMMA, 2007).

Em 1911, o químico Lenz, trabalhando com *D. elliptica* procedente de Nova Guiné, obteve uma substância cristalina que batizou de derrina. A substância cristalina obtida por Geoffroy, de *Deguelia*, também era branca e tinha ponto de fusão a 162°C, enquanto a substância cristalina amarelada de Lenz tinha ponto de fusão a 158°C, bem como a substância obtida por Gresoff era amarelada (HOMMA, 2007).

No início da década de 1920, tornou-se compreensível que havia duas substâncias nas raízes de timbó: a resina e a rotenona. As atenções dos primitivos observadores estavam presas apenas à resina, cujo tratamento químico se obtinha, também, a rotenona, mostrando a inter-relação dessas duas substâncias. Em 1930, E.P. Clark, conseguiu isolar de *Derris*, além da rotenona, vários compostos cristalinos. A sua importância no controle de insetos levou R.C. Roark, da USDA, em 1931, a escrever uma completa lista de insetos susceptíveis à rotenona (ROARK, 1944).

O conjunto de pesquisas provou, também, que a distribuição de rotenona varia nas diversas partes da planta, entre espécies, sendo mais concentrada nas raízes finas que nas grossas. O maior teor de rotenona era obtido em plantas com dois anos de idade, a partir da qual ia decrescendo. As folhagens de *D. elliptica* e *D. philippinensis* eram tóxicas o suficiente para matar bovinos e, no outro extremo, as de *D. heptaphylla* apresentavam reduzida toxicidade e eram utilizadas como aromatizante (HOMMA, 2007).

A elucidação da estrutura química da rotenona foi efetuada somente em 1933, pelos pesquisadores americanos da USDA, F.B. LaForge, H.L. Haller e L.E. Smith. Na década de 1930, os americanos tinham grande interesse no uso da rotenona. A síntese e

a biosíntese da rotenona iria ocorrer somente em 1984, por L. Crombie (HOMMA, 2007).

Uma das principais características dos princípios existentes nas raízes dos timbós é a sua ação específica sobre animais de "sangue frio". Essas substâncias são bem conhecidas e a principal delas é a rotenona. Ela sempre aparece acompanhada por outros princípios ativos vizinhos - os rotenóides, dentre os quais se destacam o toxicarol, a deguelina e a tefrosina. O toxicarol tem atividade inseticida duas vezes menor do que a rotenona, a deguelina três vezes menor e a tefrosina sete vezes menor (LIMA, 1987).

A rotenona causa morte dos animais por meio da inibição da cadeia respiratória mitocondrial, bloqueando a fosforilação do ADP a ATP, sendo peixes e insetos altamente sensíveis (MASCARO et al., 1998).

O interesse comercial pela raiz do timbó começou a deslançar a partir do início do século XX, procurando identificar os princípios ativos e a estrutura molecular. Enquanto isso, o Japão tornava-se um grande produtor de piretro e de *Derris*, tornando-se um produto estratégico com a eclosão da II Guerra Mundial (KOSEKI; INOUE, 1938; PEREZ, 1944).

A partir de 1910, o extrato de timbó foi amplamente usado para controlar carrapatos das lhamas no Peru. Em 1911, apareceram as primeiras fábricas na Inglaterra que passaram a produzir inseticidas líquidos com extratos de *Derris* que se vendiam com o nome das respectivas marcas das fábricas e somente em 1931 começaram aparecer marcas comerciais nos Estados Unidos, para combater afídios e insetos que infestavam animais, principalmente piolhos (HOMMA, 2007).

O timbó era um produto quase não comercializado no mercado internacional antes da década de 1930. Em 1932, o porto Cingapura já realizava a exportação de

raízes de *Derris*, para os Estados Unidos (52 t), Inglaterra (84 t), Japão (42 t) e para outros países (35 t), totalizando 315 toneladas (KOSEKI; INOUE, 1938). Java, Sumatra, Península Malaca, Filipinas e Índia Oriental eram locais onde eram produzidas as raízes de *Derris*. Em 1933, foi efetuada a primeira exportação de raiz de timbó do Estado do Pará, para os Estados Unidos (HOMMA, 2007).

A quantidade de timbó beneficiada no país, em 1938, foi de 1.250 toneladas na forma de pó. Considerando o período de 1932 a 1940, as importações de *Derris* dos Estados Unidos aumentaram de 17 t para 1.460 t, ou seja, 84 vezes. A produção mundial de raiz de timbó cresceu de 2.973,7 t em 1938 para 5.402,6 t em 1940. As importações de *D. elliptica* representavam metade da oferta de rotenona nos Estados Unidos, antes da ocupação japonesa no Sudeste asiático (MOORE, 1943 e 1945).

A participação das importações dos Estados Unidos de plantas do gênero *Derris*, principalmente, da Malaia Inglesa, Índias Holandesas e Filipinas cresceram de 24% entre 1937 e 1938, para 43% em 1939 e atingiram 50% em 1940, em detrimento das importações da América do Sul. O programa de seleção efetuado pelas Índias Holandesas e Malaia aumentou o teor de rotenona em uma década de 1% a 2% para 10% a 12%, através de cuidadosa seleção e multiplicação de linhagens com maior produtividade em raízes e no teor de rotenona. A importação de raízes de timbó pelos Estados Unidos alcançou 3.632 t em 1941. Essas raízes deviam ter um teor mínimo de 5% de rotenona e 8% a 10% de umidade. Compensavam-se as raízes com teor de rotenona superior a 5% e não se aceitavam raízes com teor inferior a 3% (HOMMA, 2007).

Essa planta foi cultivada com grande êxito econômico antes da II Guerra Mundial até 1955, quando o seu cultivo foi decrescendo com o incremento da tecnologia de inseticidas e do aparecimento de novos produtos de fabricação sintética.

A partir da década de 1980, com a tendência a restringir o uso de agroquímicos retoma o interesse no uso de inseticidas orgânicos como o timbó (HOMMA, 2007).

O registro da extração do timbó no Anuário Estatístico do Brasil foi iniciado em 1938, registrando a quantidade máxima de 3.047 t de timbó em raiz, naquele ano. O estado do Pará, no período 1936-38, chegou a produzir mais de 3 mil toneladas de raízes pulverizadas de timbó. Até 1945, a quantidade se mantinha acima de 400 t para então decrescer abruptamente a partir de 1946. Os estados do Pará e Amazonas se destacaram como os maiores produtores no período 1938/1949. A partir de 1985 desapareceram as estatísticas sobre a extração do timbó no Anuário Estatístico do Brasil, destacando-se apenas o estado do Pará, como único produtor, encerrando com 25 toneladas (HOMMA, 2007).

A partir de 2001 começaram a ser registradas as importações de extrato de piretro e de raízes de rotenona, de forma agregada, cujo valor alcançou a cifra de mais de 108 mil dólares. A maior parte dessas importações é procedente do Peru e o restante do continente asiático e africano. O valor das importações sugere a importância de incentivar plantios de timbó para algumas comunidades selecionadas para atender determinados nichos de mercados (HOMMA, 2007).

O avanço do processo de fabricação do timbó em pó envolve o corte das raízes em pedaços, utilizando-se máquinas circulares, guilhotinas, ou mesmo facões. Seguiu-se a trituração em moinhos de martelos, passando o material triturado em uma peneira para retirar o material grosso que era novamente colocado no moinho, tendo o cuidado para que a temperatura não subisse a mais de 70°C. O pó era homogeneizado em peneira malha 200, analisando-se o conteúdo de rotenona e efetuada a mistura para obter um conteúdo homogêneo. Para a comercialização como inseticida o pó resultante era misturado com talco para formar uma mistura contendo 1% de rotenona ou menos. A

maior parte dos pós de comércio continha 0,75% a 1% de rotenona. Nessa proporção o pó era eficaz contra lagartas das couves, afídios das ervilhas e muitos outros vermes. Para matar as moscas, usavam-se extratos das raízes dissolvidas em safrol, álcool-fenóis ou outros dissolventes, misturados com querosene (HOMMA, 2007).

Pesquisas com timbós

No Brasil, logo após assumir a direção do Instituto Agrônomo do Norte (IAN), em abril de 1941, Felisberto Cardoso de Camargo, teve a atenção voltada para a pesquisa com timbó acreditando na possibilidade de grandes cultivos para a produção de inseticida na Amazônia (HOMMA, 2007).

As pesquisas com timbó tomaram grande impulso a partir de julho de 1947, quando o IAN preparou um extenso programa de pesquisa envolvendo coleta de amostras para análise, processo de secagem, métodos analíticos, estudo da rotenona e dos rotenóides, solubilidade, estabilidade e envelhecimento da rotenona, produtos da decomposição, industrialização, fermentação e economia industrial (RELATÓRIO IAN..., 1948 apud HOMMA, 2007).

A parte agrônômica também desenvolveu intensa atividade, sobretudo pela incorporação de Rubens Rodrigues Lima a partir de 1945 e que, no ano seguinte, passou a trabalhar com o timbó. Houve a montagem de um grande experimento com duas espécies de timbó (*D. urucu* e *D. nicou*), com quatro espaçamentos (1m, 2m, 3m e 4m) e cinco épocas de arranquio (1 a 5 anos), em uma área de um hectare. Além desse experimento, foram instalados outros dois, um para avaliar a utilização de timbó como adubo verde e outro visando o melhoramento da planta. O programa de melhoramento procurava produzir um híbrido interespecífico entre o timbó-macaquinho (*D. nicou*) que apresentava maior teor de rotenona, mas pouca produção de raízes e o timbó-urucu (*D.*

urucu) com maior produção de raízes e baixo teor de rotenona. O grande desafio é que o timbó-macaquinho não florescia e era importante induzir a floração (RELATÓRIO IAN ..., 1948 apud HOMMA, 2007).

Foi efetuado um esforço em ampliar o banco de germoplasma de timbó, que em 1947 passou a contar com nove espécies: *D. urucu* (Killip et Smith) Macbr, *D. nicou*, *D. floribundus* Benth, *D. diacolor* Huber, *D. spruceana* Benth, *D. amazonica* Killip, *D. rariflora* (Mart et Benth) Macbr, *D. pterocarpa* (D.C) Killip e *D. elliptica* Benth (HOMMA, 2007).

Outro experimento desenvolvido no IAN visava determinar se era mesmo a rotenona o princípio, que durante o manuseio das raízes de timbó, causava ataque das mucosas, irritação da pele e dores de cabeça nos laboratoristas, já que se suspeitava que algo volátil migrava com a água, ao secar o timbó (HOMMA, 2007).

Em janeiro de 1949, a equipe da Seção de Melhoramento de Plantas do IAN efetuou o arrancamento de ensaios de parcelas instaladas em 1947, de timbó-urucu e timbó-macaquinho, ambos com dois anos de idade. O teor de rotenona encontrado no timbó-urucu (*D. urucu*) foi de 11,36% e no timbó-macaquinho (*D. nicou*) de 11,57% (HOMMA, 2007).

Em novembro de 1953, o primeiro número da revista Norte Agrônomo, de responsabilidade dos estudantes da Escola de Agronomia da Amazônia, publicava um anúncio sobre o Tomboról, um sabão “*para combate a pulgas, carrapatos, sarnas, eczemas, feridas, e, em fim, todos os parasitos e dermatoses, assegurando a higiene e beleza aos animais*”, contendo timbó. O exemplar de dezembro de 1955 trazia um artigo do Prof. Hilkias Bernardo de Souza e do estudante Hélio Marinho Azevedo sobre “*Nova possibilidade de emprego do timbó como inseticida*” (SOUZA; AZEVEDO, 1955 apud HOMMA, 2007).

As pesquisas com timbó entraram em estado de esquecimento gradativo, destacando a publicação de dois extensos artigos na revista *Bragantia*, um em 1959 e outro em 1960 de autoria de Luís Otávio Teixeira Mendes. No primeiro artigo, publicado em dezembro de 1959, Teixeira Mendes efetuou uma avaliação de 253 plantas de timbó-urucu, separando plantas com maior teor de rotenona que atinge 11,2% e os mais pobres com 2,2% e a média de 6,07%. Em outro artigo, publicado em abril de 1960, efetuou a avaliação de 153 plantas de timbó-macaquinho, no qual separou 82 plantas com teores de rotenona inferiores a 5% e 71 plantas com teores superiores a 9% (HOMMA, 2007).

O interesse sobre o timbó veio renascer em janeiro de 1984, quase duas décadas e meia depois, quando o Chefe do Centro de Pesquisa Agropecuária do Trópico Úmido, Cristo Nascimento, convidou o Prof. Rubens Rodrigues Lima, já aposentado da Faculdade de Ciências Agrárias do Pará, para efetuar coleta de germoplasmas de plantas amazônicas de cultura pré-colombiana (LIMA; COSTA, 1991; COSTA, 1996).

A falta de continuidade das atividades de pesquisa constitui em grande preocupação para os programas de aproveitamento da biodiversidade na Amazônia. O discurso sobre a importância da biodiversidade da Amazônia não está combinando com a prática verificada (LIMA; COSTA, 1991 e 1997; COSTA, 1996).

É interessante mencionar que nas décadas de 1930 a 1940 as pesquisas agrônomicas e químicas com timbó tiveram um grande avanço, em Belém, no Instituto Agrônomico do Norte, no Peru, em Porto Rico e nas possessões britânicas e holandesas na Ásia. Toda essa memória técnica com relação a estas variedades foram perdidas, indicando que não somente a biodiversidade por descobrir corre risco de desaparecimento, mas também a biodiversidade do passado e do presente (HOMMA, 2007).

O interesse pela agricultura orgânica reacendeu a importância do timbó e de outras plantas que apresentam caráter inseticida. Dessa forma, nichos de mercado estão surgindo, como na piscicultura e na agricultura orgânica, com a importação desse produto do Peru, África e Ásia. O valor máximo importado em 2001, acima de 100 mil dólares serve de indicativo quanto ao potencial de mercado nacional, a curto prazo e como planta para recuperar de áreas degradadas (HOMMA, 2007).

Costa et al. (1986) estudaram o efeito do extrato aquoso das raízes de *D. urucu* no controle de piolhos (*Haematopinus tuberculatus*) em búfalos e verificaram que, quando aplicado por meio de pulverizações, o extrato foi eficiente, apresentando a mesma eficácia em uma amplitude de 0,25 a 2%, pelo menos até sete dias após a aplicação.

Segundo Lima (1987), há muitas espécies de timbó, mas as de uso mais generalizado na Amazônia são o timbó-urucu ou vermelho, *D. urucu* (Killip et Smith) Macbride e o timbó-macaquinho ou timbó-branco, *D. nicou* (Killip et Smith) Macbride. Existem diferentes características apresentadas por *D. urucu* e *D. nicou* quando cultivadas e com as quais essas espécies podem ser diferenciadas. A primeira espécie é mais rústica, apresentando florescimento e frutificação; enquanto a segunda não apresenta florescimento, mesmo quando tratada com fito-hormônios, ou quando tem o prolongamento do fotoperíodo com iluminação artificial. Em *D. urucu*, os ramos tomam-se escandentes, entrelaçam-se formando um teto compacto sobre o solo, protegendo-o da ação do sol, além das raízes apresentarem nodosidade resultantes da simbiose com a bactéria *Rhizohium*; já *D. nicou* conserva seus ramos eretos. Destaca-se, porém, que *D. urucu* produz maior quantidade de raízes que *D. nicou*, além de apresentar a possibilidade de ser melhorado geneticamente (LIMA, 1947).

De um modo geral, as raízes do timbó-macaquinho apresentam maior teor de rotenona do que as do urucu. Tanto para uma espécie como para a outra se encontram valores até 10% ou mais de rotenona, com maior frequência de resultados altos no timbó-macaquinho (LIMA, 1947).

A partir de ensaios com dosagens crescentes, foi avaliado o efeito do pó da raiz de *D. urucu* e *D. nicou* sobre populações de larvas de duas linhagens de *Musca domestica* L., provenientes de duas localidades do Estado de São Paulo, Jaboticabal (Jab) e Brodósqui (Bro). *D. urucu* foi mais eficiente que *D. nicou* no controle das duas linhagens, sendo necessário mais que o dobro da quantidade de *D. nicou* para se obter os mesmos efeitos causados com *D. urucu*. Foi demonstrada a existência de especificidade de ação dos timbós nas linhagens de moscas. *D. urucu* foi mais eficiente no controle da linhagem Bro, enquanto que *D. nicou* controlou maior número de indivíduos da linhagem Jab (COSTA; BELO; BARBOSA, 1997).

Azevedo et al. (2005) testaram o efeito de diversos produtos naturais para o controle de adultos de *B. tabaci* biótipo B na cultura do meloeiro (*Cucumis melo* L.), em condições de casa de vegetação e campo, e identificaram que o extrato de timbó foi mais eficiente no controle de adultos desses insetos no início do cultivo e para ninfas, no final do ciclo.

O extrato de *D. amazonica*, contendo 3,7% de rotenona, é tóxico para adultos de *Cerotoma arcuatus* (Coleoptera: Chrysomelidae), sendo que a via de ingestão de folhas contaminadas é a mais efetiva, seguida pelo contato com superfície contaminada e aplicação tópica. O extrato de *D. amazonica* inibe a alimentação de adultos de *C. arcuatus* a partir da concentração de 1%, independentemente do tipo de exposição do inseto a esse inseticida (ALÉCIO et al., 2010).

Objetivando avaliar a letalidade de *Lonchocarpus floribundus* (*Lonchocarpus = Deguelia*) a adultos de *C. tingomarianus* em condições de laboratório, foram realizados bioensaios testando diferentes concentrações do extrato de *L. floribundus* aplicadas por meio da intoxicação por ingestão de folhas contaminadas e aplicação tópica. Foi avaliada a mortalidade e o consumo foliar dos insetos remanescentes. O extrato de *L. floribundus*, apesar de apresentar baixa toxicidade para adultos de *C. tingomarianus*, reduziu a alimentação dos insetos a partir da concentração de 1% (m v⁻¹) pelas vias de ingestão de folhas contaminadas e aplicação tópica (ALÉCIO et al., 2011a).

No Laboratório de Entomologia da Embrapa Acre foram conduzidos bioensaios, objetivando avaliar a ação inseticida da rotenona sobre lagartas de *S. frugiperda*. Organizados em delineamento inteiramente casualizado, os tratamentos compostos por rotenona (Sigma Aldrich® ≥95% de pureza) diluída em acetona p. a. consistiram das concentrações de 0%, 1%, 2%, 4%, 6%, 8% e 10% m v⁻¹ aplicadas por meio das vias de intoxicação de superfície contaminada e aplicação tópica, bem como das concentrações 0%, 0,02%, 0,04%, 0,08%, 0,16%, 0,24%, 0,32% adicionadas à dieta alimentar de lagartas de *S. frugiperda*. A rotenona, por ter sido tóxica em diferentes concentrações pelas três formas de exposição testadas, principalmente por ingestão de dieta alimentar, apresenta-se como uma alternativa promissora para o manejo integrado de lagartas de *S. frugiperda* (ALÉCIO et al., 2011b).

Estudando a toxicidade dos extratos de *D. rariflora* e *D. floribunda* sobre *Tetranychus desertorum* (Acari: Tetranychidae) em folha de pimentão, foi verificado que a rotenona não estava presente nos extratos aquosos das espécies estudadas. Nos extratos acetônico e etanólico foi verificado um teor de rotenona de 4,5 e 4% para *D. floribunda* e 4,3 e 5% para *D. rariflora*, não diferindo entre si. *D. rariflora* foi mais tóxica para o ácaro quando comparada a *D. floribunda*. Entre os extratos, o etanólico foi

o mais tóxico seguido do aquoso e do acetônico. As concentrações de 20 e 30% causaram maior mortalidade. A menor CL₅₀ foi observada para o extrato etanólico de *D. rariflora*. A rotenona comercial não foi tóxica para *T. desertorum*, contudo, com exceção ao extrato aquoso e acetônico de *D. floribunda*, que não atingiram 50% de mortalidade, os demais foram promissores para o controle de *T. desertorum* em folhas de pimentão (CORRÊA, 2011).

2.3.3 Piperaceae

A família Piperaceae distribui-se pelas Américas, do México à Argentina (YUNCKER, 1972 e 1973; FIGUEIREDO; SAZIMA, 2000) e no Brasil está representada por cinco gêneros e aproximadamente 460 espécies (BARROSO, 1978). O gênero *Piper* L. inclui grande número de espécies de valor econômico indiscutível como condimentos, inseticidas, cosmético e medicinal, devido à produção de óleos essenciais (SILVA; MACHADO, 1999). Esse gênero é principalmente arbustivo e encontrado em áreas alteradas (RIBEIRO et al., 1999).

Piperaceae: Ervas eretas ou escandentes, subarbustos, arbustos ou pequenas árvores, terrestres ou epífitas. Folhas estipuladas, alternas, opostas ou verticiladas, sésseis ou pecioladas, inteiras, de consistência e formas as mais diversas, tricomas muito variados, geralmente dotadas de glândulas translúcidas. Flores aclamídeas, diminutas, monoclinas ou diclinas, protegidas por bractéolas pediceladas ou sésseis, sacadogaleadas ou peltadas, dispostas esparsas ou congestas em espigas, formando umbelas ou não, ou dispostas em racemos, axilares ou terminais, opostos ou não às folhas. Estames 2-6, livres ou adnatos às paredes do ovário; anteras rimosas, bitecas ou unitecas. Ovário súpero, séssil, geralmente imerso na raque, ou pedicelado, unilocular, uniovulado; óvulo basal, ortótropo; estilete presente ou ausente, 1-4 estigmas variáveis

na forma. Fruto drupa, séssil ou pedicelado. Endosperma escasso, apresentando perisperma; embrião mínimo (GUIMARÃES; GIORDANO, 2004).

O interesse na identificação de novos compostos em espécies do gênero *Piper* intensificou-se devido à detecção de diversas substâncias biologicamente ativas. Esse gênero caracteriza-se pela produção de classes típicas de compostos, tais como amidas, ácidos benzóicos, lignanas e alcalóides (LAGO et al., 2004). A piperina foi a primeira amida a ser isolada de espécies de *Piper*, a qual tem maior atividade inseticida do que as piretrinas (PARMAR et al., 1997 apud ESTRELA et al., 2003).

2.3.3.1 Bioatividade de *Piper aduncum* L. (pimenta-de-macaco) sobre insetos

Piper aduncum: Arbusto ou arvoreta até 8 m de altura, muito nodoso. Folhas com pecíolo de 0,3-0,8 cm compr., lâmina elíptica, ovado-elíptica ou ovado-lanceolada, 10-15(-23) x 4-7 cm, base assimétrica, arredondado-cordada, ápice agudo ou acuminado, escabrosa, áspera ao tato em ambas as faces, glandulosa; nervuras secundárias 6-8, dispostas até ou pouco acima da porção mediana. Espigas curvas, 7-14 cm compr., 0,2-0,3 cm diâm.; pedúnculo 1-2 cm compr., pubescente; bractéolas triangular subpeltadas, margem franjada. Estames 4. Drupa obovóide, tri- ou tetragonal, glabra, 3 estigmas sésseis. Distribuição geográfica: América Central, Antilhas e América do Sul. No Brasil, nos estados do Amazonas, Amapá, Pará, Mato Grosso, Ceará, Bahia, Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo e Paraná (GUIMARÃES; GIORDANO, 2004).

Segundo Ribeiro et al. (1999), a pimenta-de-macaco, *P. aduncum* é uma espécie muito comum, encontrada também nas áreas alteradas na cidade de Manaus/AM. É facilmente reconhecida pelos ramos avermelhados (principalmente nos nós e próximo deles), pela pubescência áspera e, principalmente, pelas veias secundárias paralelas.

P. aduncum é uma planta de interesse econômico para a Amazônia e que pode ser usada no controle de pragas (MAIA et al., 1998). Vários estudos têm demonstrado que essa planta, além da importância medicinal, como anti-inflamatório, anti-hemorrágico, adstringente, diurético e outros, também apresenta atividade inseticida, bactericida e fungicida (CORREA; PENNA, 1984; MAIA et al., 1998; VERAS; YUYAMA, 2000; MORANDIM et al., 2003; FIGUEIRA et al., 2003; BASTOS et al., 2003).

Entre as piperáceas da Amazônia, a pimenta-de-macaco é uma excelente produtora de óleo essencial, o qual possui alto teor de éter fenílico dilapiol (MAIA, et al., 1998). A análise cromatográfica (FID) dos óleos essenciais apontou, como componente majoritário, o dilapiol (73,97%) (FAZOLIN et al., 2007).

Bernard et al. (1995) compararam o extrato alcoólico de folhas de 16 espécies de *Piper*, apontando *P. aduncum* como a de maior atividade inseticida para larvas de segundo ínstar de *Aedes atropalpus*. Nesse ensaio, o extrato aquoso de plantas frescas de *P. aduncum* aplicado diretamente na água, na concentração de 10 ppm, causou mortalidade de 50% das larvas. Já o dilapiol isolado e purificado, apresentou, nas mesmas condições experimentais, 92% de eficiência no controle das larvas na concentração de 1 ppm.

Fazolin et al. (2005) obtiveram resultados promissores utilizando o óleo essencial de *P. aduncum* no controle de *Ceratomyza tingomarianus* (Coleoptera: Chrysomelidae), importante desfolhador de leguminosas da Amazônia. Nesse estudo, foi avaliada a intoxicação por contato, sendo que por superfície contaminada o valor da concentração letal (CL₅₀) foi de 0,003 ml de óleo·cm⁻² e por aplicação tópica a dose letal (DL₅₀) foi de 0,002 mL de óleo·mg de inseto⁻¹. Apresentou toxicidade para adultos

de *C. tingomarianus* em concentrações a partir de 0,04% por ação de contato em superfície contaminada e a partir de 4,1% por aplicação tópica.

Os óleos essenciais de *P. hispidinervum* e *P. aduncum* apresentam efeito inseticida em *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) e sua eficácia é dependente da via de intoxicação e da concentração do óleo aplicado, sendo *P. hispidinervum* mais eficaz por contato em superfície contaminada e *P. aduncum* por fumigação e contato por aplicação tópica (ESTRELA et al., 2006).

Concentrações do óleo essencial de *P. aduncum* a 2,5%, 5%, 7,5 e 10% (v·v⁻¹) promoveram mortalidade acima de 80% de larvas de *Tenebrio molitor* expostas por contato em superfície contaminada. Na avaliação do efeito da aplicação tópica, as concentrações a 2,5%, 5,0%, 7,5% e 10% (v·v⁻¹) promoveram mortalidade acima de 80%, sendo que nas concentrações de 7,5% e 10% foi letal para a totalidade dos insetos (FAZOLIN et al., 2007).

Silva et al. (2007c) observaram que no intervalo de 48 h, na concentração de 30 mg·ml⁻¹, os extratos de folhas e de raízes de *P. aduncum* causaram a mortalidade de 72% e 80%, respectivamente, sobre *Aetalion* sp. (Hemiptera: Aetalionidae).

2.3.3.2 Bioatividade *Piper hispidinervum* C. DC. (pimenta longa) sobre insetos

Piper hispidinervum, conhecida como pimenta-longa, é uma planta pioneira, encontrada naturalmente como vegetação secundária nos campos de pastagens no estado do Acre (Rocha Neto et al., 1999). É rica em safrol, componente químico aromático, que é empregado como matéria prima na manufatura de heliotropina, importante fixador de fragrâncias, e butóxido de piperonila, agente sinérgico de inseticidas naturais (PIMENTEL; PEREIRA; OLIVEIRA, 1998).

O interesse por essa planta foi despertado por parte das indústrias de cosméticos e inseticidas devido ao safrol obtido do óleo essencial extraído de suas folhas e ramos finos (WADT, 2001).

Foram identificadas três espécies de *Piper*: *P. hispidinervum*, *P. hispidum* e *P. aduncum*, com médias de teores de safrol (%) de 93,24; 0,14; 0,57 respectivamente (SILVA; OLIVEIRA, 2000).

Resultados constataram que o óleo essencial de pimenta-longa, *P. hispidinervum*, possui atividade inseticida sobre *S. frugiperda*, causando redução alimentar e mortalidade, sendo o safrol (82%) seu constituinte majoritário. Verificou-se, no teste de ingestão, $CL_{50} = 16,2$ mg/mL para lagartas de 1º ínstar e $CL_{50} = 9,4$ mg/mL para lagartas de 3º instar, com redução alimentar $CL_{50} = 0,72$ mg/mL. No teste de toxicidade aguda, por meio de contato tópico, constatou-se $DL_{50} = 277,91$ µg/lagarta, após o intervalo de tempo de 96 horas, sendo também observados sintomas de neurotoxicidade, como o efeito *knock-down* (LIMA et al., 2009).

2.3.3.3 Bioatividade de *Piper hispidum* Sw. (jaborandi ou falso-jaborandi) sobre insetos

Piper hispidum Sw. var. *hispidum*: Arbusto com 2-4 m de altura, com tricomas escabrosos nos ramos. Folhas com pecíolo de 0,5-1 cm compr., hispido, bainha basal; lâmina elíptica ou ovado-elíptica, 10-16 x 5-8 cm, base assimétrica, um dos lados arredondados e diferindo do outro em ca. 3-5 cm compr., quando simétrica aguda, ápice acuminado, cartáceas, escabrosas ou hípidas na face adaxial e hirsutas na abaxial, profundamente glandulosas; nervuras secundárias 4-5, ascendentes, dispostas abaixo ou pouco acima da porção mediana da lâmina. Espigas eretas, 8-14 cm compr.; pedúnculo até 1 cm compr., hirtelo; bractéolas triangularpeltadas e franjadas na margem. Estames

4. Drupas oblongas ou lateralmente comprimidas, papiloso-puberulentas no ápice, com 3 estigmas persistentes sésseis. Distribuição geográfica: América Central, Antilhas e América do Sul. No Brasil, nos estados do Amazonas, Pará, Ceará, Pernambuco, Bahia, Rio de Janeiro, Paraná, Santa Catarina e Mato Grosso (GUIMARÃES; GIORDANO, 2004).

Piper hispidum var. *trachydermum*: Essa variedade distingue-se da típica pela presença de tricomas nos ramos curtos, vigorosos, acima curvados e mais ou menos adpressos, segundo análise de material de outros estados brasileiros (YUNCKER, 1972 apud GUIMARÃES; GIORDANO, 2004). Distribuição geográfica: Panamá e Brasil, nos estados do Amazonas, Amapá, Pará, Ceará, Alagoas, Bahia, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo e Paraná (GUIMARÃES; GIORDANO, 2004).

É conhecida como jaborandi ou falso-jaborandi, possui amidas de ação anti-fúngica e é utilizada popularmente no combate a afecções da pele e cabelos (NAVICKIENE et al., 2000).

Potzernheim, Bizzo e Vieira (2006) identificaram 26 compostos no óleo essencial de *P. hispidum*, sendo que, destes, 23,0% são monoterpenos não oxigenados; 11,0% monoterpenos oxigenados; 15,4% sesquiterpenos não oxigenados e 34,6% sesquiterpenos oxigenados. Os constituintes encontrados em maior quantidade foram: β -pineno (19,7%), α -pineno (9,0%), δ -3 careno (7,4%), α -cadinol (6,9%) e espatulenol (6,2%).

Foi avaliado o potencial inseticida do extrato acetônico das folhas de *P. hispidum* sobre a broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) em aplicação tópica, superfície contaminada e efeito de repelência. Adotaram-se as diluições de 25,0; 5,0; 0,1; 0,02; 0,004 e 0,0008 mg mL⁻¹ para exposição em superfície contaminada e aplicação tópica. No teste de repelência, utilizou-se a diluição 0,5 mg mL⁻¹ do extrato.

As avaliações foram realizadas nas 48 horas após a exposição ao extrato. Na exposição em superfície contaminada, obteve-se 100% de mortalidade, na diluição 25,0 mg mL⁻¹, e de 50 a 80% nas diluições 0,004 a 5,0 mg mL⁻¹, enquanto 0,0008 mg mL⁻¹ e o controle resultaram em apenas 5% de mortalidade. Na aplicação tópica, atingiu-se 60 a 65% de mortalidade, com as diluições de 0,1 a 25,0 mg mL⁻¹. As diluições de 0,2 a 0,0008 mg mL⁻¹ não diferiram do controle. Os índices de repelência foram inferiores ao valor mínimo preconizado na literatura para se considerar uma substância como repelente. Este estudo evidencia a atividade inseticida do extrato de folhas de *P. hispidum* sobre *H. hampei*, o que sugere seu potencial no controle deste inseto (SANTOS et al., 2010).

Ainda são poucos os trabalhos envolvendo *P. hispidum* no controle de insetos.

2.3.3.4 Bioatividade de *Piper peltatum* L. (caapeba) sobre ácaros

Piper peltatum: Arbusto alcançando 2 m de altura. Folhas peltadas, pecíolo 9-20 cm compr., glabro, bainha alada; lâmina ovado-cordada ou arredondado-cordada, 12-25 x 12-25 cm, base aguda, ápice acuminado, provida de pontos translúcidos, palmatiforme; nervuras 13-15 pares. Espigas 5-10 cm compr., cada uma apresentando pedúnculo com 1-1,5 cm compr., dispostas em pedúnculo comum, 4-7 cm compr., glabro; bractéolas peltadas, fimbriadas na margem. Drupa obpiramidal-trigonal. Distribuição geográfica: América Central, Antilhas e América do Sul. No Brasil, ocorre nos estados do Amazonas, Pará, Maranhão, Ceará e Mato Grosso (GUIMARÃES; GIORDANO, 2004).

Essa planta é conhecida na Amazônia como caapeba-do-norte, capeba-verdadeira, capeba-branca; as folhas frescas são úteis para as dores hepáticas; quando cozidas e moídas são emolientes e empregadas como cataplasmas sobre tumores;

importante ainda no tratamento do herpes e erupções cutâneas; quando maceradas com azeite são aplicadas sobre ventre inflamado (BRAGA, 1953; VAN DEN BERG, 1993 apud GUIMARÃES; GIORDANO, 2004).

Avaliando o efeito ovicida de extratos aquosos de folha e de inflorescência de *P. peltatum* sobre ovos de *Tetranychus mexicanus* (Acari: Tetranychidae), extratos nas concentrações de 0, 5, 10, 20 e 30% (massa/volume) foram aplicados com aerógrafo de precisão sobre a superfície abaxial de um disco de folha de mamoeiro (33 mm Ø), contendo em média 17 ovos de *T. mexicanus* com 0 a 8 h de idade. Adicionalmente, como comparação, foi utilizado Espirodiclofeno (Envidor®) na concentração de 25 mL/100 L de água, conforme recomendação do fabricante para controle desse ácaro na cultura de citros. A avaliação foi feita observando-se o número de ovos inviáveis (mortalidade) em até seis dias. A mortalidade no controle foi de 4,8%, não diferenciando da obtida com folhas e inflorescência a 5%, que foram de 9,0 e 9,7%, respectivamente. Entre os extratos, as maiores mortalidades foram obtidas com inflorescência a 20 e 30% e folha a 30, 67,0, 50,7 e 54,8%, respectivamente, porém nenhuma causou mortalidade semelhante ao Espirodiclofeno que proporcionou 100% de mortalidade. A CL₅₀ foi de 16,6 e 28,4% para os extratos de inflorescência e folha, respectivamente. Estudos com diferentes extratores devem ser conduzidos a fim de potencializar a extração do princípio ativo com ação acaricida (HOFFMANN et al., 2010).

Ainda são poucos os trabalhos envolvendo *P. peltatum* no controle de insetos.

2.3.4 Rubiaceae

2.3.4.1 Bioatividade de *Palicourea marcgravii* ST. Hil sobre insetos

P. marcgravii, conhecida como erva-de-rato, contém ácido monofluoracético e é a planta tóxica mais importante do Brasil, ocasionando perdas severas em quase todo o país, exceto na região Sul (HARAGUCHI, 2003).

Investigando o potencial inseticida do extrato dessa planta sobre o pulgão-preto-dos-citros *Toxoptera citricida* (Hemiptera: Aphididae), extratos liofilizados foram pulverizados sobre plantas de citros contendo pulgões em cinco concentrações (10mg/ml, 20mg/ml, 30mg/ml, 40mg/ml e 50mg/ml). Todas as concentrações analisadas causaram mortalidade dos pulgões superior a 50%, sendo que a maior concentração causou a mortalidade de todos os insetos. O potencial desses extratos demonstrado no experimento coloca os mesmos como uma alternativa ao uso de inseticidas sintéticos no controle do pulgão-preto-dos-citros (GONZAGA et al., 2008).

O extrato de raízes de *P. marcgravii* apresentou maior toxicidade ($CL_{50} = 12,4$ mg/ml) do que o extrato de folhas ($CL_{50} = 39,9$ mg/ml). Os extratos dessa planta foram tóxicos para adultos de *Aetalion* sp. (Hemiptera: Aetalionidae), expostos à aplicação tópica (SILVA et al., 2009).

Ainda são poucos os trabalhos envolvendo *P. marcgravii* no controle de insetos.

2.3.5 Annonaceae

As anonáceas compreendem um grande número de gêneros e espécies, a maioria nativa das regiões tropicais ou subtropicais, que apresentam interesse como frutíferas comerciais, sendo cultivadas em vários países (FERREIRA et al., 2009).

Espécies da família Annonaceae são usadas na medicina popular para várias finalidades, tais como antitumoral, antidiarreica, inseticida e antiparasitária (COSTA et al., 2006; ALALI; LIU; MCLAUGHLIN, 1999).

2.3.5.1 Bioatividade de *Rollinia mucosa* (Jacq.) Baill) (biribá).

A Amazônia destaca-se por apresentar inúmeras espécies frutíferas, entre as quais o biribazeiro, *R. mucosa*, que tem o Brasil como centro de origem, sendo nativa das matas Atlântica e Amazônica e que se desenvolve bem nos diferentes habitats (FERREIRA et al., 2009).

O biribazeiro é uma planta que pode atingir altura média de 8 m (SIMÃO, 1998) e seu fruto, quando maduro, é de coloração amarela, globoso, composto por diversas partes hexagonais, muito unidas, dando um aspecto característico; sua polpa varia de esbranquiçada a creme, com muitas sementes de cor escura; possui um aroma agradável, podendo pesar até 1,3 kg (LORENZI, 1998). Os frutos têm grande aceitação popular, sendo consumidos *in natura*. Devido à sua ampla dispersão geográfica, o fruto é conhecido como: biribá, biribá-do-pará, fruta-da-condessa, biribá-de-pernambuco, pinha, anona e jaca-de-pobre (COSTA; MULLER, 1995).

Os resultados dos estudos fitoquímicos de *R. mucosa* confirmaram o potencial alcaloídico do gênero *Rollinia* contribuindo para o conhecimento quimiotaxonômico da família, confirmando a unidade bioquímica do gênero, uma vez que esses alcalóides já foram isolados anteriormente de outras espécies de *Rollinia* (SANTOS et al., 2009a).

Na avaliação da atividade dos extratos hexânico, diclorometânico e metanólico de folhas de *R. mucosa*, contra larvas de terceiro estágio de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae), foi verificado que dos três extratos testados apenas o extrato diclorometânico revelou atividade, com uma taxa de 86% de mortalidade em 24 horas, e 100% de mortalidade em 48 e 72 horas (SANTOS et al., 2009b).

Ainda são poucos os trabalhos envolvendo *R. mucosa* no controle de insetos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local de Estudo

Os bioensaios foram realizados no Laboratório de Entomologia e Acarologia Agrícola (LEA)/Faculdade de Ciências Agrárias (FCA), da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus/AM, com a temperatura e umidade relativa monitoradas com auxílio de um termohigrógrafo ($29,10 \pm 0,15^\circ\text{C}$; $68,44 \pm 0,75\% \text{UR}$). Estes estudos envolveram a mosca-negra-dos-citros, *Aleurocanthus woglumi* Ashby e o uso de extratos de plantas com potencial inseticida.

Os extratos brutos foram preparados no Laboratório de Química e Biomoléculas da Amazônia/ICE/UFAM e as análises químicas foram realizadas no Laboratório de Cromatografia/Instituto de Ciências Exatas (ICE).

3.2 Obtenção da mosca-negra-dos-citros, *A. woglumi*, e das plantas hospedeiras

Os insetos adultos de *A. woglumi* foram coletados no Setor de Produção da FCA/UFAM ($03^\circ 05' 93''\text{S}$; $59^\circ 58' 79''\text{W}$) para os pré-testes; e em pomar comercial localizado na Rodovia BR-174, Km 15, Fazenda Brejo do Matão, Manaus/AM ($02^\circ 51' 08''\text{S}$; $59^\circ 02' 13''\text{W}$) e na Fazenda Progresso, Rio Preto da Eva/AM ($02^\circ 42' 57''\text{S}$; $59^\circ 26' 38''\text{W}$) para os demais bioensaios.

A coleta dos adultos foi feita em plantas de *Citrus* spp. com auxílio de aspirador e/ou sacos plásticos de 2 kg e em seguida foram postos em gaiolas (*voil* e arame galvanizado: 30 cm de comprimento e 12 cm de diâmetro) em ramos de limão 'Cravo', *Citrus limonia*, de aproximadamente 7 meses de idade. Passadas 24 horas todos os insetos foram retirados da gaiola com o objetivo de uniformizar a postura.

Quando a maioria das ninfas atingiu o segundo estágio, foram retiradas aquelas em excesso, deixando apenas as que seriam efetivamente utilizadas no experimento.

Quanto aos ovos, estes foram pulverizados no décimo dia do desenvolvimento embrionário.

As mudas de limão ‘Cravo’ foram obtidas em viveiro certificado localizado na Rodovia AM-010, Km 25, Manaus/AM, em sacos de 3 kg e tendo como substrato fibra de coco (AMAFIBRA (FIBROSO 40[®]).

Os espécimes *voucher* de *A. woglumi* foram depositados na coleção do Laboratório de Entomologia e Acarologia Agrícola (LEA).

3.3 Obtenção das plantas inseticidas

As plantas com potencial inseticida foram obtidas na Região Metropolitana de Manaus/AM, incluindo o Campus da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), comunidades rurais adjacentes a Manaus e Embrapa Amazônia Ocidental; Campus da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz da Universidade de São Paulo (ESALQ/USP), Piracicaba/SP; Embrapa Acre e material cedido por empresa privada (Baraúana Indústria e Comércio Ltda), Catanduva/SP.

Foram utilizadas diferentes estruturas como folhas, ramos, amêndoas e raízes de espécies de plantas com potencial inseticida. Para representantes da família Meliaceae: folhas, ramos e amêndoas de *Azadirachta indica* A. Juss. (nim); folhas, ramos e frutos de *Melia azedarach* L. (cinamomo); folhas e ramos de *Toona ciliata* M. Roem (cedro-australiano), *Trichilia pallida* Swartz (baga-de-morcego ou catiguá), *T. pallens* C. DC, *Carapa guianensis* Aubl. (andiroba) e *C. procera* D.C. (andirobinha). Em relação às espécies da família Piperaceae utilizou-se: folhas e inflorescências de *Piper aduncum* L. (pimenta-de-macaco), *P. hispidum* SW (jaborandi ou falso-jaborandi), *P. peltatum* L. (caapeba); folhas e ramos de *P. hispidinervum* C. DC. (pimenta longa). Para a família Fabaceae usou-se: ecótipos das raízes dos timbós C e E (*Derris floribunda*) (Benth)

Ducke; e J, G, P e O (*D. rariflora*) (Mart. ExBenth) I. F-Macbr. Para a família Rubiaceae: folhas de *Palicourea marcgravii* ST. Hil (erva-de-rato). Quanto a família Annonaceae usou-se folhas e sementes de *Rollinia mucosa* (Jacq.) Baill) (biribá), conforme consta na Tabela 2.

Tabela 2 – Dados de coleta das espécies de plantas com potencial inseticida utilizadas nos bioensaios.

Estrutura/espécie botânica	Data de coleta	Local de Coleta	Coordenadas
Pré-Teste (Atividades ovicida e ninficida)			
Folhas de <i>Azadirachta indica</i> A. Juss.	01/09/2008	Campus ESALQ/USP-Piracicaba/SP	22°42'45''S; 47°37'42''W
Folhas de <i>Trichilia pallida</i> Swartz	10/09/2008	Campus ESALQ/USP-Piracicaba/SP	22°42'44''S; 47°37'36''W
Folhas de <i>Melia azedarach</i> L.	20/09/2008	Campus ESALQ/USP-Piracicaba/SP	22°42'45''S; 47°37'42''W
Folhas de <i>Palicourea marcgravii</i> ST. Hil	21/01/2009	Ramal do Pau Rosa (BR 174, Km 21/AM)	02°45'77''S; 60°08'33''W
Raízes de Timbó ecótipo P (<i>Derris rariflora</i> (Mart. ExBenth) I. F-Macbr)	28/01/2009	UFAM-Mini Campus – Manaus/AM	03°06'04''S; 59°58'84''W
Folhas de <i>Piper aduncum</i> L.	02/02/2009	UFAM-Mini Campus – Manaus/AM	03°05'86''S; 59°58'84''W
Folhas de <i>Piper hispidum</i> SW	02/02/2009	UFAM-Mini Campus – Manaus/AM	03°05'90''S; 59°58'80''W
			03°05'86''S; 59°58'84''W
Inflorescências de <i>P. aduncum</i>	02/02/2009	UFAM-Mini Campus e ICHL– Manaus/AM	03°05'25''S; 59°58'12''W
Screening aquoso			
Folhas e ramos de <i>Trichilia pallens</i> C. DC.	06/04/2007	Sapopema/PR	-----
Amêndoas de <i>A. indica</i>	01/08/2008	Catanduva/SP	-----
Folhas e ramos de <i>T. pallida</i>	10/09/2008	Campus ESALQ/USP-Piracicaba/SP	22°42'44''S; 47°37'36''W
Folhas de <i>M. azedarach</i>	20/09/2008	Campus ESALQ/USP-Piracicaba/SP	22°42'45''S; 47°37'42''W
Raízes de Timbó ecótipo C (<i>Derris floribunda</i>) (Benth) Ducke)	14/01/2009	C.N.Sr ^a do Livramento/AM*	03°01'62''S; 60°11'23''W
Raízes de Timbó ecótipo E (<i>D. floribunda</i>)	14/01/2009	C.N.Sr ^a do Livramento/AM*	03°01'62''S; 60°11'23''W
Raízes de Timbó ecótipo G (<i>D. rariflora</i>)	14/01/2009	C.N.Sr ^a do Livramento/AM*	03°01'620''S; 60°11'23''W
Raízes de Timbó ecótipo J (<i>D. rariflora</i>)	21/01/2009	Ramal do Pau Rosa (BR 174, Km 21/AM)	02°48'21''S; 60°04'89''W
Raízes de Timbó ecótipo O (<i>D. rariflora</i>)	28/01/2009	UFAM-Mini Campus- Manaus/AM	03°05'92''S; 59°59'02''W
Raízes de Timbó ecótipo P (<i>D. rariflora</i>)	28/01/2009	UFAM-Mini Campus- Manaus/AM	03°06'04''S; 59°58'84''W
Folhas e ramos de <i>Carapa procera</i> D.C.	15/09/2009	Embrapa Amazônia Ocidental/AM	-----
Folhas e ramos de <i>C. guianensis</i> Aubl.	15/10/2009	Embrapa Amazônia Ocidental/AM	-----
Folhas e inflorescências de <i>P. peltatum</i> L.	01/03/2010	UFAM-Mini Campus- Manaus/AM	03°05'86''S; 59°58'84''W
Folhas e ramos de <i>A. indica</i>	16/04/2010	Campus ESALQ/USP-Piracicaba/SP	22°42'45''S; 47°37'42''W
Ramos e frutos de <i>M. azedarach</i>	10/05/2010	Campus ESALQ/USP-Piracicaba/SP	22°42'45''S; 47°37'42''W
Folhas e ramos de <i>Toona ciliata</i> M. Roem	12/05/2010	Campus ESALQ/USP-Piracicaba/SP	22°42'45''S; 47°37'42''W

Folhas de <i>P. aduncum</i>	17/06/2010	UFAM-Mini Campus- Manaus/AM	03°05'862"S; 59°58'84"W
Folhas de <i>P. hispidum</i>	07/08/2010	UFAM-Mini Campus- Manaus/AM	03°05'86"S; 59°58'84"W
Inflorescências de <i>P. hispidum</i>	09/08/2010	UFAM-Mini Campus- Manaus/AM	03°05'862"S; 59°58'84"W
Inflorescências de <i>P. aduncum</i>	12/08/2010	UFAM-Mini Campus- Manaus/AM	03°05'862"S; 59°58'84"W
Folhas de <i>Rollinia mucosa</i> (Jacq.) Baill)	17/08/2010	UFAM-Mini Campus- Manaus/AM	-----
Folhas e ramos de <i>P. hispidinervum</i> C. DC	01/09/2010	Embrapa Acre- Rio Branco/AC	UTM/19L - 0641921/8891335
Sementes de <i>R. mucosa</i>	17/04/2011	BR-174, Km 08/AM	-----

CL50 (aquoso)

Amêndoas de <i>A.indica</i>	01/08/2008	Catanduva/SP	-----
Folhas de <i>A. indica</i>	16/04/2010	Campus ESALQ/USP-Piracicaba/SP	22°42'45"S; 47°37'42"W
Folhas de <i>Toona ciliata</i>	12/05/2010	Campus ESALQ/USP-Piracicaba/SP	22°42'45"S; 47°37'42"W

Bioensaios (extratos orgânicos)

Raízes de Timbó ecótipo C (<i>D. floribunda</i>)	14/01/2009	C.N.Sr ^a do Livramento/AM	03°01'62"S; 60°11'23"W
Amêndoas de <i>A.indica</i>	01/08/2008	Catanduva/SP	-----
Folhas de <i>M. azedarach</i>	20/09/2008	Campus ESALQ/USP-Piracicaba/SP	22°42'45"S; 47°37'42"W

*C.N.Sr^a do Livramento/AM (Comunidade Nossa Senhora do Livramento)

Os materiais vegetais foram acondicionados em sacos plásticos escuros devidamente etiquetados, contendo o nome do coletor, data, local de coleta e coordenadas geográficas obtidas com auxílio de GPS, e encaminhados ao Laboratório de Entomologia e Acarologia Agrícola da UFAM ou ao Laboratório de Resistência de Plantas e Plantas Inseticidas da ESALQ/USP, para processamento.

Foram preparadas exsiccatas do material vegetal e enviadas ao Herbário do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) para identificação. As exsiccatas foram depositadas no Herbário da UFAM.

As folhas, ramos, sementes ou raízes das plantas (de acordo com cada espécie) foram coletadas e secas em estufa de circulação de ar forçada (40°C, por 48 h para folhas, 72 h para ramos e raízes e 96 h para amêndoas). Após secagem foram trituradas em moinho de facas.

3.4 Obtenção dos extratos

3.4.1 Extratos aquosos

Para a avaliação das plantas inseticidas foram preparados extratos aquosos simples. O material vegetal moído (2,46 g) foi macerado em água destilada (100 mL) por 24 h e filtrado em papel filtro para uso imediato. Dessa solução aquosa foram realizados os testes biológicos (seleção das plantas inseticidas promissoras - *screening*). A título de obter os rendimentos, esse material foi filtrado em papel filtro e armazenado sob refrigeração (-20°C) e em seguida acondicionada no liofilizador.

Adicionalmente, o material vegetal moído (12,0 e 97,8 g) dos timbós C (*D. floribunda*) e J (*D. rariflora*) respectivamente, foi macerado em água por 96 h, sendo posteriormente filtrado em papel de filtro. Adicionou-se mais água à torta,

permanecendo por 48 h, e em seguida o solvente foi filtrado. Após a filtração, estes foram liofilizados.

Para o timbó O (*D. rariflora*) foi usado o processo de maceração. O material vegetal moído (200,9 g) foi macerado em água por 96 h, sendo posteriormente filtrado em papel de filtro. Adicionou-se mais água à torta, permanecendo por 48 h, e em seguida o solvente foi filtrado. Após a filtração, o material foi liofilizado. Posteriormente esses extratos foram submetidos à análise em cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de diodos (CLAE-DAD).

3.4.2 Extratos brutos

Os extratos de cada espécie vegetal: raízes de timbó C (*D. floribunda*), amêndoas de *A. indica* e folhas de *M. azedarach* foram obtidos por maceração a frio (Figura 1). O material vegetal moído foi acondicionado em reservatório com capacidade para 5 L e submetido a extrações sucessivas com solventes em ordem crescente de polaridade hexano (HEX), diclorometano (DCM) e metanol (MeOH), permanecendo por 24 h. Após esse período, o solvente foi filtrado em papel filtro e em seguida concentrado em evaporador rotativo a 40°C, sob pressão reduzida, resultando em três extratos HEX, DCM e MeOH.

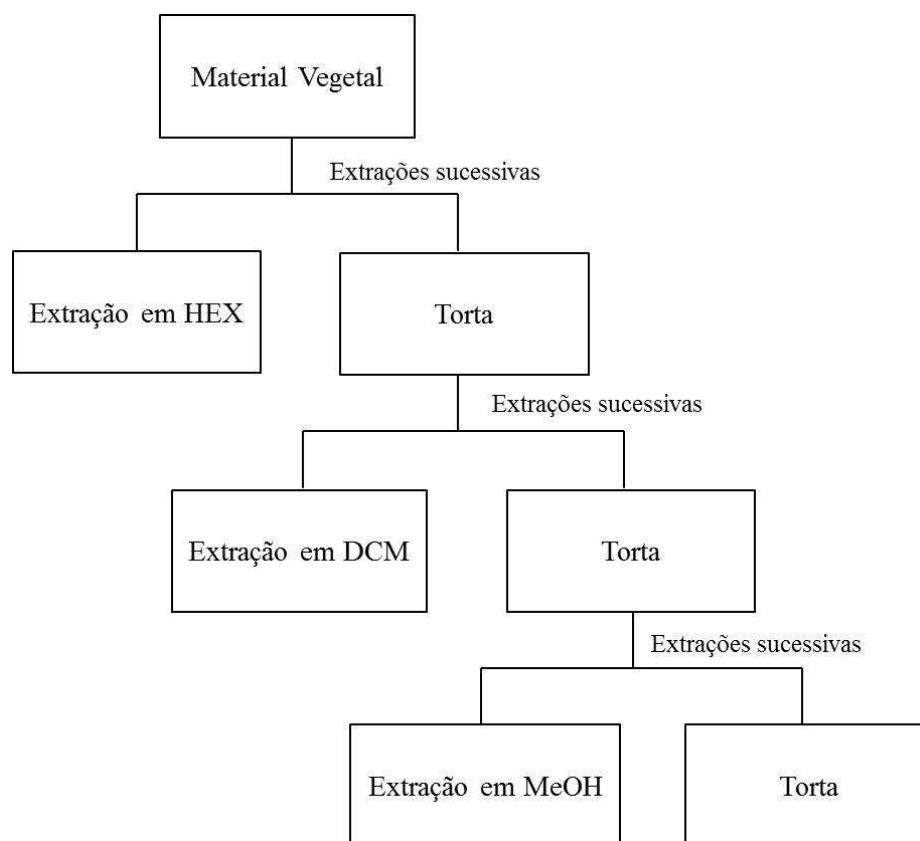


Figura 1. Fluxograma do processo de maceração das raízes de timbó C (*D. floribunda*), amêndoas de *A. indica* e folhas de *M. azedarach* em hexano (HEX), diclorometano (DCM) e metanol (MeOH)

3.5 Obtenção de Frações

As frações foram obtidas a partir dos extratos brutos pelos métodos de extração:

- a) com metanol do extrato hexano;
- b) extração líquido-líquido;
- c) por fracionamento cromatográfico.

Os procedimentos serão detalhados nos itens a seguir.

3.5.1 Extração com metanol do extrato hexano

Foram pesados os extratos hexano das raízes de timbó C (*D. floribunda*), amêndoas de *A. indica* e folhas de *M. azedarach* (1,0040; 1,0046 e 1,0057 g), respectivamente. Foram adicionados 20 mL de MeOH em cada extrato. A solução

permaneceu em repouso por 24 h. Após esse período foi separada a fase solúvel do precipitado. Foram realizados bioensaios, cromatografia em camada delgada (CCD) e cromatografia gasosa de alta resolução acoplada a espectrômetro de massas (CGAR-EM).

3.5.2 Extração líquido-líquido

Foram pesados os extratos metanol das raízes de timbó C (*D. floribunda*), amêndoas de *A. indica* e folhas de *M. azedarach* (5,0388; 5,0691e 5,0729g), respectivamente e adicionados em MeOH 80%, colocadas em funil de separação iniciando-se assim a partição líquido-líquido com 150 mL de HEX (3X). Após a extração dos compostos apolares continuou-se a extração líquido - líquido diluindo a solução metanol a 60% e extraíndo com 150 mL de diclorometano (3X) (Figura 2).

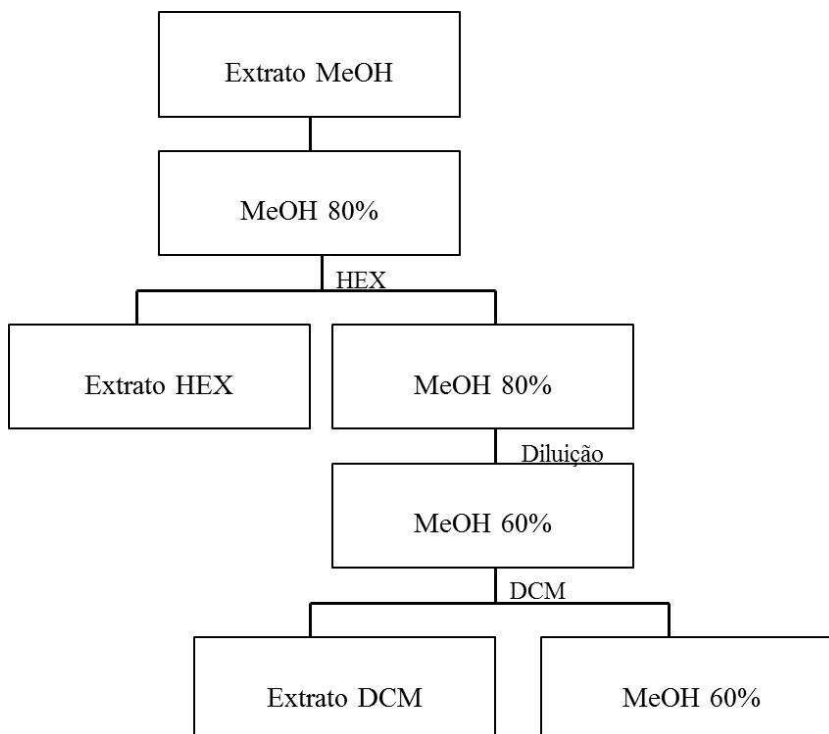


Figura 2. Fluxograma do processo de partição líquido-líquido das raízes de timbó C (*D. floribunda*), amêndoas de *A. indica* e folhas de *M. azedarach* em metanol (MeOH)

3.5.3 Fracionamento cromatográfico

3.5.3.1 Cromatografia em Camada Delgada – CCD

Os extratos brutos e frações foram analisados por cromatografia em camada delgada (CCD), utilizando cromatofolhas MERK[®] TLC Sílica Gel 60 F₂₅₄. A revelação dos cromatogramas foi realizada por exposição à lâmpada ultravioleta (UV) nos comprimentos de onda de 254 e 365 nm e / ou mediante borrifação com solução de vanilina sulfúrica descrita a seguir.

Reagente de borrifação:

Vanilina Sulfúrica: a 200 mg de vanilina foi adicionado, sob resfriamento em banho de gelo, 1 mL de H₂SO₄ concentrado. O volume da solução resultante foi completado para 10 mL com etanol. O cromatograma foi então, borrifado e aquecido a 100°C por alguns minutos (WAGNER; BLADT, 2009).

3.5.3.2 CCD preparativa (CCD-Prep)

Foi utilizada a placa cromatográfica MERCK[®] TLC Sílica Gel 60 F₂₅₄. Cada amostra foi aplicada na placa preparativa com auxílio de pipeta microcapilar de 1-5 µl (Sigma-Aldrich[®]) e eluídas em cuba cromatográfica com DCM/MeOH (9,8:0,2). Após eluição, as placas foram reveladas em câmara UV nos comprimentos de onda de 254 e 365 nm. As frações obtidas foram raspadas conforme as bandas reveladas, submetidas à nova CCD e reunidas conforme a proximidade do fator de retenção.

3.5.3.3 Cromatografia em coluna *flash*

O extrato diclorometano das raízes de timbó C (*D. floribunda*) (0,1294 g) foi fracionado em coluna utilizando sílica *flash* (28-200 mesh), eluída com HEX, DCM, MeOH e água destilada, resultando em 13 frações. As frações semelhantes foram

agrupadas (A e B), feita nova CCD Preparativa, obtendo-se 14 frações da A e 21 frações da B. As frações semelhantes foram agrupadas para uso nos bioensaios e análises químicas, conforme fluxograma a seguir (Figura 3).

As frações foram acondicionadas em frascos de vidro para secagem rápida em capela com fluxo de ar e em seguida armazenadas em *ependorf* para centrifugação (Mini Spin Eppendorf®) por 10 minutos a 13.000 rpm. Após a centrifugação foi retirada a fase sobrenadante e acondicionada em frascos de vidro.

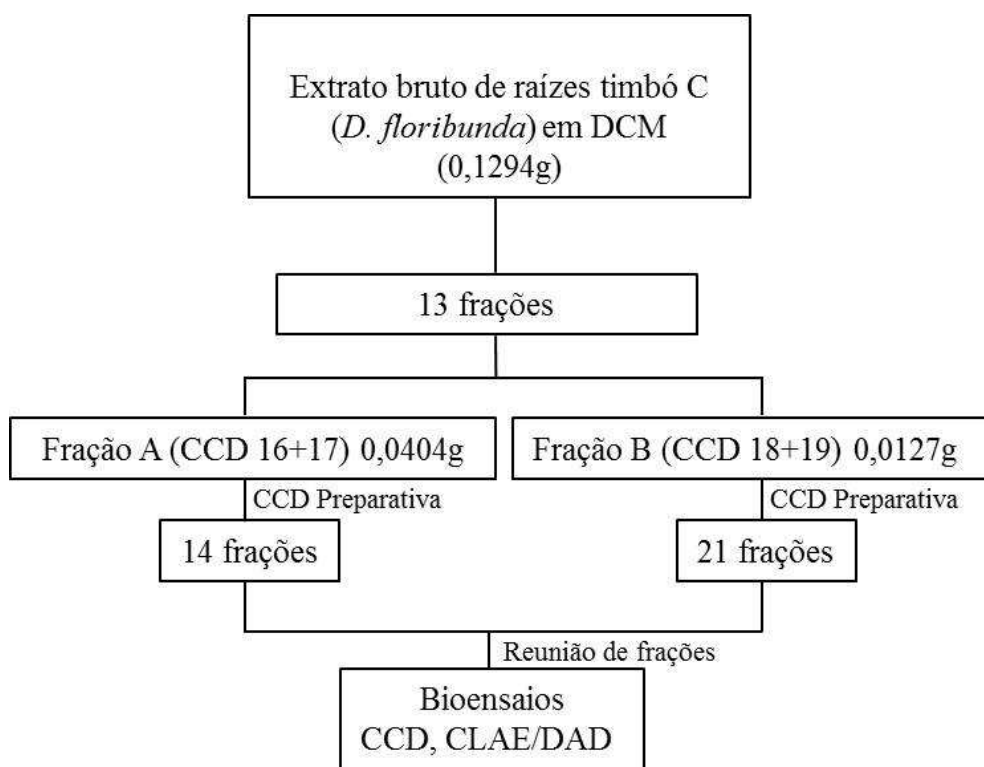


Figura 3. Fluxograma da cromatografia em coluna *flash* das raízes de timbó C (*D. floribunda*) em diclorometano (DCM)

Adicionalmente, para fins de se obter maior quantidade de extratos para bioensaios foram pesadas duas amostras do extrato bruto de timbó C (*D. floribunda*) em DCM (Amostra C (0,0543g) e Amostra D (0,0511g). Desse material foram realizados CCD Preparativa, obtendo-se 16 frações da C e 16 frações da D. As frações semelhantes

foram agrupadas para uso nos bioensaios e análises químicas, conforme fluxograma a seguir (Figura 4).

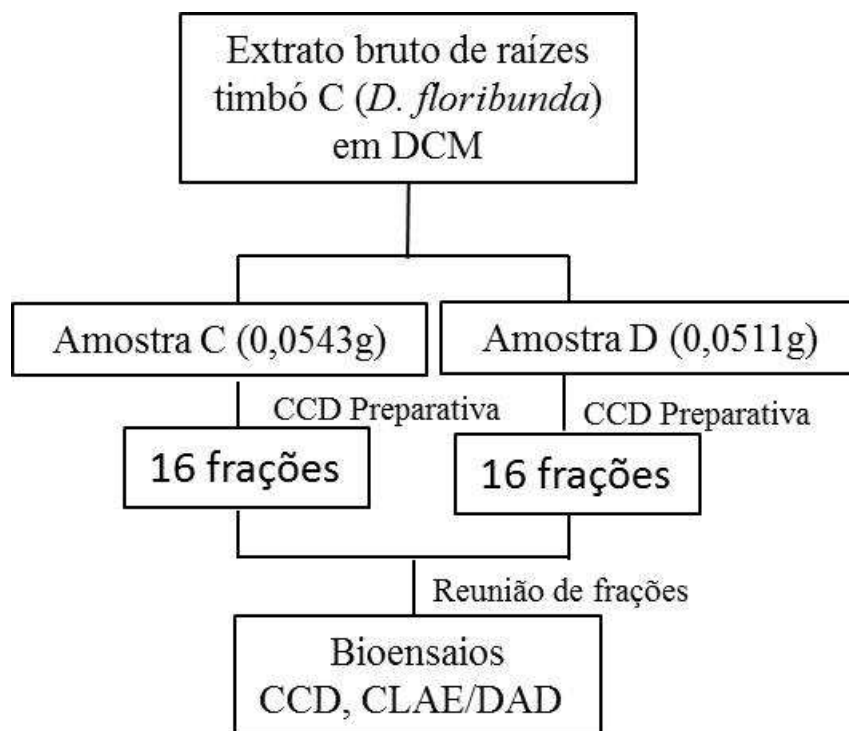


Figura 4. Fluxograma da cromatografia em camada delgada (CCD preparativa) de extratos brutos de timbó C (*D. floribunda*) em diclorometano (DCM)

3.5.3.4 Cromatografia Gasosa de Alta Resolução Acoplada a Espectrômetro de Massa (CGAR-EM)

Para análise em CGAR-EM as amostras foram metiladas conforme a metodologia descrita por Matos (2009). Os extratos brutos de raízes de timbó C (*D. floribunda*), amêndoas de *A. indica* e folhas de *M. azedarach* em HEX, DCM e MeOH e de raízes de timbó C (*D. floribunda*) precipitado e solúvel foram metilados e enviados para análise.

A cada amostra foi adicionado BF_3/MeOH (proporção de 100 mg de extrato para 5 mL de BF_3/MeOH), e submetidos à banho-maria à temperatura constante de 70°C por 60 minutos. Após o resfriamento da amostra foram adicionados 2 a 5 mL de hexano ou diclorometano (Tedia®). Em seguida foram adicionados 2 a 5 mL de solução saturada

de NaCl, e a mistura foi agitada por 3 minutos. Após a separação das fases foi retirada a fase orgânica que contém os ésteres metílicos. A essa fase hexano foi adicionado Na₂SO₄ anidro, e a solução permaneceu em repouso por 15 minutos. Em seguida, a mistura foi filtrada em papel filtro, acondicionada em *ependorf* para secagem do solvente e submetida à centrifugação.

A cromatografia gasosa de alta resolução acoplada à espectrometria de massa (CGAR-EM) foi realizada em cromatógrafo a gás Agilent 6890N com fluxo de 1 mL/min, split 1:20, acoplado a um espectrômetro de massas computadorizado com analisador de íons quadrupólo e ionização por impacto de elétrons, 70 eV e banco de dados de espectropeca Wiley 7n (40.000 registros). O método desenvolvido para análise foi: 70 °C – 300 °C (5 °C/min), 10 min a 300° C, em coluna HP-5 MS de 30 m (5% difenil a 95 % dimetil polisioxano), fase estacionária com 0,25 µm de espessura do filme.

3.5.3.5 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência Acoplada a Detector de Arranjo de Diodos – CLAE/DAD

As análises por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE/DAD) foram efetuadas em um sistema integrado a um detector de feixe de diodos (DAD – SPD-M10Avp Shimadzu) na região de 200-500 nm, fluxo de 1,0 mL/min. Todas as análises de CLAE foram realizadas com coluna analítica com fase reversa (C-18) marca Shimadzu[®] de dimensões 15 cm x 4,6 mm x 5 µm, utilizando-se H₂O + TFA 0,05% e Metanol grau HPLC (Tedia[®] ou JT Baker[®]) em gradiente de eluição.

A água foi obtida por destilação em sistema Milli-Q. Todos os solventes de grau UV/HPLC foram filtrados em filtro 0,45 µm (marca Millipore) antes da utilização.

Preparo das amostras: A) Foi retirado 1 mL de solução dos extratos aquosos simples a 2,46% (solução inicial, não liofilizada) das raízes dos timbós C (*D. floribunda*), J (*D. rariflora*) e O (*D. rariflora*). Em seguida, esses extratos foram diluídos em 1 mL de água Milli-Q. B) Foram pesados 10 mg dos extratos aquosos liofilizados dos timbós C, J e O, partição timbó C (HEX) solúvel e extrato bruto de timbó C (DCM), sendo que os extratos liofilizados foram diluídos em 1 mL de água Milli-Q e os demais em 1 mL MeOH. C) as amostras obtidas a partir de CCD preparativa de extratos brutos de timbó C (DCM) foram diluídos em MeOH. D) A amostra padrão, rotenona (95-98% de pureza, Sigma-Aldrich®) foi preparada na concentração de 500 µg/mL, diluída em MeOH. Todos os extratos foram armazenados em *ependorf* para centrifugação (Mini Spin Eppendorf®) por 10 minutos a 13.000 rpm. Após a centrifugação foi retirada a fase sobrenadante e acondicionada em *vial* para análise.

3.6 Aplicação dos extratos e frações e avaliação dos bioensaios

Os extratos ou frações foram aplicados com auxílio de um aerógrafo de precisão (Paasche® H3, capacidade de 50 mL) ligado a um compressor regulado à pressão de 10 lbf·pol², distante aproximadamente 15 cm do ponto de aplicação, que consistiu da parte abaxial das folhas de limão ‘Cravo’ contendo ninfas de segundo estágio ou ovos de *A. woglumi*.

Essas ninfas foram demarcadas com pincel de ponta de 1 mm para facilitar a visualização e registro dos dados. Após sete dias da aplicação do extrato, foram avaliadas, com auxílio de um microscópio estereoscópico, as mortalidades de ninfas de segundo estágio (NII), ninfas de terceiro estágio (NIII) que conseguiram eclodir e mortalidade total (NII +NIII) por folha. Para mortalidade de ovos foram avaliadas as

mortalidades dos ovos, das ninfas que conseguiram eclodir e mortalidade total (ovos + ninfas).

As NII foram consideradas mortas quando apresentavam o corpo ressecado, amarelado e contorcido. Já as NIII que conseguiram eclodir eram consideradas mortas quando se mostravam contorcidas ou com ecdise incompleta (exúvia aderida ao novo tegumento). Os ovos foram considerados inviáveis (mortos) quando apresentavam coloração marrom-escura, estavam contorcidos ou quando apresentavam ninfas aderidas (sem conseguir se desprender deles).

3.7 Análise estatística e estimativa da Concentração Letal Mediana (CL₅₀)

Para determinar o melhor extrato e o possível efeito bioativo deste em relação à mortalidade (efeito letal), foi feita a comparação com o controle, para determinar se as respostas eram significativamente diferentes. Antes da análise, os dados foram testados quanto à homogeneidade de variância (teste de Bartlett) e para a distribuição normal (teste de Shapiro-Wilk). Quando necessário, os dados foram transformados por ARCSENO $[\{(X+0,5) / 100\}^{1/2}]$. Quando, mesmo após as transformações, os dados ainda não apresentavam homogeneidade, um equivalente não-paramétrico foi utilizado. Os dados foram submetidos à ANOVA ou seu equivalente não-paramétrico Kruskal-Wallis. As diferenças foram consideradas significativas ao nível de probabilidade $p < 0,05$. Quando a diferença foi constatada foi utilizado o teste de Tukey para ANOVA ou o teste pós Kruskal-Wallis proposto por Conover e Iman (1979) quando utilizou-se estatística não-paramétrica. Os testes foram realizados com auxílio do Software R 2.13.1[®], com exceção dos pré-testes que foram realizados com auxílio do Software SAS[®].

A estimativa da Concentração Letal Mediana (CL₅₀), ou seja, a concentração necessária para causar mortalidade de 50% da população de *A. woglumi*, foi feita pela análise de Probit (FINNEY, 1971), utilizando o programa Polo-PC.

3.8 Bioensaios

3.8.1 Pré-testes

3.8.1.1 Atividade ovicida

Foram aplicados extratos aquosos simples nas concentrações 0,5; 1,0; 2,0; 4,0 e 8,0% (m/v) de folhas de *A. indica*, *M. azedarach*, *T. pallida*, *P. marcgravii*, *P. hispidum*, *P. aduncum*, de inflorescência de *P. aduncum* e de raízes de timbó P (*D. rariflora*). Para o controle foi utilizada água destilada sobre os ovos (décimo dia do desenvolvimento embrionário) de *A. woglumi*.

Estes estudos foram realizados sob duas condições, após aplicação dos extratos: Bioensaio 1 (folhas contendo ovos, mantidos nas plantas hospedeiras) e Bioensaio 2 (folhas contendo ovos, destacados das plantas, e mantidos em BOD). No último caso, o pecíolo das folhas foi umedecido com algodão contendo água destilada para evitar ressecamento do material vegetal. Somente nesse caso os experimentos foram avaliados oito dias após a aplicação dos extratos, enquanto nos demais bioensaios a avaliação foi feita sete dias após a aplicação.

Análise dos dados: O Bioensaio 1 foi desenvolvido em delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições, com média de 49 ovos por repetição por folha. Os tratamentos compreenderam três espécies de plantas em seis concentrações do extrato, sendo aplicados 30 mL por tratamento. Os dados foram analisados no esquema fatorial 3 x 6 utilizando-se o teste de Tukey ($p < 0,05$). Adicionalmente, os dados da

concentração foram submetidos à análise de regressão polinomial. O Bioensaio 2 foi conduzido em esquema fatorial 5 x 6, semelhante ao anterior.

3.8.1.2 Atividade ninficida

Foram aplicados extratos aquosos simples nas concentrações 0,5; 1,0; 2,0; 4,0 e 8,0% (m/v) de folhas de *A. indica*, *P. aduncum*, *P. hispidum*, *T. pallida* e controle (água destilada) em folhas contendo NII de *A. woglumi*. A seguir, as folhas foram acondicionadas em BOD.

Análise dos dados: foi desenvolvido em delineamento inteiramente casualizado com seis repetições, com média de 48 NII por repetição por folha. Os tratamentos compreenderam quatro espécies de plantas em seis concentrações do extrato, sendo aplicados 40 mL por tratamento. Os dados foram analisados no esquema fatorial 4 x 6 utilizando-se o teste de Tukey ($p < 0,05$). Adicionalmente, os dados da concentração foram submetidos à análise de regressão polinomial.

3.8.2 Estimativa da Concentração Letal Mediana (CL₅₀) com o uso de extratos aquosos simples de meliáceas sobre *A. woglumi*

Foram aplicados extratos aquosos simples nas concentrações 0,5; 1,0; 2,0; 4,0 e 8,0% (m/v) de folhas e amêndoas de *A. indica* e folhas de *T. ciliata* sobre NII de *A. woglumi*. O uso de duas meliáceas neste teste se deu em razão de essa família botânica ser considerada uma das mais importantes fontes de produtos inseticidas, servindo de parâmetro de comparação.

Análise dos dados: para cada espécie e estrutura, foi adotado o delineamento experimental inteiramente casualizado com seis tratamentos (cinco concentrações e controle com água destilada) e seis repetições. Cada repetição consistiu de 50 NII em

média por folha/planta, exceto *T. ciliata* com quatro repetições por tratamento, sendo aplicados 40 mL por tratamento.

Após a análise de Probit foi selecionada a menor CL₅₀ entre as espécies testadas. A CL₅₀ selecionada foi utilizada nos demais bioensaios (*screening*) para se obterem as espécies promissoras no controle da mosca-negra.

3.8.3 Seleção das plantas inseticidas promissoras - *Screening*

3.8.3.1 Diferentes famílias botânicas

Com o objetivo de selecionar as plantas inseticidas mais promissoras foram testadas quatorze espécies de plantas com potencial inseticida, incluindo diferentes estruturas (folhas, ramos, amêndoas e raízes). Família Meliaceae: folhas, ramos e amêndoas de *Azadirachta indica*; folhas, ramos e frutos de *Melia azedarach*; folhas e ramos de *Toona ciliata*, *Trichilia pallida*, *T. pallens*, *Carapa guianensis* e *C. procera*. Família Piperaceae: folhas e inflorescências de *Piper aduncum*, *P. hispidum*, *P. peltatum*; folhas e ramos de *P. hispidinervum*. Família Fabaceae: raízes dos timbós C (*Derris floribunda*) e P (*D. rariflora*). Família Annonaceae: folhas e sementes de *Rollinia mucosa*.

Foram aplicados extratos aquosos simples, na concentração estimada no item anterior (3.8.2), de todas as plantas anteriormente citadas, sobre NII de *A. woglumi*.

Análise dos dados: foi adotado o delineamento inteiramente casualizado com 29 tratamentos (extratos mais testemunha água destilada) e seis repetições, sendo aplicados 40 mL/tratamento. Cada repetição consistiu de 50 NII, em média, por folha/planta.

Foram selecionadas as três espécies de plantas inseticidas mais promissoras.

3.8.3.2 Espécies/Ecótipos de timbós

Foram aplicados extratos aquosos simples, na concentração estimada no item 3.8.2, de raízes dos timbós C e E (*Derris floribunda*) e J, G, P e O (*D. rariflora*) sobre NII de *A. woglumi*.

3.8.4 Seleção dos extratores

Inicialmente, com o objetivo de determinar uma concentração adequada para ser utilizada nos bioensaios posteriores, foram realizados dois experimentos com o uso do extrato bruto em DCM de amêndoas de *A. indica*, em concentrações espaçadas logaritmicamente (bioensaio 1: 0,045; 0,180; 0,320; 0,560; 0,720; 1,000; 1,800; 3,200 e 5,600% (m/v); bioensaio 2: 0,010; 0,018; 0,032; 0,056; 0,100 e 0,180% m/v), diluídos em acetona PA (Para Análise), e dois controles água destilada e acetona sobre NII de *A. woglumi*. Com base nos resultados obtidos foi estimada a Concentração Letal Mediana (CL₅₀).

Análise dos dados: foi realizada no delineamento inteiramente casualizado com onze e oito tratamentos (concentrações e testemunhas água destilada e acetona) para os bioensaios 1 e 2, respectivamente, com seis repetições, sendo aplicados 40 mL/tratamento. Cada repetição consistiu, em média, de 50 NII de *A. woglumi* por folha/planta.

Foram preparadas soluções, na concentração obtida anteriormente (CL₅₀), dos extratos brutos em HEX, DCM e MeOH das três espécies de plantas inseticidas mais promissoras, selecionadas no item 3.8.3.1. Os extratos foram diluídos em acetona PA.

Análise dos dados: Para cada espécie de planta foi realizado um delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos (extratos HEX, DCM e MeOH e testemunhas água destilada e acetona), e cinco repetições, sendo aplicados 40

mL/tratamento. Cada repetição consistiu, em média, de 103 NII de *A. woglumi* por folha/planta.

Foram selecionados os melhores extratores para cada planta inseticida.

3.8.5 Seleção das frações

3.8.5.1 Da extração com metanol do extrato hexano

Foram utilizadas as partições precipitado e solúvel das raízes de timbó C (*D. floribunda*), amêndoas de *A. indica* e folhas de *M. azedarach*, obtidos conforme o item 3.5.1. Essas partições foram preparadas na concentração (CL₅₀), estimada no item 3.8.4. Os extratos foram diluídos em água destilada e acetona (1:1) e testemunha (água destilada e acetona) diluída na mesma proporção.

Análise dos dados: Para cada espécie de planta foi realizado um delineamento inteiramente casualizado com três tratamentos (extratos e testemunha), e cinco repetições, sendo aplicados 40 mL/tratamento. Cada repetição consistiu, em média, de 52 NII de *A. woglumi* por folha/planta.

3.8.5.2 Da extração líquido-líquido

Foram utilizadas as partições HEX e DCM das raízes de timbó C (*D. floribunda*), amêndoas de *A. indica* e folhas de *M. azedarach*, obtidas conforme o item 3.5.2. Essas partições foram preparadas na concentração (CL₅₀), estimada no item 3.8.4. Os extratos foram diluídos em água destilada e acetona (1:1) e testemunha (água destilada e acetona) diluída na mesma proporção.

Análise dos dados: Para cada espécie de planta foi realizado um delineamento inteiramente casualizado com três tratamentos (extratos e testemunha), e cinco

repetições, sendo aplicados 40 mL/tratamento. Cada repetição consistiu, em média, de 52 NII de *A. woglumi* por folha/planta.

3.8.5.3 Do fracionamento cromatográfico

Foram utilizadas as frações DCM das raízes de timbó C (*D. floribunda*), obtidas conforme o item 3.5.3.3. As frações foram diluídas o mínimo possível em acetona PA (1 mL), acrescentando-se água destiladas até a concentração de 10 mg/mL e a testemunha (1 mL acetona PA e água destilada).

Análise dos dados: foi realizado um delineamento inteiramente casualizado com oito tratamentos (extratos e testemunha), e quatro repetições, sendo aplicados 5 mL/folha. Cada repetição consistiu, em média, de 52 NII de *A. woglumi* por folha/planta.

3.8.6 Modos de Ação

Após a seleção das três espécies de plantas inseticidas mais promissoras, os melhores extratores e concentração estabelecida, foram realizados bioensaios para avaliar possível ação translaminar, sistêmica e tópica.

Para os modos de ação translaminar e sistêmico foram preparadas soluções dos extratos brutos das raízes de timbó C (*D. floribunda*), amêndoas de *A. indica* e folhas de *M. azedarach* em MeOH a 1% (m/v). Esses extratos foram diluídos o mínimo possível em acetona PA e acrescida água destilada. Após a evaporação total do solvente em capela com fluxo de ar, estes foram aplicados de acordo com o modo de ação.

Para a ação tópica foram preparadas soluções dos extratos brutos das raízes de timbó C (*D. floribunda*), amêndoas de *A. indica* e folhas de *M. azedarach* em MeOH a 0,186% (m/v). Esses extratos foram diluídos em acetona PA e aplicados com auxílio de microsseringa (Eppendorf®).

Anteriormente a estas concentrações aplicadas foram realizados pré-testes para determinação da concentração adequada a ser utilizado nos bioensaios.

As plantas hospedeiras utilizadas nestes bioensaios foram adquiridas de acordo com o item 3.2.

3.8.6.1 Ação translaminar

Foi conduzido em laboratório, utilizando mudas de limão ‘Cravo’, com aproximadamente 7 meses de idade, marcando-se uma folha contendo em média 53 NII/folha/planta para aplicação do extrato e controle (água destilada). Os tratamentos (extrato e controle) foram aplicados na superfície adaxial das folhas, ou seja, na face oposta à superfície contendo as ninfas, com auxílio de aerógrafo de precisão. Foram aplicados 10 mL do extrato em cada folha/planta.

Cuidados especiais foram tomados para evitar o escorrimento dos extratos da superfície adaxial para a abaxial da folha, para isso, foi colocado plástico nas margens da folha, contendo as ninfas, para evitar o efeito de contato.

3.8.6.2 Ação sistêmica

Foi conduzido em laboratório utilizando mudas de limão ‘Cravo’, com aproximadamente 7 meses de idade, as quais tinham como substrato fibra de coco Amafibra (Fibroso 40[®]). Foi marcada em cada uma das mudas uma folha contendo em média 52 NII/folha/planta. Para avaliação da ação sistêmica os extratos foram aplicados no substrato contendo as mudas. Todos os vasos receberam 100 mL do extrato, exceto o controle que recebeu a mesma quantidade de água destilada.

3.8.6.3 Ação tópica

Neste teste, também conduzido em laboratório, foram utilizadas mudas limão ‘Cravo’, com aproximadamente 7 meses de idade, marcando-se em cada uma delas uma folha contendo em média 49 NII/folha/planta para aplicação do extrato e controle (água destilada). Foram feitas aplicações tópicas dos extratos em ninfas de segundo estágio, utilizando-se uma microseringa (Eppendorf®). Foi aplicado 0,2 µl de extrato em cada ninfa. No tratamento controle, estas receberam 0,2 µl de água destilada.

Análise dos dados: Para cada modo de ação foi realizado um delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos, envolvendo três espécies de plantas inseticidas e controle (água destilada), com cinco repetições para ação tópica e sistêmica e quatro repetições para ação translaminar. Cada repetição consistiu, em média, de 53, 52 e 49 NII de *A. woglumi* por folha/planta, para os modos de ação translaminar, sistêmico e tópico, respectivamente.

3.9 Solventes utilizados

Para a elaboração dos extratos brutos e nos bioensaios, conforme necessidade e objetivo do bioensaio foram utilizados os solventes da marca Nuclear®, Enquanto que para as partições, frações e demais análises químicas foram utilizados solventes da marca Tedia®, grau HPLC.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Rendimentos dos extratos

4.1.1 Extratos aquosos liofilizados

Para os extratos aquosos simples (obtidos conforme item 3.4.1) os maiores rendimentos foram obtidos com as folhas de *Melia azedarach* (32,55%) seguidos das raízes do ecótipo C do timbó (*Derris floribunda*); amêndoas de *Azadirachta indica*; das

raízes do ecótipo O do timbó (*D. rariflora*) e das raízes do ecótipo J do timbó (*D. rariflora*) com 11,40; 9,21; 6,95 e 5,18%, respectivamente (Tabela 3).

Silva (2010) observou que os rendimentos obtidos para os extratos aquosos liofilizados de amêndoas de *A. indica* foi de 51,97 %. O menor rendimento de extração pode ter ocorrido devido ao processo de extração, que no trabalho do referido autor durou 72 h e neste estudo 24 h, diminuindo assim o tempo de exposição do material vegetal moído ao solvente. Para os demais extratos aquosos onde houve um maior tempo (144 h) de contato do material vegetal moído com o solvente, o maior rendimento foi obtido com o timbó O, no qual foi utilizado o processo de percolação e em seguida dos timbós C e J (Tabela 3). Portanto, infere-se que o rendimento de extração está diretamente associado ao tempo de exposição do material botânico ao respectivo solvente.

Tabela 3 - Rendimentos (%) dos extratos aquosos.

Estrutura/Espécie	Massa inicial (g)	Massa final (g)	Rendimento (%)
Obtidos a partir de extratos aquosos simples (24 h de contato do material vegetal moído com o solvente)			
Folhas de <i>M. azedarach</i>	2,46	0,80	32,55
Raízes de timbó C (<i>D. floribunda</i>)	2,46	0,28	11,40
Amêndoas de <i>A. indica</i>	2,46	0,23	9,21
Raízes de timbó O (<i>D. rariflora</i>)	2,46	0,17	6,95
Raízes de timbó J (<i>D. rariflora</i>)	2,46	0,13	5,18
Obtidos a partir de extratos aquosos (144 h de contato do material vegetal moído com o solvente)			
Timbó O (<i>D. rariflora</i>) (percolador)	200,94	27,16	13,51
Timbó C (<i>D. floribunda</i>)	12,02	0,98	8,15
Timbó J (<i>D. rariflora</i>)	97,88	3,48	3,56

4.1.2 Extratos brutos

Os maiores rendimentos de extração das amêndoas de *A. indica*, foram obtidos com o emprego dos solventes hexano (HEX) e diclorometano (DCM) com 20,29 e 16,12%, respectivamente, enquanto para as folhas de *M. azedarach* isso ocorreu com o

metanol (MeOH) (7,20%) e para o timbó C (*D. floribunda*) com MeOH e DCM com 6,49 e 4,09%, respectivamente (Tabela 4).

Tabela 4 - Rendimentos de extrações a frio de amêndoas de *A. indica*, folhas de *M. azedarach* e raízes de *D. floribunda* em hexano (HEX), diclorometano (DCM) e metanol (MeOH).

Estrutura/Espécie	Material vegetal (g)	Rendimento ¹ (HEX)		Rendimento ¹ (DCM)		Rendimento ¹ (MeOH)	
		(g)	(%)	(g)	(%)	(g)	(%)
Amêndoas de <i>A. indica</i>	807,33	163,79	20,29	130,18	16,12	78,56	9,73
Folhas de <i>M. azedarach</i>	1.080,70	5,39	0,50	35,54	3,29	77,80	7,20
Raízes de timbó C (<i>D. floribunda</i>)	369,20	6,28	1,70	15,11	4,09	23,95	6,49

¹Obtido a partir da quantidade (g) de material vegetal moído.

Neste estudo, as amêndoas de nim apresentaram bom rendimento de extração em todos os solventes utilizados, com destaque para HEX e DCM. Silva (2010) obteve rendimentos de 48,07; 14,00 e 32,61% para HEX, DCM e MeOH, respectivamente. Exceto para DCM, o maior rendimento obtido pelo referido autor pode ter sido em decorrência do método de extração que foi a quente (Soxhlet), enquanto no presente estudo foi a frio.

Os extratos de folhas de *M. azedarach* e de raízes de timbó C (*D. floribunda*) apresentaram baixo rendimento quando comparado com as amêndoas de nim.

Bezerra (2009) verificou que os extratos de folhas de *M. azedarach* em DCM apresentou o menor rendimento (4,70%), entre quatro espécies de meliáceas testadas. Já o rendimento obtido com o extrato etanol foi superior ao do extrato diclorometano (19,79%). Esses dados corroboram com os obtidos neste estudo onde o rendimento de fohas de *M. azedarach* foi maior em metanol (7,20%) quando comparado ao DCM (3,29%). O menor rendimento em cada extrator pode ter ocorrido devido às diferenças

no método de extração, onde neste estudo se realizou a maceração a frio, enquanto que a referida autora empregou extração a quente com uso do Soxhlet.

O rendimento do extrato das raízes do timbó, *D. amazonica*, em álcool etílico foi de 5,86 % em sistema extrator Soxhlet (Alécio, 2007), valor aproximado dos obtidos neste estudo para o metanol (6,49%). De maneira geral, são poucos os dados na literatura sobre os rendimentos dos extratos de timbós em diferentes solventes.

As diferenças de rendimento não significam, necessariamente, que haverá maior facilidade de obtenção de substância com atividade inseticida, no entanto, é importante destacar que em caso de os extratos apresentarem uma mesma eficiência para o controle do inseto, o rendimento seria um fator adicional para seleção do extrato vegetal (SILVA, 2010).

4.1.3 Frações

4.1.3.1 Da extração com metanol do extrato hexano

Para o timbó C (*D. floribunda*) e para *M. azedarach* os maiores rendimentos de extração ocorreram na fração solúvel com 76,68 e 53,13%, respectivamente, em comparação à fração precipitada (32,37 e 46,76%, respectivamente), ocorrendo o inverso para o nim onde na fração precipitada o rendimento foi maior (76,83%) que na fração solúvel (30,40%). Assim, enquanto para o timbó houve maior eficiência de extração na fração solúvel, ocorreu o inverso para o nim, enquanto para *M. azedarach* houve equilíbrio entre as frações solúvel e precipitada (Tabela 5).

Tabela 5 - Rendimentos das frações obtidas após partição dos extratos brutos de raízes de timbó C (*D. floribunda*), amêndoas de *A. indica* e folhas de *M. azedarach* em HEX.

Estrutura/Espécie botânica	Rendimento ¹	
	(g)	(%)
Raízes de timbó C (<i>D. floribunda</i>) em HEX (solúvel)	0,77	76,68
Raízes de timbó C (<i>D. floribunda</i>) em HEX (precipitado)	0,33	32,37
Amêndoas de nim, <i>A. indica</i> em HEX (solúvel)	0,31	30,40
Amêndoas de nim, <i>A. indica</i> em HEX (precipitado)	0,77	76,83
Folhas de <i>M. azedarach</i> em HEX (solúvel)	0,53	53,13
Folhas de <i>M. azedarach</i> em HEX (precipitado)	0,47	46,76

¹Obtido a partir da quantidade (1,0g) de extrato bruto

4.1.3.2 Da extração líquido-líquido

As frações DCM propiciaram maiores rendimentos de extração em comparação à fração HEX para as três espécies testadas, embora as diferenças entre os percentuais tenham sido bastante variáveis com maior valor em relação ao nim (cerca de 17 pontos percentuais), seguindo-se o timbó C (*D. floribunda*) (cerca de 8) e *M. azedarach* (menos de 2) (Tabela 6).

Tabela 6 – Rendimentos das frações obtidas após partição dos extratos brutos de raízes de timbó C (*D. floribunda*), amêndoas de *A. indica* e folhas de *M. azedarach* em MeOH.

Estrutura/Espécie	Rendimento ¹	
	(g)	(%)
Extrato DCM da partição de timbó C (<i>D. floribunda</i>) em MeOH	0,52	10,22
Extrato HEX da partição de timbó C (<i>D. floribunda</i>) em MeOH	0,11	2,21
Extrato DCM da partição de amêndoas de <i>A. indica</i> em MeOH	1,45	28,64
Extrato HEX da partição de amêndoas de <i>A. indica</i> em MeOH	0,58	11,50
Extrato DCM da partição de folhas de <i>M. azedarach</i> em MeOH	0,30	5,96
Extrato HEX da partição de folhas <i>M. azedarach</i> em MeOH	0,22	4,27

¹Obtido a partir da quantidade (5,0 g) de extrato bruto

4.1.3.3 Do fracionamento cromatográfico

O rendimento total obtido em cromatografia em coluna *flash* foi de 0,1042 g (Tabela 7).

Tabela 7 – Rendimentos das frações de raízes de *D. floribunda* em DCM obtidos em cromatografia em coluna *flash*.

Espécie botânica/Extratores	Rendimento ¹	
	(g)	(%)
Timbó C (<i>D. floribunda</i>) DCM/DCM (2)	0,0022	1,70
Timbó C (<i>D. floribunda</i>) DCM/DCM (3)	0,0037	2,86
Timbó C (<i>D. floribunda</i>) DCM/MeOH (1)	0,0024	1,85
Timbó C (<i>D. floribunda</i>) DCM/MeOH (2)	0,0417	32,23
Timbó C (<i>D. floribunda</i>) DCM/MeOH (3)	0,0184	14,22
Timbó C (<i>D. floribunda</i>) DCM/MeOH (4)	0,0171	13,21
Timbó C (<i>D. floribunda</i>) DCM/MeOH (5)	0,0099	7,65
Timbó C (<i>D. floribunda</i>) DCM/MeOH (6)	0,0030	2,32
Timbó C (<i>D. floribunda</i>) DCM/MeOH (7)	0,0058	4,48

¹Obtido a partir da quantidade (0,1294 g) de extrato bruto

4.2 Análises químicas

4.2.1 Cromatografia Gasosa de Alta Resolução Acoplada a Espectrômetro de Massa (CGAR-EM)

A análise realizada em CGAR-EM revelou a presença de ácidos graxos em todos os extratos metilados. Avaliando os extratos e frações, foi observado que as substâncias mais frequentes foram os ácidos palmítico, linoleico, esteárico, oleico e 8,11-octadecadienoico. Ressalte-se que os extratos e frações que ocuparam maior concentração nas amostras foram os ácidos oleico, linoleico, 8,11-octadecadienoico, palmítico e esteárico (Tabela 8 e Figuras 5 a 13). As substâncias foram determinadas de acordo com a biblioteca do aparelho e pela análise das fragmentações dos respectivos espectros de massas.

É provável que esses ácidos graxos presentes nas células das plantas analisadas, possam exercer algum tipo de bioatividade sobre os insetos fitófagos. Os dados de cada extrato ou fração serão melhor discutidos nos bioensaios.

Tabela 8 – Análise CGAR-EM (substâncias, tempo de retenção e área) dos extratos e frações de plantas inseticidas utilizadas nos bioensaios.

Espécie/Extrator	Substâncias	Tempo de retenção (min)	Área (%)
Extrato bruto de raízes de timbó C (<i>D. floribunda</i>) em HEX	ácido palmítico	28,66	5,15
	ácido linoleico	31,89	25,01
	ácido oleico	32,01	25,38
	ácido heptadecanoico	32,48	3,96
	ácido docosanoico	39,21	2,61
	ácido tetracosanoico	42,21	3,74
	ácido hexacosanoico	45,01	3,10
			68,95
Extrato bruto de raízes de timbó C (<i>D. floribunda</i>) em DCM	ácido linoleico	31,87	5,38
Extrato bruto de raízes de timbó C (<i>D. floribunda</i>) em MeOH	ácido palmítico	26,47	8,18
	ácido linoleico	29,66	8,85
	ácido oleico	29,79	13,86
	ácido heptadecanoico	30,28	3,32
			34,21
Fração de raízes de timbó C (<i>D. floribunda</i>) HEX (solúvel)	ácido palmítico	28,40	7,17
	ácido 8,11-octadecadienoico	31,63	37,17
	ácido 8-octadecenoico	31,75	45,85
	ácido esteárico	32,22	4,97
			95,16
Fração de raízes de timbó C (<i>D. floribunda</i>) HEX (precipitado)	ácido linoleico	31,61	35,31
Extrato bruto de amêndoas de nim, <i>A. indica</i> em HEX	ácido palmítico	26,47	13,52
	ácido 8,11-octadecadienoico	29,66	20,64
	ácido oleico	29,80	49,31
	ácido esteárico	30,29	16,53
			100
Extrato bruto de amêndoas de nim, <i>A. indica</i> em DCM	ácido palmítico	28,66	13,01
	ácido 8,11-octadecadienoico	31,87	21,19
	ácido oleico	32,00	41,92
	ácido esteárico	32,48	23,88

			100
Extrato bruto de folhas de <i>M. azedarach</i> em HEX	ácido palmítico	28,68	26,25
	ácido linoleico	31,89	10,17
	ácido 9,12,15-octadecatrienoico	32,01	35,23
	ácido esteárico	32,47	4,50
	Sitosterol	50,01	6,92
			83,07
Extrato bruto de folhas de <i>M. azedarach</i> em DCM	ácido pentadecanoico	28,66	18,44
	ácido linoleico	31,87	7,80
	ácido 9,12,15-octadecatrienoico	31,98	31,18
	ácido esteárico	32,47	4,14
	Eicosane	47,20	10,88
			72,44

Há relatos da bioatividade dos ácidos graxos sobre pragas de grãos armazenados (PIERGIOVANNI et al., 1990; DON-PEDRO, 1990; PACHECO et al., 1994; TAVARES et al., 2004; ADEBOWALE e ADEDIRE, 2006) e formigas cortadeiras (MONTEIRO et al., 1998; MORINI et al., 1999). Além da bioatividade, essas substâncias são importantes porque facilitam a permeabilidade de outros constituintes, provavelmente facilitando a bioatividade delas e outras substâncias. No entanto, são poucos os estudos abordando a ação dessas substâncias sobre insetos fitófagos.

Em estudos realizados pelo grupo de produtos naturais da UFSCar e o Centro de Estudo de Insetos Sociais da UNESP-Rio Claro (MONTEIRO et al., 1998; MORINI et al., 1999), foi observada a ação tóxica de extratos de plantas, seus ácidos graxos, assim como a associação de ácidos graxos com triglicerídeos sobre as operárias das formigas cortadeiras e sobre o seu fungo simbiote (FERNANDES et al., 2002).

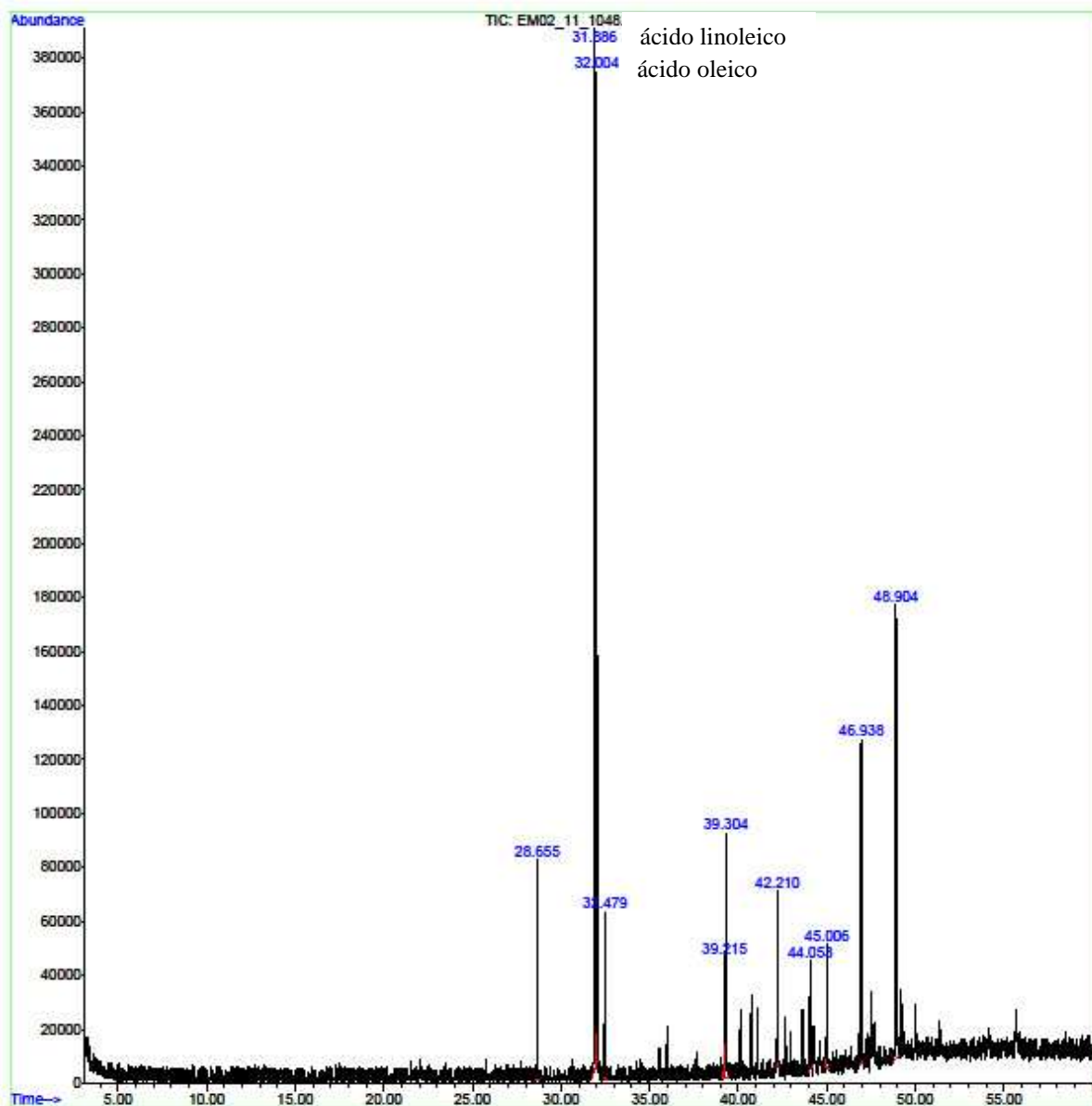


Figura 5. Cromatograma de íons totais obtido por CGAR-EM do extrato bruto de raízes de timbó C (*D. floribunda*) em HEX

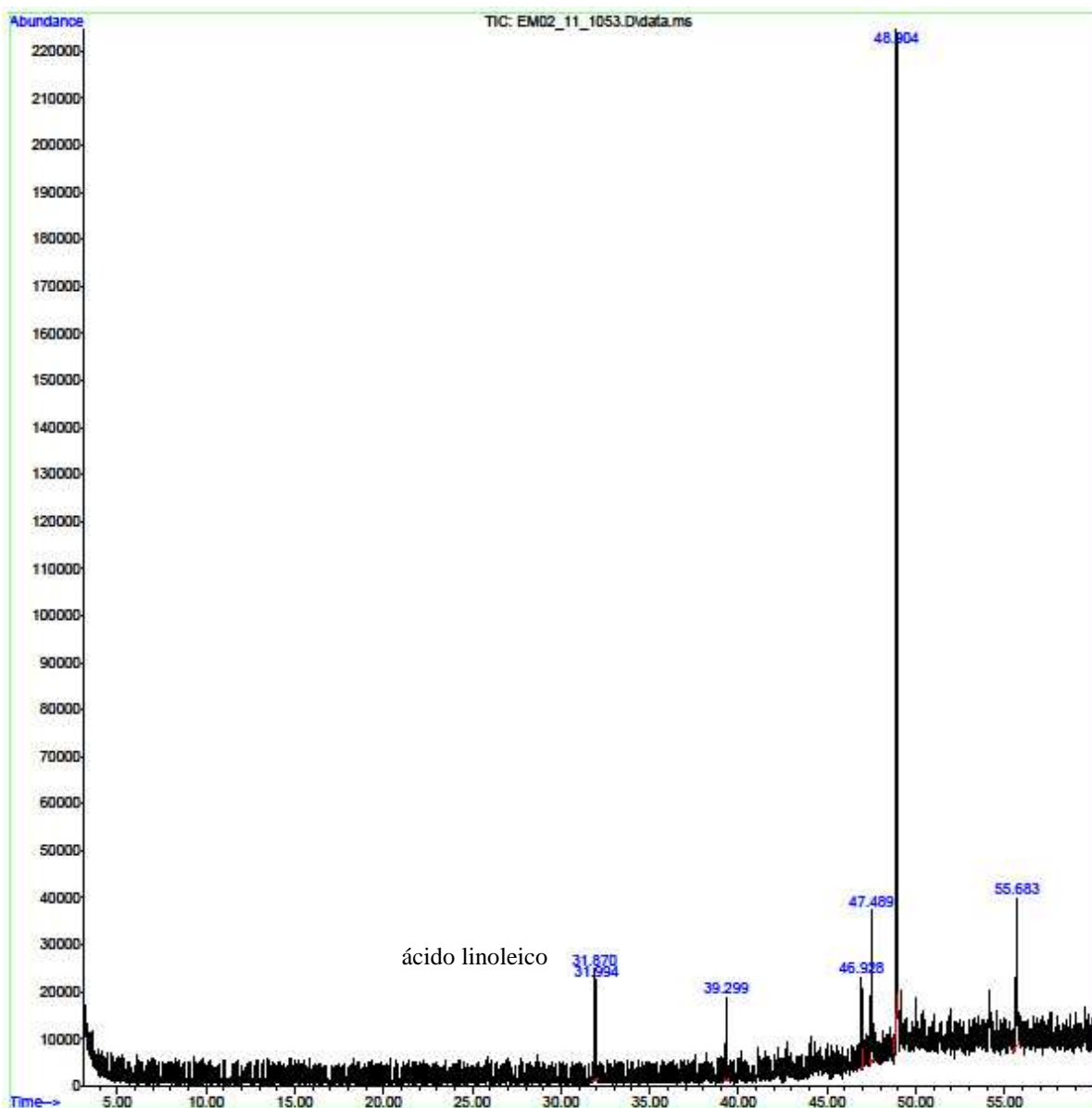


Figura 6 - Cromatograma de íons totais obtido por CGAR-EM do extrato bruto de raízes de timbó C (*D. floribunda*) em DCM

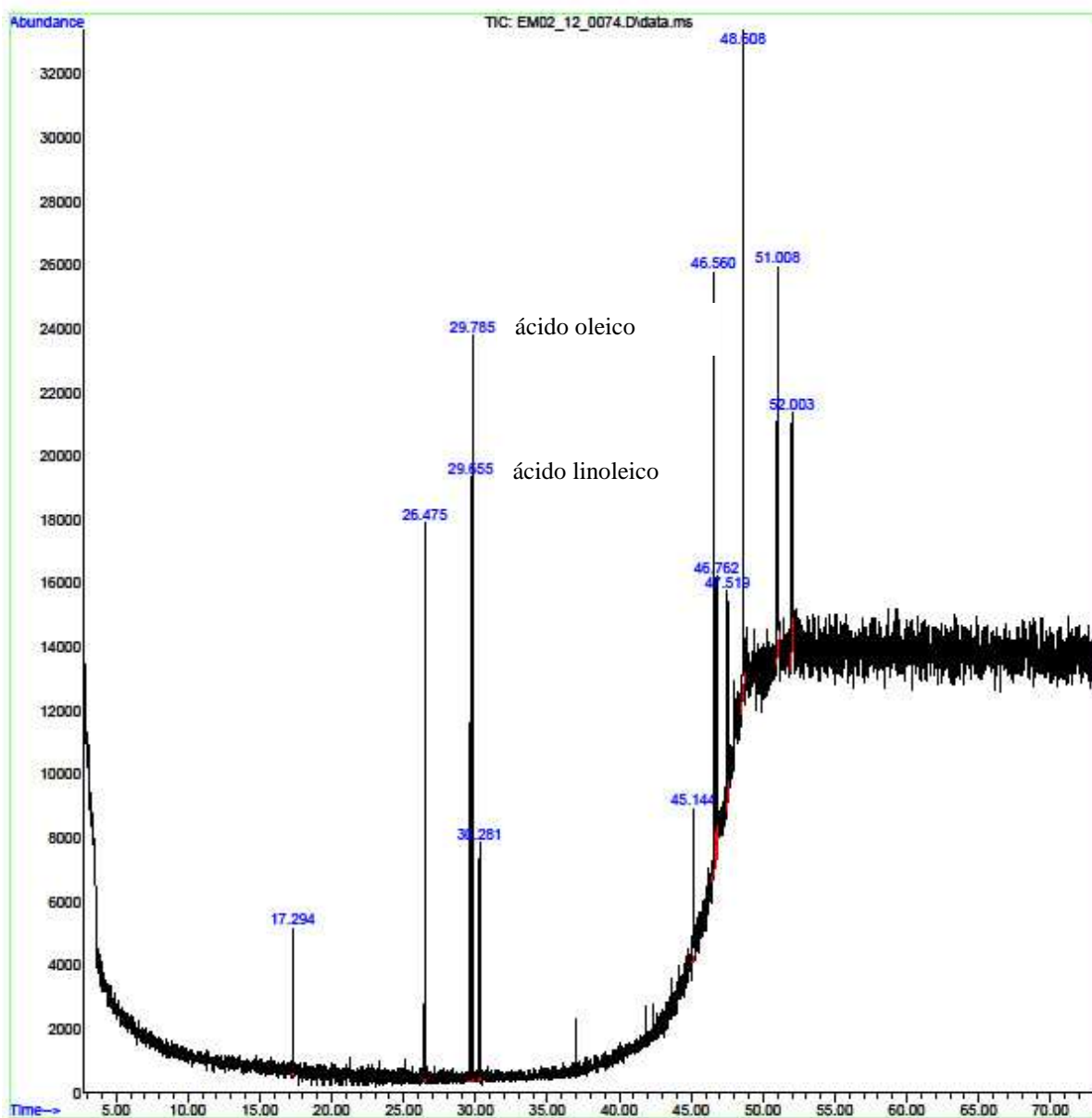


Figura 7. Cromatograma de íons totais obtido por CGAR-EM do extrato bruto de raízes de timbó C (*D. floribunda*) em MeOH

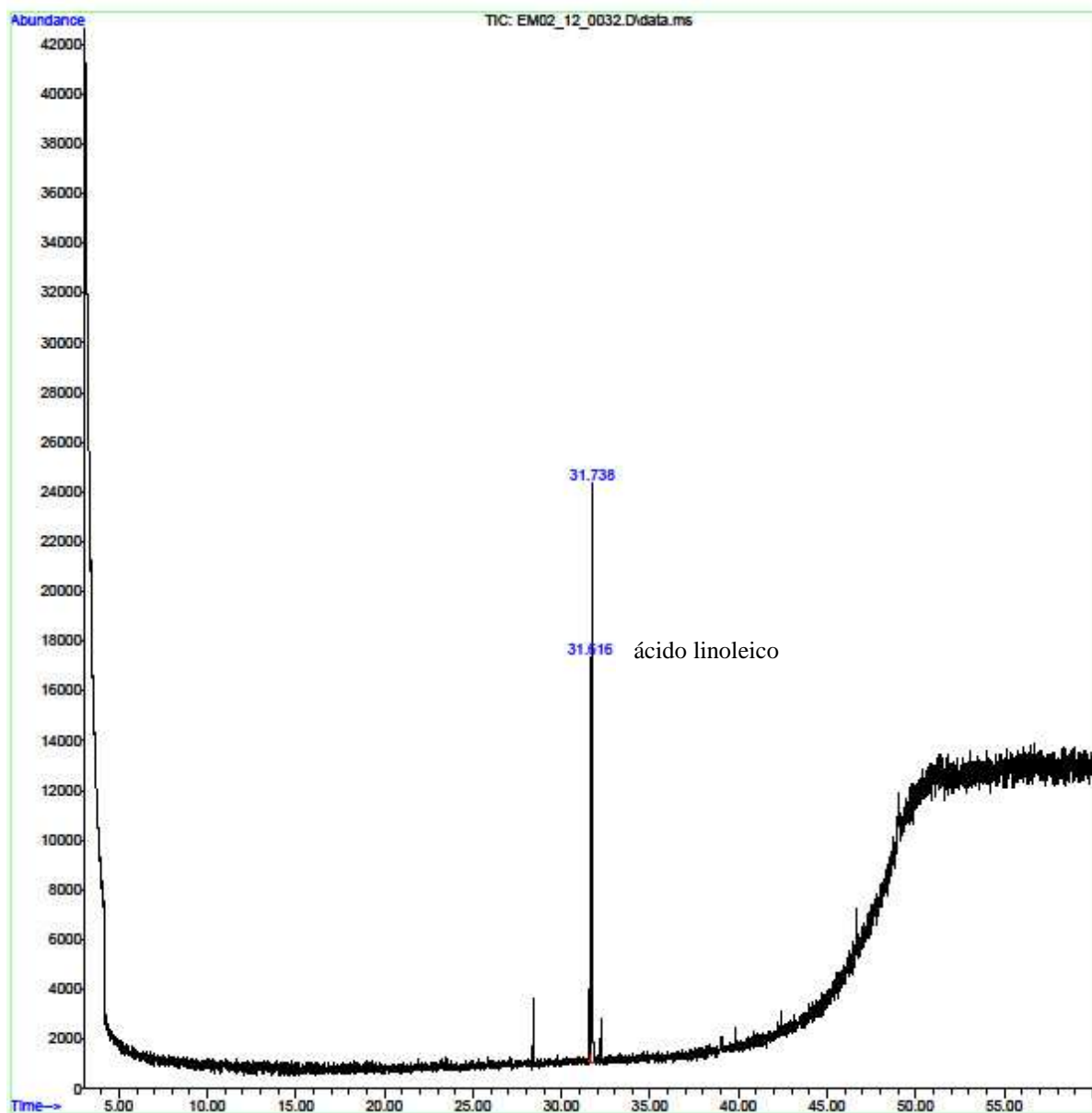


Figura 8. Cromatograma de íons totais obtido por CGAR-EM de frações das raízes de timbó C (*D. floribunda*) em HEX (precipitado).

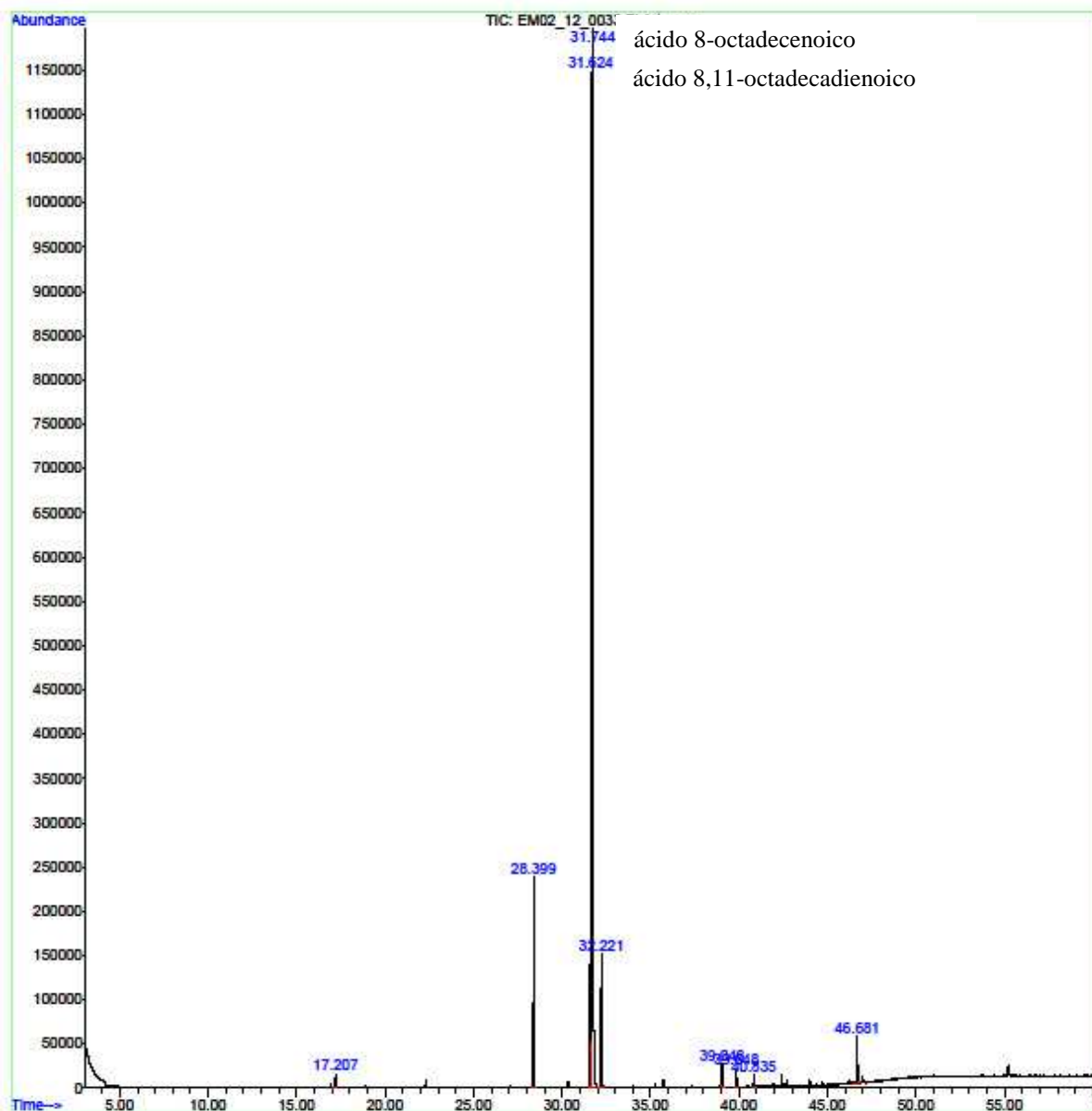


Figura 9. Cromatograma de íons totais obtido por CGAR-EM de frações das raízes de timbó C (*D. floribunda*) em HEX (solúvel)

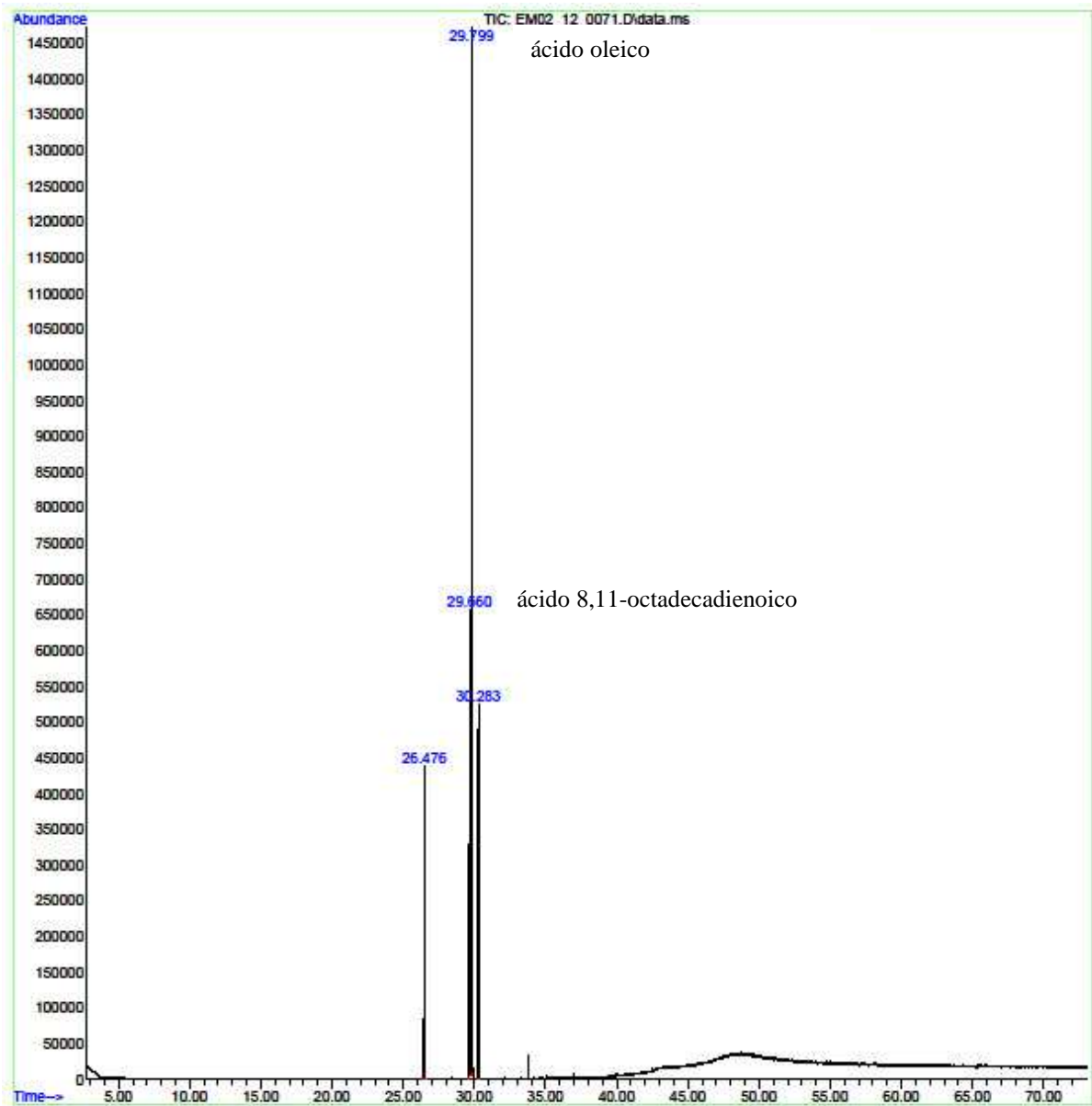


Figura 10. Cromatograma de íons totais obtido por CGAR-EM do extrato bruto de amêndoas de *A. indica* em HEX

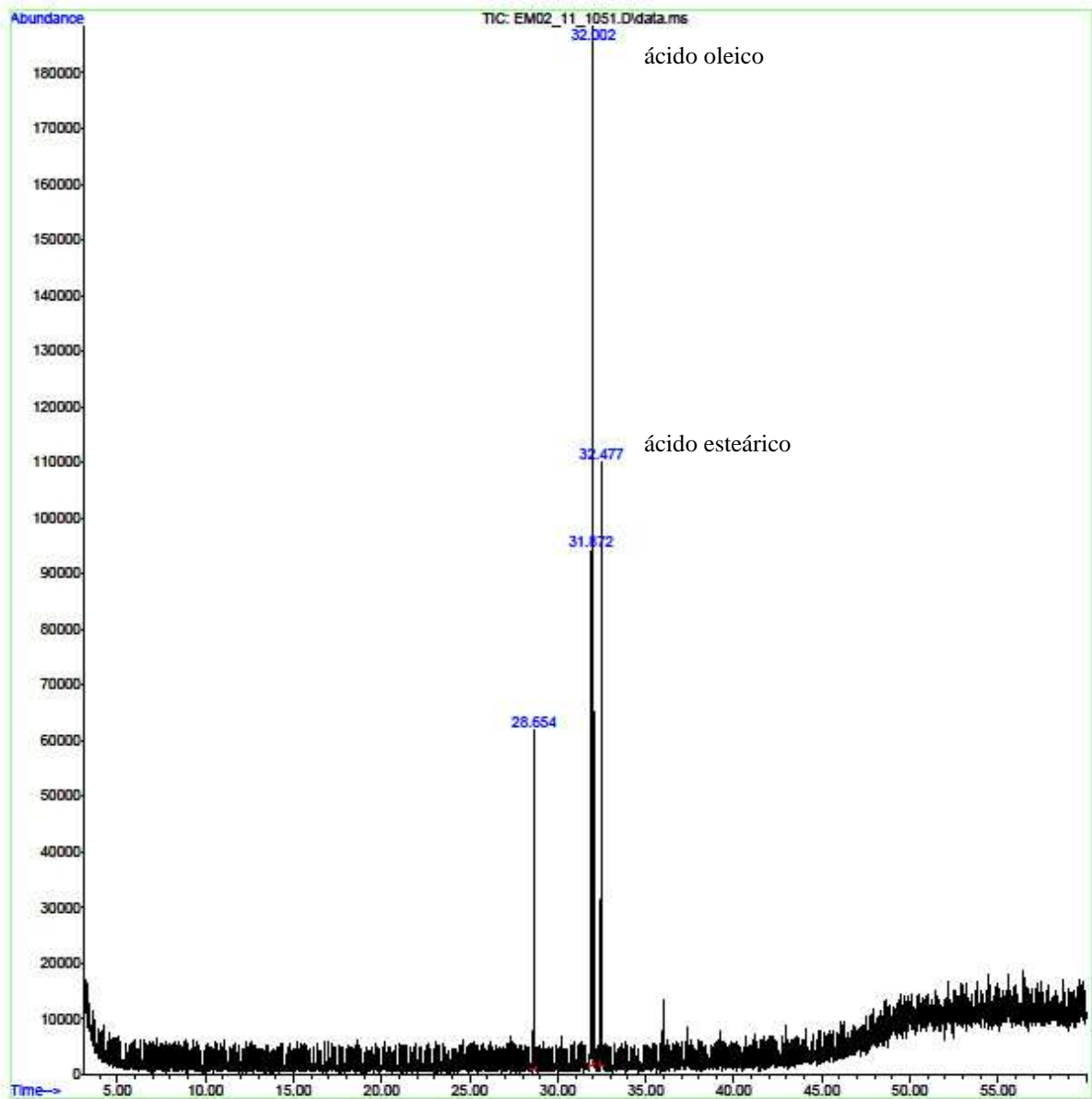


Figura 11. Cromatograma de íons totais obtido por CGAR-EM do extrato bruto de amêndoas de *A. indica* em DCM

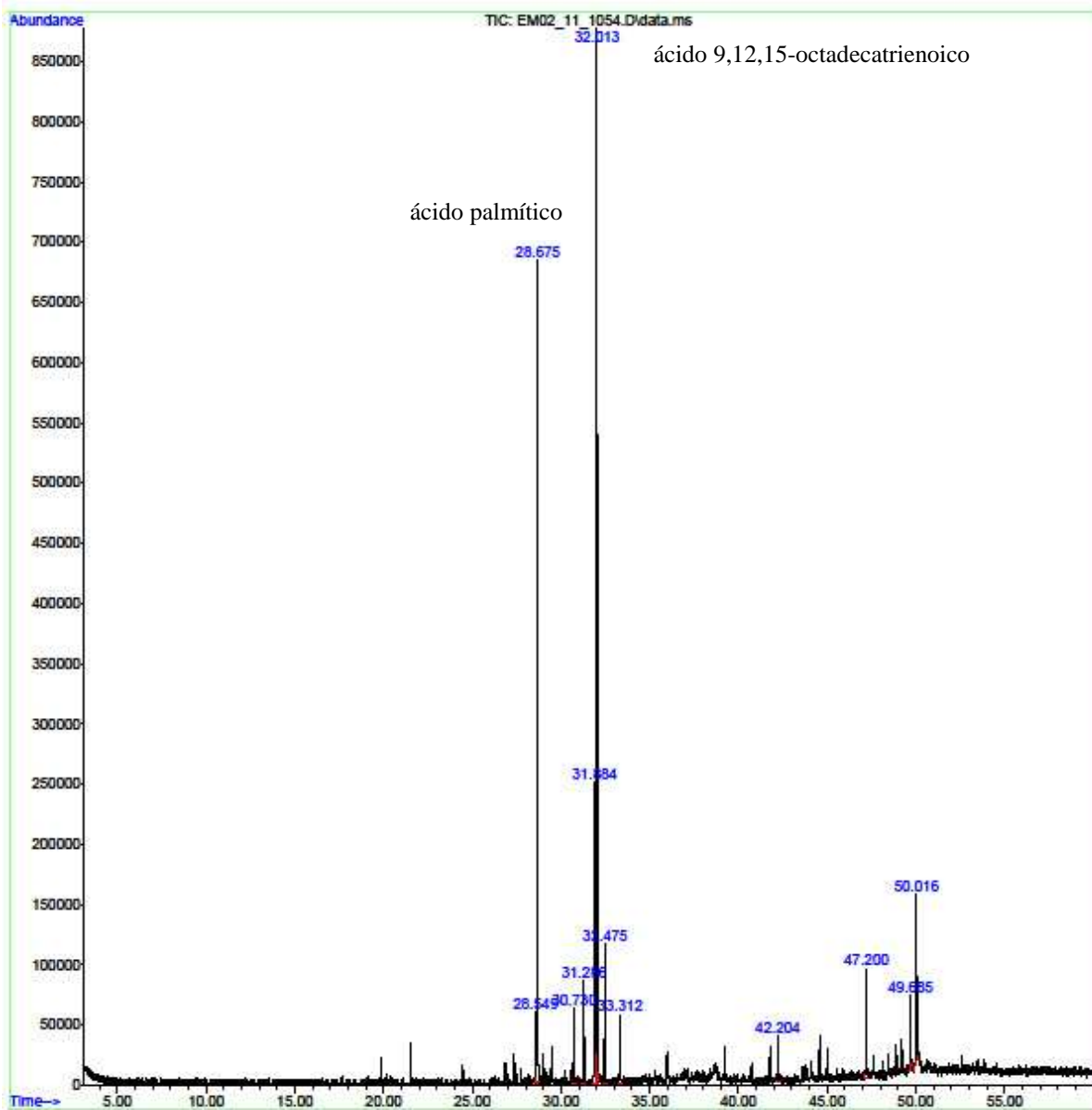


Figura 12. Cromatograma de íons totais obtido por CGAR-EM do extrato bruto de folhas de *M. azedarach* em HEX.

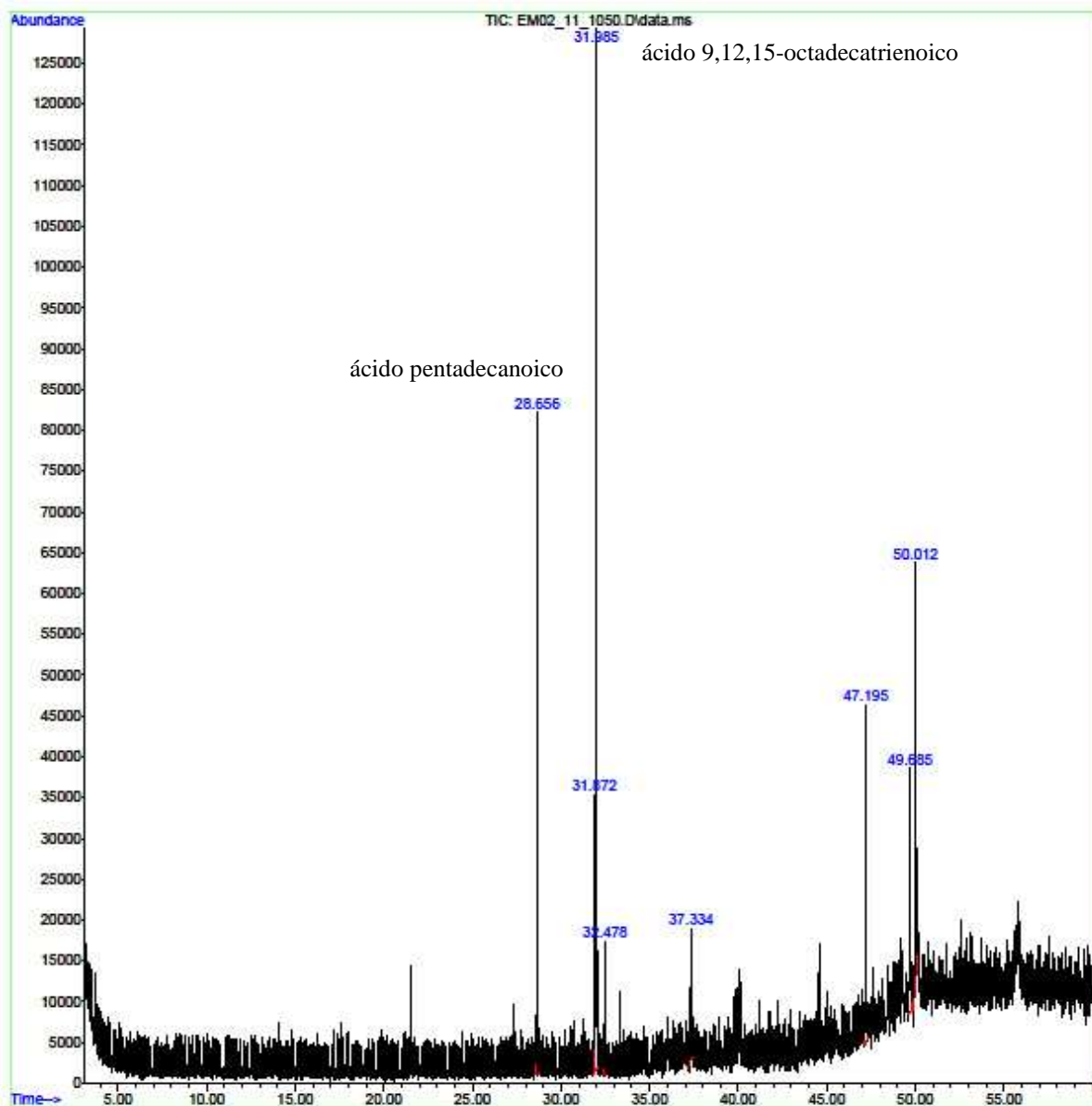


Figura 13. Cromatograma de íons totais obtido por CGAR-EM do extrato bruto de folhas de *M. azedarach* em DCM

4.2.2 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência Acoplada a Detector de Arranjo de Diodos – CLAE-DAD

Com exceção da rotenona, padrão utilizado, as demais análises em CLAE-DAD são mostradas após os bioensaios.

4.2.2.1 Rotenona (Padrão)

O padrão rotenona (95-98% de pureza, Sigma-Aldrich®) apresentou nesta análise tempo de retenção de 10,8 minutos. Esse padrão foi utilizado para identificar a classe química dessas substâncias nos extratos aquosos e frações de raízes do timbó C (*D. floribunda*); e associar a presença dessas substâncias à bioatividade sobre *A. woglumi*.

Neste estudo foi verificado comprimento de onda máximo da rotenona de 247 nm (Figura 14), conforme comparação de UV baseado nos estudos realizados por Yang et al. (2011).

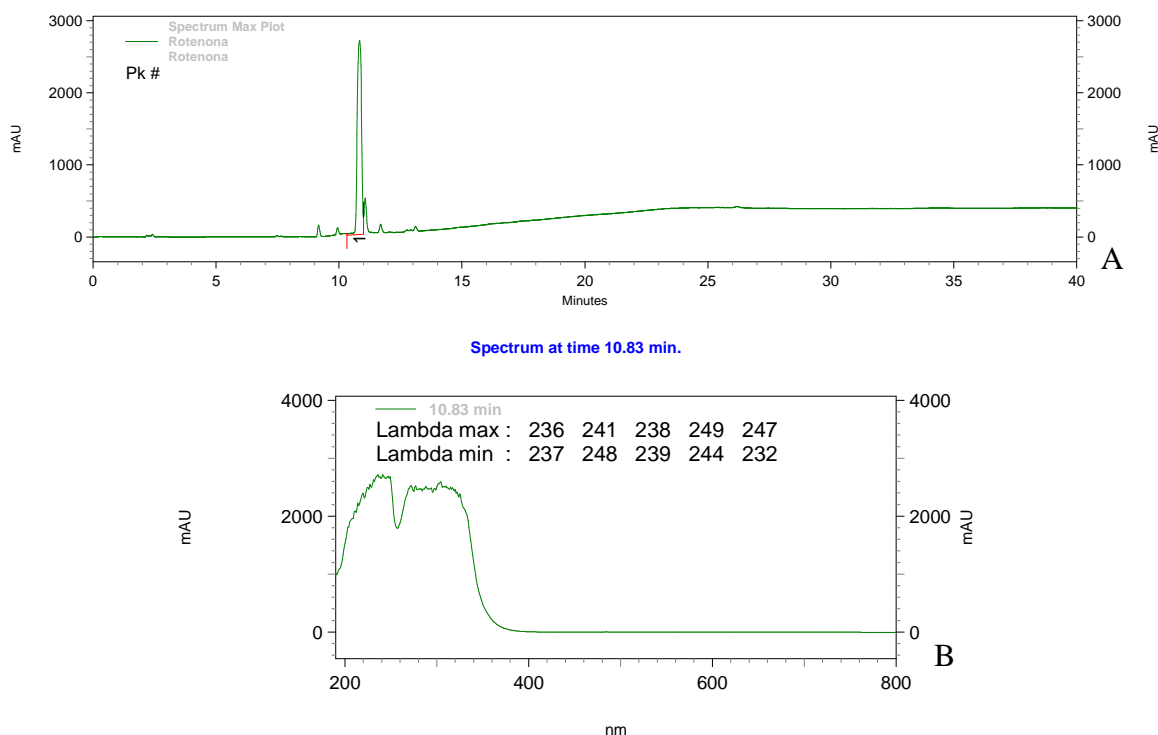


Figura 14. A) Cromatograma da rotenona (Padrão); B) Espectro UV

4.3 Bioensaios

4.3.1 Pré-Testes

4.3.1.1 Atividade ovicida

No bioensaio 1 o extrato que ocasionou maior efeito sobre ovos de *Aleurocanthus woglumi* Ashby, 8 dias após a aplicação dos extratos, foi o de folhas de *P. aduncum* causando mortalidade de 29,90%. Para essas concentrações a regressão polinomial significativa foi a quadrática. Já no bioensaio 2 os extratos mais eficientes foram os de folhas de *P. hispidum* e de *P. marcgravii* e o de raízes de timbó P (*D. rariflora*) causando mortalidades de 18,36; 17,93 e 12,85%, respectivamente (Tabela 9). Também neste segundo ensaio, a regressão polinomial significativa para as concentrações testadas foi a quadrática.

Considerando os dois bioensaios, o efeito sobre ovos de *A. woglumi* pode ser avaliado como de baixo a intermediário para inflorescências e folhas de *P. aduncum*, com mortalidades variando de 6,53% a 29,90%, respectivamente (Figura 15).

Essa baixa mortalidade indica, possivelmente, que os compostos bioativos existentes nos extratos avaliados, não foram capazes de exercer efeito ovicida significativo, caracterizando uma provável resistência física do córion à ação dos extratos.

Tabela 9 – Médias (\pm EP) da inviabilidade de ovos de *A. woglumi* com o uso de extratos aquosos simples de diferentes espécies de plantas inseticidas sob condições de laboratório.

BIOENSAIO 1 (PLANTA)		Concentrações (%)					
Plantas	Água destilada (0)	0,5	1	2	4	8	Média Geral
Folhas de <i>P. aduncum</i>	4,08 \pm 1,23	20,57 \pm 6,57	25,50 \pm 5,75	34,43 \pm 7,12	54,80 \pm 11,91	40,04 \pm 8,74	29,90\pm4,09 a
Folhas de <i>M. azedarach</i>	4,08 \pm 1,23	5,74 \pm 2,01	26,34 \pm 7,58	23,40 \pm 6,52	30,83 \pm 4,16	47,34 \pm 10,63	22,95\pm3,61 ab
Folhas de <i>T. pallida</i>	4,08 \pm 1,23	8,50 \pm 3,34	7,22 \pm 4,71	15,57 \pm 6,21	23,10 \pm 7,01	37,02 \pm 7,97	15,19\pm2,85 b
Média Geral	4,08\pm0,64	11,60\pm2,92	19,69\pm4,04	24,47\pm4,10	36,24\pm5,73	41,79\pm5,14	
BIOENSAIO 2 (BOD)		Concentrações (%)					
Plantas	Água destilada (0)	0,5	1	2	4	8	Média Geral
Folhas de <i>P. hispidum</i>	3,44 \pm 0,76	2,38 \pm 1,94	5,58 \pm 3,25	3,72 \pm 1,19	31,43 \pm 2,92	63,62 \pm 7,22	18,36\pm4,41 a
Folhas de <i>P. marcgravii</i>	3,44 \pm 0,76	5,69 \pm 2,08	5,73 \pm 2,84	16,89 \pm 6,59	38,57 \pm 7,12	37,26 \pm 12,01	17,93\pm3,65 a
Raízes de timbó P (<i>D. rariflora</i>)	3,44 \pm 0,76	11,60 \pm 3,63	11,65 \pm 4,40	12,28 \pm 5,56	20,40 \pm 7,69	17,70 \pm 3,42	12,85\pm2,02 a
Folhas de <i>A. indica</i>	3,44 \pm 0,76	2,83 \pm 1,50	4,37 \pm 1,75	11,13 \pm 2,13	17,70 \pm 4,84	22,45 \pm 4,36	10,32\pm1,78 ab
Inflorescências de <i>P. adundum</i>	3,44 \pm 0,76	1,22 \pm 0,50	4,10 \pm 0,67	5,50 \pm 4,09	4,39 \pm 1,15	20,51 \pm 5,57	6,53\pm1,60 b
Média Geral	3,44\pm0,31	4,74\pm1,17	6,29\pm1,30	9,90\pm2,04	22,50\pm3,25	32,31\pm4,55	

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$) pelo Teste de Tukey 5%

* Para a análise estatística, os dados foram transformados em ARCSENO $[\{(X+0,5)/100\}^{1/2}]$

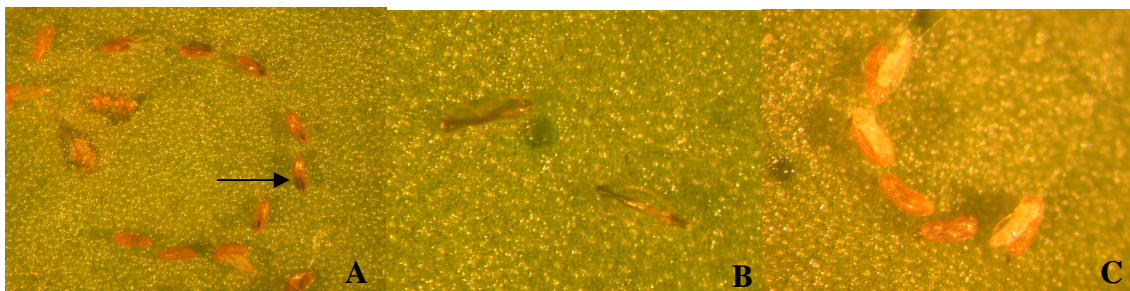


Figura 15. Mortalidade de ovos de *A. woglumi* com o uso de extratos de diferentes espécies de plantas inseticidas. A) ovos marrom-escuros; B) ninfas eclodidas ressecadas; C) ninfas mortas aderidas ao ovo.

4.3.1.2 Atividade ninficida

Não houve diferença significativa entre as espécies testadas, as quais provocaram baixos valores de mortalidade ninfal (Tabela 10). As ninfas mortas apresentam, basicamente, três padrões morfológicos que caracterizam seu estado de efetiva mortalidade: ninfa ressecada; ninfa eclodida aderida à exúvia e ninfa com tegumento deformado (Figura 16).

Folhas de *P. aduncum*, de *P. hispidum* e de *T. pallida* apresentaram maior atividade sobre ovos do que sobre ninfas de *A. woglumi*, enquanto *A. indica* causou efeito semelhante nos dois estágios do inseto (Tabelas 9 e 10).

Rao et al. (2008) testaram a toxicidade dos produtos Spinosad 45 SC, Abamectin 1.9 EC, Novaluron 10 EC, óleo de petróleo, óleo de nim, azadiractina (10.000 ppm), extrato de bandeira-doce (*Acorus calamus*), *Bacillus thuringiensis*, *Verticillium dahliae* e Dimethoate 30 EC sobre ninfas de *A. woglumi*, avaliando a mortalidade dos insetos 48 h após o tratamento. Abamectin, Spinosad e Novaluron foram os mais tóxicos para as ninfas de mosca-negra-dos-citros, com os mais baixos valores de CL_{50} (0,42; 0,49 e 0,79 ml/litro, respectivamente) e os mais altos valores de toxicidade relativa (2,83; 2,43 e 1,5, respectivamente).

A eficácia do óleo de nim e monocrotofós sozinhos e em combinação foi testada sobre *A. woglumi*. Os resultados agrupados revelaram que a pulverização de

monocrotofós a 0,025% mais óleo de nim 1,0% (emulsificado) num estágio ninfal inicial seguido de uma pulverização de 1,25% de óleo de nim após 15 dias foi o tratamento mais efetivo. O uso de inseticidas foi reduzido em 75%, comparado ao uso de duas pulverizações de monocrotofós (KATOLE et al., 1996).

São poucos os estudos envolvendo o uso de extratos de plantas inseticidas no controle de *A. woglumi*, sendo a maioria dos trabalhos com o uso de parasitoides, predadores e fungos entomopatogênicos.

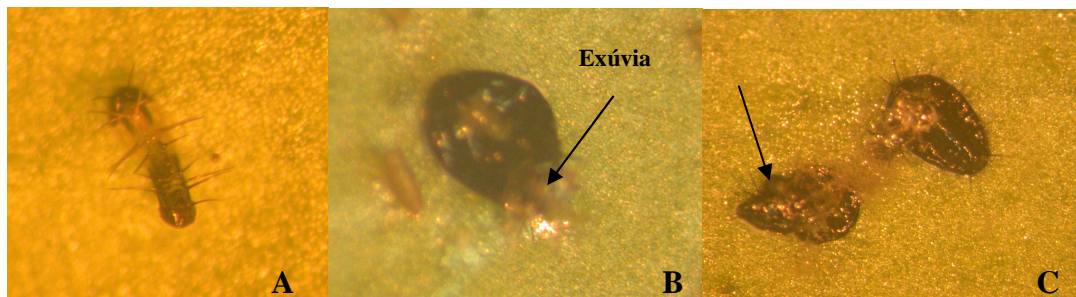


Figura 16. Mortalidade de ninfas de *A. woglumi* com o uso de diferentes espécies de plantas inseticidas. A) ninfa ressecada; B) ninfa eclodida aderida à exúvia; C) ninfa com tegumento deformado.

Tabela 10 – Médias (\pm EP) de mortalidade de ninfas de *A. woglumi* com o uso de extratos aquosos simples de diferentes espécies de plantas inseticidas.

Bioensaio	Concentrações (%)						Média Geral
	Água destilada (0)	0,5	1	2	4	8	
Folhas de <i>A. indica</i>	3,09 \pm 0,83	3,45 \pm 1,11	4,62 \pm 2,54	18,36 \pm 4,99	16,26 \pm 3,28	24,04 \pm 6,21	11.28\pm1.92 a
Folhas de <i>P. adundum</i>	3,09 \pm 0,83	15,74 \pm 5,06	4,25 \pm 1,40	9,05 \pm 4,33	13,62 \pm 2,14	14,33 \pm 1,32	10.01\pm1.40 a
Folhas de <i>P. hispidum</i>	3,09 \pm 0,83	10,93 \pm 4,16	12,99 \pm 1,69	15,40 \pm 2,70	1,72 \pm 0,62	14,28 \pm 3,10	9.74\pm1.32 a
Folhas de <i>T. pallida</i>	3,09 \pm 0,83	4,06 \pm 1,55	1,01 \pm 1,01	2,85 \pm 1,05	4,92 \pm 1,42	2,82 \pm 1,37	3.12\pm0.51 a
Média Geral	3,09\pm0,34	7,40\pm1,60	4,57\pm1,07	9,27\pm1,85	8,02\pm1,42	11,21\pm1,95	

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$) pelo Teste de Tukey 5%

* Para a análise estatística, os dados foram transformados em ARCSENO [$\{(X+0,5)/100\}^{1/2}$]

4.3.2 Estimativa da Concentração Letal Mediana (CL₅₀) com o uso de extratos de meliáceas sobre *A. woglumi* para utilização nos demais bioensaios

A escolha de plantas da família Meliaceae para a estimativa da CL₅₀ foi baseada na maior possibilidade de resposta positiva de ação inseticida sobre a mosca-negra, conforme estudos de bioatividade sobre outros insetos (BALDIN; VENDRAMIM; LOURENÇÃO, 2007; BEZERRA-SILVA et al., 2010; MARTINEZ, 2011). Foram realizados vários pré-testes com o uso de extratos aquosos de folhas de nim, incluindo diferentes épocas de coletas, mas como a mortalidade era sempre abaixo do esperado, decidiu-se também incluir extratos aquosos de amêndoas de nim e de folhas de *T. ciliata*.

A maior eficiência foi obtida com as amêndoas de *A. indica* com CL₅₀ de 2,46%, seguida das folhas de *T. ciliata* (8,58%) e folhas de *A. indica* (34,63%) (Tabela 11). As maiores mortalidades para amêndoas de *A. indica* (82,47 e 64,02%) e folhas de *T. ciliata* (52,17 e 27,59%) ocorreram nas concentrações de 8 e 4%, respectivamente. Já para folhas de *A. indica* a maior mortalidade (36,48%) ocorreu a 8%.

Estes resultados confirmam as propriedades bioativas de espécies da família Meliaceae no controle de pragas agrícolas, especialmente das amêndoas de nim, corroborando com as informações de Schmutterer (1988), Breuer; Devkota (1990), Mordue (Luntz); Blackwell (1993) e Martinez (2011).

A maior atividade obtida com o uso das amêndoas de nim pode ser em decorrência do maior teor de azadiractina nas sementes do que em outras partes da planta. Sundaram (1996) analisou o teor de azadiractina em amostras de sementes, cascas, folhas, raízes e ramos oriundos de árvores do sul da Índia e, com base no peso seco da amostra, registrou os seguintes resultados: sementes (0,03%), folhas (0,9 x 10⁻³%), cascas (0,5 x 10⁻³%), raízes (0,3 x 10⁻³%) e ramos (0,2 x 10⁻³%). Azadiractina é um

limonoide encontrado apenas em três espécies vegetais, todas do gênero *Azadirachta* (*A. indica*, *A. excelsa* e *A. siamensis*) (MORGAN, 2009).

Tabela 11 - Médias (\pm EP) de mortalidade de *A. woglumi* e CL_{50} com o uso de extratos aquosos de folhas e de amêndoas de *A. indica* e folhas de *T. ciliata*.

Concentrações	Mortalidade (%)		
	Amêndoas <i>A. Indica</i>	Folhas <i>T. ciliata</i>	Folhas <i>A. indica</i>
0%**	0,68 \pm 0,44 d	2,98 \pm 1,29 c	0,68 \pm 0,44 c
0,5%	21,91 \pm 5,75 c	7,16 \pm 2,51 bc	9,44 \pm 2,21 b
1%	37,62 \pm 7,01 bc	7,88 \pm 3,72 bc	12,45 \pm 2,30 b
2%	27,88 \pm 6,82 c	34,77 \pm 15,36 ab	13,37 \pm 2,91 b
4%	64,02 \pm 6,15 ab	27,59 \pm 5,36 abc	18,36 \pm 4,99 b
8%	82,47 \pm 5,08 a	52,17 \pm 4,79 a	36,48 \pm 5,18 a
	CL₅₀ = 2,46 (IC (90%) = 1,08-6,60) C.V.=27,03 %	CL₅₀ = 8,58 (IC (90%) = 6,53-13,27) C.V.=41,69 %	CL₅₀ = 34,63 (IC (90%) = 12,39-1196,61) C.V.= 32,62 %

*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey 5% de probabilidade, em cada planta analisada separadamente.

Para a análise estatística, os dados foram transformados em ARCSENO $\{[(X+0,5)/100]^{1/2}\}$

** Controle água destilada.

IC=Intervalo de Confiança

4.3.3 Seleção das plantas inseticidas promissoras – *Screening*

4.3.3.1 Diferentes famílias botânicas

O extrato aquoso que apresentou maior bioatividade no controle da mosca-negra foi o obtido com as raízes de timbó C, *Derris floribunda*, seguido pelo de amêndoas de *A. indica* e de folhas de *M. azedarach*. Os extratos que causaram mortalidades significativamente superiores à testemunha água destilada foram os de sementes e de folhas de *R. mucosa*, de folhas e de ramos de *T. pallens*, de inflorescências de *P. hispidum*, de folhas de *T. pallida*, de inflorescências de *P. aduncum*, de inflorescências

de *P. peltatum*, de folhas de *A. indica* e de folhas e de ramos de *P. hispidinervum* (Tabela 12).

Os timbós diferiram significativamente entre si, já que enquanto o extrato de *D. floribunda* foi o que apresentou o maior potencial inseticida, provocando mortalidade de 88,38%, o extrato de *D. rariflora* causou apenas 10,70% de mortalidade. Já as meliáceas, de modo geral, se mantiveram com bom desempenho no controle da mosca-negra, principalmente quando foram utilizadas amêndoas e folhas. Já, as piperáceas foram mais promissoras com o uso de inflorescências do que folhas, com exceção de *P. hispidinervum*.

A diferença na toxicidade entre espécies de timbós também foi observada por Corrêa (2011) em experimentos com *D. floribunda* e *D. rariflora*, onde *D. rariflora* foi mais tóxica para *T. desertorum* (Acari: Tetranychidae). Já nos trabalhos de Costa, Belo e Barbosa (1997), *D. urucu* foi mais eficiente que *D. nicou* no controle de duas linhagens de *Musca domestica*, sendo necessário mais que o dobro da quantidade de *D. nicou* para se obter os mesmos efeitos causados por *D. urucu*. As diferenças na toxicidade dos extratos quando se usa as mesmas espécies de plantas sobre organismos diferentes, pode ser devido às características biológicas do organismo, assim como, aos mecanismos de contato e alimentação.

A mortalidade da mosca-negra-dos-citros com o uso de extratos aquosos de amêndoas de nim neste estudo, corrobora o trabalho de Baldin, Vendramim e Lourenção (2007), que observaram que a pulverização com extratos aquosos de sementes de nim aumentou a mortalidade de ninfas de mosca-branca, *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) nos genótipos de tomate. Além da ação inseticida do nim, verificadas neste estudo, outras formas de ação necessitam ser estudadas em relação à mosca-negra-

dos-citros, considerando que produtos à base de sementes de nim podem agir na redução da oviposição.

Em experimentos com outros insetos diferentes da família Aleyrodidae, Salles e Neiva (1999) demonstraram a ação inseticida de extratos formulados (aquosos) de frutos de nim e de *Melia azedarach*, reduzindo a postura, o desenvolvimento larval e pupal da mosca-das-frutas, *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae). Garcia et al. (2006), avaliando a bioatividade de extratos aquosos de sementes de nim sobre *Mahanarva fimbriolata* (Hemiptera: Cercopidae), verificaram que os machos tiveram redução na longevidade de aproximadamente 50%, enquanto nas fêmeas ocorreu redução de 55-60% na longevidade e de 75-80% na fecundidade .

A maior atividade com o uso das folhas, seguida dos frutos e ramos de *M. azedarach* verificadas neste estudo, corroboram o trabalho de Brunherotto e Vendramim (2001), que, utilizando extratos aquosos a 0,1%, constataram que as folhas de *M. azedarach* foram a estrutura vegetal com maior bioatividade sobre a traça-do-tomateiro, *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae), vindo a seguir os frutos verdes, os ramos e os frutos maduros. Lovatto, Mauch e Schiedeck (2011) salientaram a ação repelente do extrato aquoso das folhas dessa planta e a ação do extrato aquoso de frutos maduros na redução da sobrevivência e da fecundidade de *Brevicoryne brassicae* (Hemiptera: Aphididae).

Quanto às piperáceas, há necessidade de estudos com o uso de óleos essenciais sobre a mosca-negra. A menor mortalidade com o uso dos extratos aquosos das folhas pode ser devido à baixa extração dos compostos inseticidas utilizando a água como solvente. Contudo, os extratos aquosos das inflorescências se mostraram promissores, podendo ainda ser obtidos melhores resultados com o uso de outros métodos de extração.

Bernard et al. (1995) compararam o extrato alcoólico de folhas de 16 espécies de *Piper*, apontando *P. aduncum* como a de maior atividade inseticida para larvas de segundo ínstar de *Aedes atropalpus*. Nesse ensaio, o extrato aquoso de plantas frescas de *P. aduncum* aplicado diretamente na água, na concentração de 10 ppm, causou mortalidade de 50% das larvas. Já o dilapiol isolado e purificado, apresentou, nas mesmas condições experimentais, 92% de eficiência no controle das larvas na concentração de 1 ppm.

São vários os estudos destacando a importância do uso dos óleos essenciais de *Piper* no controle de pragas agrícolas. Fazolin et al. (2011) comprovaram a toxicidade do óleo essencial de *P. affinis hispidinervum* para larvas de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) e adultos de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) e de *Cerotoma tingomarianus* (Coleoptera: Chrysomelidae). Além desse, resultados promissores também foram obtidos com o uso do óleo essencial de *P. aduncum* no controle de *C. tingomarianus* (FAZOLIN et al., 2005); dos óleos essenciais de *P. hispidinervum* e de *P. aduncum* sobre *S. zeamais* (ESTRELA et al., 2006) e do óleo essencial de *P. aduncum* sobre larvas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) (FAZOLIN et al., 2007).

Tabela 12 - Médias (\pm EP) de mortalidade com o uso de extratos aquosos de diferentes plantas inseticidas sobre a mosca-negra-dos-citros, *A. woglumi*.

Estruturas/Espécies	Mortalidade (%)
Raízes de timbó C (<i>D. floribunda</i>)	88,38 \pm 0,88 a
Amêndoas de <i>A. indica</i>	56,98 \pm 7,05 ab
Folhas de <i>M. azedarach</i>	42,20 \pm 3,36 abc
Sementes de <i>Rollinia mucosa</i>	35,95 \pm 4,80 abcd
Ramos de <i>T. pallens</i>	35,70 \pm 7,72 abcde
Inflorescências de <i>P. hispidum</i>	34,76 \pm 4,95 abcde
Folhas de <i>T. pallida</i>	31,05 \pm 6,54 cdef
Folhas de <i>R. mucosa</i>	27,47 \pm 5,82 cdefg
Inflorescências de <i>P. aduncum</i>	27,35 \pm 4,83 cdefg
Inflorescências de <i>P. peltatum</i>	26,70 \pm 7,79 defgh
Folhas de <i>T. pallens</i>	25,02 \pm 4,86 defgh
Folhas de <i>A. indica</i>	20,57 \pm 1,65 defgh
Ramos de <i>P. hispidinervum</i>	19,90 \pm 4,07 efghi
Folhas de <i>P. hispidinervum</i>	19,36 \pm 2,17 efghi
Ramos de <i>T. pallida</i>	18,89 \pm 5,32 fghij
Frutos de <i>M. azedarach</i>	17,73 \pm 3,01 fghijk
Folhas de <i>C. procera</i>	15,82 \pm 3,67 ghijkl
Folhas de <i>P. aduncum</i>	13,56 \pm 2,24 hijklm
Folhas de <i>P. peltatum</i>	13,40 \pm 3,04 hijklm
Folhas de <i>C. guianensis</i>	13,32 \pm 4,37 hijklm
Ramos de <i>C. procera</i>	12,96 \pm 5,99 jklmn
Raízes de timbó P (<i>D. rariflora</i>)	10,70 \pm 2,06 jklmn
Folhas de <i>P. hispidum</i>	10,54 \pm 3,50 jklmn
Ramos de <i>T. ciliata</i>	9,42 \pm 4,00 jklmn
Ramos de <i>M. azedarach</i>	9,25 \pm 1,29 jklmn
Ramos de <i>A. indica</i>	8,68 \pm 2,20 jklmn
Folhas de <i>T. ciliata</i>	8,14 \pm 1,20 jklmn
Ramos de <i>C. guianensis</i>	6,77 \pm 4,72 jklmn
Testemunha água destilada	4,85 \pm 1,09 jklmn

* Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$) pelo Teste pós Kruskal-Walis proposto por Conover & Iman (1979).

Sendo assim, a eficiência destes extratos promissores no controle desta praga é relevante para a utilização no manejo integrado, tanto em grandes plantios quanto em pequenas propriedades rurais, por se tratar de extratos de fácil elaboração, baixo risco

de contaminação do aplicador e ambiente, além da água ser um solvente universal. Contudo, há a necessidade de testes de semicampo e campo para consolidação desses dados.

4.3.3.2 Espécies/Ecótipos de timbós, *Derris* spp.

Os timbós utilizados neste estudo foram coletados em diferentes localidades (Tabela 2), sendo que os timbós C, E e G foram coletados na margem direita do Rio Negro e os timbós J, O e P na margem esquerda do referido rio.

As maiores mortalidades de *A. woglumi* ocorreram com o uso dos timbós C (*D. floribunda*) (87,29%) e J (*D. rariflora*) (82,60%), seguidos dos timbós E (*D. floribunda*) (57,64%) e G (*D. rariflora*) (25,24%). Os timbós P (*D. rariflora*) e O (*D. rariflora*) não diferiram estatisticamente da testemunha (Tabela 13).

Tabela 13 - Médias (\pm EP) de mortalidade com o uso de extratos aquosos simples de diferentes espécies/ biotipos de timbós sobre a mosca-negra-dos-citros, *A. woglumi*.

Estruturas/Espécies	Mortalidade (%)
Raízes de timbó C (<i>D. floribunda</i>)	87,29 \pm 2,75 a
Raízes de timbó J (<i>D. rariflora</i>)	82,60 \pm 3,10 a
Raízes de timbó E (<i>D. floribunda</i>)	57,64 \pm 5,02 b
Raízes de timbó G (<i>D. rariflora</i>)	25,24 \pm 4,15 c
Raízes de timbó P (<i>D. rariflora</i>)	10,79 \pm 1,46 cd
Testemunha água destilada	4,65 \pm 1,81 d
Raízes de timbó O (<i>D. rariflora</i>)	3,59 \pm 1,27 d

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$) pelo Teste de Tukey 5%
 Para a análise estatística, os dados foram transformados em $\text{ARCSENO} \left[\frac{(X+0,5)}{100} \right]^{1/2}$
 C.V. = 18,00%

A mortalidade da mosca-negra-dos-citros com o uso dos extratos aquosos dos timbós ocorreu de forma semelhante em todos os extratos promissores. Nenhuma das ninfas de segundo estágio conseguiu fazer a troca de tegumento e passar para o terceiro

estádio de desenvolvimento; além disso, elas se apresentavam ressecadas e algumas contorcidas. Essas observações foram feitas por até um mês após a aplicação dos extratos. Esses resultados diferiram dos encontrados com as demais espécies de plantas inseticidas testadas no *screening*, onde por mais que houvesse elevada mortalidade, havia a presença de ninfas de terceiro estágio (vivas e/ou mortas), assim como nas testemunhas. Esse fenômeno pode estar relacionado à ação de metabólitos secundários causando efeito de antibiose nos insetos.

Foi verificado que existe uma variação na atividade inseticida tanto interespecífica como pode ser observado para os timbós C e O, quanto intraespecífica, observada nos timbós C e E, além dos timbós J e G, P e O. Quanto aos ecótipos de timbós, aparentemente, as condições edafoclimáticas onde estão localizadas as plantas, pode ter influência na variação da mortalidade dos insetos tratados.

Costa e Bélo (1999) estudando o efeito dos timbós coletados em diferentes regiões da Amazônia, sobre *Musca domestica* (Diptera: Muscidae), verificaram que, dentro de cada espécie, as plantas variaram, desde aquelas ineficientes até as altamente letais no controle das moscas. Segundo os autores, plantas da mesma espécie, originadas de regiões diferentes, sugerem que ambas as espécies devem ter apresentado isolamento de suas populações durante a época do quaternário.

Variações temporais e espaciais no conteúdo total, bem como as proporções relativas de metabólitos secundários em plantas ocorrem em diferentes níveis (sazonais e diárias; intraplanta, inter- e intraespecífica) e, apesar da existência de um controle genético, a expressão pode sofrer modificações resultantes da interação de processos bioquímicos, fisiológicos, ecológicos e evolutivos (LINDROTH, HSIA E SCRIBER, 1987; HARTMANN, 1996). De fato, os metabólitos secundários representam uma interface química entre as plantas e o ambiente circundante, portanto, sua síntese é

frequentemente afetada por condições ambientais (KUTCHAN, 2001 apud GOBBO-NETO e LOPES, 2007).

A análise em cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE-DAD) não detectou a presença de rotenoides em nenhum dos extratos aquosos simples e liofilizados (obtidos conforme ítem 3.4.1 e preparo da amostra para análise 3.5.3.5) dos timbós C, J e O, sendo predominantes os picos referentes às substâncias fenólicas, da classe dos flavonoides conforme espectros UV (Figuras 17 a 22). Os flavonoides possuem espectros de absorção característicos no ultravioleta com dois máximos de absorção: um ocorrendo entre 240-285 nm (banda II) e outro entre 300-400 nm (banda I) (ZUANAZZI, 1999).

Os flavonoides podem estar envolvidos na atividade tóxica encontrada para esses extratos sobre a mosca-negra-dos-citros, entretanto mais estudos são necessários para a confirmação dessa atividade. Segundo Gullan e Cranston (2007), existe uma enorme variedade de compostos vegetais secundários, incluindo compostos fenólicos (como os taninos), compostos terpenoides (óleos essenciais), alcalóides, glicosídeos cianogênicos e glicosinolatos contendo enxofre, funcionando como defesa química da planta contra insetos.

Com relação a provável não detecção de rotenoides nos extratos aquosos pode ser devido ao fato de a água, solvente polar, não ser um bom extrator para esses compostos, enquanto solventes de polaridade intermediária a apolares apresentarem maior eficiência. Segundo Corbett (1940), apesar de a rotenona ser pouco solúvel em água, apresenta excelente solubilidade em clorofórmio, éter, acetona, tetracloreto de carbono e nos derivados do etileno. Essa questão é também abordada por Zubairi et al. (2004) e Cavosk, D'orazio e Miano, 2009 apud Corrêa (2011), que mencionam que a

rotenona, por tratar-se de uma molécula de polaridade intermediária, apresenta solubilidade em água bastante baixa, sendo praticamente insolúvel.

Considerando a alta mortalidade de *A. woglumi* com o uso de extratos aquosos dos timbós C e J, sugere-se que essa ação possa estar ligada à presença de outras substâncias nos extratos, como os flavonoides e não, necessariamente, à rotenona ou aos rotenoides de modo geral. Corrêa (2011) trabalhando com as mesmas espécies de timbó, não detectou a presença de rotenona nos extratos aquosos utilizando a CLAE.

Atualmente, alguns trabalhos não relacionam mais a rotenona como a substância responsável pela toxicidade dos extratos de timbós sobre os organismos alvos de estudo, e sim outras substâncias da classe dos rotenoides ou mesmo outras substâncias desconhecidas (COSTA, BELO E BARBOSA, 1997; CORRÊA, 2011; ALÉCIO et al., 2011a).

Diversos estudos, entretanto, têm atribuído a toxicidade dos timbós à rotenona (CAMINHA FILHO, 1940; CORBETT, 1940; LIMA, 1987; CRAVERO, GUERRA e SILVEIRA, 1976; PIRES, 1978; CROMBIE e WHITING, 1998; FAZOLIN et al., 2002; PEREIRA e FAMADAS, 2004; AZEVEDO et al., 2005; CORRÊA, 2006 e ALÉCIO et al., 2010).

Corrêa (2011) em experimentos com *D. floribunda* e *D. rariflora*, verificou que *D. rariflora* foi a mais tóxica para o ácaro *T. desertorum*, tendo obtido teores de rotenona de 4,5 e 4% nas raízes de *D. floribunda* e de 4,3 e 5% nas raízes de *D. rariflora* nos extratos acetônico e etanólico dessas plantas, respectivamente. Verificou também que a rotenona comercial (padrão) não foi tóxica para *T. desertorum*.

A mortalidade de adultos de *C. tingomarianus* (Coleoptera: Chrysomelidae) submetidos a diferentes concentrações do extrato de *L. floribundus* foi maior nas concentrações de 5% (m.v⁻¹) por ingestão de folhas contaminadas e de 40% (m.v⁻¹) por

aplicação tópica, onde foram obtidos valores de mortalidades dos insetos de 29,1 e 13,3%, respectivamente, considerando os teores de rotenona e deguelina do extrato de 11,7% m.v⁻¹ e 0,7% m.v⁻¹, respectivamente (ALÉCIO et al., 2011a). Esses valores de mortalidades foram inferiores aos obtidos por Alecio et al. (2010), que observaram CL₅₀ de 1,5% (m.v⁻¹) por ingestão de folhas contaminadas e 2,9% (m.v⁻¹) por aplicação tópica quando avaliaram a ação inseticida do extrato de *D. amazonica*, contendo 3,7% (m.v⁻¹) de rotenona, para adultos de *C. arcuatus*.

Segundo Alécio et al. (2011a) esses resultados indicam que somente o teor de rotenona presente em extratos de *L. floribundus* não é determinante para promover mortalidade de adultos de *C. tingomarianus*, sugerindo que o efeito tóxico do extrato pode estar associado à presença de outros compostos rotenoides bioativos, tais como deguelina, tefrosina, toxicarol, sumatrol, eliptona e malacol (LIMA, 1987), além de outras substâncias desconhecidas, que podem atuar conjuntamente com a rotenona elevando as taxas de mortalidade e/ou inibindo a alimentação do inseto-praga.

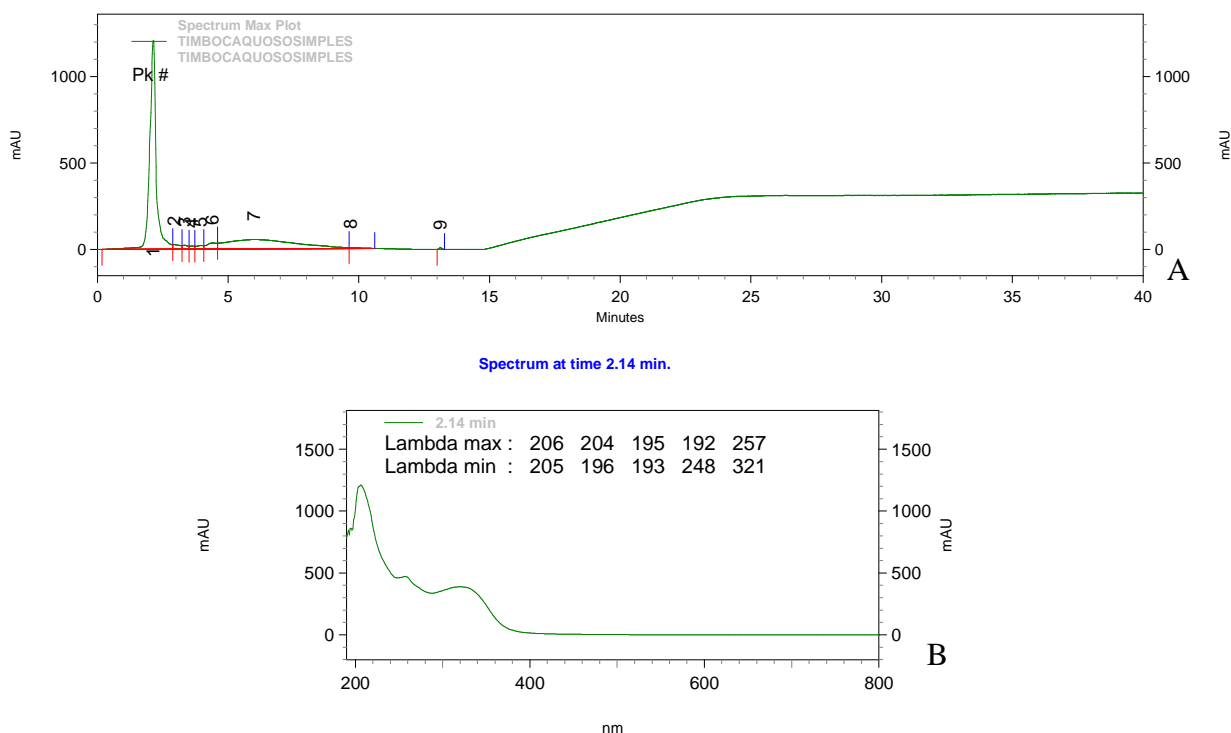


Figura 17. A) Cromatograma das raízes de timbó C (*D. floribunda*) aquoso simples; B) Espectro UV

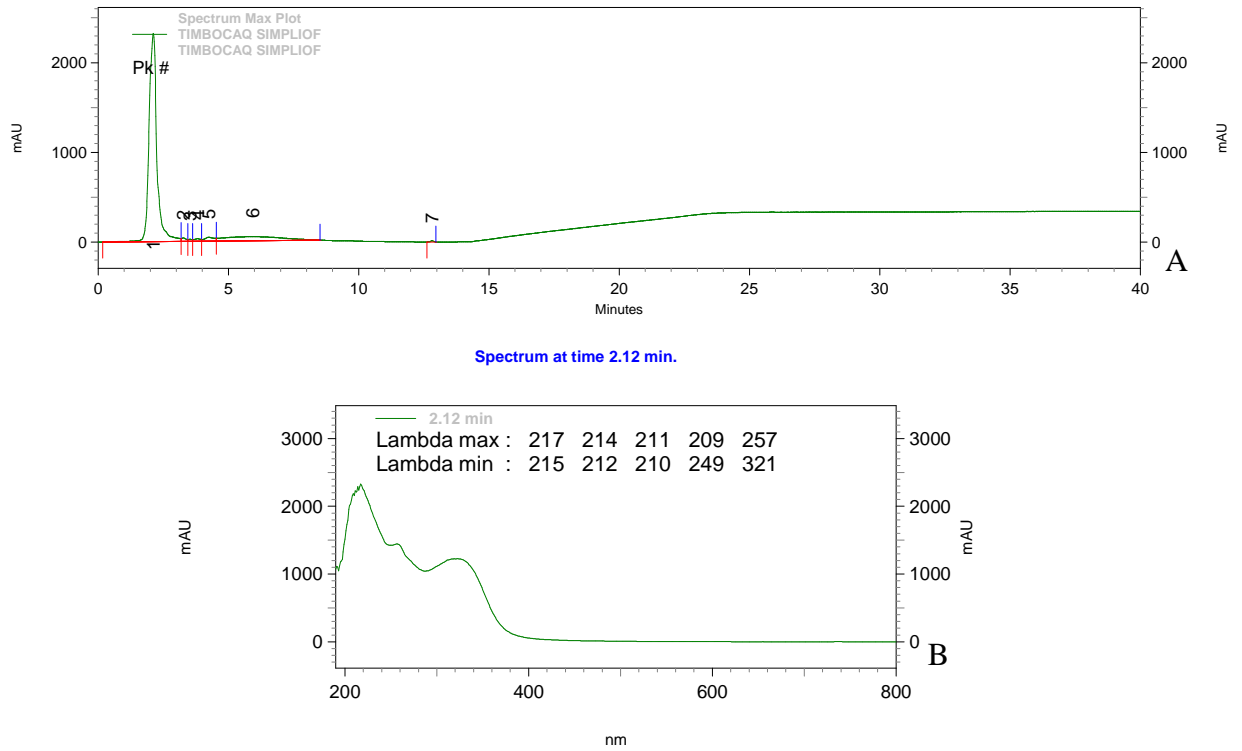


Figura 18. A) Cromatograma das raízes de timbó C (*D. floribunda*) aquoso simples liofilizado; B) Espectro UV

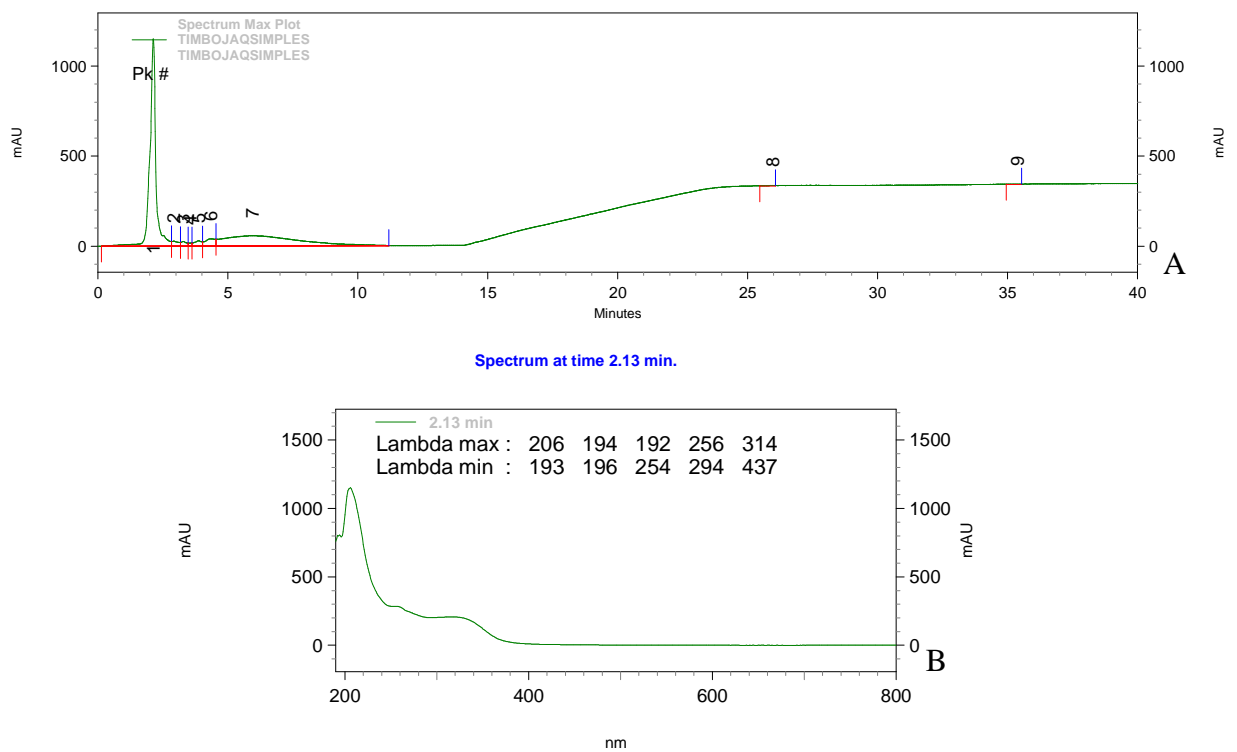
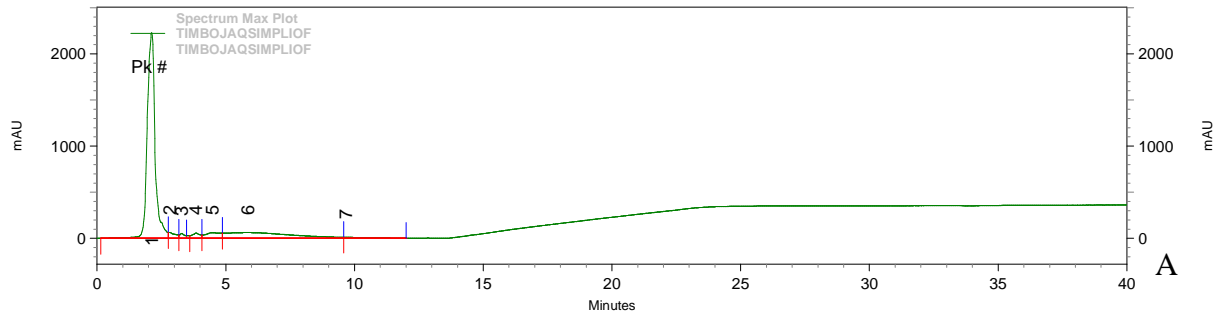


Figura 19. A) Cromatograma das raízes de timbó J (*D. rariflora*) aquoso simples; B) Espectro UV



Spectrum at time 2.12 min.

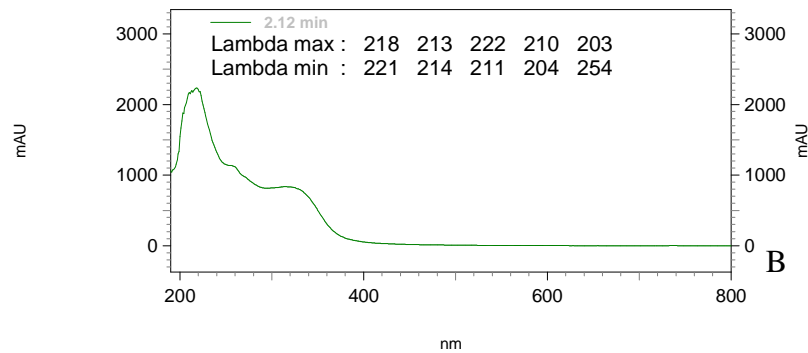
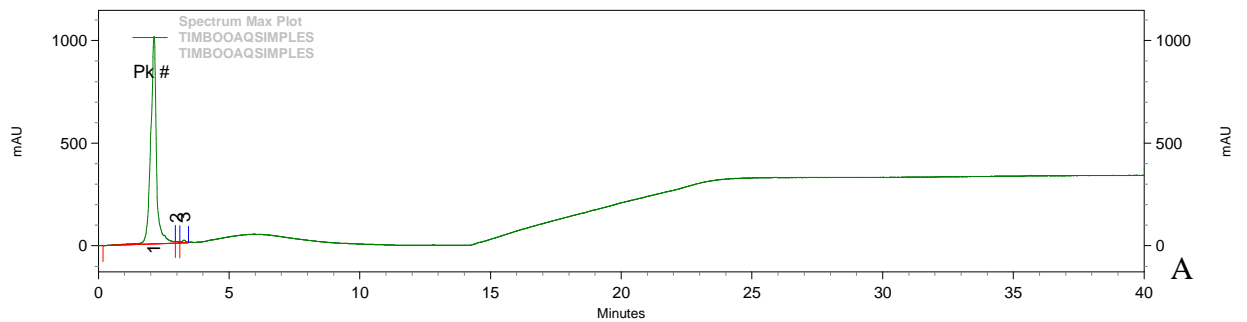


Figura 20. A) Cromatograma das raízes de timbó J (*D. rariflora*) aquoso simples liofilizado; B) Espectro UV



Spectrum at time 2.13 min.

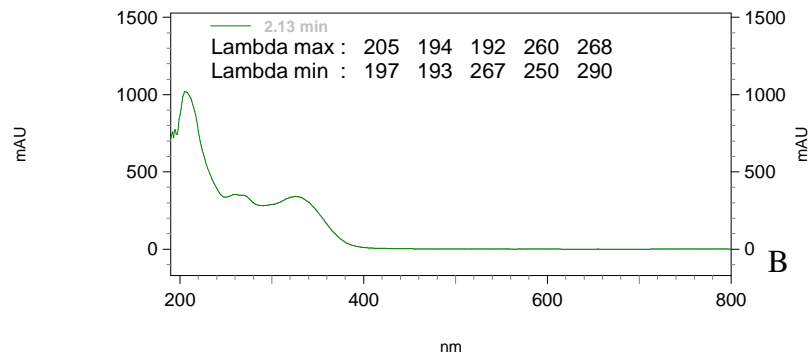


Figura 21. Cromatograma das raízes de timbó O (*D. rariflora*) aquoso simples; B) Espectro UV

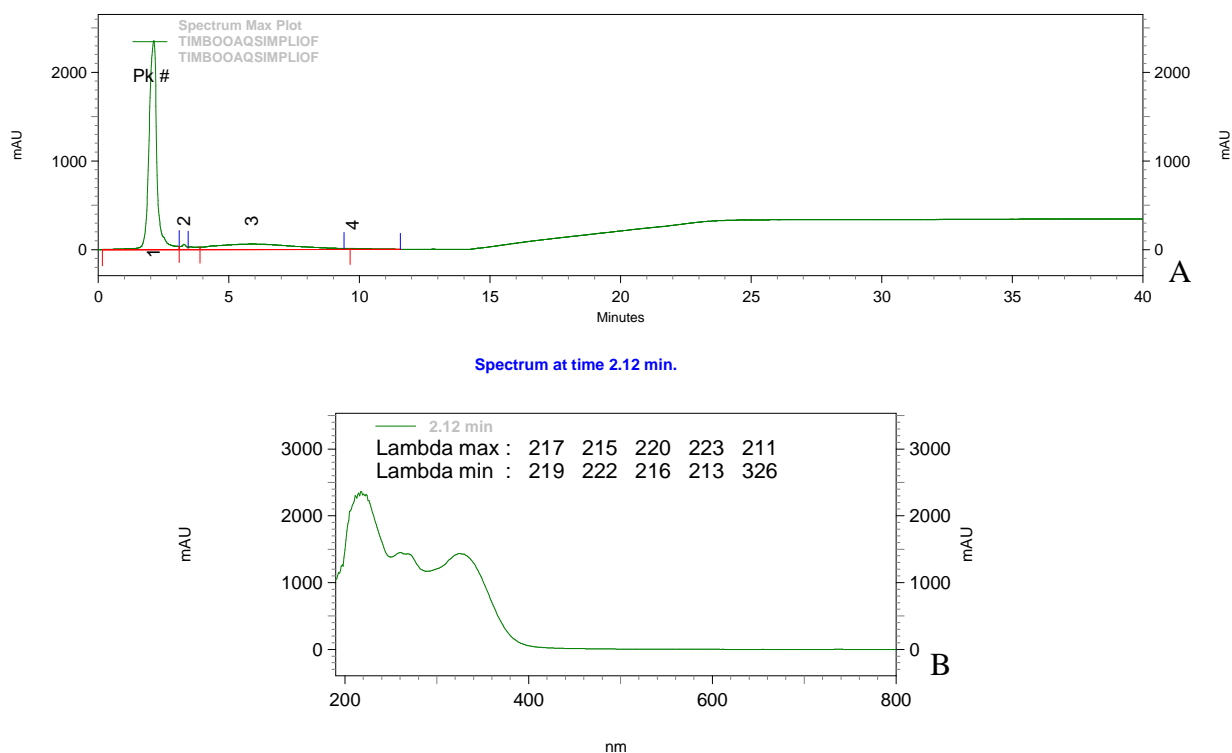


Figura 22. A) Cromatograma das raízes de tímbo O (*D. rariflora*) aquoso simples liofilizado; B) Espectro UV

4.3.4 Seleção dos extratores

Foram realizados dois bioensaios para a determinação da CL_{50} . No primeiro experimento o valor encontrado não se ajustou ao intervalo de confiança entre as concentrações testadas. A CL_{50} obtida, considerando a testemunha acetona, foi de 0,0140 [IC 90% (0,0019-0,0346); IC 95% (0,0007-0,0405)]. Foi verificada elevada mortalidade a partir da menor concentração do extrato de amêndoas de *A. indica* em DCM, e nas concentrações a partir de 0,180% houve mortalidade de mais de 95% das ninfas de *A. woglumi* (Tabela 14). Esses resultados direcionaram para a realização de outro bioensaio com concentrações mais baixas.

Tabela 14 – Médias (\pm EP) de mortalidade de *A. woglumi* com o uso de extratos de amêndoas de *A. indica* em diclorometano (DCM). Bioensaio 1.

Extratos	Mortalidade (%)
Amêndoas de <i>A. indica</i> em DCM 5,600%	100,00 \pm 0,00 a
Amêndoas de <i>A. indica</i> em DCM 3,200%	100,00 \pm 0,00 a
Amêndoas de <i>A. indica</i> em DCM 1,800%	100,00 \pm 0,00 a
Amêndoas de <i>A. indica</i> em DCM 1,000%	99,33 \pm 0,42 ab
Amêndoas de <i>A. indica</i> em DCM 0,720%	98,06 \pm 1,94 ab
Amêndoas de <i>A. indica</i> em DCM 0,560%	97,55 \pm 1,08 b
Amêndoas de <i>A. indica</i> em DCM 0,180%	97,39 \pm 1,47 b
Amêndoas de <i>A. indica</i> em DCM 0,320%	89,44 \pm 9,24 b
Amêndoas de <i>A. indica</i> em DCM 0,045%	77,78 \pm 12,55 c
Testemunha acetona	17,13 \pm 6,10 cd
Testemunha água destilada	8,40 \pm 2,49 d

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$) pelo Teste pós Kruskal-Walis proposto por Conover & Iman (1979).

No bioensaio 2 a CL_{50} obtida, considerando a testemunha acetona, foi de 0,031% [IC 90%: 0,0410-0,0208; 95%: 0,0442-0,0173]. Mortalidades elevadas foram verificadas nas concentrações a partir de 0,032%, chegando próximo de 100% na concentração de 0,180% (Tabela 15). A CL_{50} obtida neste bioensaio foi utilizada no experimento para determinação do melhor extrator para cada planta inseticida.

Tabela 15 – Médias (\pm EP) de mortalidade de *A. woglumi* com o uso de extratos de amêndoas de *A. indica* em diclorometano (DCM). Bioensaio 2.

Tratamentos	Mortalidade (%)
Amendoas de <i>A. indica</i> em DCM 0,180%	94,40 \pm 1,94 a
Amendoas de <i>A. indica</i> em DCM 0,100%	92,94 \pm 5,21 a
Amendoas de <i>A. indica</i> em DCM 0,056%	80,84 \pm 6,81 ab
Amendoas de <i>A. indica</i> em DCM 0,032%	49,14 \pm 10,21 bc
Amendoas de <i>A. indica</i> em DCM 0,018%	31,31 \pm 12,75 cd
Amendoas de <i>A. indica</i> em DCM 0,010%	27,04 \pm 4,19 cd
Testemunha acetona	8,91 \pm 3,81 d
Testemunha água destilada	3,99 \pm 1,56 d

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$) pelo Teste de Tukey 5%
 Para a análise estatística, os dados foram transformados em $\text{ARCSENO} \left[\frac{(X+0,5)}{100} \right]^{1/2}$
 C.V. = 27,98 %

Considerando a extração nos solventes polar, com polaridade intermediária e apolar para as três espécies de plantas inseticidas mais promissoras, foi verificado que, para o timbó C (*D. floribunda*) o extrator mais eficiente foi o HEX (93,99%), seguido do DCM (86,99%) e MeOH (81,19%) (Tabela 16). Corrêa (2011) testou extratos de *D. floribunda* e de *D. rariflora* sobre o ácaro *T. desertorum* e verificou que o extrato etanólico foi o mais tóxico, seguido do extrato aquoso e do acetônico.

As diferentes classes de compostos existentes nas plantas apresentam diferentes polaridades, fato que possibilita selecionar a extração de substâncias ou classes que possuem atividade biológica de interesse dependendo do sistema extração/solvente escolhido (MACIEL; PINTO; VEIGA, 2002; CECHINEL; YUNES, 1998). A eficiência na extração de princípios ativos a partir de plantas é dependente principalmente da solubilidade destes nos solventes empregados (GNOATTO et al. 2007; SIMÕES et al. 2003).

Tabela 16 – Médias (\pm EP) de mortalidade de *A. woglumi* com o uso de extratos de timbó C (*D. floribunda*) em hexano (HEX), diclorometano (DCM) e metanol (MeOH).

Planta/Extrator	Mortalidade (%)
Raízes de timbó C, <i>D. floribunda</i> HEX 0,031%	93,99 \pm 0,75 a
Raízes de timbó C, <i>D. floribunda</i> DCM 0,031%	86,99 \pm 3,93 ab
Raízes de timbó C, <i>D. floribunda</i> MeOH 0,031%	81,19 \pm 5,63 b
Testemunha acetona	16,30 \pm 4,39 c
Testemunha água destilada	11,43 \pm 0,66 c

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$) pelo Teste pós Kruskal-Walis proposto por Conover & Iman (1979).

Para as amêndoas de *A. indica* a maior mortalidade da mosca-negra-dos-citros ocorreu também em HEX (52,17%), seguidos do MeOH (46,28%) e DCM (38,31%) (Tabela 17).

Tabela 17 – Médias (\pm EP) de mortalidade de *A. woglumi* com o uso de extratos de amêndoas de *A. indica* em hexano (HEX), diclorometano (DCM) e metanol (MeOH).

Planta/Extrator	Mortalidade (%)
Amêndoas de <i>A. indica</i> HEX 0,031%	52,17 \pm 9,13 a
Amêndoas de <i>A. indica</i> MeOH 0,031%	46,28 \pm 8,37 b
Amêndoas de <i>A. indica</i> DCM 0,031%	38,31 \pm 6,75 c
Testemunha acetona	16,30 \pm 4,39 d
Testemunha água destilada	11,43 \pm 0,66 d

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$) pelo Teste pós Kruskal-Walis proposto por Conover & Iman (1979).

Para as folhas de *M. azedarach* as maiores atividades inseticidas foram obtidas com os extratores HEX (57,06%) e MeOH (50,18%), sendo o menor valor constatado com DCM (28,58%) (Tabela 18). Bezerra-Silva et al. (2010) avaliaram o efeito de extratos orgânicos de folhas de *M. azedarach* sobre ninfas de *B. tabaci* biótipo B, e

verificaram mortalidades de 82,64% em etanol e 75,91% em diclorometano; valores que podem ser considerados elevados, comparados com este estudo. Além da maior ação que os extratos dessa planta possam ter sobre a mosca-branca em relação à mosca-negra, é possível também, que haja um efeito residual dos extratos, já que a aplicação ocorreu sobre os ovos e em seguida sobre as ninfas remanescentes, diferentemente deste estudo em que os extratos foram aplicados sobre ninfas de *A. woglumi*.

As três espécies de plantas inseticidas promissoras neste estudo propiciaram mortalidades sobre *A. woglumi*, principalmente quando a extração foi feita com o solvente HEX, utilizando maceração a frio. Gnoatto et al. (2007), estudando dois métodos de extração (Soxhlet e decocção) de metilxantinas em erva-mate (*Ilex paraguariensis*), demonstraram que a metodologia de extração influencia diretamente na quantidade dos compostos presentes nos extratos.

Tabela 18 – Médias (\pm EP) de mortalidade de *A. woglumi* com o uso de extratos de folhas de *M. azedarach* em hexano (HEX), diclorometano (DCM) e metanol (MeOH).

Planta/Extrator	Mortalidade (%)
Folhas de <i>M. azedarach</i> HEX 0,031%	57,06 \pm 8,59 a
Folhas de <i>M. azedarach</i> MeOH 0,031%	50,18 \pm 6,60 a
Folhas de <i>M. azedarach</i> DCM 0,031%	28,58 \pm 4,81 b
Testemunha acetona	16,30 \pm 4,39 c
Testemunha água destilada	11,43 \pm 0,66 c

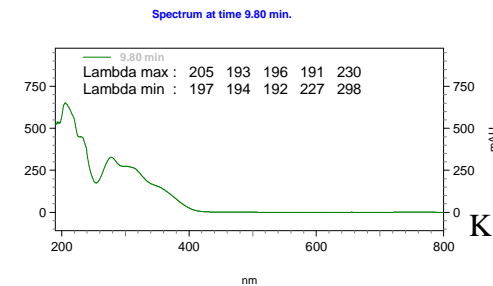
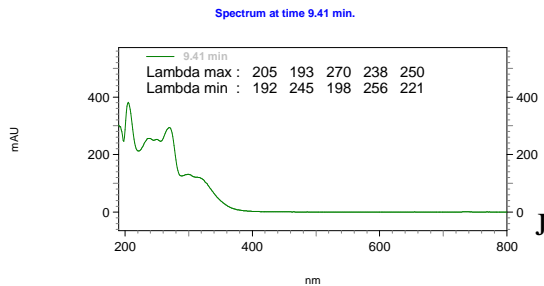
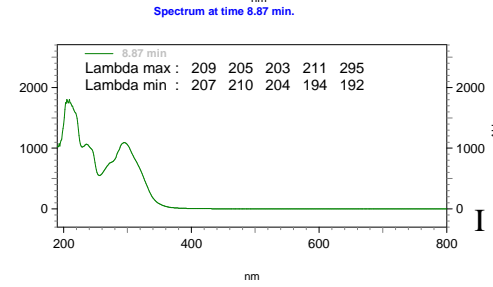
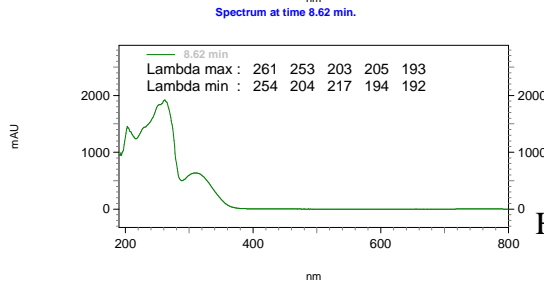
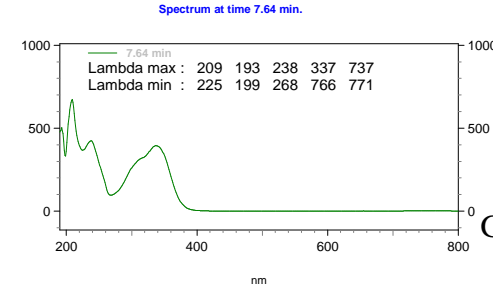
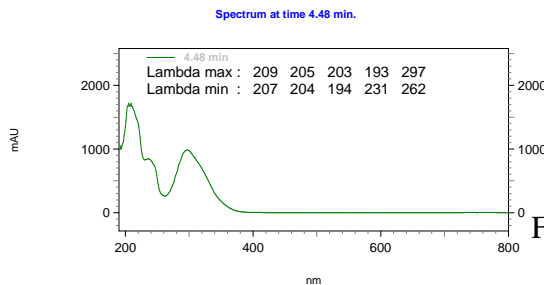
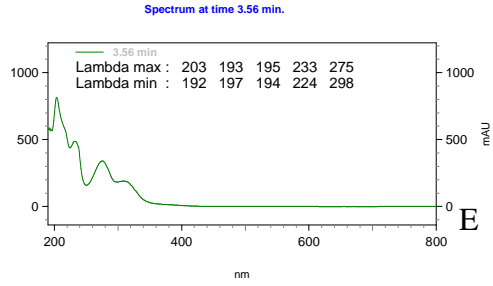
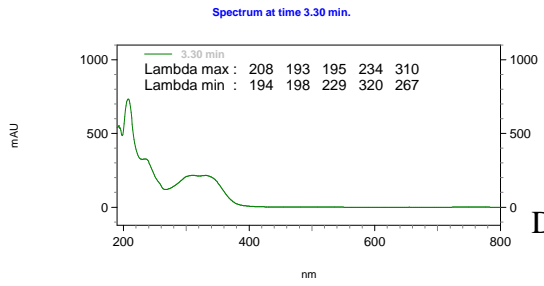
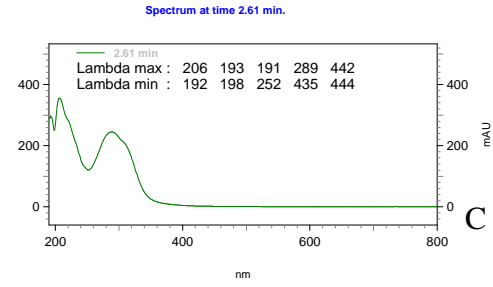
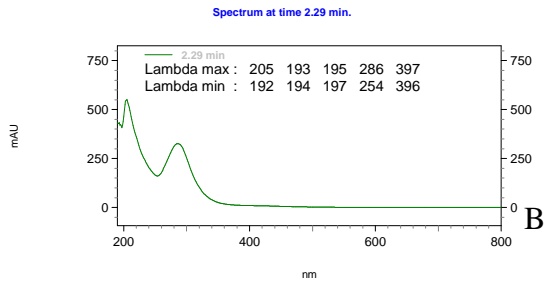
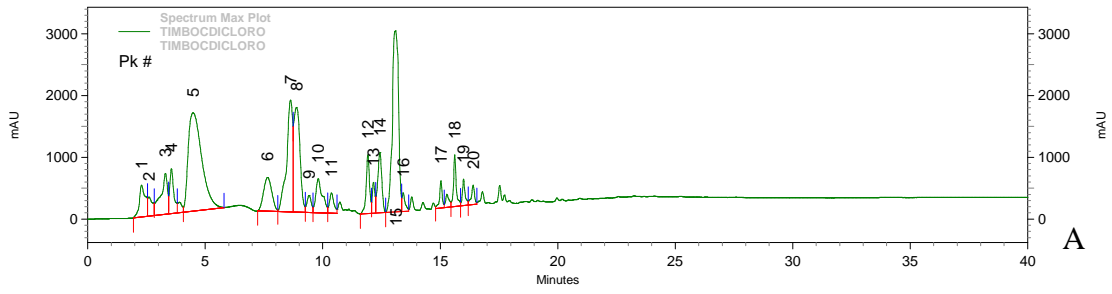
Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$) pelo Teste pós Kruskal-Walis proposto por Conover & Iman (1979).

Considerando os extratos com maior atividade sobre *A. woglumi*, a análise em CGAR-EM para o extrato bruto de timbó C (*D. floribunda*) em HEX, apresentou os ácidos oleico e linoleico como componentes majoritários (Tabela 8 (p.107) e Figura 5 (p.109)). Enquanto para *A. indica* em HEX os ácidos oleico e 8,11-octadecadienoico

(Tabela 8 (p. 107) e Figura 10 (p.114)). Já para as folhas de *M. azedarach* HEX os ácidos ácido 9,12,15-octadecatrienoico e palmítico (Tabela 8 (p. 107) e Figura 12 (p.116)). Os extratos foram obtidos conforme o item 3.4.2 e o preparo das amostras 3.5.3.4. Essas substâncias encontradas podem exercer alguma ação bioativa sobre *A. woglumi*, além de facilitar a permeabilidade de outros constituintes, provavelmente facilitando a bioatividade delas e outros metabólitos secundários.

A menor suscetibilidade de grão-de-bico a bruquídeos (*Callosobruchus maculatus*, *C. phaseoli* (Coleoptera: Chrysomelidae), *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera: Bruchidae) pode estar relacionada com maiores teores de ácido linoléico e/ou com componentes do tegumento que conferem coloração mais escura, influenciando na oviposição e na biologia do inseto (PACHECO et al., 1994). Há uma indicação de que maiores teores de ácido linoléico no óleo induzem maior resistência nas sementes, em estudo de resistência de *Vigna unguiculata* ao ataque de bruquídeos (PIERGIOVANNI et al., 1990 apud PACHECO et al., 1994).

A análise em CLAE-DAD do extrato bruto do timbó C (*D. floribunda*) em DCM (obtidos conforme item 3.4.2 e preparo das amostras 3.5.3.5) mostrou o predomínio de substâncias aromáticas conforme comparação com os máximos de absorção (280 – 300nm) observado em cada espectro UV (Figura 23).



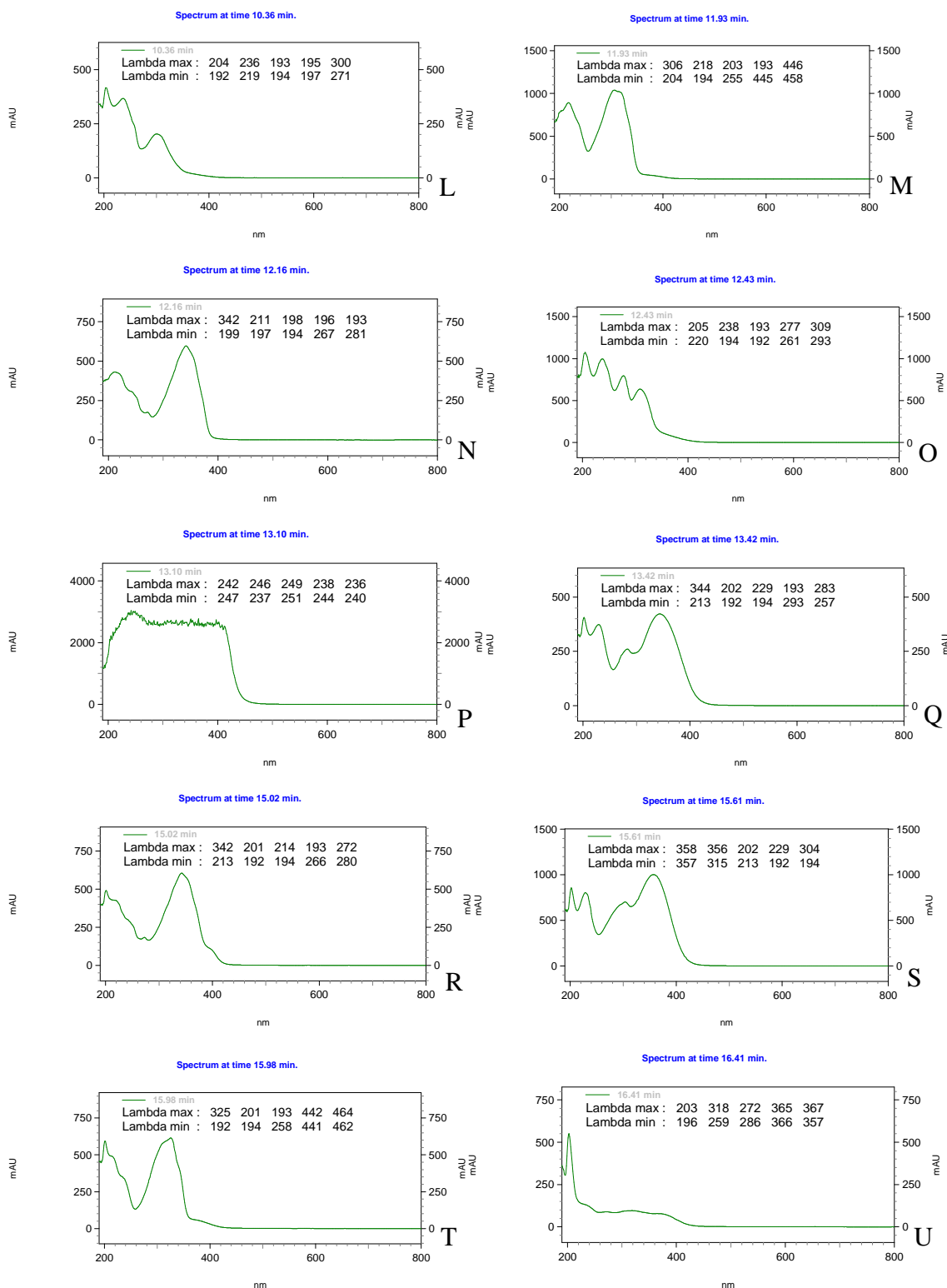


Figura 23. A) Cromatograma do extrato bruto de timbó C (*D. floribunda*) em DCM; de B ao U espectros UV relativos aos sinais do cromatograma

4.3.5 Seleção das frações

4.3.5.1 Da extração com metanol do extrato hexano

A maior mortalidade de *A. woglumi* com o uso de extratos de raízes de timbó C (*D. floribunda*) ocorreu na fração HEX (solúvel) com 91,31%, indicando que as substâncias que atuam na ação inseticida são mais facilmente extraídas nessa fração (Tabela 19). Esses dados confirmam os apresentados anteriormente, no item referente à seleção do melhor extrator.

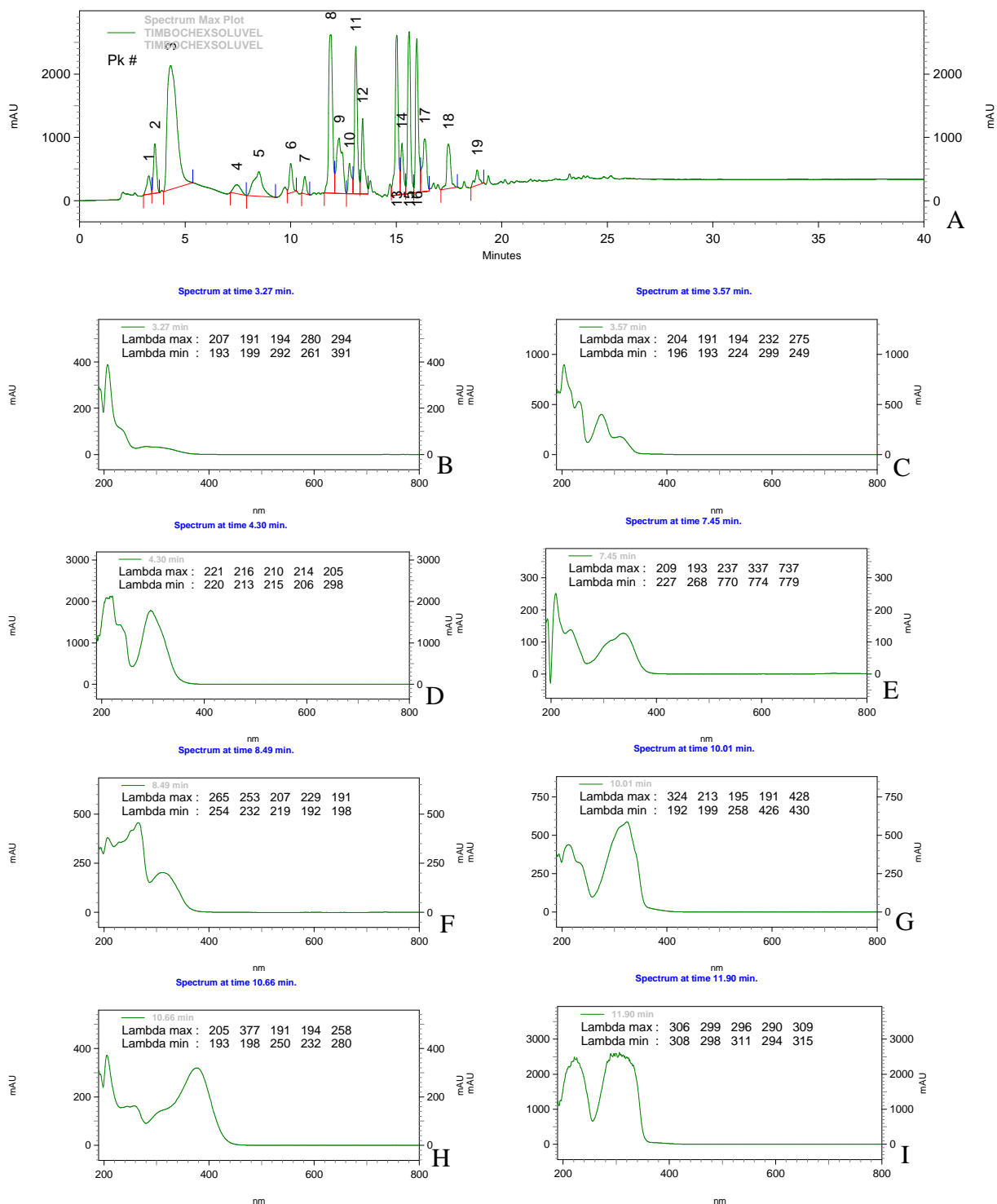
Tabela 19 - Médias (\pm EP) de mortalidade com o uso das frações obtidas após partição dos extratos brutos de raízes de timbó C (*D. floribunda*) em hexano (HEX) sobre *A. woglumi*.

Tratamentos	Mortalidade (%)
Raízes de timbó C (<i>D. floribunda</i>) em HEX (solúvel) 0,031%	91,31 \pm 3,66 a
Raízes de timbó C (<i>D. floribunda</i>) em HEX (precipitado) 0,031%	50,99 \pm 3,93 b
Testemunha água destilada:acetona (1:1)	10,08 \pm 2,18 c

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$) pelo Teste de Tukey 5%
C.V.= 14,73 %

Pela análise em CLAE-DAD da fração de raízes de timbó C (*D. floribunda*) HEX (solúvel) foi verificado que os espectros UV com os tempos de retenção de 10,01; 10,66 e 11,90; 13,08 e 13,40; 15,02 e 15,27 min apresentaram perfis semelhantes. Nessa fração foi observado o predomínio de substâncias da classe dos rotenoides (espectros UV com tempos de retenção de 4,30; 10,01; 10,66; 11,90; 15,02; 15,27 e 15,97 min) conforme a análise dos espectros UV (Figura 24). As frações foram obtidas e preparadas para análise conforme ítem 3.5.1 e 3.5.3.4, respectivamente. Os dados da análise confirmam a melhor extração desses compostos em solventes de polaridade

intermediária a apolar (CORBETT, 1940), corroborando o fato de não aparecerem rotenoides no extrato aquoso.



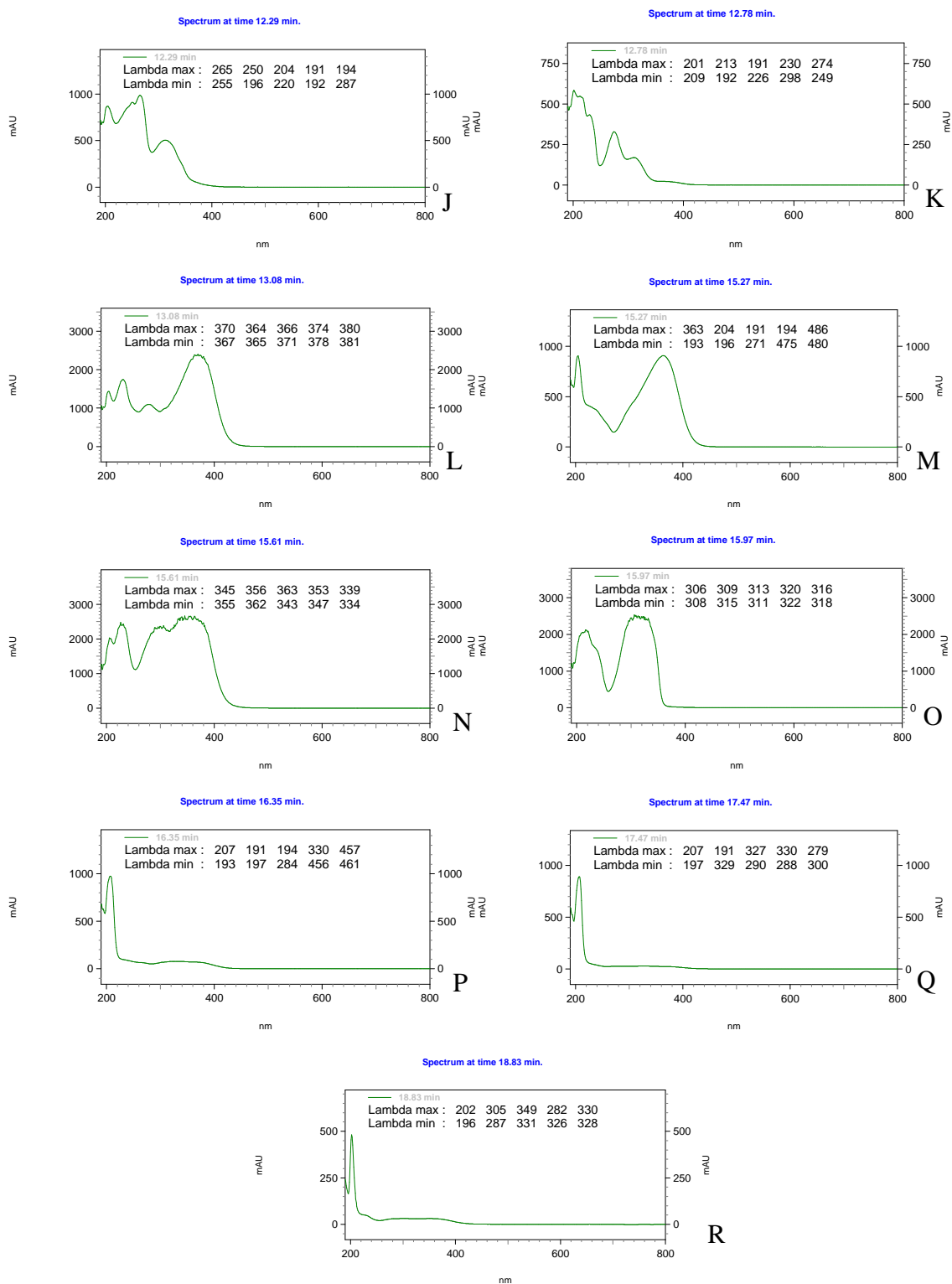


Figura 24. A) Cromatograma da fração de raízes de timbó C (*D. floribunda*) HEX (solúvel); de B a R espectros UV relativos aos sinais do cromatograma

A análise em CGAR-EM detectou, de acordo com a biblioteca do aparelho e analisando as fragmentações dos respectivos espectros de massas, 95% das substâncias presentes nessa fração, sendo esta composta majoritariamente pelos ácidos 8-

octadecenoico e 8,11-octadecadienoico (Tabela 8 (p. 107) e Figura 9 (p.113)). Sendo, possivelmente, essas substâncias as envolvidas na bioatividade sobre *A. woglumi* e melhoria da permeabilidade dessas e outras substâncias. No entanto, há necessidade de mais estudos para determinar a atividade de cada constituinte na ação sobre a mosca-negra-dos-citros.

Foi avaliada em laboratório a atividade inseticida, sobre *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae), dos seguintes ácidos graxos: decanóico, heptanóico, hexânico, láurico, nonanóico, octanóico, undecanóico e valérico. Os maiores valores de mortalidade de adultos foram provocados pelo ácido octanóico (71%), que diferiu dos demais, seguido pelos ácidos heptanóico e nonanóico (25 e 21%, respectivamente). Também para estes três ácidos, verificaram-se as menores taxas de emergência: 9 (ácido octanóico), 27 (ácido heptanóico) e 61 adultos (ácido nonanóico). Para os demais parâmetros avaliados, os ácidos graxos testados não diferiram do controle. De acordo com estes dados, conclui-se que os ácidos octanóico, heptanóico e nonanóico, por apresentarem atividade inseticida e reduzirem a emergência de adultos de *S. zeamais*, são promissores para emprego no controle dessa praga (TAVARES et al., 2004).

Para as espécies de meliáceas, tanto o uso das amêndoas de nim quanto de folhas de *M. azedarach* apresentaram maior atividade inseticida sobre *A. woglumi* na fração precipitada com 39,00% e 24,62% de mortalidade, em comparação à fração solúvel (20,75 e 18,80%), respectivamente (Tabelas 20 e 21).

Tabela 20 - Médias (\pm EP) de mortalidade com o uso das frações obtidas após partição dos extratos brutos de amêndoas de *A. indica* em hexano (HEX) sobre *A. woglumi*.

Tratamentos	Mortalidade (%)
Amêndoas de <i>A. indica</i> em HEX (precipitado) 0,031%	39,00 \pm 4,10 a
Amêndoas de <i>A. indica</i> em HEX (solúvel) 0,031%	20,75 \pm 5,74 b
Testemunha água destilada:acetona (1:1)	9,52 \pm 3,39 b

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$) pelo Teste de Tukey 5%
C.V. = 43,77 %

Tabela 21 - Médias (\pm EP) de mortalidade com o uso das frações obtidas após partição dos extratos brutos de folhas de *M. azedarach* em hexano (HEX) sobre *A. woglumi*.

Tratamentos	Mortalidade (%)
Folhas de <i>M. azedarach</i> em HEX (precipitado) 0,031%	24,62 \pm 3,43 a
Folhas de <i>M. azedarach</i> em HEX (solúvel) 0,031%	18,80 \pm 4,11 ab
Testemunha água destilada:acetona (1:1)	9,52 \pm 3,39 b

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$) pelo Teste de Tukey 5%
C.V. = 46,34 %

4.3.5.2 Da extração líquido-líquido

A maior mortalidade (47,68%) com o uso das frações obtidas após partição dos extratos brutos de raízes de timbó C (*D. floribunda*) em MeOH sobre *A. woglumi* foi na fração HEX. A fração DCM não diferiu estatisticamente da testemunha (Tabela 22).

Tabela 22 - Médias (\pm EP) de mortalidade com o uso das frações obtidas após partição dos extratos brutos de raízes de timbó C (*D. floribunda*) em metanol (MeOH) sobre *A. woglumi*.

Tratamentos	Mortalidade (%)
Extrato HEX da partição das raízes de timbó C (<i>D. floribunda</i>) em MeOH 0,031%	47,68 \pm 7,85 a
Extrato DCM da partição das raízes de timbó C (<i>D. floribunda</i>) em MeOH 0,031%	24,34 \pm 5,73 b
Testemunha água destilada:acetona (1:1)	10,08 \pm 2,18 b

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$) pelo Teste de Tukey 5%
C.V. = 46,97 %

Para as espécies de meliáceas, as mortalidades de *A. woglumi* nas frações HEX e DCM, obtidas após partição dos extratos brutos de amêndoas de nim em MeOH, não diferiram significativamente do controle (Tabela 23). Já para as folhas de *M. azedarach* não houve diferença significativa entre as frações HEX (53,42) e DCM (39,07%) e estas diferiram do controle (Tabela 24).

Tabela 23 - Médias (\pm EP) de mortalidade com o uso das frações obtidas após partição dos extratos brutos de amêndoas de *A. indica* em metanol (MeOH) sobre *A. woglumi*.

Tratamentos	Mortalidade (%)
Extrato HEX da partição de amêndoas de <i>A. indica</i> em MeOH 0,031%	34,78 \pm 4,49 a
Extrato DCM da partição de amêndoas de <i>A. indica</i> em MeOH 0,031%	30,43 \pm 12,62 a
Testemunha água destilada:acetona (1:1)	9,52 \pm 3,39 a

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$) pelo Teste de Tukey 5%
 Para a análise estatística, os dados foram transformados em ARCSENO $[\{(X+0,5)/100\}^{1/2}]$
 C.V.= 29,93 %

Tabela 24 - Médias (\pm EP) de mortalidade com o uso das frações obtidas após partição dos extratos brutos de folhas de *M. azedarach* em metanol (MeOH) sobre *A. woglumi*.

Tratamentos	Mortalidade (%)
Extrato HEX da partição de folhas de <i>M. azedarach</i> em MeOH 0,031%	53,42 \pm 4,48 a
Extrato DCM da partição de folhas de <i>M. azedarach</i> em MeOH 0,031%	39,07 \pm 6,99 a
Testemunha água destilada:acetona (1:1)	9,52 \pm 3,39 b

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$) pelo Teste de Tukey 5%
 C.V.= 34,03 %

4.3.5.3 Do fracionamento cromatográfico

A maior mortalidade (46,88%) de *A. woglumi* com o uso de frações de timbó C (*D. floribunda*) em diclorometano (DCM), obtidas a partir de cromatografia em camada delgada (CCD) preparativa, ocorreu na fração A (13), sendo que as demais frações não diferiram significativamente da testemunha (Tabela 25).

Tabela 25 - Médias (\pm EP) de mortalidade com o uso de frações de timbó C (*D. floribunda*) em diclorometano (DCM) obtidas a partir de cromatografia em camada delgada (CCD) preparativa sobre *A. woglumi*.

Tratamentos	Mortalidade (%)
Fração A (13)	46,88 \pm 1,06 a
Reuniões frações C e D (12+13) + (7+8)	17,16 \pm 3,39 b
Reuniões frações C e D (11) + (6.1)	12,61 \pm 6,33 b
Fração A e B (11) + (18(0)+18(1)+18(2))	9,92 \pm 3,05 b
Frações C e D (16) + (12)	9,44 \pm 3,49 b
Testemunha acetona:água dest	8,25 \pm 1,64 b
Fração A e B (4+5+6) + (4+5+6)	6,12 \pm 4,21 b
Fração A e B (7+8+9) + (13+14+15)	5,48 \pm 1,43 b

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$) pelo Teste de Tukey 5%
 Para a análise estatística, os dados foram transformados em $ARCSENO \left[\frac{(X+0,5)}{100} \right]^{1/2}$
 C.V.= 16,42 %

Pela análise em CLAE-DAD das frações obtidas a partir de preparativa CCD de timbó C (*D. floribunda*) em DCM foi verificado: na fração A (13) os espectros UV das substâncias com tempos de retenção de 4,16; 8,55 e 9,69 min apresentaram perfis semelhantes (Figura 25). Na fração C e D (12+13) + (7+8) a comparação do cromatograma com o da fração A (13) mostrou semelhança na composição dos constituintes, entretanto com maior quantidade de outros componentes aromáticos (Figura 26). Nas frações C e D (11) + (6,1); (12+13) + (7+8) a presença de substâncias aromáticas (absorção na faixa de 280 a 300 nm) (Figuras 26 e 27); na fração C e D (11) + (6.1) foi observado semelhante perfil cromatográfico nas demais analisadas (Figura 27). Estas frações foram obtidas conforme item 3.5.3.3 e amostras preparadas para análise 3.5.3.5.

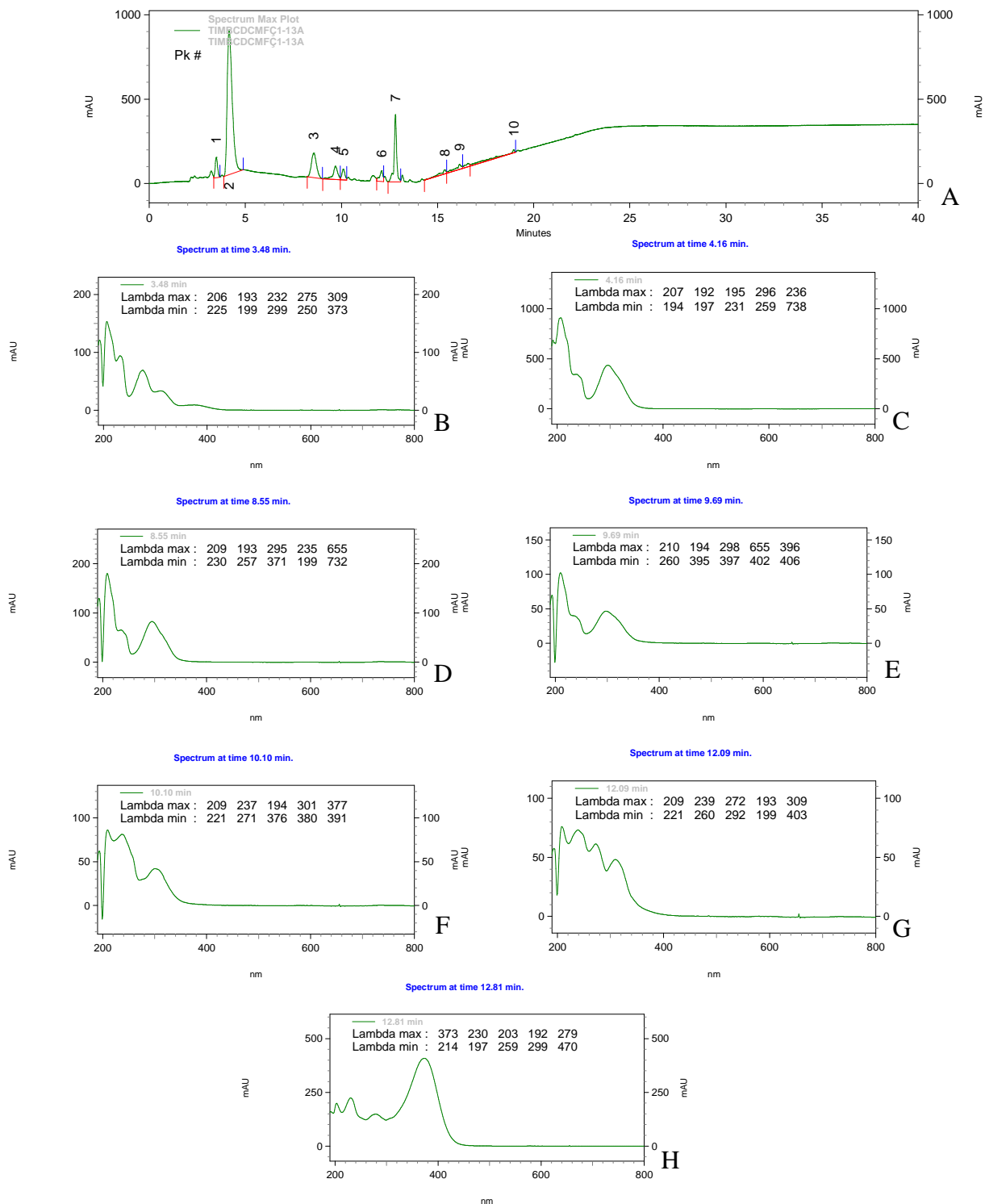
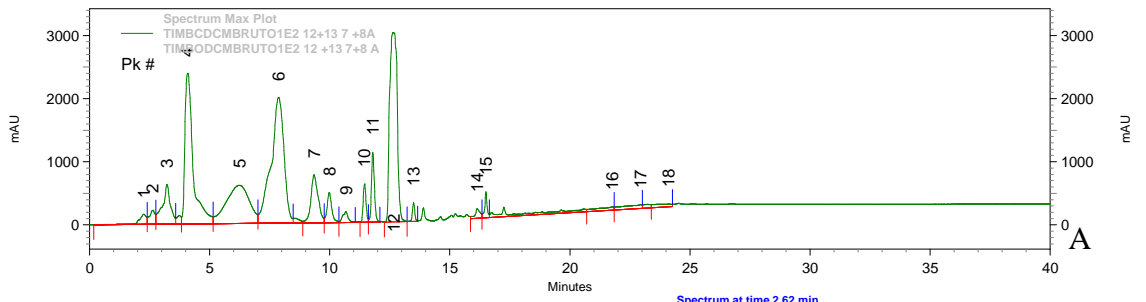
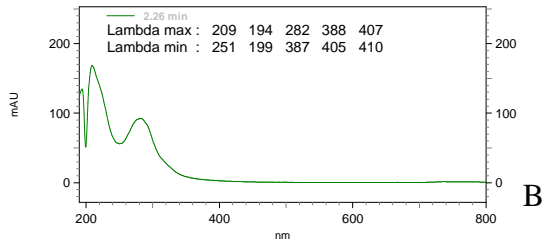


Figura 25. Frações obtidas a partir de preparativa CCD de timbó C (*D. floribunda*) em DCM (Fração A (13)). A) Cromatograma; do B ao H espectros UV relativos aos sinais do cromatograma

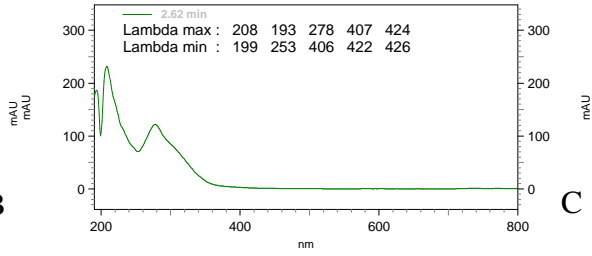


Spectrum at time 2.26 min.

Spectrum at time 2.62 min.



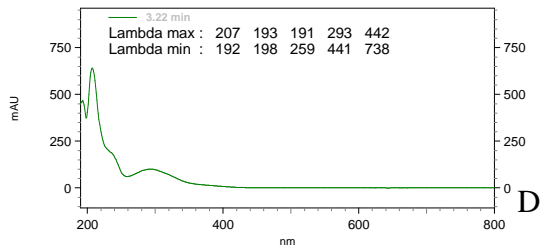
B



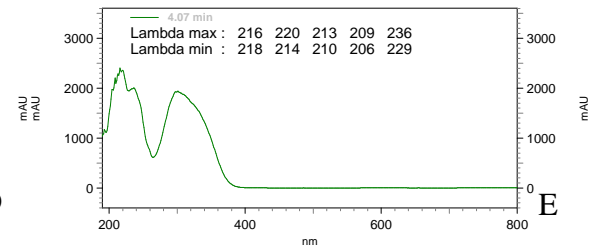
C

Spectrum at time 3.22 min.

Spectrum at time 4.07 min.



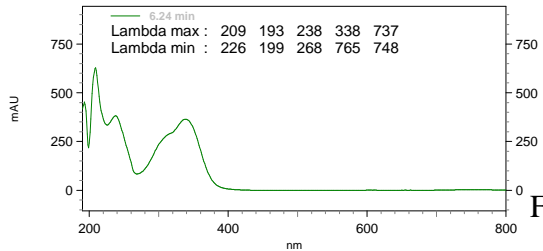
D



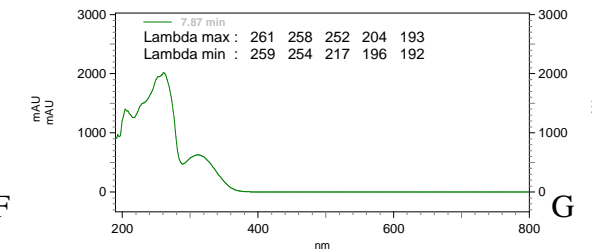
E

Spectrum at time 6.24 min.

Spectrum at time 7.87 min.



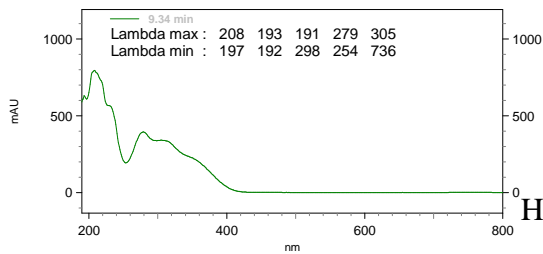
F



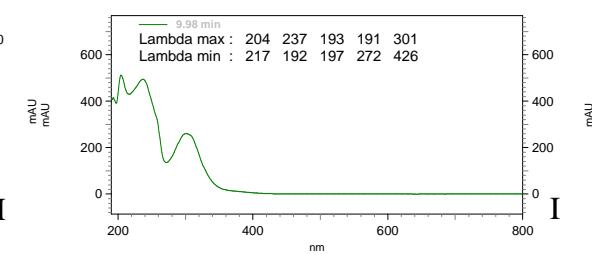
G

Spectrum at time 9.34 min.

Spectrum at time 9.98 min.



H



I

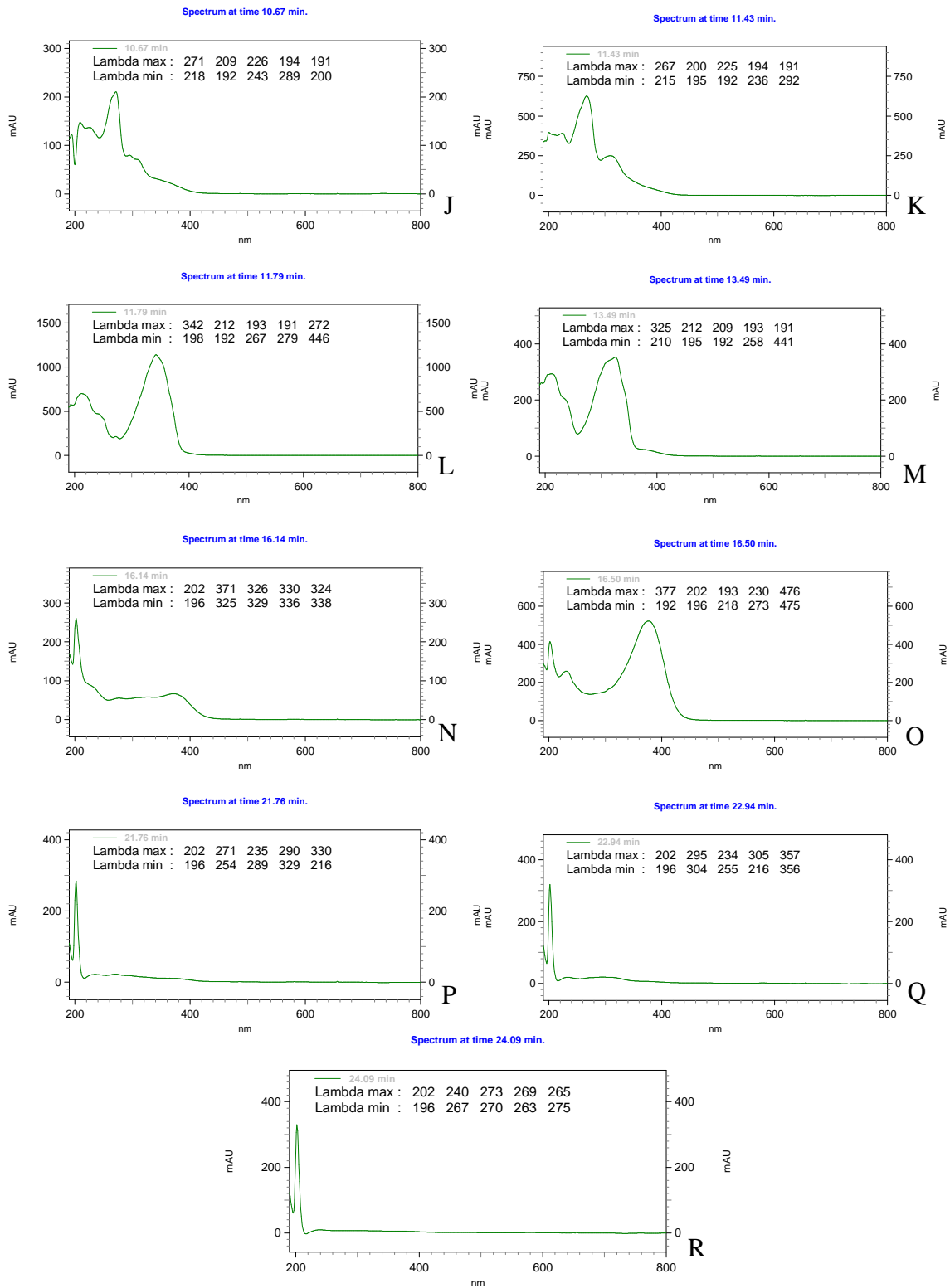


Figura 26. Frações obtidas a partir de preparativa CCD de timbó C (*D. floribunda*) em DCM (Fração C e D (12+13) + (7+8)). A) Cromatograma; do B ao R espectros UV relativos aos sinais do cromatograma

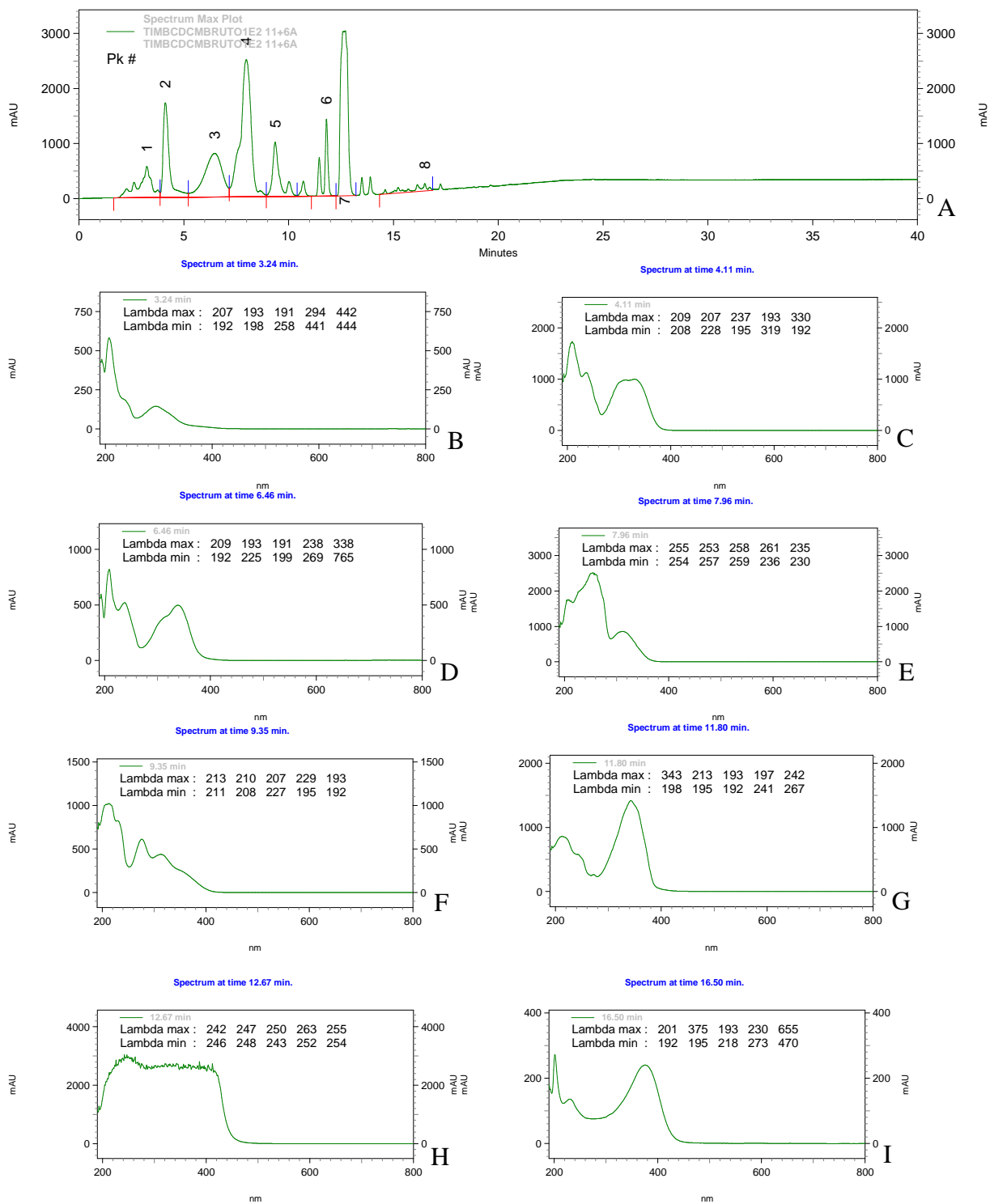


Figura 27. Frações obtidas a partir de preparativa CCD de timbó C (*D. floribunda*) em DCM (Fração C e D (11) + (6.1)). A) cromatograma; do B ao I espectros UV relativos aos sinais do cromatograma

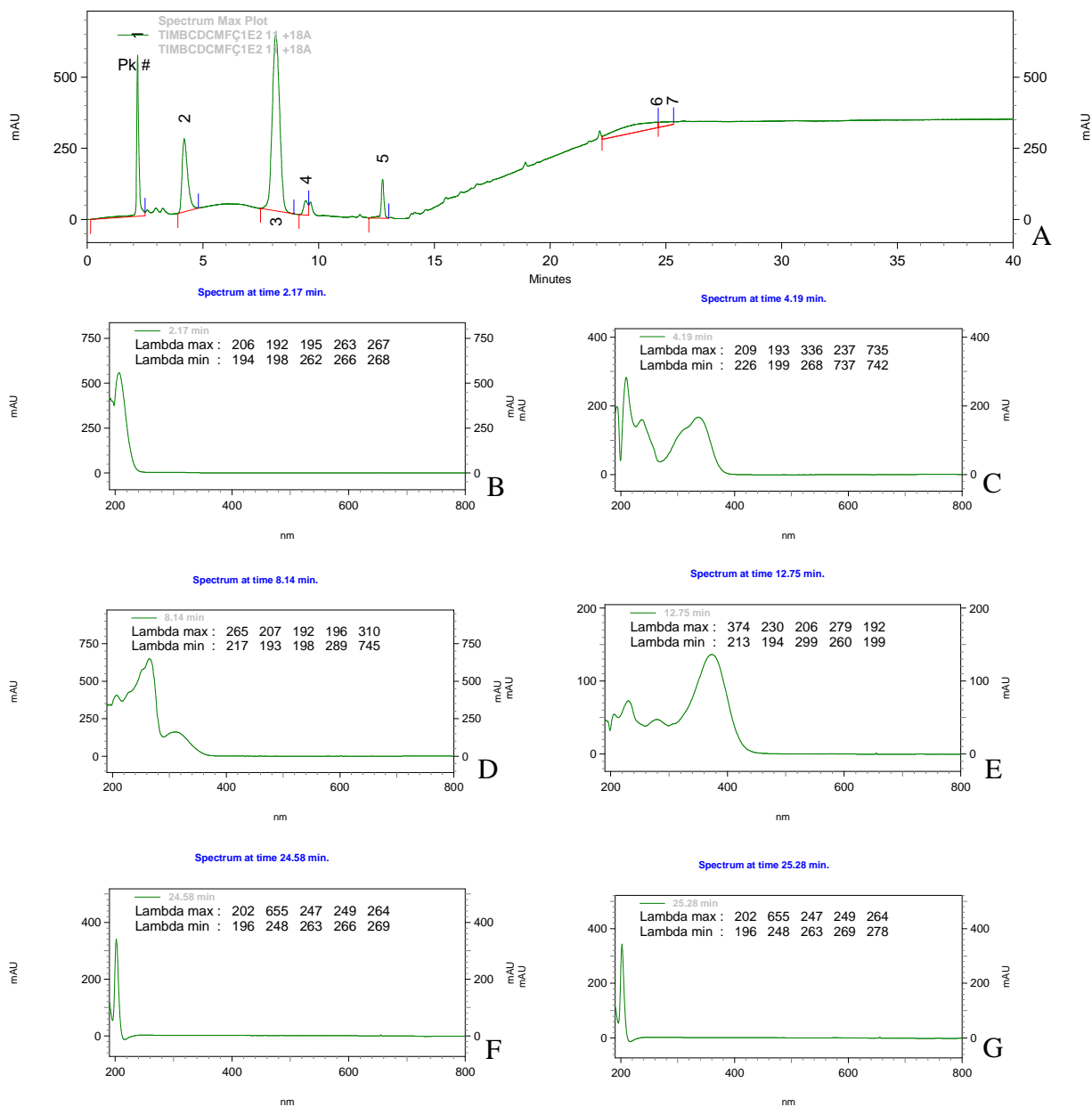
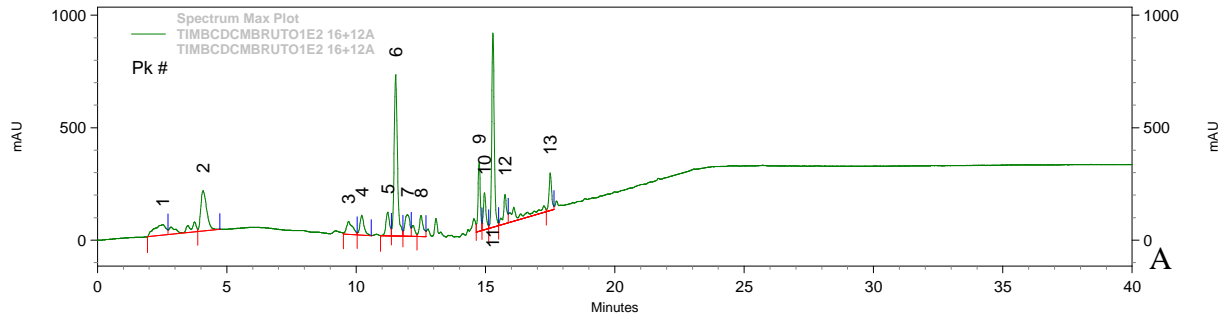
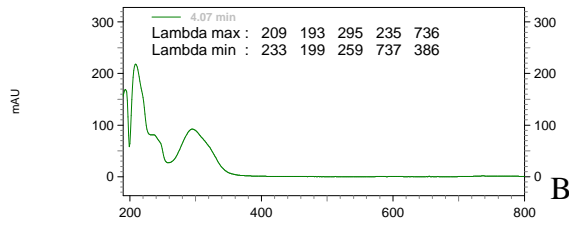


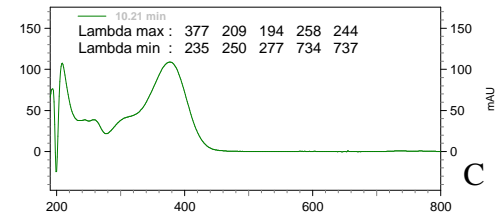
Figura 28. Frações obtidas a partir de preparativa CCD de timbó C (*D. floribunda*) em DCM (Fração A e B (11) + ((18(0) + 18(1) + 18(2))). A) cromatograma; do B ao G espectros UV relativos aos sinais do cromatograma



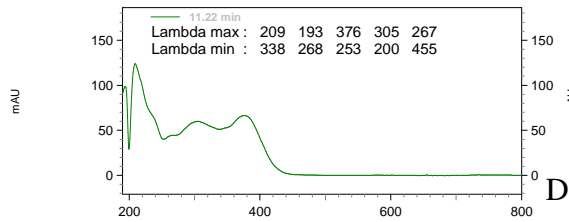
Spectrum at time 4.07 min.



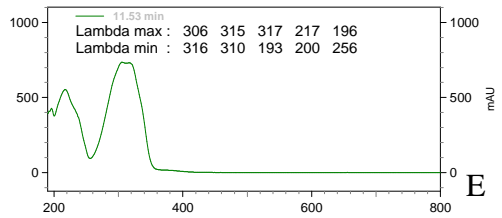
Spectrum at time 10.21 min.



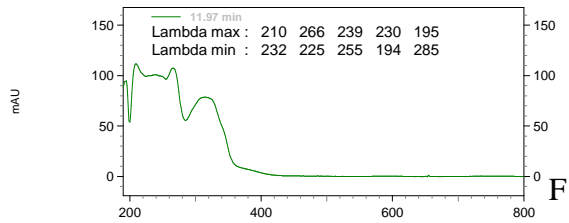
Spectrum at time 11.22 min.



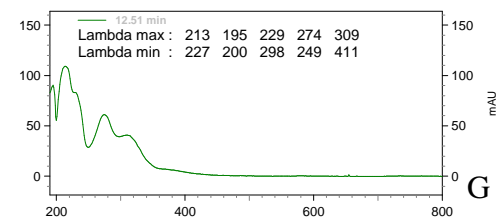
Spectrum at time 11.53 min.



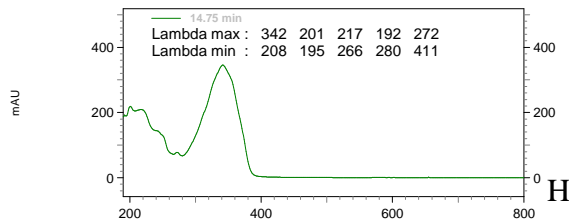
Spectrum at time 11.97 min.



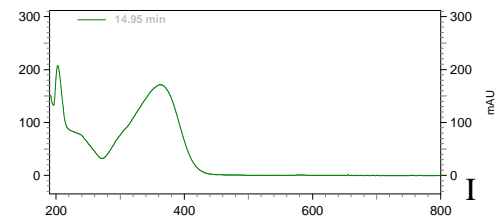
Spectrum at time 12.51 min.



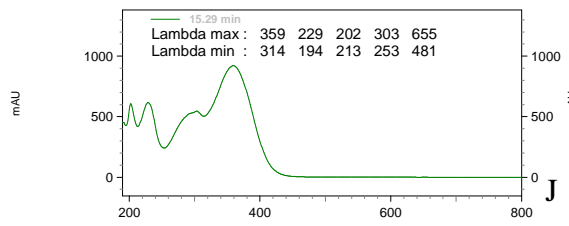
Spectrum at time 14.75 min.



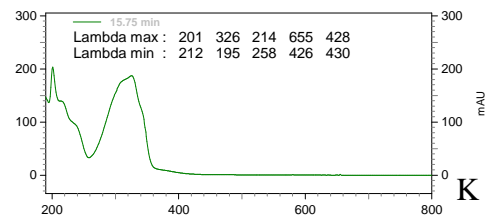
Spectrum at time 14.95 min.



Spectrum at time 15.29 min.



Spectrum at time 15.75 min.



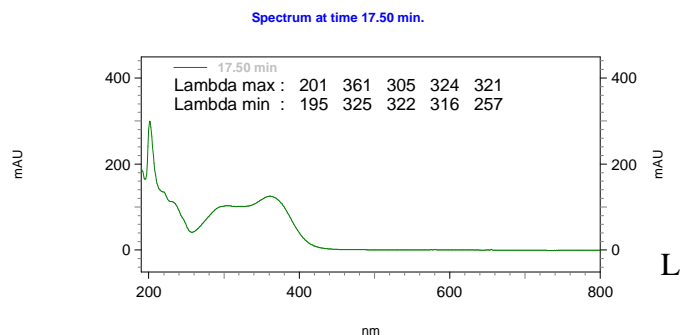


Figura 29. Frações obtidas a partir de preparativa CCD de timbó C (*D. floribunda*) em DCM (Fração C e D (16) + (12)). A) cromatogramas; do B ao L espectros UV relativos aos sinais do cromatograma

Os resultados obtidos indicam que somente a presença de substâncias da classe dos rotenoides nos extratos dos timbós não é, necessariamente, determinante na promoção de elevada mortalidade de *A. woglumi*, assim como foi verificado para os extratos aquosos anteriormente citados, sugerindo que o efeito tóxico dos extratos pode estar relacionado à presença de outros metabólitos secundários, além do provável efeito sinérgico dessas substâncias.

A aplicação dos extratos brutos de *D. floribunda* em HEX e a fração HEX solúvel acarretaram elevadas mortalidades da mosca-negra-dos-citros, sendo que, frações obtidas a partir de CCD preparativa, com a presença de quatro substâncias majoritárias, não tiveram o mesmo desempenho, o que permite sugerir a importância do sinergismo na toxicidade sobre *A. woglumi*. Contudo, há necessidade de continuidade das observações para determinar, entre as frações promissoras, quais as substâncias efetivamente envolvidas na mortalidade desse inseto.

A presença de mais de um produto ativo nos inseticidas vegetais é considerada vantajosa, já que reduz a possibilidade de desenvolvimento de resistência pelas pragas (GALLO et al. 2002; KOUL; WALIA, 2009; NERIO; OLIVERO-VERBEL; STASHENKO, 2010).

4.3.6 Modos de Ação

Os estudos envolvendo os modos de ação translaminar, sistêmico e tópico para os extratos metanol das três espécies de plantas inseticidas promissoras, revelam que, somente a ação tópica foi eficiente no controle da mosca-negra-dos-citros, já que nos demais modos de ação os extratos não diferiram dos respectivos controles (Tabelas 26, 27 e 28).

O uso do metanol nos bioensaios referente aos modos de ação se deu devido a esse solvente ter mostrado bom desempenho no controle de *A. woglumi* nos testes anteriores (seleção dos extratores), assim como, pela possibilidade de o mesmo poder ser substituído pelo etanol. O etanol possui semelhança na polaridade, maior facilidade de aquisição e maior segurança.

4.3.6.1 Ação translaminar

Mortalidades baixas foram verificadas para as três espécies botânicas testadas, e estas não diferiram do controle, indicando que os extratos não foram capazes de ultrapassar os tecidos da folha (Tabela 26). Cuidados especiais, conforme a metodologia descrita (item 3.8.6.1) foram tomados para evitar o contato dos extratos com os insetos, que não fossem os exclusivos para o modo de ação avaliado.

Como já tinha sido verificado em testes preliminares que em concentrações de até seis vezes a CL_{50} (0,031%), equivalendo a concentração de 0,186%, não houve efeito na sobrevivência do inseto, optou-se por usar uma concentração maior (1%), que também não mostrou eficiência.

Tabela 26 – Médias (\pm EP) de mortalidade de *A. woglumi* com o uso de extratos de três espécies de plantas em ação translaminar.

Tratamentos	Mortalidade (%)
Amêndoas de <i>A. indica</i> em MeOH (1%)	10,26 \pm 1,19 a
Folhas de <i>M. azedarach</i> em MeOH (1%)	9,35 \pm 4,97 a
Raízes de timbó C (<i>D. floribunda</i>) em MeOH (1%)	8,37 \pm 5,66 a
Testemunha água destilada	4,92 \pm 1,82 a

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$) pelo Teste de Tukey 5%
C.V.= 77,48 %

Diferentemente deste estudo, Souza e Vendramim (2005) verificaram que o extrato aquoso de sementes de nim apresenta ação translaminar, sistêmica e de contato sobre a mosca-branca. A ação translaminar e sistêmica constatada pelos referidos autores pode ser explicado em função de a planta hospedeira utilizada (folha de tomateiro) ser mais tenra e, portanto, mais propensa à penetração dos extratos nos tecidos foliares e da raiz, ao contrário das plantas de citros, cujas folhas apresentam substâncias como ceras, ligninas e suberinas que podem dificultar esse tipo de ação.

Gonçalves-Gervásio e Vendramim (2007) avaliaram as atividades translaminar, sistêmica e de contato do extrato aquoso de sementes de nim sobre a traça-do-tomateiro *T. absoluta*. Nesse estudo foram realizados três experimentos envolvendo extratos aquosos de sementes de nim em concentrações de 0,5; 1,0; 5,0 e 10,0 g por 100 mL de água. Esses extratos foram aplicados no solo, na superfície adaxial de folíolos de tomateiro e diretamente sobre as lagartas. Quando os extratos foram aplicados no solo, em vasos contendo plantas de tomate, houve mortalidade de 48,3 a 100,0% das lagartas, indicando que os compostos responsáveis pela bioatividade dos extratos foram absorvidos e translocados na planta. Também ocorreu mortalidade larval de 57,0 a 100,0% quando os extratos foram aplicados na superfície adaxial do folíolo,

evidenciando o efeito translaminar. Quando foi aplicado diretamente sobre lagartas com seis dias de idade, observou-se mortalidade de 52,4 a 95,4%, demonstrando a ação de contato do extrato e seu potencial para controle da traça-do-tomateiro.

4.3.6.2 Ação sistêmica

Mortalidades baixas também foram observadas com o uso dos extratos das três espécies testadas no experimento com ação sistêmica, e estas não diferiram do controle, indicando que não houve absorção e circulação dos extratos através da seiva da planta (Tabela 27).

Da mesma forma que o mencionado no experimento de ação translaminar, também nesse caso mesmo o uso de uma concentração relativamente alta (1%), não afetou a sobrevivência do inseto.

Tabela 27 – Médias (\pm EP) de mortalidade de *A. woglumi* com uso de extratos de três espécies de plantas em ação sistêmica.

Tratamentos	Mortalidade (%)
Raízes de timbó C (<i>D. floribunda</i>) em MeOH (1%)	11,34 \pm 2,58 a
Folhas de <i>M. azedarach</i> em MeOH (1%)	10,80 \pm 2,67 a
Testemunha água destilada	8,31 \pm 3,42 a
Amêndoas de <i>A. indica</i> em MeOH (1%)	5,54 \pm 1,91 a

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$) pelo Teste de Tukey 5%
C.V.= 66,44 %

4.3.6.3 Ação tópica

A maior mortalidade de *A. woglumi* ocorreu com o extrato de amêndoas de *A. indica* (79,87), seguida do extrato de raízes de timbó C (*D. floribunda*) (67,71%) e o de folhas de *M. azedarach* (57,14%), sendo que todos os tratamentos diferiram do controle (Tabela 28).

A maior toxicidade obtida via ação tópica sugere que esta é a melhor forma de aplicação desses extratos botânicos no pomar. Considerando que na ação tópica utilizou-se menor concentração do extrato (0,186%) e houve elevada atividade inseticida em relação à aplicação translaminar e sistêmica, aplicados em concentração de 1%, sugere-se que a pulverização dos extratos na planta, deva ser feito, preferencialmente, sobre a superfície abaxial das folhas, atingindo diretamente os ovos e ninfas do inseto.

Souza e Vendramim (2005) avaliaram a ação de contato aplicando 0,2 µl do extrato aquoso de sementes de nim sobre ninfas de terceiro ínstar da mosca branca, nas concentrações de 0,1; 0,3 e 0,5% e observaram mortalidades de 50,4; 74,2 e 87,4%, respectivamente; valores de mortalidade semelhantes aos verificados nesta pesquisa.

Tabela 28 – Médias (\pm EP) de mortalidade de *A. woglumi* submetida à ação tópica de extratos de três espécies de plantas

Tratamentos	Mortalidade (%)
Amêndoas de <i>A. indica</i> em MeOH 0,186%	79,87 \pm 3,23 a
Raízes de timbó C (<i>D. floribunda</i>) em MeOH 0,186%	67,71 \pm 2,45 ab
Folhas de <i>M. azedarach</i> em MeOH 0,186%	57,14 \pm 3,60 b
Testemunha água destilada	14,91 \pm 3,49 c

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$) pelo Teste de Tukey 5%
 Para a análise estatística, os dados foram transformados em $\text{ARCSENO} [\{(X+0,5)/100\}^{1/2}]$
 C.V.= 9,03 %

5 CONCLUSÕES

Os extratos aquosos de inflorescências e de folhas de *Piper aduncum* apresentam eficiência de baixa à intermediária sobre ovos de *Aleurocanthus woglumi* Ashby, não apresentando, por outro lado, bioatividade sobre ninfas desse inseto.

Entre os extratos aquosos testados, o mais promissor no controle da mosca-negra-dos-citros é o obtido a partir das raízes do ecótipo C do timbó *Derris floribunda* seguindo-se os extratos de amêndoas de *Azadirachta indica* e de folhas de *Melia azedarach*.

Na comparação entre os solventes hexano, diclorometano e metanol, de diferentes polaridades, a maior bioatividade para as três espécies de plantas avaliadas é obtida com o uso do solvente mais apolar (hexano).

Entre os timbós, em especial, o ecótipo C (*D. floribunda*) apresenta elevada toxicidade sobre a mosca-negra tanto com o uso de extratos aquosos quanto com o extrato obtido por meio de extrações sucessivas com solventes em ordem crescente de polaridade, e principalmente na partição hexano solúvel.

As análises em CLAE-DAD indicam que, isoladamente, as substâncias da classe dos rotenoides nos extratos dos timbós, não provocam elevada mortalidade de *A. woglumi*, sugerindo que o efeito tóxico pode estar relacionado à presença de outros metabólitos secundários, além do sinergismo entre eles.

As análises por CGAR-EM registram a presença de ácidos graxos, que são importantes no mecanismo da bioatividade, porém, o mecanismo de ação sobre a mosca-negra não está elucidado.

Os extratos em metanol de amêndoas de *A. indica*, de raízes do ecótipo C do timbó *D. floribunda* e de folhas de *M. azedarach* embora não tenham ação translaminar e nem sistêmica, apresentam ação tópica sobre *A. woglumi*.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADEBOWALE, K.O.; ADEDIRE, C.O. Chemical composition and insecticidal properties of the underutilized *Jatropha curcas* seed oil. *African Journal of Biotechnology*, v. 5, n. 10, p. 901-906. 2006.

ALALI, F.Q.; LIU, X.X.; MCLAUGHLIN, J.L. Annonaceous acetogenins: recent progress. *J. Nat. Prod.*, v. 62, n. 3, p. 504-540, 1999.

ALÉCIO, M. R. *Toxicidade do extrato de Derris amazonica Killip a adultos de Cerotoma arcuatus Olivier, 1791 (Coleoptera: Chrysomelidae)*. 2007. 55f. Dissertação (Mestrado em Agricultura no Trópico Úmido) - Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia- INPA, Manaus, Amazonas. 2007.

ALECIO, M.R. FAZOLIN, M.F.; COELHO NETTO, R.A.; CATANI, V.; ESTRELA, J.L.V.; ALVES, S.B.; CORRÊA, R. da S.; ANDRADE NETO, R. de C.; GONZAGA, A.D. Ação inseticida do extrato de *Derris amazonica* Killip para *Cerotoma arcuatus* Olivier (Coleoptera: Chrysomelidae). *Acta amazon.*, Manaus, v. 40, n. 4, p. 719-728. 2010.

ALÉCIO, M.R.; FAZOLIN, M.; VEIGA JÚNIOR, V.F da.; ESTRELA, J.L.V.; ALVES, S.B.; ANDRADE NETO, R. de C.; PAIVA, F. de F.G.; MONTEIRO, A.F.M.; DAMACENO, J.E de O.; CAVALCANTE, A.S da S.; ALBUQUERQUE, E.S de A.; OLIVEIRA, P. de A. Ação inseticida do extrato de *Lonchocarpus floribundus* Benth para *Cerotoma tingomarianus* Bechyné (Coleoptera: Chrysomelidae). *Anais do V Congresso Brasileiro de Defensivos Agrícolas Naturais*. Embrapa Meio Ambiente. Jaguariúna/SP. 2011a.

ALÉCIO, M.R.; FAZOLIN, M.; VEIGA JÚNIOR, V.F da.; ESTRELA, J.L.V.; ANDRADE NETO, R. de C.; ALVES, S.B.; ALBUQUERQUE, E.S de.; DAMACENO, J.E de O.; PAIVA, F de F.G.; MONTEIRO, A.F.M.; CAVALCANTE, A.S. da S.; OLIVEIRA, P de A. Ação inseticida da rotenona para a lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda* Smith – Lepidoptera: Noctuidae). *Anais do V Congresso Brasileiro de Defensivos Agrícolas Naturais*. Embrapa Meio Ambiente. Jaguariúna/SP. 2011b.

AMBROZIN, A.R.P.; VIEIRA, P.C.; FERNANDES, J.B.; SILVA, M.F da G. F da. *Limonoïdes do óleo das sementes de andiroba (Carapa guianensis)*. Disponível em: <http://www.sbq.org.br/ranteriores/23/resumos/0316/index.html>. Acesso: 20.05.2010.

ANGELES, N. J. de.; DEDORD, J.R.; MARTINEZ, N.B.; PAREDES, P.P.; REQUENA, J.R. Aportes en el estudio de hospederas de la “mosca prieta de los cítricos”, *Aleurocanthus woglumi* Ashby, en Venezuela. *Agron. trop.*, Maracay, v. 22, n. 5, p. 549-553. 1972.

ANGELES, N. J. de.; OAKLEY, R.G.; OSÓRIO, J.A. Presencia em Venezuela de *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Aleyrodidae – Homoptera) mosca prieta de los cítricos. *Agron. trop.*, Maracay, v. 18, n. 4, p. 487-488. 1968.

ANGELES, N. J. de.; PAREDES, P.P.; MARTINEZ, N.B.; DEDORDY, J.R.; REQUENA, J.R.; BORNAS M. de. Registro de nuevas localidades, en la distribución de la “mosca prieta de los cítricos” *Aleurocanthus woglumi* Ashby, em Venezuela. *Agron. trop.*, Maracay, v. 24, n. 2, p. 107-111. 1974.

ARAÚJO, S.A.C de.; TEIXEIRA, M.F.S.; DANTAS, T.V.M.; MELO, V.S.P.; LIMA, F.E.S.; RICARTE, A.R.F.; COSTA, E.C.; MIRANDA, A.M. Usos potenciais de *Melia azedarach* (meliaceae): um levantamento. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v. 76, n. 1, p. 141-148, jan./mar., 2009.

ARNASON, J.T.; PHILOGENE, B.J.R.; DONSKOV, N.; KUBO, I. Limonoids from the Meliaceae and Rutaceae reduce feeding, growth and development of *Ostrinia nubilalis*. *Entomol. exp. appl.*, Dordrecht, v. 43, p. 221-226, 1987.

AZEVEDO, F.R.; GUIMARÃES, J.A.; BRAGA SOBRINHO, R.; LIMA, M.A.A. Eficiência de produtos naturais para o controle de *Bemisia tabaci* biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae) em meloeiro. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v. 72, n. 1, p: 73-79. 2005.

BALDIN, E.L.L.; VENDRAMIM, J.D.; LOURENÇÃO, A.L. Interaction between resistant tomato genotypes and plant extracts on *Bemisia tabaci* (genn.) biotype b. *Sci. Agric.*, Piracicaba, v. 64, n. 5, p. 476-481, September/October. 2007.

BARBOSA, F.R.; SANTANA, M.R.S.P.; SILVA, C.S.B.; PARANHAS, B.J. *Aleurocanthus woglumi* (Hemiptera: Aleyrodidae): uma ameaça à fruticultura do Vale do São Francisco. *Anais do XX Congresso Brasileiro de Entomologia*. Gramado/RS. 2004.

BARROSO, G.M. *Sistemática das Angiospermas do Brasil*. UFV, Viçosa. 1978.

BASTOS, C.N.; SILVA, D.H.M.M.; GUIMARÃES, E.F.; ANDRADE, E.H.A.; MAIA, J.G.S. *Atividade bactericida e composição de óleos essenciais de Piper spp*. Documentos, IAC, Campinas, 2003. 74p.

BATISTA, T.F.C.; RODRIGUES, R.C.; OHASHI, O. S.; SANTOS, M.M.L.S.; OLIVEIRA, F.C.; SOARES, A.C. S.; LIMA, W. G.; CASTRO, C. V. Identificação de fungos entomopatogênicos para controle da mosca negra dos citros *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Hemiptera: Aleyrodidae). Praga Quarentenária. *Anais do XVII CBF*. Disponível em: www.ufpel.br. Acesso em 18 de fevereiro de 2007.

BENEDITO, L. *Dinâmica do complexo agroindustrial*. Belém: BASA, 1995. 53p.

BERGER, E.W. Natural enemies of scale insects and whiteflies in Florida. *Florida State Plant Breeding Quartely*. v. 5, p. 141-154. 1921.

BERNARD, C.B.; KRISHINAMURTY, H.G.; CHAURET, D.; DURST, T.; PHILOGENE, B.J.R.; SANCHÉS-VINDAS, P.; HASBAUN, C.; POVEDA, L.; ROMAN, L.S.; ARNASON, J.T. Insecticidal defenses of piperaceae from the neotropics. *J. chem. Ecol.*, New York, v. 21, n. 6, p. 801-814. 1995.

BEZERRA, G. C.D. *Efeito de extratos brutos e frações de meliáceas (Rutales: Meliaceae) na sobrevivência e no comportamento de Bemisia tabaci (Gennadius) biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae) em tomateiro*. 2009. 136f. Tese (Doutorado em

Ciências, área de concentração: Entomologia) – Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba. 2009.

BEZERRA-SILVA, G.C.D.; VENDRAMIM, J.D.; SILVA, M.A.; DIAS, C.T.S. Efeito de extratos orgânicos de meliaceae sobre *Bemisia tabaci* (Gennadius) biótipo b em tomateiro. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v. 77, n. 3, p. 477-485, jul./set., 2010.

BILTON, J.N.; BROUGHTON, H.B.; JONES, P.S.; LEY, S.V.; LIDERT, Z.; MORGAN, E.D.; RZEPA, H.S.; SHEPPARD, R.N.; SLAWIN, A.M.Z.; WILLIAMS, D.J. An x-ray crystallographic, mass spectroscopic, and NMR study of the limonoid insect antifeedant azadirachtin and related derivatives. *Tetrahedron*, London, v. 43, n. 12, p. 2805-2815.1987.

BOGORNÍ, P.C.; VENDRAMIM, J.D. Bioatividade de extratos aquosos de *Trichilia* spp. sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho. *Neotrop. entomol.*, Londrina, v. 32, p. 665-669. 2003.

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

BOHNENSTENGEL, F.I.; WRAY, V.; WITTE, L.; SRIVASTAVA, R. P.; PROKSCH, P. Insecticidal meliacarpins (C-*seco* limonoids) from *Melia azedarach*. *Phytochemistry*, v.49, p.977-982, 1999.

BRAGA, R. *Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará*. Centro de Divulgação Universitária - Estudos e Ensaio Biblioteca de Divulgação e Cultura Publicação nº 2, ser. 1ª., 523 p. 1953.

BRAGA, R. *Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará*. 3 ed. Mossoró: ESAM, v.11., Coleção Mossoroense, 11. p.191-192. 1976.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso: 07.01.2012.

BREUER, M.; DEVKOTA, B. Control of *Thaumetopea pityocampa* (Den.; Schiff.) by extracts of *Melia azedarach* L. (Meliaceae). *J. Econ. Entomol.*, v. 65, n. 2, p. 385-386. 1990.

BRUNHEROTTO, R.; VENDRAMIM, J. D. Bioatividade de extratos aquosos de *Melia azedarach* L. sobre o desenvolvimento de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: elechiidae) em tomateiro. *Neotrop. entomol.*, v. 30, n. 3, p. 455-459. 2001.

BURKILL, I.H. *A dictionary of the economic products of the Malay Peninsula*. London, Governments of the Straits Settlements/Federated Malay States, v.I, 1935. 1.220p.

BURKS, K.C. *Melia azedarach*. Fact sheet prepared by the Bureau of Aquatic Plant Management. Tallahassee, Department of Environmental Protection, State of Florida, 1997.

BUTTERWORTH, J.H.; MORGAN, E.D. Isolation of a substance that suppresses feeding in locusts. *Chem. commun.*, London, n. 1, p. 23-24. 1968.

BYRNE, D.N.; BELLOWS JÚNIOR, T.S. Whitefly biology. *Annual Review of Entomology*, v. 36, p. 431-457. 1991.

CABALLERO, R. Identificación de moscas blancas. In: Hilje, J. (Ed.). *Metodologías para el estudio y manejo de moscas blancas y geminivirus*. Turrialba: CATIE. Cap.1. p.1-10. 1996.

CABRAL, M.M.O.; AZAMBUJA, P.; GOTTLIEB, O.R.; GARCIA, E.S. Effects of some lignans and neolignans on the development and excretion of *Rhodnius prolixus*. Tallahassee: *Fitoterapia*, v.71, p.1-9. 2000.

CABRAL, M.M.O.; HEINZ REMBOLD, E.S.G.; SIMONE, S.G.D.; KELECOM, A. Antimoulting activity in Brazilian *Melia azedarach*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 91, p.117-118. 1996.

CAMINHA FILHO, A. C. *Timbós e rotenona*. Rio de Janeiro. 1940. 14 pp.

CARPINELLA, M.C.; HERRERO, G.G.; ALONSO, R.A.; PALACIOS, S.M. Antifungal activity of *Melia azedarach* fruit extract. *Fitoterapia*, v. 70, p. 296-298, 1999.

CASTRO-GAMBOA, I. *Estudo fitoquímico da raiz de Toona ciliata e do cavalo do enxerto de Toona ciliata/Cedrela odorata: uma contribuição à quimiosistemática e à ecologia na interação Hypsipyla-Meliaceae*. 2000. 212f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2000.

CAVOSKI, I.; D'ORAZIO, V.; MIANO, T. Interactions between rotenone and humic acids by means of FT-IR and fluorescence spectroscopies. *Anal. Bioanal. Chem.*, v. 395, p. 1145–1158. 2009.

CECHINEL, F.V.; YUNES, R.A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais: conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. *Quim. Nova*, São Paulo, v. 21, p. 99-105. 1998.

CHAMPAGNE, D. E.; ISMAN, M. B.; TOWERS, G. H. N. Insecticidal activity of phytochemicals and extracts of the Meliaceae. In: ARNASON, P.B.J.R.; MORAND, P. (Eds). *Insecticides of plant origin*. Washington, *American Chemical Society Symposium Series*, 387, 95–109. 1989.

CHAMPAGNE, D.E. Biological activity of limonoids from the rutales. Review article number 65. *Phytochemistry*, Oxford, v. 31, n. 2, p. 377-394. 1992.

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

CLEMENT, C.R. Improvement of native species. In: NASS, L.L.; VALOIS, A.C.C.; MELO, I.S.; VALADARES-INGLIS, M.C. (Eds.). *Recursos genéticos & melhoramento de plantas*. Fundação de Apoio à Pesquisa Agropecuária de Mato Grosso - Fundação MT, Rondonópolis, MT, p. 423-441. 2001.

CONOVER, W.J.; IMAN, R.L. *On multiple comparison procedures*. Los Alamos: Los Alamos Scientific Laboratory. Technical Report LA-7677-MS. 1979.

CORBETT, C.E. *Plantas ictiotóxicas: farmacologia da rotenona*. São Paulo: Faculdade de medicina da Universidade de São Paulo. São Paulo. 1940.157p.

COREY, E.J.; HAHL, R.W. Synthesis of a limonoid, azadiradione. *Tetrahedron Letters*, Elmsford, v. 30, n. 23, p. 3023–3026. 1989.

CORREA, M.P.; PENNA, L.A. *Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas*. Instituto Brasileiro de desenvolvimento Florestal. Rio de Janeiro. 1984.138p.

CORRÊA, R. da S. *Toxicidade de extratos de Lonchocarpus floribundus Benth (timbó) sobre Toxoptera citricida Kirkald (pulgão preto dos citros) (Sternorrhyncha: Aphididae)*. 2006. 71f. Dissertação (Mestrado em Agricultura no Trópico Úmido) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Fundação Universidade do Amazonas, Manaus, Amazonas. 2006.

CORRÊA, R. da S. *Toxicidade de extratos de timbós (Derris spp.) sobre Tetranychus desertorum (Acari: Tetranychidae) em folhas de pimentão*. 2011. 72f. Tese (Doutorado em Biotecnologia, área de concentração em Conservação e uso de recursos genéticos vegetais da Amazônia). Universidade Federal do Amazonas, Manaus/AM. 2011.

COSTA, E.V.; PINHEIRO, M.L.; XAVIER, C.M.; SILVA, J.R.; AMARAL, A.C.; SOUZA, A.D.; BARISON, A.; CAMPOS, F.R.; FERREIRA, A.G.; MACHADO, G.M.; LEON, L.L. A pyrimidine-beta-carboline and other alkaloids from *Annona foetida* with antileishmanial activity. *J. Nat. Prod.*, v. 69, p. 292-294. 2006.

COSTA, J.P.C. da.; MÜLLER, C.H. *Fruticultura tropical: o biribazeiro (Rollinia mucosa (Jacq.) Baill.* Belém: EMBRAPA-CPATU, Documentos, 84. 1995. 35p.

COSTA, J.P.C. da. *Efeito da variabilidade de timbós de diferentes regiões da Amazônia em Musca domestica L.* 1996. 119f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - UNESP Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal. 1996.

COSTA, J.P.C. da.; BELO, M.; BARBOSA, J.C. Efeitos de Espécies de Timbós (*Derris* spp.: Fabaceae) em Populações de *Musca domestica* L. *An. Soc. Entomol.*, v. 26, n. 1, p. 163-168. 1997.

COSTA, J.P.C. da.; BÉLO, M. Diferença entre as espécies de timbó (*Derris* spp., Fabaceae) de diferentes regiões da Amazônia no controle de *Musca domestica* L. *Acta Amazon.*, v. 29, n. 3, p. 349-364. 1999.

COSTA, N.A.; NASCIMENTO, C.N.B.; MOURA CARVALHO, L.O.D.; PIMENTEL, E.S. *Uso do timbó urucu (Derris urucu) no controle do piolho (Haemotopinus tuberculatus) em bubalinos.* Belém: EMPRAPA-CPATU. Boletim de Pesquisa 78. 1986.16p.

CRAVERO, E.S.; GUERRA, M de S.; SILVEIRA, C.P.D. *Manual de inseticidas e acaricidas: aspectos toxicológicos,* Pelotas: Aimara, 1976. 229 p.

CROMBIE, L.; WHITING, A.D. Biosynthesis in the rotenoid group of natural products: applications of isotope methodology. *Phytochemistry*, Oxford, v. 49, n. 6, p. 1479-1507. 1998.

CUNHA, M.L.A. da. *Distribuição geográfica, aspectos biológicos e controle químico da mosca negra dos citros, Aleurocanthus woglumi Ashby (Hemiptera: Aleyrodidae), nas condições ambientais do Estado do Pará.* 2003. 57f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém/PA. 2003.

CUNNINGHAM, S.A.; FLOYD, R.B.; GRIFFITHS, M.W.; WYLIE, F. R. Patterns of host use by the shoot-borer *Hypsipyla robusta* (Pylalidae: Lepidoptera) comparing five Meliaceae tree species in Asia and Australia. *For. ecol. manage.*, Amsterdam, v. 205, p. 351-357. 2005.

DIETZ, H.F.; ZETEK, J. *The blackfly of citrus and other subtropical plants.* USDA Dep. Agric. Bull. 885, 1920.55p.

DONADIO, L.C.; ALVES, F. A.; MOURÃO FILHO, F.A.A.; MOREIRA, C.S. Centros de origem, distribuição geográfica das plantas cítricas e histórico da citricultura no Brasil. In: MATTOS JÚNIOR, D. de.; NEGRI, J.D de.; PIO, R.M.; POMPEU JÚNIOR, J. (eds.). *Citros.* Campinas: Instituto Agrônômico e Fundag. p.3-18. 2005.

DON-PEDRO, K.N. Insecticidal activity of fatty acid constituents of fixed vegetable oils against *Callosobruchus maculatus* (F.) on cowpea. *Pest Management Science*, v. 30. 1990.

DOWELL, R.V.; FITZPATRICK, G.E. Effects of temperature on the growth and survivorship of the citrus blackfly (Homoptera: Aleyrodidae). *Can. Ent.*, Ottawa, v. 110, p.1347-1350. 1978.

DOWELL, R.V.; FITZPATRICK, G.E.; HOWARD, F.W. Activity and dispersal of first instar larvae of the citrus blackfly. *Jl. N. Y. Ent. Soc.*, v. 85, p.17-18. 1978.

DOWELL, R.V.; CHERRY, R.H.; FITZPATRICK, G.E.; REINERT, J.A.; KNAPP, J.L. Biology, plant-insect relations, and control of citrus blackfly. *Bull. / Univ. Fla. Agric. Exp. Stn*, v. 818, p.1-48. 1981.

EPPO n° 103. Disponível em: www.wppo.org/QUARANTINE/insects/Aleurocanthus_woglumi/Alecwo_ds.pdf. Acesso: 01/06/2005.

ESTRELA, J.L.V.; FAZOLIN, M.; CATANI, V.; ALÉCIO, M.R.; LIMA, M.S. Toxicidade de óleos essenciais de *Piper aduncum* e *Piper hispidinervum* em *Sitophilus zeamais*. *Pesq. agropec. bras.*, v. 41, n. 2, p. 217-222. 2006.

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). *Neotrop. entomol.*, v. 32, p. 343-346. 2003.

FARIAS, M.P.O.; SOUSA, D.P.; ARRUDA, A.C.; ARRUDA, M.S.P.; WANDERLEY, A.G.; ALVES, L.C.; FAUSTINO, M.A.G. Eficácia “in vitro” do óleo da *Carapa guianensis* AUBL. (Andiroba) no controle do *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae). *Rev. Bras. de Plantas Med.*, v. 9, n. 4, p. 68-71. 2007.

FARIAS, M.P.O.; SOUSA, D.P.; ARRUDA, A.C.; WANDERLEY, A.G.; TEIXEIRA, W.C.; ALVES, L.C.; FAUSTINO, M.A.G. Potencial acaricida do óleo de andiroba *Carapa guianensis* Aubl. sobre fêmeas adultas ingurgitadas de *Anocentor nitens* Neumann, 1897 e *Rhipicephalus sanguineus* Latreille, 1806. *Arq. Bra. Méd. Vet. Zoot.*, v. 61, n. 4, p. 877-882. 2009.

FAWCETT, H.S. *Citrus diseases and their control*. McGraw Hill, New York. 1936.

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J. L.V.; LIMA, A.P de.; ARGOLO, V.M. Avaliação de plantas com potencial inseticida no controle da *Vaquinha-do-feijoeiro* (*Cerotoma tingomarianus* Bechyné). Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E). 2002. 42 p.

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J.L.V.; ALBUQUERQUE, E.S. de; COSTA, C.R.DA.; CATANI, V.; CAVALCANTE, A.S. da S.; DAMACENO, J.E de O. Avaliação toxicológica do óleo essencial de *Piper affinis hispidinervum* para insetos pragas das culturas do milho e feijão. *Anais do V Congresso Brasileiro de Defensivos Agrícolas Naturais*. Embrapa Meio Ambiente. Jaguariúna/SP. 2011.

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J.L.V.; CATANI, V.; ALÉCIO, M.R.; LIMA, M.S. Propriedade inseticida dos óleos essenciais de *Piper hispidinervum* C.DC.; *Piper aduncum* L. e *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. & K. Shum sobre *Tenebrio molitor* L. 1758. *Ciênc. agrotec.*, Lavras, v. 31, n. 1, p. 113-120. 2007.

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J.L.V.; CATANI, V.; LIMA, M.S.; ALÉCIO, M.R. Toxicidade do óleo de *Piper aduncum* L. a adultos de *Cerotoma tingomarianus* Bechyné (Coleoptera: Chrysomelidae). *Neotrop. entomol.*, Londrina, v. 34, n. 3, p. 485-489. 2005.

FERNANDES, J.B.; DAVID, V.; FACCHINI, P.H.; SILVA, M.F das G.F da.; RODRIGUES FILHO, E.; VIEIRA, P.C. Extrações de óleos de sementes de citros e suas atividades sobre a formiga cortadeira *Atta sexdens* e seu fungo simbionte. *Quim. Nova*, v. 25, n. 6B, p. 1091-1095. 2002.

FERRAZ, I. D. K. *Informativo Técnico Rede de Sementes da Amazônia*. Nº 1, 2003.

FERRAZ, I. D. K. *Informativo Técnico Rede de Sementes da Amazônia*. Nº 2, 2004.

FERREIRA, M das G.R.; SANTOS, M.R.A dos.; SILVA, E de O.; GONÇALVES, E.P.; ALVES, E.U.; BRUNO, R de L.A. Superação de dormência em sementes de biribá (*Rollinia mucosa* (Jacq.) Baill). *Rev. bras. Sementes.*, v. 31, n. 4, p.095-099, 2009.

FIGUEIRA, G.M.; DUARTE, M.C.T.; SILVA, C.A.L.; DELAMELINA, C. Atividade antimicrobiana do extrato do óleo essencial de *Piper* spp. cultivadas na coleção de germoplasma do CPQBA-Unicamp, *Hortic. Bras.*, v. 21, n. 2, p. 403. 2003.

FIGUEIREDO, R.A.; SAZIMA, M. Pollination biology of Piperaceae species in southeastern Brazil. *Ann Bot.*, v. 85, p. 455-460. 2000.

FIGUEREDO, L.C. *Manejo fitossanitario de la mosca prieta de los citricos* (*Aleurocanthus woglumi* Ashby) *en las condiciones de la empresa de citricos sola*. 2002. 63f. Dissertação (Maestría en Fruticultura Tropical) – Instituto de Investigaciones de Fruticultura Tropical, La Havana, 2002.

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

FIRMINO, C. A. *Estudo Fitoquímico das Raízes de Lonchocarpus Campestris*. 1998. 121f. Dissertação de mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo. 1998.

FNP CONSULTORIA E COMERCIO. *Agrianual 2011: Anuário da Agricultura Brasileira*. Editora FNP. 2011.

FONSECA, F.V.; ROCHA, L.C.B.P da.; AVILA, C.C.; SILVA, B.M.; PROPHIRO, J.S. Óleo de *Carapa guianensis* (Aublet) (Meliaceae) sobre adultos de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae). *Anais do IX Congresso de Ecologia do Brasil*. São Lourenço – MG. 2009.

FORIM, M.R. *Estudo fitoquímico do enxerto de Azadirachta indica sobre Melia azedarach: quantificação de substâncias inseticidas*. 2006. 320f. Tese (Doutorado em Química Orgânica) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2006.

FREIRE, D da C.B.; BRITO-FILHA, C.R da COSTA.; CARVALHO-ZILSE, G.A. Efeito dos óleos vegetais de andiroba (*Carapa* sp.) e Copaíba (*Copaifera* sp.) sobre forídeo, pragas de colméias, (Diptera: Phoridae) na Amazônia Central. *Acta Amazon.*, v. 36, n. 3, p. 365–368. 2006.

GABRIEL, P.; TAVARES, M.A.G.C.; VENDRAMIM, J.D. Avaliação da bioatividade de extratos de *Trichilia pallida* e *T. pallens* sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). *Rev. agric.*, Piracicaba, v. 81, n. 1, p. 10-23. 2006.

GAJMER, T.; SINGH, R.; SAINI, R.K.; KALIDHAR, S.B. Effect of methanolic extracts of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) and bakain (*Melia azedarach*) seeds on oviposition and egg hatching of *Earias vittella* (Fab) (Lep., Noctuidae). *Journal Applied Entomology*, v.126, p.238-243, 2002.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BAPTISTA, G.C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIM, J.D.; MARCHINI, L.C.; LOPES, J.R.S.; OMOTO, C. *Entomologia Agrícola*. Piracicaba/SP v.10, ed. FEALQ. 2002. 920p.

GARCIA, J.F.; GRISOTO, E.; VENDRAMIM, J.D.; BOTELHO, P.S. Bioactivity of neem, *Azadirachta indica*, against spittlebug *Mahanarva fimbriolata* (Hemiptera: Cercopidae) on sugarcane. *J Econ Entomol.*, v. 99, n. 6, p. 2010-4. 2006.

GASPAROTTO, L.; JUNQUEIRA, N. T. V.; PEREIRA, J.C.R. *Doenças de citros no Estado do Amazonas*. EMBRAPA-CPAA. Manaus. Circular Técnica Nº 6. 1998. 20p.

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

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Quim. Nova*, São Paulo, v. 30, p. 374-381. 2007.

GOMES, R.P. *A cultura dos timbós*. Rio de Janeiro, Serviço de Informação Agrícola, 1946. 20p.

GONÇALVES-GERVÁSIO, R.C.R.; VENDRAMIM, J.D. Modo de ação de extratos de meliáceas sobre *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v. 71, n. 2, p. 215-220. 2004.

GONÇALVES-GERVÁSIO, R.C.R.; VENDRAMIM, J.D. Bioatividade do extrato aquoso de sementes de nim sobre *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae) em três formas de aplicação. *Ciênc. agrotec.*, Lavras, v. 31, n. 1, p. 28-34. 2007.

GONZAGA, A.D.; GARCIA, M.V.B.; SOUSA, S.G.A. de.; PY-DANIEL, V.; CORREA, R. da S.; RIBEIRO, J.D'arc. Toxicity of cassava manipueira (*Manihot esculenta* Crantz) and erva-de-rato (*Palicourea marcgravii* St. Hill) to adults of *Toxoptera citricida* Kirkaldy (Homoptera: Aphididae). *Acta Amazon.*, v. 38, n. 1, p. 101-106. 2008.

GRUBER, A.K. Biología y ecología del árbol de Nim (*Azadirachta indica* A.Juss.): Extracción, medición, toxicidad y potencial de crear resistencia. *Ceiba*, Honduras 1992, v. 33, n. 1, pt. B, p.249-256, 1992. Apresentado Congreso Internacional de Manejo Integrado de Plagas, 4., 1992, Honduras. *Memoria...*:

GUHA, S.R.D.; NEJI, J.S. Writing and printing paper from *Melia azedarach* Linn (Persian lilac). *Indian For.*, v. 91, p.867-869, 1965.

GUIMARÃES, E.F.; GIORDANO, L.C.S. Piperaceae do nordeste brasileiro I: Estado do Ceará. *Rodriguesia*, v. 55, p. 21-46. 2004.

GULLAN, P.J.; CRANSTON, P.S. *Os insetos: um resumo de entomologia*. São Paulo. Roca, 2007. 440p.

HARAGUCHI, M. Plantas tóxicas de interesse na pecuária. *Biológico*, São Paulo, v. 65, n. 1/2. p. 37-39, jan./dez., 2003.

HARTMANN, T.; *Ent. Exp. Appl.* 1996, 80, 177.

HEDGE, N.G. Improving the productivity of neem trees. World Neem Conference. *Indian j. entomol.*, New Delhi, v. 50, p. 147-150, 1993.

HEU, R.A.; NAGAMINE, W.T. *Citrus blackfly*, *Aleurocanthys woglumi* Ashby (Homoptera, Aleyrodidae). Hawaii. Department of Agriculture, Division of Plant Industry, New Pest Advisory, v. 99, p. 1-3. 2001.

HIGBEE, E.C. *Lonchocarpus, Derris, and Pyrethrum cultivation and sources of supply*. Washington, United States Department of Agriculture, 1948. 36p. (Miscellaneous Publication, 650).

HIRATA, R. Estrutura química-atividade biológica. *Quim. nova*. São Paulo, v. 4, n. 18, p. 368-374.1995.

HOFFMANN, E.K.; VASCONCELOS, G.J.N. de.; SILVA, N.M. da.; GONDIM, M.G.C. Efeito ovicida de extrato aquoso de folha e inflorescência de *Piper peltatum* sobre *Tetranychus mexicanus* (Acari: Tetranychidae). *Anais do XXIII Congresso Brasileiro de Entomologia Agrícola*. Natal/RN. 2010.

HOMMA, A.K.O. O timbó: expansão, declínio e novas possibilidades para agricultura orgânica. *XLV Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural*, UEL, Londrina/PR. 2007. 46p.

HUANG, R. C.; TADERA, K.; YAGI, F.; MINAMI, Y.; OKAMURA, H.; IWAGAWA, T. Limonoids from *Melia azedarach*. *Phytochemistry*, v. 43, p.581-583, 1996.

HUANG, R.C.; OKAMURA, H.; IWAGAWA, T.; TADERA, K.; NAKATANI, M. Azedarachin C, a limonoid antifeedant from *Melia azedarach*. *Phytochemistry*, v. 38, p.593-594. 1995.

IBGE. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela>. Acesso em: novembro de 2011.

INSTITUTO DE ECONOMIA AGRÍCOLA. *Os números da citricultura*. São Paulo: Secretaria da Agricultura e Abastecimento, 1997. 28 p.

JACOBSON, M. Botanical pesticides: past, present, and future. Washington: *American Chemical Society*. p.110-119. 1989.

JIMENEZ, J.E.; MALBY, H. Control biológico de la mosca prieta em México. *Fitólito* v. 16, n. 37, p. 5-41. 1963.

JOHNSON, S.; MORGAN, E.D.; PEIRIS, C.N. Development of the major triterpenoids and oil in the fruit and seeds of neem (*Azadirachta indica*). *Annals of Botany*, London, v. 78, p. 383-388, 1996.

JORDÃO, A.L. .; SILVA, R.A. *Guia de Pragas Agrícolas para o Manejo Integrado no Estado do Amapá*. Ribeirão Preto: Ed. Holos. 2006. 182p.

JOSHI, A.R.; JOSHI, K. Indigenous knowledge and uses on medicinal plants by local communities of the kali gandaki watershed area, Nepal. *Journal of Ethnopharmacology*, v.73, p.175-183, 2000.

JUDD, W.S.; CAMPBELL, C.S.; KELLOGG, E.A.; STEVENS, P.F. *Plant systematics: a phylogenetic approach*. Massachusetts: Sinauer Associates, 1999.464p.

KANOKMEDHAKUL, S.; KANIKMEDHAKUL, K.; PRAJUABSUK, T.; PANICHAJAKUL, S.; PANYAMEE, P.; PRABPAI, S.; KONGSAEREE, P. Azadirachtin derivatives from seed kernels of *Azadirachta excelsa*. *J. nat. prod.*, Washington, v. 68, n. 7, p. 1047–1050. 2005.

KATOLE, S.R.; MAHAJAN, R. K.; TAYDE, G.S.; GAWANDE, R.B. Neem oil: an environmentally safer biocide in the management of citrus blackfly (*Aleurocanthus woglumi* Ashby). *PKV Research Journal*, v. 20, n. 1, p. 28-30. 1996.

KHAN, M.R.; KIHARA, M.; OMOLOSO, A.D. Antimicrobial activity of *Horsfieldia helwiigi* and *Melia azedarach*. *Fitoterapia*. v.72, p.423-427, 2001.

KOSEKI, T.; INOUE, S. Plantas inseticidas; *Derris* spp. *Rev. agric.*, Piracicaba, v. 13, n. 7,8,9, p. 340-347, jul./ago./set., 1938.

KOUL, O. *Insect antifeedants*. Boca Raton: CRC Press, 2005. 1005 p.

KOUL, O.; WALIA, S. Comparing impacts of plant extracts and pure allelochemicals and implications for pest control. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources* 4, No. 049. 2009.

KRAUS, W.; BÖKEL, M.; BRUHN, A.; CRAMER, R.; KLAIBER, I.; KLENK, A.; NAGEL, G.; PÖHNL, H.; SALDO, H.; VOGLER, B. Structure determination by NMR of azadirachtin and related compounds from *Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae). *Tetrahedron*, Oxford, v. 43, n. 12, p. 2817-2830. 1987.

KRAUS, W.; GRIMMINGER, W.; SAWITZKI, G. Toonacilin and 6-cetoxytoonacilin, Two Novel B-*seco*-Tetranortriterpenoids with Antifeeding Activity. *Angewandte Chemie International Edition in English*, Weinheim, v. 17, n. 6, p. 452–453. 1978.

KUBO, I.; KLOCKE, J. Insect ecdysis inhibitors. In: GREEN, M.B.; HEDIN, P.A., ED. Natural resistance of plants to insects. *ACS Symposium Series* 296, 206-219. 1986. Kutchan, T. M. *Plant Physiol.* 2001, 125, 58.

LAGO, J.H.; RAMOS, C.S.; CASANOVA, D.C.C.; MORANDIM, A.A.; BERGAMO, D.C.B.; CAVALHEIRO, A.J.; BOLZANI, V.S.; FURLAN, M.; GUIMARÃES, E.F.; YOUNG, M.C.M.; KATO, M.J. Benzoic acid derivatives from *Piper* species and their fungitoxic activity against *Cladosporium cladosporioides* and *C. sphaerospermum*. *J. nat. prod.*, v. 67, p.1783-1788. 2004.

LAVIE, D.; JAIN, M.K. Tetranortriterpenoids from *Melia azadirachta* L. *Chemical Communication*, London, n. 6, p. 278–280, 1967.

LEMOES, R.N.S.; SILVA, G.S.; ARAÚJO, J.R.G.; CHAGAS, E.F.; MOREIRA, A. A.; SOARES, A.T.M. Ocorrência de *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Hemiptera: Aleyrodidae) no Maranhão. *Neotrop. Entomol.*, Londrina, v. 35, n. 4. 2006.

LEY, S.V.; ABAD-SOMOVILLA, A.; ANDERSON, J.C.; AYATS, C.; BONTELI, R.; BECKMANN, E.; BOYER, A.; BRASCA, M.G.; BRICE, A.; BROUGHTON, H.B.; BURKE, B.J.; CLEATOR, E.; CRAIG, D.; DENHOLM, A.A.; DENTON, R.M.; DURAND-REVILLE, T.; GOBBI, L.B.; GOBEL, M.; GRAY, B.L.; GROSSMANN, R.B.; GUTTERIDGE, C.E.; HAHN, N.; HARDING, S.L.; JENNENS, D.C.; JENNENS, L.; LOVELL, P.J.; LOVELL, H.J.; PUENTE, M.L.; KOLB, H.C.; KOOT, W.; MASLEN, S.L.; MCCUSKER, C.F.; MATTES, A.; PAPE, A.R.; PINTO, A.; SANTAFIANOS, D.; SCOTT, J.S.; SMITH, S.C.; SOMERS, A.Q.; SPILLING, C.D.; STELZER, F.; TOOGOOD, P.L.; TURNER, R.M.; VEITCH, G.E.; WOOD, A.; ZUMBRUNN, C. The synthesis of Azadirachtin: a potent insect antifeedant. *Chemistry A-European Journal*, v. 14, n. 34, p.10683-10704. 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 Amazon.*, v. 39, n. 2, p. 377–382. 2009.

LIMA, R.R. *Informações sobre duas espécies de timbó: Derris urucu (Killip et Smith) Macbride e Derris nicou (Killip et Smith) Macbride, como plantas inseticidas*. Belém: EMBRAPA-CPATU. Documentos 42, 1987. 23p.

LIMA, R.R.; COSTA, J.P.C. da. *Registro de introduções de plantas de cultura pré-colombiana coletadas na Amazônia brasileira*. Belém: EMBRAPA-CPATU, Documentos, 58. 1991. 210p.

LIMA, R.R.; COSTA, J.P.C. da. *Coleta de plantas de cultura pré-colombiana na Amazônia brasileira*. Parte I. Belém: EMBRAPA-CPATU, Documentos, 99. 1997. 148p.

LINDROTH, R.L.; HSIA, M.T.S.; SCRIBER, J.M. *Biochem. Syst. Ecol.* 1987, 15, 681.

LIU, M.; CHAVERRI, P.; HODGE, K. A taxonomic revision of the insect biocontrol fungus *Aschersonia*, its allies with white stromata and their *Hypocrella* sexual states. *Mycol. Res.* IIO. p.537-554. 2006.

LOPES, C.M.D.; RONCHI TELES, B. *Evite a introdução da mosca negra, Aleurocanthus woglumi no Amazonas*. Delegacia Federal de agricultura no Amazonas DFA-AM. Folder Técnico. 2003.

LOPES, E.B.; ALBUQUERQUE, I.C.DE.; COSTA, F.R.DA.; BORGES, J.A de M. *Relatório Técnico-Fitossanitário: mosca-negra-dos-citros (Aleurocanthus woglumi Ashby) (Hemiptera: Aleyrodidae) Chega à Paraíba*. EMEPA-PB (Empresa Estadual de Pesquisa Agropecuária da Paraíba S.A /Estação Experimental de Lagoa Seca). 2009.17p.

LORENZI, H. *Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 1998. v.1, 368 p.

LORENZI, H. et al. *Árvores Exóticas no Brasil: madeireiras, ornamentais e aromáticas*. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2003. 385p.

LOVATTO, P.B.; MAUCH, C.R.; SCHIEDECK, G. Efeito de extratos aquosos de *Melia azedarach* (Meliaceae) sobre a biologia e preferência alimentar de *Brevicoryne brassicae* (L., 1758) (Hemiptera: Aphididae) em condições de laboratório. *Rev. Bras. de Agroecologia.*, v. 6, n. 2. 2011.

MACIEL, M.A.M.; PINTO, A.C.; VEIGA, J.V.F. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. *Quim. Nova*, v. 25, p. 430-431. 2002.

MACIEL, M.V.; MORAIS, S.M.; BEVILAQUA, C.M.L.; CAMURÇA-VASCONCELOS, A.L.F.; COSTA, C.T.C.; CASTRO, C.M.S. Ovicidal and larvicidal activity of *Melia azedarach* extracts on *Haemonchus contortus*. *Veterinary Parasitology*, v.140, p.98-104, 2006.

MAIA, J.G.S.; ZOHBI, M.G.B.; ANDRADE, E.H.A.; SANTOS, A.S.; SILVA, M.H.L.; LUZ, A.I.R.; BASTOS, C.N. Constituents of the essential oil of *Piper aduncum* L. growing wild in the Amazon region. *Flavour frag. j.*, v. 13, p. 269-272. 1998.

MAIA, P.S.P. Caracterização da distribuição espacial da mosca negra dos citros (*Aleurocanthus woglumi* Ashby, 1915) em pomar georreferenciado para determinar um plano de amostragem seqüencial. Dissertação (Mestrado em Agronomia, área de

concentração Produção Vegetal). Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém/PA. 2008. 91p.

MAIA, W.J.M.S.; SOUZA, J.C.; MARQUES, L.C.; SILVA, L.M.S.; BENADUCE, R.V.; GENTIL, R.M. Infestação em citros por *Aleurocanthus woglumi* (Ashby) e perspectivas de controle biológico aplicado no Pará. *Anais do 9º Simpósio de Controle Biológico*. Recife. 2005. p.183.

MAPA (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO). Disponível em : <http://api.ning.com/files/ftLkqUnbFVsgEpeVC7ZZVTIEETIPAA4--mP3tSkH1GhXUHFPCMNY7xilorvSRu-dcUiqSwgB9kPWEV5vvWA4U7gpDqvsVhCe/ProgramasPragasQuarentenárias.pdf>. Acesso em 07.01.2012.

MARTIN, J.H.D; RAPISARDA, C. The whiteflies (Hemiptera: Aleyrodidae) of Europe and Mediterranean Basin. *Bull. entomol. res.*, v. 90, p. 407-448. 2000.

MARTÍNEZ, N.B.; ANGELES, N. Contribución al conocimiento de la biología de la mosca prieta de los cítricos *Aleurocanthus woglumi* Ashby em Venezuela. *Agron. trop.*, v. 23, n. 4, p. 401-406. 1973.

MARTÍNEZ, N.B. Biología de la mosca prieta de los cítricos *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Homoptera: Aleyrodidae) em el campo. *Agron. trop.*, v. 31, n. 1-6, p. 211-218. 1983.

MARTINEZ, S.S.; LIMA, J.; BOIÇA JUNIOR, A.L. Avaliação agronômica e fitoquímica do neem, *Azadirachta indica*, de diferentes procedências em vários locais das regiões Sul e Sudeste do Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 17., 1998, Rio de Janeiro. *Anais...* Rio de Janeiro: SEB, 1998, p. 1053.

MARTINEZ, S.S. (Ed.). *O nim – Azadirachta indica: natureza, usos múltiplos, produção*. 2 ed., Londrina. Instituto Agronômico do Paraná, 2011. 205p.

MASCARO, U.C.P.; RODRIGUES, L.A.; BASTOS, J.K.; SANTOS, E.; COSTA, J. P. C. LD50 in fish and rat produced by powdered roots of *Derris spp* and ecotoxicological implications. *Pesqui. Vet. Bras.*, v. 18, n. 2, p. 53-56. 1998.

MATHEW, D. *DDT – to ban or not to ban*. George Washington University, School of Public Health & Health Services. 36p. <http://www.gwu.edu/~macche/EOHtutorial/EOHStudents/DDT.pdf> – 04/06/2004.

MATIAS, R.; SOLON, S.; RESENDE, U.M.; GOMES, A.; KOLLER, W.W. *Melia azedarach*, uso popular x estudos químicos e farmacológicos: breve revisão. *Ens. cienc.*, Campo Grande, v.6, n.1, p. 91-121, 2002.

MATIAS, R.; SOLON, S.; RESENDE, U.M.; GOMES, A.; MAGANHA, M.; PEREIRA, G.S.; NOZU, P.; KOLLER, W.W. Estudo químico-farmacológico de *Melia*

azedarach (Meliaceae) sobre *Boophilus microplus*. *Ens. Cienc.*, Campo Grande, v. 7, n. 2, p. 283-293. 2003.

MATOS, F.J de A. *Introdução à Fitoquímica Experimental*. ISBN: 85.7282-026-4. Ed. UFC. 2009. 150p.

McGRAW, L.J.; JÄGER, A.K.; van STADEN, J. Antibacterial, anthelmintic and antiamoebic activity in South African medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, v.72, p.247-263, 2000.

MCINDOO, N.E. Derris as an insecticide. *Journal of Agricultural Research*, v. 17, n. 5, p. 177-200. 1919.

MEDEIROS, F.R.; LEMOS, R.N.S. de.; OTTATI, A.L.T.; ARAÚJO, J.R.G.; MACHADO, K.G.; RODRIGUES, A.A.C. Dinâmica populacional da mosca-negra-dos-citros *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Hemiptera: Aleyrodidae) em *citrus* spp. no município de São Luís – MA. *Rev. Bras. Frutic.*, Jaboticabal, v. 31, n. 4, p. 1016-1021. 2009.

MENEZES, A.C.S. *Atividade inseticida e tripanocida de Trichilia casaretti e Azadirachta indica*. 2001. 177f. Tese (Doutorado em Química Orgânica) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2001.

MENEZES, R.O.; MAIA, P.S.P.; FARIAS, P.R.S.; MONTEIRO, B.S.; ALBUQUERQUE, G.D.P. Amostragem sequencial com base na lei de Taylor para levantamento populacional da mosca-negra-dos-citros (*Aleurocanthus woglumi* Ashby) em pomares de citros no município de Capitão Poço-PA. In: Seminário de Iniciação Científica da UFRA, 6., Seminário de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Oriental, 6., 2008, Belém. **Anais...** Belém: UFRA/EMPRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL. 2008.

MIKOLAJCZAK, K.L.; REED, D.K. Extractives of seeds of the meliaceae: Effects on *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith), *Acalymma vittatum* (F), and *Artemia salina* Leach. *Journal of Chemical Ecology*, New York, v. 13, p. 99-111. 1987.

MIKOLAJCZAK, K.L.; ZILKOWSKI, B.W.; BARTELT, R.J. Effect of meliaceous seed extracts on growth and survival of *Spodoptera frugiperda* (J.E Smith.). *Journal of Chemical Ecology*, New York, v. 15, n. 1, p. 121-128. 1989.

MONTEIRO, M.R.; TORKOMIAN, V.L.V.; PAGNOCCA, F.C.; VIEIRA, P.C.; FERNANDES, J.B.; SILVA, M.F. G. F da.; BUENO, O.C.; HEBLING, M.J.A. *An. Acad. Bras. Ci.* 1998, 70, 733.

MOORE, R.H. Derris *culture in Puerto Rico*. Mayaguez, Puerto Rico, Puerto Rico Experiment Station, Circular, 24. 1943. 17p.

MOORE, R.H. *Mineral deficiencies in Derris elliptica*. Mayaguez, Puerto Rico, Federal Experiment Station in Puerto Rico, Bulletin, 43. 1945. 26p.

MORANDIM, A.A.; NAVICKIENE, H.M.D.; REGASINI, L.O.; CORDON, T.; FERRI, A.F.; AGRIPINO, D.; CAVALHEIRO, A.J.; LOPES, M.N.; MARQUES, M.O.M.; YOUNG, M.C.M.; KATO, M.J.; BOLZANI, V.S.; FURLAN, M. *Constituição e atividade antifúngica dos óleos essenciais das folhas e caules de Piper aduncum L, P. arboretum Aublet e P. tuberculatum Jacq e dos frutos de P. aduncum L e P. tuberculatum Jacq*. Documentos, IAC, Campinas. 2003. 74p.

MORDUE (LUNTZ), A.J.; BLACKWELL, A. Azadirachtin: An update. *J. insect physiol.*, London, v. 39, p. 903-924, 1993.

MORDUE (LUNTZ), A.J.; NISBET, A.J. Azadirachtin from the neem tree *Azadirachta indica*: its action against insects. *An. Soc. Entomol. Bras.*, Londrina, v. 29, n. 4, p. 615-632, 2000.

MORGAN, E.D. Azadirachtin, a scientific gold mine. *Bioorg. med. chem.*, Oxford, v, 17, p. 4096-4105, 2009.

MORINI, M. S.C.; BUENO, O. C.; HEBLING, M. J. A.; PAGNOCCA, F. C.; BACCI JR., M.; FERNANDES, J. B.; VIEIRA, P.C. *Naturalia*, 1999, 24, 327.

MULLA, M.S.; TIANYUN, S. Activity and biological effects of neem products against arthropods of medicinal and veterinary importance. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, v. 15, n. 2, p.133-152, 1999.

NAKANISHI, K. Recent studies on bioactive compounds from plants. *J. Nat. Prod.*, v. 45, n. 1, p. 15-26. 1982.

NAKATANI, M.; HUANG, R. C.; OKAMURA, H.; IWAGAWA, T.; TADERA, K. Degraded limonoids from *Melia azedarach*. *Phytochemistry*, v. 49, n. 6, p. 1773-1776. 1998.

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

NAKATANI, M.; ZHOU, J.; NAKAYAMA, N.; NAKATANI, M.; ABDELGALEIL, S.A.M.; SAAD, M.M.G.; HUANG, R.C.; DOE, M.; IWAGAWA, T. Phragmalin limonoids from *Chukrasia tabularis*. *Phytochemistry*, v. 65, p. 2833-2841. 2004.

NATHAN, S.S. Effects of *Melia azedarach* on nutritional physiology and enzyme activities of the rice leaffolder *Cnaphalocrocis medinalis* (Guenée) (Lepidoptera: Pyralidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, v.84, p.98-108. 2006.

NATHAN, S.S.; SAVITHA G.; GEORGE, D.K.; NARMADHA, A.; SUGANYA, L.; CHUNG, P. G. Efficacy of *Melia azedarach* L. extract on the malarial vector *Anopheles stephensi* Liston (Diptera: Culicidae). *Bioresour. technol.*, v. 97, n. 11, p. 1316-1323. 2006.

NAUMANN, K.; ISMAN, M.B. Evaluation of neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) seed extracts and oils as oviposition deterrents to noctuid moths. *Entomol. exp. appl.*, Dordrecht, v. 76, p. 115-120. 1995.

NAVICKIENE, H.M.D.; ALÉCIO, A.C.; KATO, M.J.; BOLZANI, V.S.; YOUNG, M.C.M.; CAVALHEIRO, A.J.; FURLAN, M. Antifungal amides from *Piper hispidum* and *Piper tuberculatum*. *Phytochemistry*, v. 55, p. 621-626. 2000.

NERIO, L.S.; OLIVERO-VERBEL, J.; STASHENKO, E. Repellent activity of essential oils: A review. *Bioresour. technol.* v.101, p. 372–378. 2010.

NEVES, M.F.; TROMBIN, V.G.; MILAN, P.; LOPES, F.F.; CRESSONI, F.; KALAKI, R. *O retrato da citricultura brasileira*. Disponível em http://www.citrusbr.com.br/download/biblioteca/o_retrato_da_citricultura_brasileira_baixa.pdf. Acesso em 07.01.2012.

NEWELL, W; BROWN, A.C. Eradication of the citrus blackfly in Key West, Fla. *Journal Economic Entomology*, v. 32, p. 680-682. 1939.

NGUYEN, R.; HAMON, A.B. *Citrus blackfly*, *Aleurocanthus woglumi* Ashby (*Homoptera: Aleyrodidae*). University of Florida. CIR 360. 2003.

OELRICHS, P.B.; HILL M.W.; VALLELY P. J.; MACLEOD J.K.; MOLINSKY, T.F. Toxic tetranortriterpenes of the fruit of *Melia azedarach*. *Phytochemistry*, v. 22, n. 2, p.531-534. 1983.

OIANO NETO, J. *Estudo Fitoquímico da Toona ciliata: Uma contribuição à quimiosistemática do gênero e a ecologia da interação Hypsipyla-Meliaceae*. 2000. 287f. Tese (Doutorado em Química), São Carlos, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2000.

OLIVEIRA, M.R.V.; SILVA, C.C.A.; NÁVIA, D. *Praga quarentenária 1 a mosca negra dos citros*, *Aleurocanthus woglumi* Ashby (*Hemiptera: Aleyrodidae*). Brasília, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. p.1-7. 1999.

OLIVEIRA, M.R.V.; SILVA, C.C.A.; NÁVIA, D. *Mosca negra dos citros* *Aleurocanthus woglumi*: *Alerta quarentenário*. Brasília, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2001.12p.

ONGE, J.St. Fish-poison use in the Americas <http://www.survival.com/fish.htm> – 02/10/2003.

ORTEGO, O.; LÓPEZ-OLGUÍN, J.; RUÍZ, M.; CASTAÑERA, P. Effects of toxic and deterrent terpenoids on digestive protease and detoxication enzyme activities of Colorado potato beetle larvae. *Pestic. Biochem. Physiol.*, v. 63, p. 76-84. 1999.

PACHECO, I.A.; BOLONHEZI, S.; SARTORI, M.R.; TURATTI, J.M.; PAULA, D.C. de; LOURENÇÃO, A.L. Resistência a bruquídeos, composição em ácidos graxos e qualidade de cozimento das sementes em genótipos de grão-de-bico. *Bragantia.*, v. 53, n. 1, p. 61-74. 1994.

PARRA, J.R.P.; LOPES, J.R.S.; ZUCCHI, R.A.; GUEDES, J.V.C. Biologia de insetos-praga e vetores. In: MATTOS JÚNIOR, D de; NEGRI, J.D de; PIO, R.M.; POMPEU JÚNIOR, J (eds). *Citros*. Campinas: Instituto Agronômico e Fundag. p. 655-687. 2005.

PATEL, P.S.; PATEL, G.M. Biology of de citrus blackfly, *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Homoptera: Aleyrodidae) on kagzi lime. *Pest Management and Economic Zoology*, v. 9, n. 2, p.147-150. 2001.

PENA, M.R. *Biologia da mosca-negra-dos-citros, Aleurocanthus woglumi* Ashby 1915 (Hemiptera: Aleyrodidae em três plantas hospedeiras e uso do fungo *Aschersonia* sp. como agente entomopatogênico. 2007. 97p. Dissertação (Mestrado em Agricultura e Sustentabilidade na Amazônia). Universidade Federal do Amazonas - UFAM, Manaus/AM. 2007.

PENA, M.R. Pragas-Chave dos citros no Estado do Amazonas, Brasil. *I Seminário de Entomologia e Acarologia Agrícola na Amazônia*. Manaus/AM. 2011.

PENA, M.R.; VENDRAMIM, J.D.; LOURENÇÃO, A.L.; SILVA, N.M.; YAMAMOTO P.T.; GONÇALVES, M.S. Ocorrência da mosca-negra-dos-citros, *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Hemiptera: Aleyrodidae) no Estado de São Paulo. *Rev. agric.*, v. 83, p. 61-65. 2008.

PENA, M.R.; SILVA, N.M da.; BENTES, J.L.S.; ALVES, S.B.; BEZERRA, E.J.S.; VENDRAMIM, J.D.; LOURENÇÃO, A. L.; HUMBER, R.A. Inibição do desenvolvimento de *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Hemiptera: Aleyrodidae) por *Aschersonia* cf. *aleyrodis* webber (Deuteromycotina: Hyphomycetes). *Arq. Inst. Biol.*, v. 76, n. 4, p. 619-625. 2009b.

PENA, M.R.; SILVA, N.M. Sugadora negra. In: *Revista Cultivar: Hortaliças e Frutas*. Pelotas/RS Ano VII, nº41. ISSN 1518-3165. p.16-18. 2007.

PENA, M.R.; SILVA, N.M.; VENDRAMIM, J.D.; LOURENÇÃO, A.L.; HADDAD, M.L. Biologia da mosca-negra-dos-citros, *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Hemiptera:

Aleyrodidae) em três Plantas hospedeiras. *Neotrop. entomol.*, Londrina, v. 38, n. 2, p. 254-261. 2009a.

PENNINGTON, T.D. A monograph of Neotropical Meliaceae. *Flora Neotr.*, v. 28, n.1. 1981.

PENNINGTON, T.D.; STYLES, B.T. A generic monograph of the Meliaceae. *Blumea*, Leiden, v. 22, 1975. 419p.

PEREIRA, J.R.; FAMADAS, K.M. Avaliação in vitro da eficiência do extrato da raiz do timbó (*Dahlstedtia pentaphylla*) (Leguminosae, papilionoidae, milletiedae) sobre *Boophilus microplus* (Canestrini, 1987) na região do vale do Paraíba, São Paulo. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v.71, n. 4, p. 443-450. 2004.

PEREZ, G.R. A rotenona e o barbasco na indústria dos inseticidas. *Boletim da Secção de Fomento Agrícola no Estado do Pará*, Belém, v.3, n.2, p.85-91, jul./dez. 1944.

PIERGIOVANNI, A.R.; GATTA, C.D.; NG, Q.N.; SINGH, B.B.; SINGH, S.R.; PERRINO, P. Fatty acid composition and insect resistance in *Vigna unguiculata* seeds. *J. sci. food agric.*, London, v. 52, p.47-53. 1990.

PIMENTEL, F.A.; PEREIRA, J.B.M.; OLIVEIRA, M.N. *Zoneamento e caracterização de habitats naturais de pimenta longa (Piper hispidinervum) no Acre*. Rio Branco: Embrapa CPAF/AC. Boletim de pesquisa 20. 1998. 17p.

PINHEIRO, A. L.; LANI, L.L.; COUTO, L. *Cultura do cedro australiano para produção de madeira serrada*. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2003. 42p.

PINTO, P. G. *Características físico-químicas e outras informações sobre as principais oleaginosas do Brasil* – Boletim Técnico 18, Ministério da Agricultura, Recife/ PE, Brasil. 1963.

PIRES, J.M. Plantas ictiotóxicas – aspectos botânicos. *Ciênc. Cult.*, v. 32, p. 37-41. 1978.

PLETSCH, M.; SANT'ANA, A.E.G. 1995. Secondary compound accumulation in plants-The application of plant biotechnology to plant improvement. *Chemistry of Amazon.*, v. 5, p. 51-64.

POTZERNHEIM, M.C.L.; BIZZO, H.R.; VIEIRA, R.F. Análise dos óleos essenciais de três espécies de *Piper* coletadas na região do Distrito Federal (Cerrado) e comparação

com óleos de plantas procedentes da região de Paraty, RJ (Mata Atlântica). *Rev. bras. farmacogn.*, São Paulo, v.16, p. 246-251. 2006.

PRATES, H.T. *Aplicações de Produtos Naturais na Agricultura*. Sete Lagoas, Embrapa Milho e Sorgo. 2003.

RAMOS, E.Q. *Seleção de isolados de fungos entomopatogênicos para o controle de Bemisia tabaci Biótipo B*. Dissertação (Mestrado em Ciências, área de concentração: Entomologia). USP/ESALQ, Piracicaba/SP. 2001. 57p.

RAO, C. N.; SHIVANKAR, V.J.; SHYAM, S. Relative toxicity of certain bio-rational insecticides to citrus blackfly, psylla and leaf miner. *Indian j. hortic.*, Lucknow, v. 65, n. 1, p. 110-112. 2008.

RELATÓRIO ANUAL INSTITUTO AGRONÔMICO DO NORTE. Belém, 1948.
RIBEIRO, J.E.L.S.; HOPKINS, M.J.G.; VICENTINI, A.; SOTHERS, C.A.; COSTA, M.A.S.; BRITO, J.M.; SOUZA, M.A.D.; MARTINS, L.H.P.; LOHMANN, L.G.; ASSUNÇÃO, P.A.C.L.; PEREIRA, E.C.; SILVA, C.F.; MESQUITA, M.R.; PROCÓPIO, L.C. *Flora da Reserva Ducke: Guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra-firme na Amazônia Central*. Manaus: INPA. 1999. 816 p.

ROARK, R.C. A subida da rotenona. *Boletim da Secção de Fomento Agrícola no Estado do Pará*, Belém, v.3, n.2, p.57-62, jul./dez, 1944.

ROCHA NETO, O.G da.; OLIVEIRA, J.R.; R.C de.; CARVALHO, J.E.U. de; LAMEIRA, O.A.; SOUSA, A.R de.; MARADIAGA, J.B.G. *Principais produtos extrativos da Amazônia e seus coeficientes técnicos*. Brasília: IBAMA/CNPT. 78pp. 1999.

ROCHA, A. I.; GOGHBI, M.G.B. Isoflavonas de uma espécie do gênero *Derris*. *Acta Amazon.*, v. 12, n. 3, p. 615-618. 1982.

RODRÍGUEZ, H.C.; LAGUNES, T.A. Plantas con propiedades inseticidas: resultados de pruebas experimentales en laboratorio, campo y granos almacenados. *Agroproductividad*, Montecillo. v. 1, p. 17-25. 1992.

RODRÍGUEZ, H.C.; VENDRAMIM, J.D. Avaliação da bioatividade de extratos aquosos de Meliaceae sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). *Rev. agric.*, Piracicaba, v. 72, n. 3, p. 305-318, 1997.

RODRÍGUEZ, H.C.; VENDRAMIM, J.D. Avaliação da bioatividade de extratos aquosos de Meliaceae sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). *Rev. agric.*, Piracicaba, v.72, p. 305-318. 1996.

ROEL, A.R.; VENDRAMIM, J.D. Desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) em genótipos de milho tratados com extrato acetato de etila de *Trichilia pallida* (Swartz). *Sci. agric.*, Piracicaba, v. 56, n. 3. 1999.

ROEL, A.R.; VENDRAMIM, J.D. Efeito residual do extrato acetato de etila de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) para lagartas de diferentes idades de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). *Cienc. rural*, Santa Maria, v. 36, n. 4, p.1049-1054. 2006.

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

RONCHI TELES, B.; PENA, M.R.; SILVA, N.M. Observações sobre a ocorrência de mosca-negra-dos-citros, *Aleurocanthus woglumi* Ashby, 1915 (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aleyrodidae) no estado do Amazonas. *Acta Amazon.*, v. 39, n. 1, p. 241– 244. 2009.

SAITO, M.L.; LUCHINI, F. *Substâncias obtidas de plantas e a procura por praguicidas eficientes e seguros ao meio ambiente*. Jaguariúna, Embrapa – CNPMA, Série Documentos, 12, 1998. 46p.

SALLES, L.A.; RECH, N.L.; Efeito de extratos de nim (*Azadiractha indica*) e cinamomo (*Melia azedarach*) sobre *Anastrepha fraterculus* (Wied.) (Diptera: Tephritidae). *Rev. Bras. de Agrociência.*, v. 5, n. 3, p. 225-227. set-dez, 1999.

SAMPAIO, P. de T. B. Andiroba (*Carapa guianensis*). In: CLAY, J. W.; SAMPAIO, P. de T. B.; CLEMENT, C. R. *Biodiversidade Amazônica: exemplos e estratégias de utilização*. Manaus: Programa de Desenvolvimento Empresarial e Tecnológico. 2000, p. 243-251.

SANTOS, A.M.G dos; PINHEIRO, M.L.B.; SILVA, A.S.; LUZ, C.T.; TADEI, W.P.; SOUZA, A.Q.L de. Avaliação da atividade de *Rollinia mucosa* (Annonaceae) contra larvas de *Aedes aegypti*. *61ª Reunião Anual da SBPC*. Manaus/AM. 2009b.

SANTOS, A.M.G dos; PINHEIRO, M.L.B.; SOUZA, A.D.L de; COSTA, E.V.; CAMPOS, F.R.; BARISON, A.; SOUZA, A.Q.L. Alcalóides das folhas de *Rollinia mucosa* (Annonaceae). *Anais da 32ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química*. Fortaleza - CE. 2009a.

SANTOS, A.S.; ALVES, S.M.; FIGUEIREDO, F.J.C.; ROCHA NETO, O.G. *Descrição de sistema e de métodos de extração de óleos essenciais e determinação de umidade de biomassa em laboratório*. Belém: EMBRAPA, CPATU, Comunicado Técnico, 99. 2004. 6 p.

SANTOS, M.R.A. dos.; SILVA, A.G.; LIMA, R.A.; LIMA, D.K.S.; SALLET, L.A.P.; TEIXEIRA, C.A.D.; POLLI, A.R.; FACUNDO, V.A. Atividade inseticida do extrato das folhas de *Piper hispidum* (Piperaceae) sobre a broca-do-café (*Hypothenemus hampei*). *Revista Brasil. Bot.*, v. 33, n. 2, p. 319-324, abr.-jun. 2010.

SCHMUTTERER, H. Potential of azadirachtin-containing pesticides for integrated pest control in developing and industrialized countries. *J. insect physiol.*, London, v. 34, p. 713-719. 1988.

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

SCHMUTTERER, H. *The neem tree Azadirachta indica A. Juss and other meliaceous plants: sources of unique natural products for integrated pest management, medicine, industry and other purposes*. Weinheim: VCH, 1985. 696 p.

SILVA, A.C.P.P da.; OLIVEIRA, M.N de. *Caracterização botânica e química de três espécies do gênero Piper no Acre*. Rio Branco: Embrapa Acre, 2000.13 p.

SILVA, A.de B. Mosca Negra dos citros, *Aleurocanthus woglumi* Ashby, praga potencial para a citricultura brasileira. In: POLTRONIERI, L.S.; TRINDADE, D.R.; SANTOS, I.P (ed.). *Pragas e Doenças de Cultivos Amazônicos*. Belém, PA: Embrapa Amazônia Ocidental. p.147-156. 2005.

SILVA, E.M.J.; MACHADO, S.R. Estrutura e desenvolvimento dos tricomas secretores em folhas de *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. var. *regnellii* (Piperaceae). *Rev Bras Bot.*, v. 22, p. 117-124. 1999.

SILVA, M.A. Avaliação do potencial inseticida de *Azadirachta indica* (Meliaceae) visando ao controle de moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae). 2010. 159f. Dissertação (Mestrado em Ciências; área de concentração: Entomologia). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz ESALQ/ Universidade de São Paulo. Piracicaba/SP. 2010.

SILVA, O.S.; ROMÃO, P.R.; BLAZIUS, R.D.; PROHIRO, J.S. The use of andiroba *Carapa guianensis* as larvicide against *Aedes albopictus*. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, v. 20, p. 456-457. 2004.

SILVA, S.E.L da.; BERNI, R.F.; SOUZA, A.G.C de.; SOUZA, M.G de.; TAVARES, A.M. *Cultivo de citros para o Estado do Amazonas*. Embrapa Amazônia Ocidental. Sistemas de Produção 3. ISSN 1679-8880. 2006.

SILVA, S.E.L da.; SOUZA, A.G.C de. *Produção de Mudanças de Laranja*. Embrapa Amazônia Ocidental. Circular Técnica 14. ISSN 1517-2449. Manaus/AM. 2002.

SILVA, S.E.L da.; SOUZA, A.G.C de.; BERNI, R.F.; SOUZA, M.G de.; CUNHA SOBRINHO, A.P da. *Comportamento de citros no Amazonas*. Embrapa Amazônia Ocidental. Documentos 55. ISSN 1517-3135. Manaus/AM. 2007a.

SILVA, S.E.L da.; SOUZA, A.G.C de.; BERNI, R.F.; SOUZA, M.G de.; CUNHA SOBRINHO, A.P da. *Lima ácida "Tahiti": Uma opção para a citricultura do Amazonas*. Embrapa Amazônia Ocidental. Comunicado Técnico 53. ISSN 1517-3887. Manaus/Am. 2007b.

SILVA, S.X de B.; SOARES, A.C.F.; MAIA, W.J.M.S.; LOBO, C.G.B.; RODRIGUES, D.; FRÓIS, R.J. Mosca-negra-dos-citros (*Aleurocanthus woglumi* Ashby) na Bahia: detecção e medidas de controle. *Reunião Regional da SBPC*. Recôncavo da Bahia. 2010.

SILVA, W.C.; PINHEIRO, C.C de SOUZA.; RODRIGUES, J.M.G.; SOUZA, H.E.M de.; RIBEIRO, J.D'ARC. Avaliação do efeito tóxico de extratos de *Palicourea marcgravii* St. Hil. (Rubiaceae) sobre *Aetalion* sp. (Hemiptera: Aetalionidae) em laboratório. *R. bras. Bioci.*, Porto Alegre, v. 7, n. 2, p. 129-133, abr./jun. 2009.

SILVA, W.C.; RIBEIRO, J.D.; SOUZA, H.E.M.; CORRÊA, R.S. Atividade inseticida de *Piper aduncum* L. (Piperaceae) sobre *Aetalion* sp. (Hemiptera: Aetalionidae), praga de importância econômica no Amazonas. *Acta Amazon.*, Manaus, v. 37, n. 2. 2007c.

SIMÃO, S. *Tratado de fruticultura*. Piracicaba: FEALQ, 1998. 762 p.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. *Farmacognosia, da planta ao medicamento*. Porto Alegre: editora UFRGS, 2007. 1104 p.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; PETROVICK, P.R. Desenvolvimento de medicamento. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. (org). *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC p. 300-315. 2003.

SMITH, H.D.; MALTBY, H.L.; JIMENEZ, E.J. Biological control of the citrus blackfly in Mexico. USDA-ARS, *Technical Bulletin* No. 1311:1-30. 1964.

SONDENGAM, B.L.; KAMGA, C.S.; KIMBU, S. F.; CONNOLLY, J. D. Proceranone, a new tetranortriterpenoid from *Carapa procera*. *Phytochemistry*, v. 20, n. 1, p. 173-17. 1981.

SOUZA, A.P.; VENDRAMIM, J.D. Atividade inseticida de extratos aquosos de meliáceas sobre a mosca-branca *Bemisia Tabaci* (Gennadius) biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae). *Neotrop. entomol.*, Londrina, v. 30, p. 133-137. 2001.

SOUZA, A.P.; VENDRAMIM, J.D. Atividade ovicida de extratos aquosos de meliáceas sobre a mosca-branca *Bemisia tabaci* (Gennadius) biótipo B em tomateiro. *Sci. Agric.*, Piracicaba, v. 57, n. 3, p. 403-406. 2000b.

SOUZA, A.P.; VENDRAMIM, J.D. Bioatividade de extratos orgânicos e aquosos de meliáceas sobre *Bemisia tabaci* (Genn.) biótipo B em tomateiro. *Arq. Inst. Biol.*, Campo Grande, v. 71, n. 4, p. 493-497. 2004.

SOUZA, A.P.; VENDRAMIM, J.D. Efeito de extratos aquosos de meliáceas sobre *Bemisia tabaci* biótipo B em tomateiro. *Bragantia*, Campinas, v. 59, n. 2, p. 173-179. 2000a.

SOUZA, A.P.; VENDRAMIM, J.D. Efeito translaminar, sistêmico e de contato de extrato aquoso de sementes de nim sobre *Bemisia tabaci* (Genn.) biotipo B em tomateiro. *Neotrop. entomol.*, Londrina, v. 34, n. 1, p. 83-87. 2005.

SOUZA, H.B de.; AZEVEDO, H.M. Nova possibilidade de emprego do timbó como inseticida. *Norte Agrônômico*, Belém, v.2, n.2, p.42-44, dez. 1955.

SRIVASTAVA, S.K.; GUPTA, H.O. New limonoids from the roots of *Melia azedarach* Linn. *Indian j. chem.*, v. 24B, p.166-170. 1985.

SUNDARAM, K.M.S. Azadirachtin biopesticide: A review of studies conducted on its analytical chemistry, environmental behaviour and biological effects. *J. environ. sci. health, Part B, Pestic. food contam. agric. wastes.*, New York, v. 31, n. 4, p. 913-948, 1996.

TAKEYA, K.; QIAO, Z.; HIROBE, C.; ITOKAWA, H. Cytotoxic trichilin-type timonoids from *Melia azedarach*. *Bioorg. med. chem.*, Oxford, v.4, n.8, p.1355-1359, 1996.

TAVARES, M.A.G.C. *Busca de compostos em Chenopodium spp. (Chenopodiaceae) com bioatividade em relação a pragas de grãos armazenados*. 2006. 111f. Tese (Doutorado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

TAVARES, M.A.G.C.; GUZZO, E.C.; ROCHA, W.C.; VENDRAMIM, J.D.; VIEIRA, P.C. Potencial inseticida de ácidos graxos em relação ao gorgulho-do-milho *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). *Congresso Brasileiro de Entomologia*, Gramado, 2004.

TAYLOR, D.A.H., the Chemistry of the limonoids from Meliaceae. *Fort. Chem. Org. Naturst.*, v. 45, p.1-102. 1984.

THOMAZINI, A.P.B.W.; VENDRAMIM, J.D.; LOPES, M.T.R. Extratos aquosos de *Trichilia pallida* e a traça-do-tomateiro. *Sci. Agric.*, Piracicaba, v. 57, p. 13-17. 2000.

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

TOZZI, A.M.G de A. A identidade do timbó verdadeiro: *Deguelia utilis* (A.C.Sm.) A.M.G Azevedo (leguminosae: Papilionoideae). *Rev. Brasil. Biol.*, v. 58, n. 3, p. 511-516. 1998.

TOZZI, A.M.G de A. Derris in *Lista de Espécies da Flora do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Acesso em 11/02/2012. Disponível em (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB022928>). 2010.

TOZZI, A.M.G de A. Estudos taxonômicos dos gêneros *Lonchocarpus* Kunth e *Deguelia* Aubl. no Brasil. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 1989.

TURNER, C.J.; TEMPESTA, M.S.; TAYLOR, R.B.; ZAGORSKI, M.G.; TERMINI, J.S.; SCHROEDER, D.R.; NAKANISHI, K. An NMR spectroscopic study of azadirachtin and its trimethyl ether. *Tetrahedron*, Oxford, v. 43, n. 12, p. 2789- 2803. 1987.

VAN DEN BERG, M. E. Piperaceae. In: Van Den Berg, M. E. *Plantas medicinais na Amazônia - contribuição ao seu conhecimento sistemático*. Belém, PR/ MCT/CNPq, p. 55-66. 1993.

VEITCH, G.E.; BECKMANN, E.; BURKE, B.J.; BOYER, A.; MASLEN, S.L.; LEY, S.V. Synthesis of azadirachtin: A long but successful journey. *Angew. chem. angew. chem. int. ed. engl. Suppl.*, Weinheim, v. 46, n. 40, p. 7629-7632. 2007.

VEITCH, G.E.; BOYER, A.; LEY, S.V. The azadirachtin story. *Angew. chem. angew. chem. int. ed. engl. Suppl.*, Weinheim, v. 47, n. 49, p. 9402-9429. 2008.

VENDRAMIM, J.D. *Uso de plantas inseticidas no controle de pragas*. In: Ciclo de Palestras sobre agricultura orgânica, 2., 1997, São Paulo. Palestras....Campinas: Fundação Cargil, 1997. p. 64-69.

VÉRAS, S.M.; YUYAMA, K. Controle da vassoura-de-bruxa do cupuaçuzeiro por meio de extrato de *Piper aduncum* L. In: *Congresso Brasileiro de Defensivos Agrícolas Naturais*. Resumos. Fortaleza, Brasil, 2000. 32p.

VIEGAS JÚNIOR, C.J. Terpenos com atividade inseticida: Uma alternativa para o controle químico de insetos. *Quim. nova*, São Paulo, v. 3, n. 26, p. 390-400. 2003.

VIEIRA, P.C.; MAFEZOLI, J.; BIAVATTI, M.W. Inseticidas de origem vegetal. In: CORRÊA, A.G.; VIEIRA, P.C.(orgs). *Produtos naturais no controle de insetos*. 2ed. São Carlos: UFSCAR. p. 69-104. 2007.

WADT, L.H de O. *Estrutura genética de populações naturais de pimenta longa (Piper hispidinervum C. DC.)*, visando seu uso e conservação. 2001. 95f. Tese Doutorado. Piracicaba: ESALQ. 2001.

WAGNER, H.; BLADT, S. *Plant Drug Analysis: A thin layer chromatography Atlas*. 2^a ed. 2009. 384p.

WATERMAN, P.G. Phytochemical diversity in the order Rutales. In: DOWNUM, K.; ROMEO, J.T.; STAFFORD, H. (Ed.). *Phytochemical potential of tropical plants*. New York: Plenum, p. 203-233. 1993.

WEEMS, H.V. *Citrus blackfly*, *Aleurocanthus woglumi* Ashby. Fla. Dept. of Agri, Div. of Plant Industry. Entomology Circular n° 9. 1962.

XIE, Y.S.; ISMAN, M.B.; GUNNING, P.; MACKINNON, S.; ARNASON, J.T.; TAYLOR, D.R.; SÁNCHEZ, P.; HASBUN, C.; TOWERS, G.H.N. Biological activity of extracts of *Trichilia* species and the limonoid hirtin against lepidopteran larvae. *Biochem. Syst. Ecol.*, v. 22, n. 2, p.129-136. 1994.

YAMASAKI, B.R.; RITLAND, T.G.; BARNBY, M.A.; KLOCKE, J.A. Isolation and purification of salannin from neem seeds and its quantification in neem and chinaberry seeds and leaves. *J. chromatogr.*, v. 447, p.17-283. 1988.

YANG, M.; CHEN, Y.; LIU, J.; MA, J.; HUAI, L.. Determination of Trace Rotenone by UV-Vis Spectrophotometry Using Molecularly Imprinted Polymer Microspheres. *Journal of Analytical Chemistry*, v. 66, n. 9, p. 820-823. 2011.

YUNCKER, T.G. The Piperaceae of Brazil II - Piper – group V Ottonia, Pothomorphe, Sarcorrhachis. *Hoehnea* 3: 29-284. 1973.

YUNCKER, T.G. The Piperaceae of Brazil I - Piper - group I, II, III, IV. *Hoehnea* 2: 19-366. 1972.

ZANNO, P.R.; MIURA, I.; NAKANISHI, K.; ELDER, D.L. Structure of the insect phagorepellent azadirachtin. Application of PRFT/CWD Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance. *J. Am. Chem. Soc.*, Easton, v. 97, n. 7, p. 1975-1977. 1975.

ZUANAZZI, J.A da S. Flavonóides. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R (EDS). *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. Porto Alegre/Florianópolis. Ed. Universidade/UFRGS. 1999. 821p.

ZUBAIRI, S.I.; SARMIDI, M.R.; AZIZ, R.A.; LATIP, R.; SAID. J. The effect of rotenone crude extract from *Derris elliptica* on the larvicidal activity (mortality) of mosquito. *Simposium Biologi Kebangsaan*. Awana Genting Highlands Resort: Pahang. 2004.