

BIOATIVIDADE DE ÓLEOS ESSENCIAIS DO GÊNERO *Syzygium*, *Citrus* e *Mentha* SOBRE
Plutella xylostella (LINNAEUS, 1758) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) RESISTENTES AO
INGREDIENTE ATIVO CLORANTRANILIPROLE

por

JONHOSSON GUILHERME FERREIRA LIMA

(Sob Orientação do Professor Cláudio Augusto Gomes da Câmara)

RESUMO

A traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella*, é considerada o principal fator limitante do cultivo de couve em áreas tropicais do mundo, devido à alta capacidade reprodutiva e ao rápido ciclo de vida. No entanto, o uso indiscriminado de inseticidas tem gerado diversos problemas: sociais, ecológicos e ambientais, sendo necessário a busca por processos menos agressivos ao homem e à natureza de forma geral. Deste modo novas medidas alternativas de controle sejam adotadas, como é o caso do uso de inseticidas botânicos em forma de extrato ou óleos essenciais. Esta tese tem como objetivo estudar o potencial inseticida de doses subletais de óleos essenciais de espécies pertencentes às famílias Myrtaceae, Rutaceae e Lamiaceae, para serem usados no controle de *P. xylostella*, assim como identificar quais as principais interferências na biologia e comportamento do inseto induzidas por esses óleos. A atividade inseticida foi avaliada através da aplicação de concentrações subletais de óleos essenciais de *Citrus limon*, *Citrus aurantium*, *Mentha spicata* e *Syzygium aromaticum*, por meio de bioensaios de toxicidade larval, tabela de vida de fertilidade e testes comportamentais. Os resultados demonstraram que os óleos essenciais apresentaram atividade larvicida para as populações suscetível e resistentes a clorantraniliprole. A maior CL₅₀ larvicida observada entre as populações foram dos óleos de *S. aromaticum* e *M.*

spicata. Todos os óleos apresentaram diferentes percentuais de Inibição Alimentar, exceto *S. aromaticum*. Os *Citrus* apresentaram redução na potencialidade da IA sobre larvas resistentes. A tabela de vida de fertilidade de *P. xylostella* demonstra que a população resistente apresentou um desempenho menor para a taxa líquida de aumento populacional (R_0). As duas populações apresentam valores distintos em todos os parâmetros da tabela de vida de fertilidade e com isso podemos afirmar que por resistente ser considerada resistente, apresenta menor desempenho populacional, com valores abaixo da susceptível, exceto em tempo geracional (T).

PALAVRAS-CHAVE: Toxicidade, larvas, biologia, inibição alimentar

BIOACTIVITY OF ESSENTIAL OILS OF THE GENUS *Syzygium*, *Citrus* and *Mentha* ON
Plutella xylostella (LINNAEUS, 1758) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) RESISTANT TO
THE ACTIVE INGREDIENT CHLORANTRANILIPROLE

por

JONHOSSON GUILHERME FERREIRA LIMA

(Sob Orientação do Professor Cláudio Augusto Gomes da Câmara)

ABSTRACT

The diamondback moth *Plutella xylostella* is considered the main limiting factor for cabbage cultivation in tropical areas of the world, due to its high reproductive capacity and fast life cycle. However the indiscriminate use of insecticides has generated several problems: social, ecological and environmental requiring the search for processes that are less aggressive to man and nature in general. Thus new alternative control measures are adopted such as the use of botanical insecticides in the form of extracts or essential oils. This thesis aims to study the insecticidal potential of sublethal doses of essential oils from species belonging to the families Myrtaceae, Rutaceae and Lamiaceae to be used in the control of *P. xylostella* as well as to identify the main interferences in the biology and behavior of the insect induced for these oils. The insecticidal activity was evaluated through the application of sublethal concentrations of essential oils of *Citrus limon*, *Citrus aurantium*, *Mentha spicata* and *Syzygium aromaticum*, through bioassays of larval toxicity, fertility life table and behavioral tests. The results demonstrated that the essential oils showed larvicidal activity for susceptible and resistant populations to chlorantraniliprole. The highest larvicidal LC₅₀ observed among the populations were for the oils of *S. aromaticum* and *M. spicata*. All oils showed different percentages of Food Inhibition, except for *S. aromaticum*.

Citrus showed a reduction in the potential of alimentar inhibition on resistant larvae. The *P. xylostella* fertility life table demonstrates that the resistant population performed less for the net rate of population increase (R_0). The two populations have different values in all parameters of the fertility life table and, therefore, we can say that because resistant is considered resistant it has a lower population performance with values below the susceptible except in generational time (T).

KEY WORDS: Toxicity, larvae, biology, food inhibition

BIOATIVIDADE DE ÓLEOS ESSENCIAIS DO GÊNERO *Syzygium*, *Citrus* e *Mentha* SOBRE
Plutella xylostella (LINNAEUS, 1758) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) RESISTENTES AO
INGREDIENTE ATIVO CLORANTRANILIPROLE

por

JONHOSSON GUILHERME FERREIRA LIMA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia, da Universidade Federal Rural
de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Doutor em Entomologia.

RECIFE - PE

Fevereiro – 2023

BIOATIVIDADE DE ÓLEOS ESSENCIAIS DO GÊNERO *Syzygium*, *Citrus* e *Mentha* SOBRE
Plutella xylostella (LINNAEUS, 1758) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) RESISTENTES AO
INGREDIENTE ATIVO CLORANTRANILIPROLE

por

JONHOSSON GUILHERME FERREIRA LIMA

Comitê de Orientação:

Cláudio Augusto Gomes da Câmara – UFRPE

João Paulo Ramos de Melo – PDJ-CNPq-UFRPE

BIOATIVIDADE DE ÓLEOS ESSENCIAIS DO GÊNERO *Syzygium*, *Citrus* e *Mentha* SOBRE
Plutella xylostella (LINNAEUS, 1758) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) RESISTENTES AO
INGREDIENTE ATIVO CLORANTRANILIPROLE

por

JONHOSSON GUILHERME FERREIRA LIMA

Banca Examinadora:

Cláudio Augusto Gomes da Câmara – UFRPE

Wendel José Teles Pontes – UFPE

Mauricéa Fidelis Santana – SME/Ipojuca

Carolina Alves de Araújo – SEEPE

Marcílio Martins de Moraes – UFRPE

Jonhosson Guilherme F. Lima
Doutor em Entomologia

Prof. Cláudio Augusto Gomes da
Câmara – UFRPE
Orientador

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- L732b Lima, Jonhosson Guilherme Ferreira
 BIOATIVIDADE DE ÓLEOS ESSENCIAIS DO GÊNERO *Syzygium*, *Citrus* e *Mentha* SOBRE *Plutella xylostella* (LINNAEUS, 1758) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) RESISTENTES AO INGREDIENTE ATIVO CLORANTRANILIPROLE / Jonhosson Guilherme Ferreira Lima. - 2023.
 51 f.
- Orientador: Claudio Augusto Gomes da Camara.
 Coorientador: Joao Paulo Ramos de Melo.
 Inclui referências.
- Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, Recife, 2023.
1. Toxicidade. 2. larvas. 3. biologia. 4. inibição alimentar. I. Camara, Claudio Augusto Gomes da, orient. II. Melo, Joao Paulo Ramos de, coorient. III. Título

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal Rural de Pernambuco pela oportunidade de realizar uma pós-graduação na área de Entomologia. À Capes pela concessão da bolsa que garantiu recursos durante essa jornada.

Ao meu comitê de orientação, pois sem eles nada teria caminhado, em especial a João Paulo meu coorientador, que me ajudou na revisão e escrita desta tese.

À Vaneska Barbosa por todo os puxões de orelha, dicas de como prosseguir e fazer tudo dar certo.

À Gibson Felix por todo apoio que pudesse me proporcionar, sempre do meu lado, sem você nada disso teria acontecido.

À Vinicius Faran por várias vezes que me ajudou a montar experimentos, lacrando as placas e me fazendo companhia nesta reta final.

À grande amiga do programa Mariana Lima, por compartilhar dos perrengues e me confortar por saber que eu não estava só nessa.

À minha mãe por ser o principal motivo de toda luta e insistência, para que eu pudesse alcançar meus objetivos.

SUMÁRIO

	Página
AGRADECIMENTOS	vi
CAPÍTULOS	
1 INTRODUÇÃO	1
LITERATURA CITADA.....	7
2 ATIVIDADE INSETICIDA E INIBIÇÃO ALIMENTAR DE ÓLEOS ESSENCIAIS DO GÊNERO <i>Syzygium</i> , <i>Citrus</i> e <i>Mentha</i> SOBRE <i>Plutella xylostella</i> (LINNAEUS, 1758) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) RESISTENTES AO INGREDIENTE ATIVO CLORANTRANILIPROLE	14
RESUMO	15
ABSTRACT	16
INTRODUÇÃO	17
MATERIAL E MÉTODOS	18
RESULTADOS.....	22
DISCUSSÃO.....	24
AGRADECIMENTOS.....	27
LITERATURA CITADA.....	27
3 BIOLOGIA DE <i>Plutella xylostella</i> (LINNAEUS, 1758) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) EXPOSTAS A CONCENTRAÇÕES SUBLETAIS DE ÓLEOS ESSENCIAIS DO GÊNERO <i>Citrus</i> e <i>Mentha</i>	33
RESUMO	34

ABSTRACT	35
INTRODUÇÃO	36
MATERIAL E MÉTODOS	37
RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
AGRADECIMENTOS.....	47
LITERATURA CITADA.....	47
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	51

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

A couve-manteiga (*Brassica oleracea* var. *acephala*) é uma planta pertencente à família Brassicaceae. Sendo um dos maiores grupos apresentando mais de 3709 espécies aceitas e compreende de 340-360 gêneros distribuídos em todo o mundo (Warwick & Al-Shehbaz 2006, Sharma *et al.* 2014). A couve-manteiga dentre as espécies cultivadas é a que mais se aproxima da couve silvestre, sem produção de cabeça e suas folhas possuem limbo bem desenvolvido e nervuras bastante destacadas (Novo *et al.* 2010, Shingo & Ventura 2009). A espécie é nativa do mediterrâneo e sudoeste da Europa (Ferrerres *et al.* 2005).

No Brasil, o seu consumo tem se potencializado gradativamente devido às novas maneiras de utilização do produto na culinária e às suas propriedades nutracêuticas. As folhas de couve manteiga, quando comparadas à outras hortaliças folhosas, se destacam pela maior quantidade de proteínas, carboidratos, fibras, cálcio e vitamina A e vitamina C (Matos *et al.* 2020). A produção brasileira atingiu 161.986 toneladas em 2017, a região Sudeste é uma das maiores produtoras dessa hortaliça, liderado pelo Estado de São Paulo (IBGE 2017).

O cultivo da Couve manteiga muitas vezes apresenta perdas significativas que afetam a qualidade e a produtividade dessa hortaliça que podem ocorrer por diversos fatores, sendo o ataque de insetos-praga um dos mais danosos (Costa *et al.* 2014, Holtz 2015). Entre as principais pragas podemos destacar a traça-das-crucíferas (*Plutella xylostella*), os pulgões (*Brevicoryne brassicae*), o curuquerê-da-couve (*Ascia monuste orseis*) e a lagarta-rosca (*Agrotis ipsilon*) (Cardoso 2010, Van Endem 2013).

A traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (Linnaeus 1758) (Lepidoptera: Plutellidae), é nativa do sul Europeu e acredita-se que sua origem tenha sido da região do Mediterrâneo (Ahmad, 2005).

Quanto a sua biologia *P. xylostella* apresenta quatro estágios no seu ciclo de vida: Ovo, larva, pupa e adulto. A duração de todo seu ciclo de vida é curta e dependente da temperatura, com duração de 15 a 20 dias (Veiga *et al.* 2010).

Os adultos de *P. xylostella* apresentam cerca de 9mm de comprimento e coloração castanho acizentada (Hermansson 2016). Quanto ao dimorfismo sexual, os machos apresentam a margem posterior das asas mesotorácicas brancas e quando estas estão em repouso formam uma mancha alongada sobre o dorso do inseto (Gallo *et al.* 2002).

Os ovos são pequenos, redondos e de coloração esverdeada, são postos pelas fêmeas na porção abaxial das folhas, isoladamente ou em grupos de 2 ou 3. As larvas eclodem 3 ou 4 dias após a postura dos ovos, se alimentando do parênquima foliar, durante o período de 2 a 3 dias, estando protegidas dentro de galerias formadas pela alimentação. Posteriormente, no segundo e terceiro instar, abandonam as galerias e passam a alimentar-se da epiderme na área interior das folhas, no quarto instar, consomem totalmente o limbo das folhas (Vacari 2009). As lagartas são de coloração verde-clara, com a cabeça parda, com a presença de pelos escuros e esparsos pelo corpo (Gallo *et al.* 2002). Na fase de pré-pupa, as lagartas tecem um casulo formado por pequenas malhas, aderidos à parte inferior das folhas, após 4 dias emerge o adulto (Gallo *et al.* 2002). As pupas são de coloração verde inicialmente e com o passar do tempo vão se tornando marrons quando se aproxima do período de emergência do adulto (Castelo Branco *et al.* 1997).

P.xylostella é considerada o principal fator limitante do cultivo de couve em áreas tropicais do mundo, devido à alta capacidade reprodutiva e ao rápido ciclo de vida, resultando num elevado número de gerações ao ano, até 15 gerações por ano (Carvalho *et al.* 2010).

Dentre os métodos de manejo de *P. xylostella* estão a rotação de cultura, armadilhas luminosas, reguladores de crescimento de insetos, inimigos naturais, cultivares resistentes, feromônios e o uso de inseticidas (Castelo Branco & Medeiros 2001). No entanto, o uso indiscriminado de inseticidas tem gerado diversos problemas sociais, ambientais e econômicos, como podemos destacar desequilíbrios ecológicos, poluição de corpos d'água, eliminação de inimigos naturais, surgimento de novas pragas e resistência (Villas Boas *et al.* 1990).

Os gastos estimados necessários para controle desta praga no mundo atingem cerca de 1 bilhão de dólares ao ano (Imran 2018, IRAC 2023). Desta forma a busca pelo desenvolvimento de métodos alternativos de controle como a utilização de inseticidas naturais faz-se necessários, pois aumenta a produtividade do cultivo e reduz os impactos ambientais, sociais e econômicos causados pela maioria dos produtos sintéticos utilizados no mercado (Santana *et al.* 2019).

P. xylostella foi o primeiro inseto a desenvolver resistência ao DDT, e posteriormente mostrou-se resistente a mais de 80 ingredientes ativos em todo o mundo (IRAC 2023). Atualmente, esta praga apresenta resistência a quase todos os grupos de inseticidas utilizados, incluindo o clorantraniliprole, ingrediente ativo da classe química das diamidas antranílicas (Wang & Wu, 2012). Além disso, é considerado como o primeiro inseto a apresentar resistência a toxinas da bactéria *Bacillus thuringiensis* Berliner no campo (Zago *et al.* 2014).

Sendo assim, por conta dos problemas ocasionados pelo uso de inseticidas, tem se buscado processos menos agressivos ao homem e à natureza de forma geral. Sendo assim, é preciso que medidas alternativas de controle sejam adotadas, como é o caso do uso de inseticidas botânicos em a base de óleos essenciais (Leonardi & Bernardo 2020).

Os óleos essenciais (OEs) são substâncias complexas, líquidas, voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas e produzidas pelo metabolismo secundário das plantas (Mugao *et al.* 2020). OEs possuem substâncias bioativas que podem ser tóxicas, repelentes, atuar no comportamento e

alterar a morfologia dos insetos, outro ponto positivo é que estas substâncias apresentam baixa toxicidade para os mamíferos e diminuem o risco de resistência (Charleston *et al.* 2005, Figueiredo *et al.* 2008, Simões & Spitzer 2010, Kumrungsee *et al.* 2014).

Quando falamos da complexidade dos óleos levamos em consideração de que eles podem chegar a ultrapassar 300 componentes químicos diferentes. Tal diversidade e complexidade fazem do óleo essencial puro um produto altamente valorizado (Wolffenbüttel, 2007).

Óleos essenciais representam apenas uma fração da composição de uma planta, pois são extraídos de diferentes partes como folhas, caules, cascas, flor, sementes e raízes, mesmo assim estas substâncias conferem propriedades características e estas plantas são muito utilizadas em produtos farmacêuticos, alimentícios e indústrias de perfume (Boulos 1993, Thomas *et al.* 2000, Pal 2013). Esses derivados botânicos possuem uma composição complexa e variável, apresentando numerosos constituintes, em especial os hidrocarbonetos e os compostos oxigenados (Dhifi *et al.* 2016, Stratakos 2016). Seu aroma é o resultado da combinação dos aromas de cada um destes compostos. Normalmente, em uma mistura, um dos compostos apresenta maior concentração, outros compostos apresentam menores teores e alguns em quantidades muito pequenas, chamados traços (Filippis 2001, Burt 2004). Os componentes de traço também são importantes, pois dão ao óleo um odor característico e natural, fato que exige um método de extração que garanta a proporção natural dos componentes (Stratakos 2016). O conteúdo do óleo essencial nas plantas pode variar consideravelmente de espécie para espécie, parâmetros climáticos e fatores agronômicos como fertilização, irrigação, colheita e especialmente a fase de desenvolvimento da planta na data da colheita. Existem variadas plantas, que diferem na sua aparência e diversidade, tanto qualitativa como quantitativa, e isto geralmente manifesta-se em diferentes composições químicas do óleo essencial obtido (Kerrola *et al.* 1994, Dhifi *et al.* 2016).

Para extração dos OEs pode ser utilizada toda a planta ou somente parte dela, como raízes, folhas, cascas, caules, flores, frutos e sementes. O que vai diferenciar é que algumas partes da planta apresentam maior quantidade de produto com relação às outras partes (Fornari *et al.* 2012). Quanto a metodologia utilizada pode ser arraste por vapor d'água, extração com solventes voláteis, prensagem a frio e CO₂ supercrítico (Stratakos 2016).

Dentre os diversos óleos essenciais utilizados podemos destacar as plantas das famílias Rutaceae, Myrtaceae e Lamiaceae que são representadas por algumas das espécies botânicas pioneiras na utilização como inseticida (Jacobson 1989, Yuncker 1972).

Espécies do gênero *Citrus* (Rutaceae), por exemplo, é utilizado para consumo ao natural e produção de suco, além da extração de óleos essenciais (Pires & Piccoli 2012, Grassi Filho *et al.* 2005). O Brasil é um dos principais produtores de cítricos no mundo (Abecitrus 2021, Vidal 2022). Os óleos essenciais de cascas de *Citrus* são ricas fontes de compostos bioativos como cumarina, flavonoides, carotenoides e terpenos, como é o caso do linalol (Mondello *et al.* 2005). O limoneno é o principal componente encontrado (Gomes *et al.* 2014, Fouad & Da Camara 2017, Ribeiro *et al.* 2020).

Syzygium aromaticum (L.) Merr. & L.M.Perry (Myrtaceae), Cravo-da-Índia, foi bastante utilizada durante séculos na conservação de alimentos e para muitos fins medicinais (Córtes-Rojas *et al.* 2014). O principal componente químico é o Eugenol, apresentando diversos usos como anti-inflamatório, cicatrizante, analgésico e é eficaz no combate e diminuição de bactérias presentes na boca humana (Silvestri *et al.* 2010, Khalilzadeh *et al.* 2016). Também foram realizados alguns estudos sobre o efeito inseticida do óleo essencial de cravo-da-índia (Chaieb *et al.* 2007).

A menta, *Mentha spicata* Linnaeus (Lamiaceae), possui inúmeras variedades cultivadas. A sua biossíntese de óleos essenciais ocorre especificamente nos tricomas glandulares peltados, distribuídos ao longo da superfície foliar (Deschamps *et al.* 2008). Dentre seus constituintes estão

em maior quantidade a carvona e o limoneno, em menor quantidade podemos encontrar a mentona, o mentol, acetato de mentilo e cineol (Cunha 2007). Esta planta é bastante usada como flavorizantes e seu óleo essencial é usado como aromatizante pelas indústrias farmacêuticas em fragrâncias, na medicina e como condimento alimentar (Martins 2002).

Os inseticidas naturais, provenientes de óleos essenciais, apresentam diversos efeitos, suas substâncias bioativas podem ser tóxicas, repelentes, atuar no comportamento e induzir alterações morfológicas nos diferentes estágios de desenvolvimento de insetos (Moraes & Marinho-Prado 2016). Muitos trabalhos são sobre morfologia do trato digestivo e suas alterações (Barreto *et al.* 2006), outros apenas citam que há alteração morfológica (Cosme *et al.* 2007, Breda *et al.* 2011, Pinto *et al.* 2015), outros citam que há mudança na proporção, mas não discutem como que estas alterações estão diretas ou indiretamente ligadas ao controle de pragas (Grzybowski *et al.* 2013).

Com relação às alterações biológicas em *P. xylostella* o trabalho traz a aplicação e execução de um método que resulte no controle da praga, através de doses menores (subletais), mas que sejam tão eficientes quanto a dose letal do produto, assim reduz a quantidade necessária para aplicar em campo e com isso um melhor aproveitamento do lucro ao final do cultivo. Trabalhos acerca das alterações biológicas induzidas por doses subletais de inseticidas naturais sobre *P. xylostella* trazem uma alternativa para controle e manejo, utilizando doses menores que possam garantir o efeito controlador populacional, o que torna este trabalho relevante devido ao caráter que a ele suporta. Existem trabalhos acerca de alterações biológicas das espécies:

Drosophila suzukii com aplicação de óleo de *Baccharis* spp (carqueja), os autores relataram alteração a nível histológico, e mudanças na biologia de larvas, pupas e adultos; como o inchaço de células do epitélio, escurecimento dos filamentos respiratórios, deformidade nas pernas, cutícula, pronoto, asas e abdome, as diversas mudanças resultaram no desenvolvimento incompleto (Souza *et al.* 2021)

Culex quinquefasciatus quando submetidos a aplicação de óleo de *Cymbopogon citratus*, os autores relatam mudanças na morfologia de larvas, pupas e adultos, a longo prazo após aplicação em larvas impedindo a emergência de novos adultos (Khater 2013);

Spodoptera frugiperda quando alimentadas com dieta artificial tratada com óleo de *Cymbopogon flexuosus*, os autores relatam efeitos subletais na biologia das larvas (Oliveira *et al.* 2018).

Com relação a praga em questão, *Plutella xylostella*, com base no levantamento de pesquisa, existem trabalhos de efeitos subletais com produtos sintéticos como: o Indoxacarb (Wang *et al.* 2011), Spinosad (Yin *et al.* 2008; Yin *et al.* 2016), Fenoxycarb (Mahmoudvand & Moharramipour 2015), a Cantharidina, um produto biológico extraído de besouros (Huang *et al.* 2015) e apenas um com aplicação de extrato de plantas, extraído do Neem (Mondédji 2015). A maioria dos trabalhos que relacionam os termos “*Plutella xylostella*” e “oil essential” trazem uma abordagem quanto a mortalidade e sempre relatam sobre os efeitos letais.

Desta forma esta tese tem como objetivo estudar o potencial inseticida dos óleos essenciais de espécies pertencentes aos gêneros *Syzygium*, *Citrus* e *Mentha* sobre a praga *P. xylostella*, com ênfase na análise da biologia e comportamento do inseto induzidas por esses óleos.

Literatura Citada

Abecitrus. 2021. Associação Brasileira dos exportadores de cítricos. Disponível em: <www.abecitrus.com.br>. Acessado em: 16 set. 2021.

Ahmad, Mahmood. 2005. Diamondback moth, *Plutella xylostella*: a review of its biology, ecology and control. Journal of agricultural research. 43. 361-382.

Barreto C.F., G.M. Cavasin, H.H.G. Silva & I.G. Silva. 2006. Estudos das alterações morfohistológicas em larvas de *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) submetidas ao extrato bruto etanólico de *Sapindus saponaria* Lin (Sapindaceae). Rev Patol Trop 35: 37-57.

- Boulos L. 1993.** In medicinal plants of North Africa. 218 St. Clair River Drive, Box 344, Algonac, Michigan 48001: Reference publications, Inc. p. 286.
- Burt, S. 2004.** Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods. Int. J. Food Microbiol. 94, 223–253.
- Breda, M.O., J.V. Marques, E.J. Ferreira, R. Gonçalves & M.S. Fidelis. 2011.** Inseticidas botânicos aplicados sobre *Aphis gossypii* e seu predador *Cycloneda sanguinea* em algodão-colorido. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 46(11), 1424-1431.
- Cardoso, M.O., A.M.S.R. Pamplona & M.M. Filho. 2010.** Recomendações técnicas para o controle de lepidópteros-praga em couve e repolho no Amazonas. Manaus: Embrapa. (Circular Técnica, 35).
- Carvalho, J. Da S., S.A. de Bortoli, R.T. Thuler, R.M. Goulart & H.L.X. Volpe. 2010.** Efeito de sinigrina aplicada em folhas de brássicas sobre características biológicas de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). *Acta Scientiarum Agronomy*, v.32, n.1, p.15-20.
- Castelo Branco, M. & G.L. Villas Boas. 1997.** Traça-das-crucíferas *Plutella xylostella* – Artrópodes de importância econômica. Comunicado Técnico da Embrapa Hortaliças INSS 1414-9850.
- Castelo Branco M & M.A. Medeiros. 2001.** Impacto de inseticidas sobre o parasitóide da traça-das-crucíferas em repolho, no Distrito Federal. *Pesq Agropec Bras* 36: 7-13.
- Chaieb, K., H. Hajlaoui, T. Zmantar, A.B. Kahla-Nakbi, M. Rouabhia, K. Mahdouani & A. Bakhrouf. 2007.** The chemical composition and biological activity of clove essential oil, *Eugenia caryophyllata* (*Syzygium aromaticum* L. myrtaceae): a short review. *Phytotherapy Research*, v. 21, n. 6, p. 501-506.
- Charleston, D.S., R. Kfir, M. Dicke & L.E.M. Vet. 2005.** Impact of botanical pesticides derived from *Melia azedarach* and *Azadirachta indica* on the biology of two parasitoid species of the diamondback moth. *Biological Control*, 33(2), 131–142.
- Cortés-Rojas, D.F., C.R.F. de Souza, & W.P. Oliveira 2014.** Clove (*Syzygium aromaticum*): a precious spice. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4(2), 90–96.
- Cosme, L.V., G.A. Carvalho & A.P. Moura. 2007.** Efeito de inseticidas botânico e sintéticos sobre ovos e larvas de *Cycloneda sanguinea* (Linnaeus) (Coleoptera: Coccinellidae) em condições de laboratório. *Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo*, v.74, n.3, p.251-258.
- Costa E.M.R., A. Marchese, W.R. Maluf & A.A. Silva. 2014.** Resistência de genótipos de couve-manteiga ao pulgão-verde e sua relação com a cerosidade foliar. *Rev Ciênc Agron* 45(1): 146-154.
- Cunha A.P., J.A. Ribeiro & Roque, O.R. 2007.** Plantas Aromáticas em Portugal – Caracterização e Utilizações, Ed. Fundação Calouste Gulbenkian. 200 p.

- Deschamps C., J.L. Zanatta, H.R. Bizzo, M.C. Oliveira, L.C. Roswalka. 2008.** Avaliação sazonal do teor de óleo essencial em espécies de menta. *Ciência e Agrotecnologia* 32: 725-730.
- Dhifi W., S. Bellili, S. Jazi, N. Bahloul & W. Mnif. 2016.** Essential Oils' Chemical Characterization and Investigation of Some Biological Activities: A Critical Review. *Medicines (Basel)*. 3(4):25.
- Ferreres, F., P. Valentao, R. Llorach, C. Pinheiro, L. Cardoso, J.A. Pereira, C. Sousa, R.M. Seabra & P.B. Andrade. 2005.** Phenolic compounds in external leaves of *Tronchuda cabbage* (*Brassica oleracea* L. var. *costata* DC). *Journal of agricultural and food chemistry* 53(8): 2901-2907.
- Figueiredo, A.C., J.G. Barroso, L.G. Pedro & J.J.C. Scheffer. 2008.** Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. *Flavour and Fragrance Journal* 23(4): 213-226.
- Filho, N.R.C., A.L. Boiça Jr & T.F. Alonso. 2010.** Biologia de *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) em cultivares de couve-flor. *Neotropical Entomology*, 39(2), 253-259.
- Filippis, F. de M. 2001.** Extração com CO₂ supercrítico de óleos essenciais de Honsho e Ho-sho-experimentos e modelagem. 2001. 114f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- Fornari, T., G. Vicente, E. Vázquez, M.R. García-Risco & G. Reglero. 2012.** Isolation of essential oil from different plants and herbs by supercritical fluid extraction. *Journal of Chromatography A* 1250, 34-48.
- Fouad, H.A. & C.A.G. DA Camara. 2017.** Chemical composition and bioactivity of peel oils from *Citrus aurantiifolia* and *Citrus reticulata* and enantiomers of their major constituent against *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal Of Stored Products Research*, v. 73, p. 30-36.
- Gallo, D., O. Nakano, F.M. Wiendl, S. Silveira Neto & R.P.L. Carvalho. 2002.** *Entomologia Agrícola*. Piracicaba, ed. Agronômica Ceres, 920p.
- Gomes, M.S., M.G. Cardoso, M.J. Soares, L.R. Batista, S.M.F. Machado, M.A. Andrade, C.M.O. Azeredo, J.M.V. Resende & L.M.A. Rodrigues. 2014.** Use of essential oils of the genus *Citrus* as biocidal agents. *American Journal of Plant Sciences* 5: 299-305.
- Grassi Filho, H., B.B. Penteado & C.H. dos Santos. 2005.** Preparo de amostras e métodos para a determinação do teor de óleo essencial de frutos de limoeiro. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 27(1), 191–193.

- Grzybowski, A., M. Tiboni, M.A. Silva, R.F. Chitolina, M. Passos, J.D. Fontana. 2013.** Synergistic larvicidal effect and morphological alterations induced by ethanolic extracts of *Annona muricata* and *Piper nigrum* against the dengue fever vector *Aedes aegypti*. *Pest Manag. Sci.*, 69, 589–601.
- Hermansson, J. 2016.** Biology of the Diamondback moth (*Plutella xylostella*) and its future impact in Swedish oilseed rape production – a literature review. Independent project/Degree project / SLU, Department of Ecology 2016:15.
- Holtz, A.M. 2015.** Pragas das brássicas / Anderson Mathias Holtz, Vando Miossi Rondelli, Flávio Neves Celestino, Luziani Rezende Bestete e José Romário de Carvalho - editores. – Colatina, ES: IFES, 2015. 230 p.: il.; 14x21cm.
- Huang, Z., Y. Wang & Y. Zhang. 2015.** Lethal and Sublethal Effects of Cantharidin on Development and Reproduction of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *J Econ Entomol.* 108(3):1054-1064.
- Imran, M. 2018.** Economic Insect Pests of *Brassica*. Brassica Germplasm - Characterization, Breeding and Utilization. London. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.74837>
- Instituto Brasileiro de Geografia E Estatística. 2017.** SIDRA: Sistema IBGE de recuperação automática. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br>>. Acessado em: 16 mar. 2022.
- IRAC. 2023.** Diamondback Moth Archives. (n.d.). **IRAC.** Disponível em <<https://irac-online.org/pests/plutella-xylostella/>>. Acessado em: 05 mar 2023.
- Jacobson, N.M. 1989.** Botanical pesticides (past, present and future). *Annu. Chem. Soc.* 213 p.
- Kerrola, K., B. Galambosi & H. Kallio. 1994.** Volatile components and odor intensity of four phenotypes of hyssop (*Hyssopus officinales* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 42, p. 776-781.
- Khalilzadeh, E., R. Hazrati, G. Vafaei Saiah. 2016.** Effects of topical and systemic administration of *Eugenia caryophyllata* buds essential oil on corneal anesthesia and analgesia. *Res Pharm Sci.* 11(4):293–302.
- Khater, H. 2013.** Bioactivity of essential oils as green biopesticides: Recent global scenario. In: *Recent Progress in Medicinal Plants, Essentials Oils II*, 37:151-218.
- Kumrungsee, N., W. Pluempanupat, O. Koul & V. Bullangpoti. 2014.** Toxicity of essential oil compounds against diamondback moth, *Plutella xylostella*, and their impact on detoxification enzyme activities. *Journal of Pest Science*, 87(4), 721–729.
- Leonardi, F.L. & M.A.T. Bernardo. 2020.** Óleos essenciais como alternativa sustentável à produção agrícola: uma revisão bibliográfica. *Cadernos de Agroecologia*, 15(4).

- Linnaeus, C. 1758.** Tomus I. *Syst. nat.*, ed. 10. Holmiae, Laurentii Salvii: [1-4], 1-824.
- Mahmoudvand, M. & Moharramipour. 2015.** Sublethal Effects of Fenoxycarb on the *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Journal of Insect Science*, 15(1), 82.
- Martins, M.B.G. 2002.** Estudos de microscopia óptica e de microscopia eletrônica de varredura em folhas de *Mentha spicata* e de *Mentha spicata* x *suaveolens* (Lamiaceae). *Bragantia*, 61(3), 205-218.
- Matos, M.J.L.F., Tavares, S. A., Melo, M.F. de, Lana, M.M., & Santos, F.F. dos. 2020.** Hortaliça como comprar, conservar e consumir: couve. Embrapa Hortaliças. Brasília, DF. 3 ed. Disponível em: <www.infoteca.cnptia.embrapa.br.>. Acessado em: 05 mar. 2023.
- Mondédji, A., S. Nyamador, K. Amevoin, G. Ketoh, G. Philippe, I. Glitho. 2015.** Treatment and post-treatment effects of neem leaves extracts on *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *African Journal of Agricultural Research*. 10. 472-476.
- Mondello, L., A. Casilli, P.Q. Tranchida, P. Dugo & G. Dugo. 2005.** Comprehensive two-dimensional GC for the analysis of *Citrus* essential oils. *Flavour and Fragrance Journal* 20: 136-140.
- Morais, L.A.S. de. & Marinho-Prado, J. S. 2016.** Plantas com atividade inseticida. In: Halfeld-Vieira, B. de A.; Marinho-Prado, J. S.; Nechet, K. de L.; Morandi, M.A.B.; Bettiol, W. Defensivos agrícolas naturais: uso e perspectivas. Brasília, DF: Embrapa, 2016. Cap. 19. p. 542-593.
- Mugao, L.G., B.M. Gichimu, P.W. Muturi & S.T. Mukono. 2020.** Characterization of the Volatile Components of Essential Oils of Selected Plants in Kenya. *Biochem. Res. Int.*
- Novo, M. do C. de S.S., A. Praela-Pantano, P.E. Trani, & S.F. Blat. 2010.** Desenvolvimento e produção de genótipos de couve manteiga. *Horticultura Brasileira*, 28(3), 321-325.
- Oliveira, E.R. de, D.S. Alves, G.A. Carvalho, B.M.R.G. de Oliveira, S. Aazza & S.K.V. Bertolucci. 2018.** Toxicity of *Cymbopogon flexuosus* essential oil and citral for *Spodoptera frugiperda*. *Ciência e Agrotecnologia*, 42(4):408-419.
- Pal, P.K. 2013.** Evaluation, Genetic Diversity, Recent Development of Distillation Method, Challenges and Opportunities of *Rosa damascena*: A Review. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 16(1), 1–10.
- Pinto, Z.T., F.F. Sánchez, A.R.D. Santos, A.C.F. Amaral, J.L.P. Ferreira, J.C. Escalona-Arranz, M.M. Queiroz, C. de. 2015.** Chemical composition and insecticidal activity of *Cymbopogon citratus* essential oil from Cuba and Brazil against housefly. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 24, pp. 36-44.

- Pires, T.C. & R.H., Piccoli. 2012.** Efeito inibitório de óleos essenciais do gênero *Citrus* sobre o crescimento de micro-organismos. *Revista do Instituto Adolfo Lutz* 71(2):259-65.
- Ribeiro, N.C., Da Camara, C.A.G. ; MELO, J.P.R. ; de Moraes, M.M. 2020.** Insecticidal potential of citrus and mango essential oils and selected constituents on silverleaf whitefly1. *Revista Caatinga*, v. 33, P. 90-99.
- Santana, M.L.G. ; Leal, T.T.B. ; Melo, J.P.R. ; da Camara C.A.G. 2019.** Atividades inseticidas de óleos essenciais de *Mentha spicata* L. e *Mentha arvensis* L. sobre *Lipaphis pseudobrassicae* Davis (Hemiptera: Aphididae). *Global Science And Technology*, v. 12, p. 126-132.
- Sharma, A., X. Li & Y.P. Lim. 2014.** Comparative genomics of Brassicaceae crops. *Breed Sci.*, 64(1):3-13.
- Silvestri, J.D.F., N. Paroul, E. Czyewski, L. Lerin, I. Rotava, R.L. Cansian, A. Mossi, G. Toniazzi, D. de Oliveira & H. Treichel. 2010.** Perfil da composição química e atividades antibacteriana e antioxidante do óleo essencial do cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata* Thunb.). *Revista Ceres*, 57(5), 589-594.
- Simões, C.M.O. & V. Spitzer. 2000.** Óleos Voláteis. In: Simões, C. M. O. *Farmacognosia*. Porto Alegre: UFRGS, p. 387-415.
- Shingo, G.Y. & M.U. Ventura. 2009.** Produção de couve brassica oleracea L. var. acephala com adubação mineral e orgânica. *Semina: Ciências Agrárias*. 30. 589.
- Souza, M.T. de, M.T. de Souza, D. Bernardi, D.J. de Melo, P.H.G. Zarbin & M.A.C. Zawadneak. 2021.** Insecticidal and oviposition deterrent effects of essential oils of *Baccharis* spp. and histological assessment against *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae). *Sci. Rep.* 11, 3944.
- Stratakis, A.C. & A. Koidis. 2016.** Methods for Extracting Essential Oils. In Preedy VR, editor, *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*. San Diego: Irish Academic Press. p. 31-38
- Thomas, J., P.P. Joy, S. Mathew & B.P. Skaria. 2000.** Plant sources of aroma chemicals and medicines in India. *Chemical Industry Digest* (Special millennium issue). 104-108.
- Vacari, A.M. 2009.** Caracterização biológico-comportamental de *Podisus nigrispinus* (Dallas, 1851) predando *Plutella xylostella* (L., 1758). 2009. 102 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, São Paulo.
- Van Emden, H.F. 2013.** Handbook of agricultural entomology. Wiley-Blackwell. p. 311.
- Veiga, A.C.P., C.L.T.P. Viana, E.C. Pedroso, A.K. Otuka, M.A. Viana, V.L.**

- Laurentis, A.M. Vacari & S.A. De Bortoli. 2010.** Biologia comparada de duas populações de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) em laboratório. Horticultura Brasileira, Brasília, v. 28, n. 2 (Suplemento - CD Rom), p. 773-778.
- Vidal, M. de F. 2022.** Agropecuária: Citricultura-laranja. Caderno Setorial Etene. Fortaleza: BNB, ano 7, n.241, set.
- Villas Boas G.L., Castelo Branco, M. & Guimarães, A.L. 1990.** Controle químico da traça-das-crucíferas em repolho no Distrito Federal. Horticultura Brasileira 8: 10-11.
- WANG, X. & Y. Wu. 2012.** High levels of resistance to chlorantraniliprole evolved in field populations of *Plutella xylostella*. Journal of Economic Entomology, Lanhan, v. 105, n. 3, p. 1019-1023.
- Wang, G., X. Huang, H. Wei & H.Y. Fadamiro. 2011.** Sublethal effects of larval exposure to indoxacarb on reproductive activities of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). Pesticide Biochemistry and Physiology, 101:227-231.
- Warwick, S.I. & I.A. Al-Shehbaz. 2006.** Brassicaceae: Species checklist and database on CD-Rom. Plant Systematics and Evolution, 259: 249-258.
- Wolffenbüttel, A.N. 2007.** O que são óleos essenciais?. In: INFORMATIVO CRQ-V, ANO XI, N° 105.
- Yin X.H., Q.J. Wu, X.F.Li, Y. J. Zhang & B.Y. Xu. 2008.** Sublethal effects of Spinosad on *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae). Crop Protection, 27(10): 1385-1391.
- Yin X.H., Q.J. Wu, Y. J. Zhang, Y.H. Long, X.M. Wu, R.Y. Li, M. Wang, X.L. Tian & X.G. Jiao. 2016.** Analysis of persistent changes to γ -aminobutyric acid receptor gene expression in *Plutella xylostella* subjected to sublethal amounts of spinosad. Genet Mol Res. 2016;15(3):10.4238/gmr.15038782.
- Yuncker, T.G. 1972.** The Piperaceae of Brazil. Hoehnea 2: 19-366.
- Zago, H.B., Siqueira, H. Á., Pereira, E.J., Picanço, M.C., & Barros, R. 2014.** Resistance and behavioural response of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) populations to *Bacillus thuringiensis* formulations. Pest management science, 70(3), 488–495. <https://doi.org/10.1002/ps.3600>.

CAPÍTULO 2

ATIVIDADE INSETICIDA E INIBIÇÃO ALIMENTAR DE ÓLEOS ESSENCIAIS DO
GÊNERO *Syzygium*, *Citrus* e *Mentha* SOBRE *Plutella xylostella* (LINNAEUS, 1758)
(LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) RESISTENTES AO INGREDIENTE ATIVO
CLORANTRANILIPROLE¹

JONHOSSON GUILHERME FERREIRA LIMA², VANESKA BARBOSA MONTEIRO², JOÃO PAULO
RAMOS DE MELO² & CLÁUDIO AUGUSTO GOMES DA CÂMARA³

² Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, Departamento de Agronomia –
Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos,
52171-900 Recife, PE, Brasil.

³Programa de Pós-Graduação em Química, Departamento de Química Universidade Federal
Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE,
Brasil.

¹Lima, J. G. F., V. B. Monteiro, J. P. R. de Melo & C. A. G. da Câmara. Atividade inseticida e inibição alimentar de óleos essenciais do gênero *Syzygium*, *Citrus* e *Mentha* sobre *plutella xylostella* (linnaeus, 1758) (lepidoptera: plutellidae) resistentes ao ingrediente ativo clorantraniliprole. A ser submetido.

RESUMO – As espécies da família Brassicaceae (brócolis, couve chinesa, couve flor, repolho) são cultivadas ao longo dos anos pela grande importância nutricional para alimentação humana, além de apresentarem propriedades antioxidantes. Contudo, as perdas agrícolas desses cultivos, especial couve folha, são bastantes elevadas devido aos ataques de pragas. Em diferentes regiões do mundo, a *Plutella xylostella* é a principal praga da couve folha, repolho e couve flor e ocasiona danos e injúrias que eleva os custos de produção e controle. O presente capítulo teve o objetivo de avaliar a bioatividade dos óleos essenciais sobre a mortalidade e inibição alimentar de diferentes populações de *P. xylostella*. Os resultados demonstraram que os óleos essenciais aqui investigados apresentaram atividade larvívora para as populações suscetível e resistentes a clorantóliprole. A população PX-R apresentou uma razão de resistência de 4,83 vezes (CL₅₀) e 4,98 vezes (CL₉₀) comparados com a suscetível. A maior CL₅₀ larvívora observada entre as populações foram dos óleos de *S. aromaticum* e *M. spicata*. Todos os óleos essenciais apresentaram diferentes percentuais de inibição alimentar de acordo com as populações aqui investigadas, exceto o óleo de *S. aromaticum* que apresentou o mesmo nível de inibição alimentar para as duas populações. Os óleos de *Citrus* apresentaram uma redução na potencialidade da inibição alimentar sobre larvas de *P. xylostella* resistentes.

PALAVRAS-CHAVE: Toxicidade, resistência, efeito subletal, traça-das-crucíferas

INSECTICIDAL ACTIVITY AND FOOD INHIBITION OF ESSENTIAL OILS OF THE
GENUS *Syzygium*, *Citrus* and *Mentha* ON *Plutella xylostella* (LINNAEUS, 1758)
(LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) RESISTANT TO THE ACTIVE INGREDIENT
CHLORANTRANILIPROLE

ABSTRACT – Species of the Brassicaceae family (broccoli, Chinese cabbage, cauliflower, cabbage) have been cultivated over the years due to their great nutritional importance for human consumption, in addition to their antioxidant properties. However, the agricultural losses of these crops especially kale are quite high due to pest attacks. In different regions of the world *Plutella xylostella* is the main pest of kale, cabbage and cauliflower and causes damage and injuries that increase production and control costs. This chapter aimed to evaluate the bioactivity of essential oils on mortality and feeding inhibition of different populations of *P. xylostella*. The results demonstrated that the essential oils investigated here showed larvicidal activity for susceptible and resistant populations to chlorantraniliprole. The PX-R population showed a resistance ratio of 4.83 times (CL₅₀) and 4.98 times (CL₉₀) compared to the susceptible one. The highest larvicidal CL₅₀ observed among the populations were for the oils of *S. aromaticum* and *M. spicata*. All essential oils showed different percentages of feeding inhibition according to the populations investigated here except for *S. aromaticum* oil, which showed the same level of feeding inhibition for both populations. Citrus oils showed a reduction in the potentiality of feeding inhibition on resistant *P. xylostella* larvae.

KEY WORDS: Toxicity, resistance, sublethal effect, diamondback moth

Introdução

As espécies da família Brassicaceae (brócolis, couve chinesa, couve flor, repolho) são cultivadas ao longo dos anos pela grande importância nutricional para alimentação humana, além de apresentarem propriedades antioxidantes e anticarcinogênicas, (Liu *et al.*, 2021). De acordo com o último levantamento da FAO (Food and Agriculture Organization), as detentoras da produção mundial dessas hortaliças são China, Índia e Estados Unidos (Faostat, 2021). O Brasil apresenta um importante papel social associado a considerável produção dessas culturas na agricultura familiar, que chegou a 170 mil toneladas dessas hortaliças no último censo agropecuário (IBGE, 2021).

Contudo, as perdas agrícolas desses cultivos, especial couve folha, são bastantes elevadas devido aos ataques de pragas. Em diferentes regiões do mundo, a *Plutella xylostella* é a principal praga da couve folha, repolho e couve flor e ocasiona danos e injúrias que eleva os custos de produção e controle (Qin *et al.*, 2018). As constantes aplicações excessivas e inseticidas comerciais, fez com que a *P. xylostella* apresentasse resistência a mais de 101 inseticidas sintéticos em 2023 (APRD, 2023), inclusive, ao ingrediente ativo, clorantraniliprole que é um dos produtos mais empregados pelos agricultores do nordeste brasileiro (Ribeiro *et al.* 2014).

Diante dos fatos enfrentados por estas comunidades agrícolas, uma estratégia é o uso de inseticidas a base de óleos essenciais (Ahmed *et al.*, 2021). Relatos com uso de óleos essenciais revelam diversas bioatividades (redução de fecundidade, repelência, deterrencia alimentar, toxicidade larval e ovicida) sobre diferentes pragas agrícolas (Santana *et al.*, 2022; Santana *et al.*, 2021; Ribeiro *et al.*, 2020; Lobo *et al.*, 2019).

Nesse contexto, as espécies botânicas pertencentes aos gêneros *Syzygium*, *Citrus* e *Mentha* são promissoras, pois apresenta grande variedade de espécies com potencial de bioatividade sobre

artrópodes (Nollet & Rathore, 2017). Entre essas espécies podemos citar *Mentha spicata*, *Syzygium aromaticum*, *Citrus aurantium* e *Citrus limon* que apresentam bioatividade contra diferentes artrópodes (Darabi & Khajehali, 2017; Ribeiro *et al.*, 2019; Khalilzadeh *et al.*, 2016).

Diante do exposto e com o intuito de se encontrar um inseticida botânico alternativo aos produtos sintéticos usados na agricultura convencional e familiar, especialmente para o Nordeste brasileiro, este capítulo de tese tem como objetivo avaliar e analisar o potencial inseticida e de inibição alimentar dos óleos essenciais de espécies pertencentes aos gêneros *Syzygium*, *Citrus* e *Mentha* sobre a praga *P. xylostella*.

Material e Métodos

A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Investigação Química de Inseticidas Naturais (LABIQIN) do Programa de Pós Graduação em Entomologia (PPGE), Departamento de Agronomia, Área de Fitossanidade da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), nas seguintes condições: $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ de temperatura e $70\pm 15\%$ de umidade relativa e 12h de fotofase.

Obtenção dos Óleos Essenciais e Inseticidas

Foram utilizados OEs comerciais das espécies *Mentha spicata* L., *Syzygium aromaticum*, *Citrus aurantium* e *Citrus limon*, adquiridos da empresa FERQUIMA Ind. e Com. Ltda. Todos os OEs foram armazenados sob refrigeração em recipientes de vidros âmbar vedados antes dos estudos. Os inseticidas com ingrediente ativo (i.a.) azadiractina (Azamax[®] 12 g i.a./L C.E., E.I.D. Parry), e clorantianiliprole (Premio[®] 200 g i.a./L S.C., DuPont Ltda) foram adquiridos em lojas especializadas em produtos agropecuárias da cidade de Recife/PE e utilizados como controle positivos.

Obtenção dos formulados.

Para obtenção de um produto, os formulados foram elaborados com óleo essencial por litro de solução aquosa contendo água destilada, 1% de ácido dodecilbenzeno sulfônico (Willfix) e 0,1% de sulfóxido de dimetilo (DMSO), obtendo-se formulações a base de óleos essenciais para as diluições utilizadas nos bioensaios.

Obtenção da variedade de couve.

A couve (*Brassica oleracea*) utilizada nos bioensaios e criação foi da variedade *acephala*. As folhas de couve foram do tipo orgânica, obtidas em estabelecimentos comerciais específicos para este tipo de produto (Feira de orgânicos de Camaragibe / Big Bompreço Casa-Forte).

Criação de *Plutella xylostella*.

As populações de traça-das-crucíferas foram obtidas da criação do Laboratório de Investigação Química de Inseticidas Naturais (LABIQIN) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Foram utilizadas duas populações, ambas criadas nas mesmas condições, um controle, susceptível ao clorantraniliprole (PX-S) e outra resistente ao clorantraniliprole (PX-R).

Os adultos da traça foram confinados em gaiolas plásticas transparentes circulares (12 cm de diâmetro x 15 cm de altura) com abertura lateral fechada com tela de náilon para ventilação. Dentro das gaiolas, discos de folhas de couve medindo oito centímetros de diâmetro foram oferecidos como substrato para postura, sobrepostos a um papel de filtro e estes sobre esponjas de igual tamanho, embebidas em água. Também foi oferecido mel a 10% diluído em água e

impregnado em pedaços de algodão colocados dentro das gaiolas de criação como alimento para os adultos. Os discos contendo as posturas foram transferidos para recipientes plásticos retangulares (6,0 x 11 x 16 cm) com abertura na tampa, fechada com tecido “voil” para ventilação. Após a eclosão das larvas, folhas frescas de couve foram oferecidas como alimento, as quais serão obtidas de produção orgânica e trocadas diariamente até a formação das pupas. As pupas foram coletadas e mantidas em tubos de ensaio cobertos com filme plástico PVC contendo pequenas perfurações para permitir trocas gasosas, até a emergência dos adultos, que serão transferidos para as gaiolas de criação de adultos.

As folhas de couve eram lavadas com solução de hipocloreto de sódio a 1%, para evitar possível ação de patógenos sobre a população da traça das crucíferas antes de serem oferecidas as larvas (para alimentação) e adultos (para oviposição) de *P. xylostella*.

Bioensaios de toxicidade larval.

A técnica utilizada para determinar as doses letais e subletais foi pelo método de imersão, a mesmo utilizado por Santana *et al.* (2022). Discos de folha de couve (5 cm de diâmetro) foram mergulhados durante 10 segundos em 20 ml de diferentes concentrações de solução do produto avaliado (óleo essencial ou composto isolado) em água destilada contendo 1,0% de monolaurato de sorbitano polioxietileno e 0,1% de Ácido Dodecilbenzeno Sulfônico. Colocou-se para secar durante 30 minutos à temperatura ambiente.

Após a secagem, dez larvas de terceiro instar de *P. xylostella* foram transferidas para cada disco de folha e a mortalidade registrada 48 h após a exposição. Seis repetições por tratamento foram realizadas e repetidas no tempo. Para verificar os efeitos da toxicidade do formulado, os resultados foram comparados com dois controles positivos, o primeiro um inseticida sintético (i.a. cloranthraniliprole) e o segundo, um inseticida botânico (i.a. azadiractina) e sua diluição seguiu as

recomendações do fabricante, além do controle negativo (água destilada, monolaurato de sorbitano polioxietileno e ácido dodecilbenzeno sulfônico).

A fim de determinar o intervalo de concentrações resultantes de mortalidades superiores e inferiores a 0 e 100%, respectivamente, se utilizaram diluições seriais, conforme metodologia proposta por Finney (1971) para determinação de concentrações letais. Os dados de mortalidade foram analisados pelo modelo Probit (Finney 1971) por meio do Programa Polo+ para Windows versão 0.03 (LeOra Software 2002) para determinar os valores das CL₅₀ e CL₉₀, com intervalos de confiança de 95%. A metodologia de Robertson *et al.* (2007) foi usada para calcular razões de toxicidade e razões de resistência com intervalos de confiança a 95%.

Bioensaios de Inibição Alimentar em *Plutella xylostella*.

O método para avaliar a deterrência alimentar foi adaptado de Akhtar *et al.* (2012). Larvas de terceiro ínstar de *P. xylostella* foram transferidas para placas-de-petri de vidro com dimensões 60 x 15mm e privadas de alimento por 3-4 h antes dos experimentos. Discos de folhas de couve de 2,0 cm de diâmetro foram imersos nas soluções preparadas com as CL₁₀ dos óleos e postos para secar sobre papel toalha em temperatura ambiente.

Os discos de controle foram imersos apenas em água. Após a secagem, um disco tratado e um controle foram colocados separados a uma distância de 2 cm em cada placa-de-petri. Uma larva foi colocada no centro de cada placa-de-petri, entre os dois discos de folha onde permaneceu se alimentando por 24 h. Foram realizadas 24 repetições por tratamento, sendo cada repetição uma placa-de-petri contendo uma larva.

Após 24 h de exposição, as larvas foram removidas e as áreas foliares consumidas nos discos controle e tratamento, as folhas foram colocadas em microscópio, juntamente com uma escala e fotografadas. Esta avaliação foi realizada através do programa ImageJ Software. O índice de

deterência alimentar (IDA) foi calculado segundo a fórmula: $IDA = 100\{(C - T) / (C + T)\}$, onde C e T são as áreas consumidas nos discos controle e tratados, respectivamente.

Resultados

Os experimentos para identificar a toxicidade residual dos óleos essenciais, inseticidas sintéticos e botânico sobre larvas do 3º instar das populações de *P. xylostella* suscetível (PX-S) e resistente (PX-R) ao clorantraniliprole foram realizados com uma amostra de 5.151 espécimes. Já os experimentos de inibição alimentar foram realizados com uma amostra de 288 larvas do 3º instar de *P. xylostella*.

Bioensaios de toxicidade larval.

As concentrações letais (CL₅₀ e CL₉₀) e subletal (CL₁₀) larvicida estimadas para os óleos essenciais das espécies *Syzygium aromaticum*, *Mentha spicata*, *Citrus limon*, *Citrus aurantium* e controle positivos (clorantraniliprole e azadactina) sobre duas populações (suscetível e resistente ao clorantraniliprole) de larvas do 3º instar de *Plutella xylostella* são apresentadas na Tabela 1. As curvas de concentração-resposta obtidas nos bioensaios com os ingredientes ativos (i.a.), clorantraniliprole, azadactina e óleos essenciais, para mortalidade das larvas de terceiro instar de *Plutella xylostella* se ajustaram ao modelo de Probit (valores do χ^2 não significativos e valores de P acima de 0,05), para as duas populações estudadas.

As populações de *P. xylostella* analisadas neste estudo foram consideradas resistentes ao ingrediente ativo clorantraniliprole, pois a estimativa de suas concentrações letais médias foi maior que a dose de campo recomendada (7,5 mL/100 L), adotando a população PS-X, com menor toxicidade residual, como referencia para suscetibilidade. A população PX-R apresentou uma razão de resistência de 4,83 vezes (CL₅₀) e 4,98 vezes (CL₉₀) comparados com a população suscetível.

De acordo com os resultados dispostos na Tabela 1, a maior toxicidade letal média (CL_{50}) larvícida observada entre os óleos essenciais para a População Suscetível e População Resistente foi do óleo de *S. aromaticum* e *M. spicata*. Quando comparamos a toxicidade letal média (CL_{50}) dos óleos de *S. aromaticum* e *M. spicata* foi aproximadamente 3 e 4 vezes maiores do que os óleos de *C. limon* e *C. aurantium* sobre larvas de *P. xylostella* suscetíveis, respectivamente. Para a população resistente ao clorantianiliprole, o óleo de *M. spicata* foi 2,54 e 8,43 vezes mais tóxico do que os óleos de *C. aurantium* e *C. limon*, respectivamente. Já o óleo de *S. aromaticum* apresentou toxicidade 1,97 e 6,53 vezes maior do que os óleos de *C. aurantium* e *C. limon*, respectivamente. No entanto, ao avaliar uma mortalidade de 90% da praga (CL_{90}) o óleo de *M. spicata* ($CL_{90} = 21,91 \mu\text{L mL}^{-1}$) foi mais tóxico sobre larvas de *P. xylostella* resistentes ao clorantianiliprole.

Como era de se esperar, nenhum dos óleos foram mais tóxicos do que os controles positivos, clorantianiliprole e azadiractina sobre as larvas de 3 instar de *P. xylostella* de ambas populações investigadas.

Bioensaios de Inibição Alimentar em *Plutella xylostella*.

Diante dos resultados obtidos e organizados na Tabela 2, o inseticida sintético clorantianiliprole não apresentou inibição alimentar (IA) na CL_{10} . Já o inseticida botânico composto pelo ingrediente ativo azadiractina, apresentou uma IA de 58,51% (PX-S) e 17,46% (PX-R) nas concentrações de $0,048 \mu\text{L mL}^{-1}$ e $0,121 \mu\text{L mL}^{-1}$, ambas CL_{10} , respectivamente. A população resistente apresentou uma atividade inibitória 3,35 vezes menor do que população suscetível.

Todos os óleos essenciais apresentaram diferentes percentuais de IA de acordo com as populações aqui investigadas, exceto o óleo de *S. aromaticum* que apresentou o mesmo nível de IA para as duas populações (suscetível e resistente). Os óleos de *Citrus* apresentaram uma redução na

potencialidade da IA sobre larvas de *P. xylostella* resistentes. No entanto, larvas de *P. xylostella* resistente ao clorantraniliprole quando expostas ao óleo de *M. spicata*, mesmo apresentando CL₁₀ não diferindo estatisticamente entre si, tiveram uma maior IA (76,35%) quando comparada as larvas da população suscetível (66,78).

Outro ponto que podemos destacar é que a CL₁₀ de *C. limon* para a população resistente (9,87 µl mL⁻¹) é alta comparada a suscetível, porém apresentou uma baixa inibição alimentar. Entretanto a CL₁₀ de *S. aromaticum* é baixa (1,02 µl mL⁻¹) e tem uma inibição alimentar elevada (91,79 ± 3,46 %).

Todos os óleos essenciais aqui investigados foram mais ativos para IA do que o inseticida azadiractina para população resistente a clorantraniliprole.

Discussão

Os resultados demonstraram que os óleos essenciais aqui investigados apresentaram atividade larvicida para as populações suscetível e resistentes a clorantraniliprole. Comparando esses resultados com relatos da literatura, os óleos de *S. aromaticum* e *M. spicata* aqui investigados, apresentaram o mesmo nível de toxicidade que os óleos de *Syzygium aromaticum* sobre larvas de *P. xylostella* resistente a deltametrina (Melo *et al.*, 2023). No entanto, os óleos de *S. aromaticum* e *M. spicata* foram aproximadamente 2 vezes mais eficientes do que o óleo de *Lavandula angustifolia* sobre larvas de *P. xylostella* resistente a deltametrina (Yi *et al.* 2016).

Existem relatos da atividade inseticida da espécie *M. spicata* sobre outros artrópodes. Por exemplo, em larvas de segundo e terceiro instar de *Anarta trifolii* (Hufnagel), Darabi & Khajehali (2017) verificaram que óleo de *M. spicata*, apresentou concentrações letais (CL₅₀) de 7,05 e 11,72 µL mL⁻¹, respectivamente. O óleo de *M. spicata* foi altamente tóxico contra adultos de *Ephestia*

kuehniella (Zeller) e *Plodia interpunctella* (Hubner) (Eliopoulos *et al.* 2015). Outros óleos essenciais provenientes do gênero *Mentha* também foram estudados sobre outros artrópodes. Os óleos de *M. piperita* (Linnaeus) encontrada por Ebadollahi *et al.* (2017) apresentou uma CL₅₀ de 15,25 µL L⁻¹ sobre *Aphis gossypii* (Glover).

Os óleos essenciais de *Citrus* têm sido amplamente investigados quanto ao seu potencial inseticida contra vários tipos de artrópodes (Badawy *et al.*, 2018; Ribeiro *et al.*, 2019). No caso das espécies de *Citrus* analisadas na presente investigação, encontram-se estudos sobre os efeitos do óleo de *Citrus aurantium* sobre as pragas da couve *Acyrtosiphon pisum* Harris (Chaieb *et al.*, 2018), *Galleria mellonella* L. (Hakima *et al.*, 2016) e pragas de grãos armazenados (Bnina *et al.*, 2019). Os óleos essenciais das cascas dos frutos de *C. limon* foi avaliado quanto a sua toxicidade letal sobre *Tetranychus urticae* Koch (Ribeiro *et al.*, 2019; Câmara *et al.*, 2015) e *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Fouad & Câmara 2017), respectivamente.

Com relação ao uso de *Citrus* em *P. xylostella*, o efeito da aplicação de água contendo óleo das cascas de *Citrus aurantium* em plantas de mostarda foi avaliado através da mortalidade e percentual de pupas da praga presente nas folhas (Situmorang & Djukri 2018).

O potencial dos óleos essenciais como estratégia favorável no controle de insetos tem sido enfatizado (Govindarajan *et al.* 2013; Govindarajan *et al.* 2016). Uma justificativa para as diferentes potencialidades dos óleos comparados acima se deve basicamente às diferenças qualitativas e quantitativas na constituição dos óleos e/ou testes realizados com populações de *P. xylostella* de procedências diferentes.

Bioensaios de Inibição Alimentar em *Plutella xylostella*.

A inibição alimentar tem grande importância para o manejo integrado de pragas. Inseticidas com essa propriedade afetam o comportamento da praga, afastando-a do hospedeiro e minimizando os danos à cultura (da Camara *et al.*, 2015). Apesar de algumas investigações dos óleos essenciais sobre a alimentação de *P. xylostella* terem sido reportadas nos últimos anos (Araújo *et al.*, 2020b; Phukhahad & Auamcharoen, 2021), poucos relatos voltados ao efeito alimentar dos óleos essenciais aqui investigados foram encontrados. Koundal *et al.* (2018) observaram efeito na alimentação do óleo essencial de *M. spicata* sobre larvas de terceiro instar de *P. xylostella*, onde, na concentração de 10 mg mL⁻¹, a inibição alimentar foi de 52,29%. Levando em consideração os nossos resultados com menos de 2,7 mg . mL⁻¹ foram necessários para inibir a alimentação em mais de 41,66%.

Melo *et al.*, (2023), em estudo com larvas de *P. xylostella* resistentes a clorantraniliprole, observou que para reduzir em 50% a alimentação dessa praga era necessário aplicar 26,74 mg L⁻¹ do óleo de *E. caryophyllus* (sinonímia *Syzygium aromaticum*). Enquanto em nossos resultados a CL₁₀ não apresentou inibição alguma.

Quanto ao efeito dos óleos essenciais aqui investigados, essas espécies e gêneros vegetais tem sido investigado em diferentes pragas. Por exemplo, Akhtar *et al.* (2012), investigando a inibição alimentar de *Trichoplusia ni* expostas aos óleos de *E. caryophyllus* (sinonímia *Syzygium aromaticum*), *M. arvensis* e *M. piperita*, observou que o esse óleo diminuiu a alimentação da praga em 78,60%, 71,60% e 53,10%, respectivamente. Kedia *et al.* (2014), observaram que ao aplicar 0,10 µL mL⁻¹ do óleo de *M. spicata*, 100% inibição alimentar de *Callosobruchus chinensis* sobre das sementes de grão-de-bico. Villafañe *et al.* 2011, verificaram que o óleo de *Citrus aurantium* foi altamente inibitório alimentar sobre larvas de terceiro instar dos insetos *Spodoptera frugiperda*.

Por outro lado, óleos essenciais de outras espécies botânicas têm sido investigados quanto a inibição alimentar sobre a *P. xylostella*. Por exemplo, Santana *et al.*, (2022) observaram que 0,07 e

3,32 mg mL⁻¹ de óleo de *Piper capiterianum* e *P. krukoffi* reduziram a alimentação de larvas de terceiro ínstar de *P. xylostella* em 50%. O óleo essencial de *Latana camara* apresentou redução alimentar de 50% em larvas de 3 instar de *P. xylostella* na concentração de 10 µL µL⁻¹ de acetona (Nguyen *et al.*, 2019). Resultados reportados por Araujo *et al.*, 2020, para os óleos de *Piper aduncum* and *Lippia sidoides* e *Schinus terebinthifolius* apresentaram uma forte inibição alimentar sobre larvas de *P. xylostella*.

A ação *antifeedant* ocorre devido à sensibilidade do aparelho bucal com as substâncias químicas, que ao identificar cada substância o sistema do nervoso do inseto transmite impulsos aos nervos que controlam a alimentação, consequentemente, ao identificar risco, o centro nervoso da praga, imediatamente, responde com a informação para cessar a alimentação (Singh *et al.*, 2015). Uma explicação para o melhor resultado observado em nosso estudo para os óleos comparado com o controle positivo azadiractina, pode ser explicada pelo *pull* de substâncias presentes em um óleo essencial, que pode atuar isolado ou em sinergia para inibir a alimentação dos insetos (Akhtar *et al.*, 2013).

A aplicação dos óleos essenciais de *Citrus aurantium*, *Citrus limon*, *Mentha spicata* e *Syzygium aromaticum* foram eficazes no controle de larvas de terceiro instar e nos testes de inibição alimentar, o que comprova que podem ser utilizados para controle de populações de *P. xylostella*.

Agradecimentos

Eu agradeço à instituição de fomento a CAPES pela concessão da bolsa e a possibilidade de prorrogação, pois sem isto nada teria caminhado.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco pela oportunidade em fazer uma pós-graduação em Entomologia.

Ao meu comitê de orientação e a equipe do laboratório, pelo apoio e ajuda na execução das atividades.

Literatura Citada

- Ahmed, N., Alam, M., Saeed, M., Ullah, H., Iqbal, T., Al-Mutairi, K.A., Shahjeer K., Ullah, R., Ahmed, S., Ahmed, N.A.A.H., Khater, H.F., & Salman, M. 2021.** Botanical insecticides are a non-toxic alternative to conventional pesticides in the control of insects and pests. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.100416>.
- Akhtar, Y., Isman, M.B., 2013.** Plant natural products for pest management: the magic of mixtures, In: Ishaaya, I., Palli, S., Horowitz, A. (Eds), *Advanced Technologies for Managing Insect Pests*. Springer, Dordrecht, pp 231-247.
- APRD. 2023.** Arthropod Pesticide Resistance Database. Michigan State University. Retrieved April 16, 2022, from <https://www.pesticideresistance.org/display.php?page=species&arId=571>
- Araújo, M.J.D., Camara, C.A.G., MORAES, M.M., & Born, F.S. 2020.** Insecticidal properties and chemical composition of *Piper aduncum* L., *Lippia sidoides* Cham. and *Schinus terebinthifolius* Raddi essential oils against *Plutella xylostella* L. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 92, e20180895. <https://doi.org/10.1590/0001-3765202020180895>
- Badawy, M.E., Taktak, N.E., El-Aswad, A.F., 2018.** Chemical composition of the essential oils isolated from peel of three citrus species and their mosquitocidal activity against *Culex pipiens*. *Nat. Prod. Res.* 32, 2829-2834. <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1378216>.
- Bnina, E.B., Hajlaoui, H., Chaieb, I., Said, M.B., Jannet, H.B., Daami-Remadi, M., 2019.** Chemical composition, antimicrobial and insecticidal activities of the tunisian *Citrus aurantium* essential oils. *Czech J. Food Sci.* 37, 81-92. <https://doi.org/10.17221/202/2017-CJFS>.
- Câmara, C.A.G., Akhtar, Y., Isman, M.B., Seffrin, R.C., Born, F.S., 2015.** Repellent activity of essential oils from two species of *Citrus* against *Tetranychus urticae* in the laboratory and greenhouse. *Crop Prot.* 74, 110-115. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2015.04.014>.
- Chaieb, I., Zarrad, K., Sellam, R., Tayeb, W., Hammouda, A.B., Laarif, A., Bouhachem, S., 2018.** Chemical composition and aphicidal potential of *Citrus aurantium* peel essential oils. *Entomol. Gen.* 37, 63-75.

- Darabi, K., & Khajehali, J. 2017.** Bioactivity of essential oils of *Mentha* species and *Cuminum cyminum* L. on *Anarta trifolii* (Hufnagel)(Lepidoptera: Noctuidae). Journal of essential oil bearing plants, 20(4), 1097-1106.
- de Melo, J.P.R., da Câmara, C.A.G., & de Moraes, M.M. 2023.** Bioactivity of formulas containing essential oils from the family Myrtaceae for the management of deltamethrin-resistant *Plutella xylostella* (L.)(Lepidoptera: Plutellidae). Phytoparasitica, 1-17.
- FAOSTAT. 2021.** Value of Agricultural Production. Retrieved January 7, 2022, from <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QV>.
- Fouad, H.A., Câmara, C.A.G., 2017.** Chemical composition and bioactivity of peel oils from *Citrus aurantiifolia* and *Citrus reticulata* and enantiomers of their major constituent against *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). J. Stored Prod. Res. 73, 30-36. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2017.06.001>.
- Hakima, O.M., Sabrina, A.K., Nassima, B.B., 2016.** Phytochemical study and evaluation of antimicrobial, antioxidant and insecticidal activity of essential oils and polyphenols of bitter orange (*Citrus Aurantium* L.). Int. J. Adv. Chem. Eng. Biol. Sci. 3, 163-167. <http://dx.doi.org/10.15242/IJACEBS.C0516212>.
- IBGE. 2021.** Produção agrícola municipal. Retrieved May 21, 2022, from <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria>.
- Khalilzadeh, E., Hazrati, R., & Saiah, G.V. 2016.** Effects of topical and systemic administration of *Eugenia caryophyllata* buds essential oil on corneal anesthesia and analgesia. Research in Pharmaceutical Sciences, 11(4), 293.
- Liu, S., Snowdon, R., & Kole, C. 2021.** The Brassica oleracea genome. Springer.
- Lobo, A.P., da Camara, C.A.G., de Melo, J.P.R., & de Moraes, M.M. 2019.** Chemical composition and repellent activity of essential oils from the leaves of *Cinnamomum zeylanicum* and *Eugenia uniflora* against *Diaphania hyalinata* L.(Lepidoptera: Crambidae). Journal of Plant Diseases and Protection, 126(1), 79-87.
- Morais, L.A.S. de. & Marinho-Prado, J.S. 2016.** Plantas com atividade inseticida. In: Halfeld-Vieira, B. de A.; Marinho-Prado, J.S.; Nechet, K. de L.; Morandi, M.A.B.; Bettiol, W. Defensivos agrícolas naturais: uso e perspectivas. Brasília, DF: Embrapa, 2016. Cap. 19. p. 542-593.
- Nguyen, N.B.C., Nguyen, B.Q., & Dong, T.C.T. 2019.** Antifeedant activity of essential oil *Lantana camara* L. against *Spodoptera litura* Fabr.(Lepidoptera: Noctuidae) and *Plutella xylostella* Curtis (Lepidoptera: Plutellidae). Can Tho University Journal of Science, 11(1), 1-6. <https://doi.org/10.22144/ctu.jen.2019.001>
- Nollet, L.M., & Rathore, H.S. 2017.** Green pesticides handbook: Essential oils for pest control. CRC Press.

- Opiyo, S.A., Njoroge, P.W., & Ndirangu, E.G. 2022.** A review pesticidal activity of essential oils against *Sitophilus oryzae*, *Sitophilus granaries* and *Sitophilus zeamais*. Journal of Applied Chemistry, 15(4),39-51. <https://doi.org/10.9790/5736-1504013951>
- Phukhahad, S., Auamcharoen, W., 2021.** Biological activity of ethanol extracts and essential oils from *Curcuma longa* (Zingiberaceae), *Cymbopogon nardus* (Gramineae), and *Acorus calamus* (Acoraceae) against *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). J Entomol Sci. 56, 172-184. <https://doi.org/10.18474/0749-8004-56.2.172>.
- Qin, C., Wang, C.H., Wang, Y.Y., Sun, S.Q., Wang, H.H., & Xue, C.B. 2018.** Resistance to diamide insecticides in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae): comparison between lab-selected strains and field-collected populations. Journal of Economic Entomology, 111(2), 853-859. <https://doi.org/10.1093/jee/toy043>
- Ribeiro, L.M.S., Wanderley-Teixeira, V., Ferreira, H.N., Teixeira, A.A.C., and Siqueira, H.A.A. 2014.** Fitness costs associated with field-evolved resistance to chlorantraniliprole in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). Bulletin of Entomological Research, 104 88-96.
- Ribeiro, N.D.C., CAMARA, C.A.G.D., MELO, J.P.R.D., & MORAES, M. 2020.** Insecticidal potential of *Citrus* and *Mango* essential oils and selected constituents on silverleaf whitefly. Revista Caatinga, 33, 90-99.
- Ribeiro, N.C., Câmara, C.A.G., Melo, J.P., Moraes, M.M., 2019.** Acaricidal properties of essential oils from agro-industrial waste products from citric fruit against *Tetranychus urticae*. J. Appl. Entomol., 143, 731-743. <https://doi.org/10.1111/jen.12642>.
- Santana, M.F., Monteiro, V.B., de Melo, J.P.R., & de Moraes, M.M. 2021.** Bioactivity of essential oils for the management of *Tetranychus urticae* Koch and selectivity on its natural enemy *Neoseiulus californicus* (McGregor): A promising combination for agroecological systems. Acarologia, 61(3), 564-576. <https://dx.doi.org/10.24349/acarologia/20214451>
- Santana, M.L., Melo, J.P.D., Camara, C.A.D., MORAES, M.M., ARAUJO, C.A., Vasconcelos, G.J.D., ... & Zartman, C.E. 2022.** Lethal and sublethal effects of essential oils from *Piper capitarianum* Yunck and *Piper krukoffii* Yunck on *Plutella xylostella* L. Anais da Academia Brasileira de Ciências, 94. p. e20200072, 2022.
- Singh, B., & Sharma, R.A. 2015.** Plant terpenes: defense responses, phylogenetic analysis, regulation and clinical applications. 3 Biotech, 5(2), 129-151. <https://doi.org/10.1007/s13205-014-0220-2>
- Situmorang, J., & Djukri, D. 2018.** Pengaruh Pemberian Variasi Kadar Air Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Sebagai Pestisida Nabati Pengendalian Hama *Plutella xylostella* Pada Tanaman Sawi (*Brassica juncea*). Kingdom (The Journal of Biological Studies), 7(1), 28-43.
- Yi, C.G., Hieu, T.T., Lee, S.H., Choi, B.R., Kwon, M., & Ahn, Y.J. 2016.** Toxicity of *Lavandula angustifolia* oil constituents and spray formulations to insecticide-susceptible and

pyrethroid-resistant *Plutella xylostella* and its endoparasitoid *Cotesia glomerata*. Pest Management Science, 72(6), 1202-1210. <https://doi.org/10.1002/ps.4098>

Tabela 1. Toxicidade larval ($\mu\text{l mL}^{-1}$) do inseticida sintético e botânico comercial e os óleos essenciais do gênero *Syzygium*, *Citrus* e *Mentha* sobre *P. xylostella*, após 48 horas de exposição.

Ingredientes ativo	População	N	CL ₁₀ (95% I.C.)	CL ₅₀ (95% I.C.)	CL ₉₀ (95% I.C.)	Inclinação $\pm$ E.P.	χ^2 (G.L.)
<i>Citrus aurantium</i>	PX-S	420	1,52 (0,49-2,81)	17,27 (11,95 – 27,48)	130,17 (36,28-224,06)	1,21 $\pm$ 0,21	3,89 (4)
	PX-R	356	2,61 (0,32-5,32)	15,13 (8,07 – 45,72)	87,54 (33,51-2.323)	1,68 $\pm$ 0,17	17,39 (4)
<i>Citrus limon</i>	PX-S	420	9,05 (6,96-10,59)	14,12 (12,44 – 15,74)	38,27 (29,40-56,74)	6,62 $\pm$ 1,00	0,52 (4)
	PX-R	484	9,87 (3,42-15,33)	50,08 (32,00 – 143,17)	255,32 (87,53-423,11)	1,81 $\pm$ 0,39	5,64 (5)
<i>Mentha spicata</i>	PX-S	420	2,06 (1,69-2,39)	5,20 (4,69-5,84)	13,11 (10,83-17,07)	3,19 $\pm$ 0,28	7,78 (5)
	PX-R	540	2,89 (2,08-3,57)	5,94 (5,10 – 6,79)	21,91 (16,25-32,36)	4,09 $\pm$ 0,52	3,97 (6)
<i>Syzygium aromaticum</i>	PX-S	478	0,61 (0,49-0,82)	4,30 (3,50-5,30)	31,40 (22,40-48,60)	1,48 $\pm$ 0,12	5,41 (6)
	PX-R	418	1,20 (0,7-1,70)	7,66 (6,10-9,30)	47,77 (35,4-70,80)	1,61 $\pm$ 0,14	4,13 (5)
Clorantpriliprole	PX-S	360	0,062 (0,042-0,083)	0,302 (0,250-0,366)	1,46 (1,07-2,21)	1,87 $\pm$ 0,17	4,44 (4)
	PX-R	415	0,578 (0,378-0,781)	2,04 (1,70-2,38)	7,28 (6,04-9,23)	2,33 $\pm$ 0,22	6,68 (5)
Azadiractina	PX-S	420	0,048 (0,031-0,066)	0,328 (0,266-0,408)	2,24 (1,57-3,61)	1,53 $\pm$ 0,13	1,74 (5)
	PX-R	420	0,121 (0,069-0,180)	0,978 (0,783-1,217)	7,90 (5,38-13,52)	1,41 $\pm$ 0,13	8,21 (5)

PX-S=*P. xylostella* suscetível; PX-R= *P. xylostella* resistente; N=Número total de insetos por bioensaio; CL₅₀=Concentração letal para matar 50% dos indivíduos; IC=Intervalo de confiança; CL₉₀=Concentração letal para matar 90% dos indivíduos; EP=Erro padrão da média; χ^2 =Qui-quadrado; GL=Grau de liberdade.

Tabela 2. Inibição alimentar (IA) causada pela ação da concentração subletal CL₁₀ (µl . mL⁻¹) do inseticida botânico comercial com ingrediente ativo azadiractina e os óleos essenciais do gênero *Syzygium*, *Citrus* e *Mentha* para a praga, *P. xylostella*, após 24 horas de exposição.

Ingredientes ativo	População	N	CL ₁₀ (95% I.C.)	IA (%) (95% I.C.)
<i>Citrus aurantium</i>	PX-S	24	1,52	66,79± 1,38
	PX-R	24	2,61	59,41 ± 0,91
<i>Citrus limon</i>	PX-S	24	9,05	89,58±8,44
	PX-R	24	9,87	41,66±5,25
<i>Mentha spicata</i>	PX-S	24	2,06	63,22 ± 1,59
	PX-R	24	2,89	76,35±7,32
<i>Syzygium aromaticum</i>	PX-S	24	0,61	91,79 ± 3,46
	PX-R	24	1,20	87,98 ± 4,01
Cloranthraniliprole ^(NAIA)	PX-S	24	0,062	-
	PX-R	24	0,578	-
Azadiractina	PX-S	24	0,048	58,51 ± 1,09
	PX-R	24	0,121	17,46 ± 2,28

Número total de insetos por bioensaio; PX-S=*P. xylostella* suscetível; PX-R= *P. xylostella* resistente; IA= Inibição Alimentar dos indivíduos; IC=Intervalo de confiança para 95%; EP=Erro padrão da média; NAIA= Produto Não apresentou Atividade de Inibição Alimentar.

CAPÍTULO 3

BIOLOGIA DE *Plutella xylostella* (LINNAEUS, 1758) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) EXPOSTAS A CONCENTRAÇÕES SUBLETAIS DE ÓLEOS ESSENCIAIS DO GÊNERO *Citrus* e *Mentha*¹

JONHOSSON GUILHERME FERREIRA LIMA², VANESKA BARBOSA MONTEIRO², JOÃO PAULO
RAMOS DE MELO² & CLÁUDIO AUGUSTO GOMES DA CÂMARA³

² Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, Departamento de Agronomia –
Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos,
52171-900 Recife, PE, Brasil.

³Programa de Pós-Graduação em Química, Departamento de Química Universidade Federal
Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE,
Brasil.

¹Lima, J. G. F., V. B. Monteiro, J. P. R. de Melo & C. A. G. Da Câmara. Biologia de *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) expostas a concentrações subletais de óleos essenciais do gênero *Citrus* e *Mentha*. A ser submetido.

RESUMO - Os inseticidas naturais apresentam diversos efeitos, suas substâncias bioativas podem ser tóxicas, repelentes, atuar no comportamento e induzir alterações nos diferentes estágios de desenvolvimento de insetos. Trabalhos acerca da temática “efeitos subletais de inseticidas naturais na biologia de *P. xylostella*” são escassos ou incompletos quando tratamos de alterações biológicas. As espécies de plantas que foram usadas são: *Mentha spicata* L. (Hortelã Verde), *Citrus aurantium* (Limão Taiti) e *Citrus limon* (Limão Siciliano). A comparação do desempenho das duas populações de *P. xylostella* (PX-S e PX-R), mediante a análise pela tabela de vida de fertilidade, ao longo da geração F₁, mostrou alguns resultados diferentes, a aplicação das concentrações subletais dos óleos mencionados agiram como prolongadores da longevidade de fêmeas, quando comparamos com o controle negativo. Podemos também destacar que após aplicação de *M. spicata* atingiu 109,8 ovos/fêmea, sendo apenas 30,8 ovos/fêmea em seu controle negativo. Diante dos resultados, a tabela de vida de fertilidade de *Plutella xylostella* demonstra que a população PX-R apresentou um desempenho menor para a taxa líquida de aumento populacional (R₀) em relação a população PX-S. As duas populações apresentam valores distintos em todos os parâmetros da tabela de vida de fertilidade e com isso podemos afirmar que por PX-R ser considerada resistente, apresenta um menor desempenho populacional, sempre com valores abaixo de PX-S, exceto em seu tempo de geração (T). A respeito das menores taxas de eclosão, quando comparamos a PX-S com a PX-R (população resistente) é o custo adaptativo que pode estar relacionado aqueles indivíduos resistentes.

PALAVRAS-CHAVE: Tabela de vida de fertilidade, efeito subletal, traça-das-crucíferas

BIOLOGY OF *Plutella xylostella* (LINNAEUS, 1758) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE)
EXPOSED TO SUBLETHAL CONCENTRATIONS OF ESSENTIAL OILS OF THE GENUS
Citrus and Mentha

ABSTRACT – Natural insecticides have several effects, their bioactive substances can be toxic, repellent, behavior changes and induce changes in different stages of development of insects. Articles with the theme “sublethal effects of natural insecticides on the biology of *Plutella xylostella*” are scarce or incomplete when dealing with biological alterations. The plant species that were used are: *Mentha spicata* L. (Green Mint), *Citrus aurantium* (Tahiti lemon) and *Citrus limon* (Sicilian lemon). The comparison of the performance of the two populations of *P. xylostella* (PX-S and PX-R), through the analysis by the fertility life table, along the F1 generation, showed some different results, the application of the sublethal concentrations of the mentioned oils acted as prolongers of female longevity, when compared with the negative control. We can also point out that after application of *M. spicata* it reached 109.8 eggs/female, with only 30.8 eggs/female in its negative control. In view of the results, the fertility life table of *P. xylostella* demonstrates that the PX-R population presented a lower performance for the net rate of population increase (R_0) in relation to the PX-S population. The two populations have different values in all parameters of the fertility life table and with that we can say that because PX-R is considered resistant, it presents a lower population performance, always with values below PX-S, except in its time of residence. generation (T). Regarding lower hatching rates, when we compare PX-S with PX-R (resistant population), it is the adaptive cost that may be related to those resistant individuals.

KEY WORDS: Fertility life table, sublethal effect, diamondback moth

Introdução

Os inseticidas naturais apresentam diversos efeitos, suas substâncias bioativas podem ser tóxicas, repelentes, atuar no comportamento e induzir alterações nos diferentes estágios de desenvolvimento de insetos (Moraes & Marinho-Prado 2016).

Trabalhos acerca da temática “efeitos subletais de inseticidas naturais na biologia de *P. xylostella*” são escassos ou incompletos quando tratamos de alterações biológicas. Muitos trabalhos levam em consideração Concentrações letais (Maiores ou iguais a CL₅₀), como observado em: Sangha *et al.* (2017), onde a taxa de eclosão foi reduzida na aplicação de óleo essencial de *Eucalyptus polybractea*. Em Carvalho *et al.* (2010) a concentração mais baixa de sinigrina, um metabólito secundário presente em brássicas, produziu o maior potencial reprodutivo da praga (fertilidade). Em Torres *et al.* (2001) houve o alongamento na duração do estágio larval ao aplicar extrato aquoso de plantas das espécies *Melia azedarach* L., *Azadirachta indica* A. Juss. e *Trichilia pallida* Sw.

Desta forma, o conhecimento sobre o mecanismo de bioatividade a partir do uso de óleos essenciais dessas plantas evidenciará os níveis de ação que deveriam ser adotados dentro de uma perspectiva de Manejo Integrado de Pragas (MIP), em especial, *P. xylostella*.

Assim, este trabalho objetivou-se avaliar os requisitos adaptativos de sobrevivência de *P. xylostella* ao serem expostas a concentrações subletais dos óleos essenciais de plantas pertencentes aos gêneros *Citrus* e *Mentha*, das espécies *C. aurantium*, *C. limon* e *M. spicata*.

Material e Métodos

A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Investigação Química de Inseticidas Naturais (LABIQIN) do Programa de Pós Graduação em Entomologia (PPGE), Departamento de Agronomia, Área de Fitossanidade da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), nas seguintes condições: $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ de temperatura e $70\pm 15\%$ de umidade relativa e 12h de fotofase.

Obtenção dos óleos essenciais.

Foram utilizados OEs comerciais das espécies *Mentha spicata* L., *Syzygium aromaticum*, *Citrus aurantium* e *Citrus limon*, adquiridos da empresa FERQUIMA Ind. e Com. Ltda. Todos os OEs foram armazenados sob refrigeração em recipientes de vidros âmbar vedados antes dos estudos. Os inseticidas com ingrediente ativo (i.a.) azadiractina (Azamax[®] 12 g i.a./L C.E., E.I.D. Parry), e clorantroliprole (Premio[®] 200 g i.a./L S.C., DuPont Ltda) foram adquiridos em lojas especializadas em produtos agropecuárias da cidade de Recife/PE e utilizados como controle positivos.

Obtenção dos formulados.

Para obtenção de um produto, os formulados foram elaborados com óleo essencial por litro de solução aquosa contendo água destilada, 1% de ácido dodecilbenzeno sulfônico (Willfix) e 0,1% de sulfóxido de dimetilo (DMSO), obtendo-se formulações a base de óleos essenciais para

as diluições utilizadas nos bioensaios. Foram utilizadas as Concentrações Letais obtidas através dos testes de toxicidade do Capítulo 2, apresentadas na Tabela 1.

Obtenção da variedade de couve.

A couve (*Brassica oleracea*) utilizada nos bioensaios e criação foi da variedade *acephala*. As folhas de couve foram do tipo orgânica, obtidas em estabelecimentos comerciais específicos para este tipo de produto (Feira de orgânicos de Camaragibe / Big Bompreço Casa-Forte).

Criação de *Plutella xylostella*.

As populações de traça-das-crucíferas foram obtidas da criação do Laboratório de Investigação Química de Inseticidas Naturais (LABIQIN) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Foram utilizadas duas populações, ambas criadas nas mesmas condições, um controle, susceptível ao clorantraniliprole (PX-S) e outra resistente ao clorantraniliprole (PX-R).

Os adultos da traça foram confinados em gaiolas plásticas transparentes circulares (12 cm de diâmetro x 15 cm de altura) com abertura lateral fechada com tela de náilon para ventilação. Dentro das gaiolas, discos de folhas de couve medindo oito centímetros de diâmetro foram oferecidos como substrato para postura, sobrepostos a um papel de filtro e estes sobre esponjas de igual tamanho, embebidas em água. Também foi oferecido mel a 10% diluído em água e impregnado em pedaços de algodão colocados dentro das gaiolas de criação como alimento para os adultos. Os discos contendo as posturas foram transferidos para recipientes plásticos retangulares (6,0 x 11 x 16 cm) com abertura na tampa, fechada com tecido “voil” para

ventilação. Após a eclosão das larvas, folhas frescas de couve foram oferecidas como alimento, as quais serão obtidas de produção orgânica e trocadas diariamente até a formação das pupas. As pupas foram coletadas e mantidas em tubos de ensaio cobertos com filme plástico PVC contendo pequenas perfurações para permitir trocas gasosas, até a emergência dos adultos, que serão transferidos para as gaiolas de criação de adultos.

As folhas de couve eram lavadas com solução de hipocloreto de sódio a 1%, para evitar possível ação de patógenos sobre a população da traça das crucíferas antes de serem oferecidas as larvas (para alimentação) e adultos (para oviposição) das duas populações de *P. xylostella*: suscetível (PX-S) e resistente (PX-R) ao clorantraniliprole.

Avaliação dos parâmetros biológicos de *Plutella xylostella*.

A avaliação dos parâmetros biológicos foi a mesma utilizada por Han *et al.* (2012), onde por meio de exposição a concentração subletal (CL_{10}) dos produtos avaliados (óleo essencial ou composto isolado) foram avaliadas a sobrevivência de larvas; taxa de pupação; taxa de emergência; fecundidade; longevidade de adultos; viabilidade de ovos; duração larval da prole e viabilidade larval da prole.

Avaliação da sobrevivência larval e pupal.

Sessenta lagartas tratamento foram distribuídas igualmente em seis placas de petri. Em cada placa foram colocados discos foliares de 5 cm de couve manteiga (*Brassica oleracea* var. *acephala*) tratadas pelo método de imersão com as concentrações subletais (CL_{10}) dos produtos avaliados (óleo essencial ou composto isolado), e as folhas foram trocadas diariamente até todas

as lagartas atingirem a fase de pupa. O mesmo processo foi feito com um controle negativo (água destilada, monolaurato de sorbitano polioxietileno e ácido dodecilbenzeno sulfônico).

Após o período de 48 horas, as lagartas foram observadas e contabilizadas diariamente, identificando a presença de lagartas mortas ou pupas. As pupas foram transferidas para placas de Elisa, devidamente identificadas, onde ficaram até a emergência dos adultos. Para cada tratamento foram retiradas 50% das pupas com idade de 24 horas, escolhidas ao acaso, e pesadas em uma balança analítica de precisão de 0,0001 g. Nessa fase foi calculada a taxa de indivíduos que empuparam, período pupal e emergência de adultos.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e as médias foram separadas usando o teste de Tukey com diferença estatística quando $P < 0,05$. O teste de sobrevivência Log-Rank avaliou se a exposição aos produtos avaliados (óleo essencial ou composto isolado) influenciou a ocorrência da mortalidade, diminuindo a expectativa de vida das larvas. Todas as análises serão realizadas utilizando o *software* SAS (SAS Institute 2001).

Efeito sobre a longevidade de adultos, fecundidade e fertilidade.

Casais adultos de *P. xylostella*, com idade entre 24-36 horas advindos da “avaliação da sobrevivência larval e pupal” foram separados aleatoriamente em recipientes plásticos descartáveis de 300ml. Os recipientes foram perfurados com alfinete para permitir a passagem de ar e serão devidamente identificados. A abertura superior foi vedada com plástico filme PVC. Com o auxílio de um estilete, foi feita uma abertura no plástico filme PVC, e colocada uma pequena porção compacta de algodão hidrófilo embebido em solução de mel a 10% na parte superior do recipiente, que era trocado diariamente.

Na parte inferior foi inserido um disco de papel filtro umedecido e sobre ele um disco foliar de 2,5 cm de couve manteiga (*Brassica oleracea* var. *acephala*) para a oviposição das fêmeas. Devido ao habito das fêmeas depositarem seus ovos em diversas partes do recipiente, foi adotada a prática diária, durante todo o processo de postura, de retirada dos casais e acondiciona-los em novos recipientes. Somente os ovos sobre as folhas serão utilizados para observação da eclosão das larvas. Quando as posturas terminaram, o teste prosseguiu até a morte de todos os adultos para avaliar a longevidade dos adultos, com a troca do algodão embebido com solução de mel diariamente.

Discos foliares contendo as oviposições foram colocados em placas de petri, com todos os ovos contabilizados inicialmente. Diariamente as placas eram observadas e a quantidade de ovos eclodidos contabilizados. A eclosão do ovo foi considerada apenas quando estes apresentarem coloração transparente. A relação entre a quantidade inicial de ovos e o número de ovos eclodidos foi usada para calcular a fertilidade.

Para análise estatística da fecundidade e fertilidade, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e as médias foram submetidas ao teste de Tukey com diferença estatística quando $P < 0,05$. Para análise da longevidade de adultos, os dados foram submetidos ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. Todas as análises foram realizadas utilizando o programa estatístico SAS (SAS Institute 2001).

Efeito duração e viabilidade larval da prole.

Para o estudo do desenvolvimento larval da prole, 50 % de larvas apresentando a mesma idade, obtidas do teste de fertilidade, foram separadas em placas de petri. Um disco foliar de 5 cm será colocado em cada placa. Diariamente as placas foram observadas e as larvas encontradas

mortas foram contabilizadas. À medida que as larvas foram crescendo, eram transferidas para recipientes plásticos maiores contendo folhas de couve manteiga (*Brassica oleracea* var. *acephala*). Foi realizada a observação diária das larvas, e o experimento foi encerrado quando a última larva tratada com os produtos avaliados (óleo essencial ou composto isolado) não conseguirem formar pupa (mortalidade larval) ou até a última pupa formada de cada tratamento. Os dados da viabilidade e duração larval da geração F₁ foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e as médias foram submetidas ao teste de Tukey com diferença estatística quando $P < 0,05$. A análise foi realizada utilizando o programa estatístico SAS (SAS Institute 2001).

Resultados

Parâmetros biológicos de *Plutella xylostella*. A concentração subletal (CL₁₀) utilizada nos bioensaios dos parâmetros biológicos para os óleos essenciais aqui investigados são apresentadas na Tabela 1. Os parâmetros biológicos, taxa de pupação e emergência, taxa de eclosão, longevidade de adultos, viabilidade de ovos, duração larval (1° ao 4° instar) da prole e taxa de emergência da prole mensurados após exposição de larvas de 3° instar de *Plutella xylostella* ao controle negativo e aos óleos de *Citrus* e *Mentha*, são apresentados na Tabela 1.

Efeito sobre a longevidade de adultos, fecundidade e fertilidade. O efeito dos óleos de *Citrus* e *Mentha* sobre a longevidade de adultos, fecundidade e fertilidade, quando larvas de 3° instar foram expostas a dose subletal dos tratamentos está apresentado na Tabela 1. A aplicação das concentrações subletais dos óleos mencionados agiram como prolongadores da longevidade de fêmeas, quando comparamos com o controle negativo, apesar disto mesmo vivendo mais, a fêmea apenas ovipositou durante o período que consta na sua biologia controle, de 5 a 7 dias.

Quanto a fecundidade, o número de ovos por fêmea também aumentaram, principalmente na população de PX-R que em seu controle negativo possui uma média de 30,8 ovos e este número superou o dobro deste valor para todos os óleos. Podemos também destacar que após aplicação de *M. spicata* atingiu 109,8 ovos/fêmea. Entretanto a taxa de eclosão, ou seja, a capacidade dos ovos gerarem larvas que no Controle era 91%, diminuiu para PX-S nas concentrações subletais de *Citrus*, onde observamos 61% em *C. limon* e 68% *C. aurantium*. Com o aumento efetivo de número de ovos, as larvas advindas de ovos tratados com óleos demonstraram uma menor fertilidade, o que indica que o efeito da aplicação dos óleos sejam os desejados dentro do controle desta praga.

Efeito duração e viabilidade larval da prole.

O efeito dos óleos de *Citrus* e *Mentha* sobre a duração e viabilidade larval, quando larvas de *P. xylostella* foram expostas a dose subletal dos tratamentos está apresentado na Tabela 1. A duração média das larvas do 1º ao 4º instar para PX-R apresentou valores significativamente menores quando comparados aos de PX-S, tanto no controle, como nas subletais para todos os óleos estudados. Larvas de *P. xylostella* quando utilizado *C. limon* prolongou a duração do estágio (de 13,25 para 15,86 dias) na população susceptível. As larvas que tiveram o seu tempo de estágio prolongado, muitas destas (mais de 60%) não formaram pupa, com isso resultando em menor número de adultos.

Tabela de vida de fertilidade de *Plutella xylostella*. A comparação do desempenho das duas populações de *P. xylostella* (PX-S e PX-R), mediante a análise pela tabela de vida de fertilidade, ao longo da geração F₁, mostrou alguns resultados diferentes, sendo as médias dos parâmetros estimados apresentados na Tabela 3. A população PX-R apresentou menor taxa

líquida de aumento populacional (**R₀**), onde produziram 9,83 descendentes fêmeas na primeira geração, diferindo de REC (27,2), ainda em relação a PX-R sendo submetida a CL₁₀ dos óleos teve esse valor aumentado, sendo *Mentha spicata* com a maior quantidade 29,81. Em comparação das duas populações expostas ao óleo de *Mentha spicata* não houve diferença, o mesmo ocorreu com *Citrus aurantium*.

A taxa intrínseca de crescimento populacional (**r_m**), mostrou que as populações não apresentaram diferenças significativas neste parâmetro apresentando valores próximos que variaram de 0,100 a 1,199, sendo o menor valor referente a população PX-R e o maior para PX-S, as duas sobre controle negativo.

Quando comparamos o tempo de geração (**T**), todos os tratamentos demonstram que o tempo necessário para um indivíduo fêmea advindo de um ovo, venha a gerar outro ovo permanece significativamente o mesmo dentro da mesma população. Entre populações PX-S se mostra mais rápida completando o ciclo gastando em média 16,59 dias.

A razão finita de aumento (**λ**), ou seja, a razão de crescimento real do inseto representada pelo número de fêmeas produzidas por fêmea por dia, foi semelhante para PX-R no controle negativo e *Citrus limon* enquanto para PX-S apresentaram diferenças. *Mentha spicata* e controle negativo apresentaram diferença significativa em PX-R, respectivamente 1,17 (1,15 – 1,20) e 1,10 (1,07 – 1,14).

Quanto ao tempo para a população duplicar em número (**DT**), os resultados demonstram que PX-R leva quase o dobro de tempo em relação a PX-S no controle negativo (6,79 e 3,48 respectivamente). Tanto a aplicação de *M. spicata* e *C. limon* resultaram numa diminuição do DT de PX-R, enquanto que em PX-S os valores aumentaram nos *Citrus* (4,65 e 3,69) em relação ao controle (3,48).

Discussão

Diante dos resultados, a tabela de vida de fertilidade de *Plutella xylostella* demonstra que a população PX-R apresenta menor desempenho para a taxa líquida de aumento populacional (R_0) em relação a PX-S, caracterizada pelo menor número de descendentes, especificamente fêmeas. As duas populações apresentam valores distintos em todos os parâmetros da tabela de vida de fertilidade e com isso podemos afirmar que por PX-R ser considerada resistente, apresenta um menor desempenho populacional, sempre com valores abaixo de PX-S, exceto em seu tempo de geração (T).

As diferenças entre resultados podem estar relacionadas com as variações qualitativas e quantitativas no perfil químico dos óleos. Estes óleos provocaram um decréscimo significativo da eclosão de larvas (taxa de eclosão) diferindo estatisticamente do controle sendo 23-30% menores que o controle, estes resultados são observados na população susceptível.

A redução na taxa de eclosão de PX-S devido a *C. limon* e *C. aurantium* pode ser explicada com base no bioensaio de Ramar *et al.* (2014), onde mostraram que ovos de *Culex quinquefasciatus* foram bastante susceptíveis aos óleos essenciais de *C. limon* e *C. sinensis*, causando 97,50 % e 81,20 % de mortalidade, respectivamente, na concentração de 200 ppm. Outro bioensaio realizado por Delkhooon *et al.* (2013), observaram que óleo essencial da casca de *C. aurantium* pode ser usado para o controle de ovos de *Trialeurodes vaporariorum*. Se levarmos em consideração nossos resultados poderíamos supor que *P. xylostella* apresenta uma maior tolerância ao efeito do óleo sobre os ovos na sua população susceptível.

Com relação ao efeito prolongador de longevidade em fêmeas adultas provocado pelos óleos de *C. limon* e *C. aurantium* e *Mentha spicata*, apesar de sobreviver por mais tempo, Veiga

et al. 2010, observou que o número de ovos e a fertilidade ela diminui a partir do terceiro dia de oviposição.

Outro fator não menos importante a respeito das menores taxas na Tabela 2, quando comparamos a PX-S com a PX-R (população resistente) é o custo adaptativo que pode estar relacionado aqueles indivíduos resistentes. A respeito deste custo temos a pesquisa realizada por Ribeiro *et al.* 2014. Com relação a resistência a clorantraniliprole, trabalhos foram realizados e demonstraram que o nordeste brasileiro (especificamente o estado de Pernambuco) as populações estudadas apresentam alta chances de serem resistentes a este composto (Filho *et al.* 2023).

A aplicação de óleos essenciais de *Citrus aurantium*, *Citrus limon* e *Mentha spicata* desencadearam efeitos subletais na biologia de larvas e adultos de *P. xylostella*.

Agradecimentos

Eu agradeço à instituição de fomento a CAPES pela concessão da bolsa e a possibilidade de prorrogação, pois sem isto nada teria caminhado.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco pela oportunidade em fazer uma pós-graduação em Entomologia.

Ao meu comitê de orientação e a equipe do laboratório, pelo apoio e ajuda na execução das atividades.

Literatura Citada

Breda, M.O., J.V. Marques, E.J. Ferreira, R. Gonçalves & M.S. Fidelis. 2011. Inseticidas botânicos aplicados sobre *Aphis gossypii* e seu predador *Cycloneda sanguinea* em algodão-colorido. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 46(11), 1424-1431.

- Carvalho, J.S., S.A. Bortoli, R.T. Thuler, R.M. Goulart & H.X.L. Volpe. 2010.** Efeito de sinigrina aplicada em folhas de brássicas sobre características biológicas de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). *Acta Sci. Agron.* 32: 15-20.
- Delkhoon, S., M. Fahim, J. Hosseinzadeh, & O. Panahi, O. 2013.** Effect of lemon essential oil on the developmental stages of *Trialeurodes vaporariorum* West (Homoptera: Aleyrodidae). *Arch. Phytopathology Plant Protect.* 46: 569-574.
- Filho, J.G. da S., Farias, T.I. de, Melo, I.A. de, Santoro, K.R., Anton, S., & Badji, C.A. 2023.** High resistance levels in brazilian *Plutella xylostella* populations: needs for adjustments in field concentration. *Revista Caatinga*, 36(1), 53–60.
- Han, F., Wallberg, A., Webster, M.T. From where did the Western honeybee (*Apis mellifera*) originate?. 2012.** *Ecology and Evolution*, Uppsala, v.2, n.8, p.1949-1957
- Morais, L.A.S. de. & Marinho-Prado, J.S. 2016.** Plantas com atividade inseticida. In: Halfeld-Vieira, B. de A.; Marinho-Prado, J. S.; Nechet, K. de L.; Morandi, M. A. B.; Bettiol, W. *Defensivos agrícolas naturais: uso e perspectivas*. Brasília, DF: Embrapa, 2016. Cap. 19. p. 542-593.
- Ramar, M., S. Ignacimuthu & P.M. Gabriel. 2014.** Ovicidal and oviposition response activities of plant volatile oils against *Culex quinquefasciatus* say. *J. Entomol. Zool. Stud.* 2: 82-86.
- Ribeiro, L.M.S., V. Wanderley-Teixeira, H.N. Ferreira, Á.A.C. Teixeira & H. A. A. Siqueira. 2014.** Fitness costs associated with field-evolved resistance to chlorantraniliprole in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Bull. Entomol. Res.* 8: 1-9.
- Sangha, J.S., Astatkie, T. & Cutler, G.C. 2017.** Ovicidal, larvicidal, and behavioural effects of some plant essential oils on diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). *Can. Entomol.*, 149: 639-648.
- SAS Institute. 2001.** SAS/STAT User's guide, version 8.02, TS level 2MO. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Torres, A.L., R. Barros & Oliveira, J.D. 2001.** Efeito de extratos aquosos de plantas do desenvolvimento de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). *Neotropical Entomology*, 30: 151–156.
- Veiga, A.C.P., C.L.T.P. Viana, E.C. Pedroso, A.K. Otuka, M.A. Viana, V.L. Laurentis, A.M. Vacari, S.A. de Bortoli. 2010.** Biologia comparada de duas populações de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) em laboratório. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v. 28, n. 2 (Suplemento - CD Rom), p. 773-778.

Tabela 1. Efeito da dose subletal (CL₁₀) dos óleos essenciais de *Citrus limon*, *Citrus aurantium* e *Mentha spicata* sobre parâmetros biológicos de *Plutella xylostella* nas populações suscetível e resistente a clorantraniliprole.

Tratamento	Fecundidade		Taxa de Eclosão		Taxa de Pupação		Taxa de Emergência		Duração larval		Longevidade dos adultos (♀)	
	(ovos/fêmea)		(%)		(%)		(%)		1° ao 4° ínstar		(dias)	
População	PX-S	PX-R	PX-S	PX-R	PX-S	PX-R	PX-S	PX-R	PX-S	PX-R	PX-S	PX-R
Controle negativo	73,3	30,8	91	68	35	46	50	88	13,25	12,7	8,6	9,6
	±7,095	±18,539	±0,00	±0,00	±0,00	±0,00	±0,00	±0,00	±2,5	±0,50	±2,08	±0,89
<i>Citrus aurantium</i>	87,5	82,5	68	72	17	38	98	91	15,04	14	12,2	10,5
	±42,576	±22,591	±0,00	±0,00	±0,00	±0,00	±0,00	±00,00	±4,00	±4,50	±5,50	±2,88
<i>Citrus limon</i>	75	72	61	60	76	39	54	53	15,86	13,06	11,8	13,3
	±29,992	±26,123	±0,00	±0,00	±0,00	±0,00	±0,00	±0,00	±3,00	±2,00	±2,63	±2,80
<i>Mentha spicata</i>	-	109,8	-	73	-	6	-	46	-	14,85	-	14,0
		±52,686		±0,00		±0,00		±0,00		±3,50		±5,17

PX-S=*P. xylostella* suscetível; PX-R= *P. xylostella* resistente.

Tabela 2. Parâmetros da tabela de vida de fertilidade de duas populações (suscetível e resistente) de *Plutella xylostella* submetida a concentração subletal (CL₁₀) dos óleos de *Citrus limon*, *Citrus aurantium*, *Mentha spicata*.

Óleo essencial	População	R ₀	rm	DT	T	λ
<i>Citrus aurantium</i>	PX-S	21,87	0,148	4,65	20,72	1,16
		(12,89 – 30,86)	(0,121 – 0,181)	(3,61 – 5,48)	(18,76 – 21,98)	(1,12 – 1,19)
	PX-R	19,80	0,138	4,99	21,52	1,15
		(9,07 – 30,52)	(0,118 – 0,164)	(4,08 – 5,67)	(20,43 – 22,10)	(1,12 – 1,17)
<i>Citrus limon</i>	PX-S	22,72	0,187	3,69	16,67	1,20
		(13,12-32,32)	(0,163-0,212)	(3,18-4,16)	(16,38-16,97)	(1,17-1,23)
	PX-R	12,78	0,114	6,03	22,36	1,12
		(7,85-17,71)	(0,094-0,134)	(4,94-7,12)	(21,30-23,43)	(1,09-1,14)
<i>Mentha spicata</i>	PX-S	-	-	-	-	-
	PX-R	29,81	0,16	4,27	20,94	1,17
		(14.80– 44.81)	(0.14 – 0.18)	(3.59 – 4.76)	(20.02 – 21.25)	(1,15 – 1,20)
	PX-S	27,22	0,199	3,48	16,59	1,22
Controle Negativo*	PX-S	(20,78-33,68)	(0,179-0,218)	(3,14-3,82)	(15,73-17,44)	(1,19-1,24)
	PX-R	9,83	0,10	6,79	22,40	1,10
		(2,48 – 17,17)	(0,07 – 0,13)	(4,32 – 8,85)	(21,86 – 22,97)	(1,07 – 1,14)

PX-S= *P. xylostella* suscetível; PX-R = *P. xylostella* resistente; R₀ = Taxa líquida de aumento populacional; T = Tempo de geração; RM = Taxa intrínseca de crescimento populacional; λ = Razão finita de aumento; DT = Tempo para a população duplicar em número.

*controle negativo= solução de água + DMSO 0.1% + Willfix 1%.

CAPÍTULO 4

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Inseticidas naturais sempre foram utilizados através do conhecimento empírico e repassado em gerações através de crenças e pesquisas, testar e gerar resultados sobre os óleos essenciais são bastante importantes, tanto para a bolha acadêmica como para o público em volta da universidade. Nos últimos anos as pessoas tem cada vez mais utilizados óleos essenciais, sejam para acalmar, repelir insetos ou aromatizar ambientes. Quanto mais sabermos sobre a propriedades inseticidas de um óleo ou seus componentes, estamos próximos do combate ao uso exagerado de defensivos agrícolas sintéticos e mais pessoas possam se interessar pelo estudo na área.

Como pudemos observar os óleos apresentam diversas características e funções no controle de pragas, assim como na redução de danos ao meio ambiente e a população. Estes efeitos nas pragas são obtidos com baixas concentrações quando comparados a inseticidas sintéticos e estes podem apresentar baixa autodegradação e acabam chegando em nossas mesas.

A aplicação de concentrações subletais (CL₁₀) dos óleos essenciais de *Citrus aurantium*, *Citrus limon*, *Mentha spicata* e *Syzygium aromaticum* foram eficazes no controle de larvas de terceiro instar, causaram inibição alimentar e alterações na biologia o que comprova que podem ser utilizados para controle de populações de *P. xylostella*. Tanto os óleos de *Mentha* como o de *Citrus* apresentaram efeitos variados, apesar de que em alguns casos o efeito do prolongamento de sua fase larval acarretaria em mais tempo para a praga se alimentar, causar dano e prejuízos.

P. xylostella uma praga mundialmente conhecida, porém muito se tem a explorar com bioensaios com concentrações subletais de óleos essenciais, o Brasil é um país que tem uma flora muito diversa e com isso novas plantas, óleos e compostos podem ser “descobertos”.