

UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

ATIVIDADE BIOLÓGICA DE EXTRATOS DE *Piper aduncum* E *Piper hispidinervum*
SOBRE *Anticarsia gemmatalis* E *Spodoptera frugiperda*

DAIANE CARVALHO DE LUCENA

CAXIAS DO SUL

2015

DAIANE CARVALHO DE LUCENA

**ATIVIDADE BIOLÓGICA DE EXTRATOS DE *Piper aduncum* E *Piper hispidinervum*
SOBRE *Anticarsia gemmatalis* E *Spodoptera frugiperda***

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade de Caxias do Sul, visando a obtenção do grau de mestre em Biotecnologia.

Orientadora: Profa. Dra. Neiva Monteiro de Barros

Co-orientador: Prof. Dr. Wilson Castro Silva

CAXIAS DO SUL

2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Universidade de Caxias do Sul
UCS - BICE - Processamento Técnico

L935a Lucena, Daiane Carvalho de, 1987-
Atividade biológica de extratos de *Piper aduncum* e *Piper hispidinervum* sobre *Anticarsia gemmatalis* e *Spodoptera frugiperda* /
Daiane Carvalho de Lucena. – 2015.
64 f. : il. ; 30 cm

Apresenta bibliografia.
Dissertação (Mestrado) – Universidade de Caxias do Sul, Programa de
Pós-Graduação em Biotecnologia, 2015.
Orientação: Profª. Dra. Neiva Monteiro de Barros ; coorientação: Prof.
Dr. Wilson Castro Silva.

1. Pragas – Controle biológico. 2. Inseticidas vegetais. 3. Pimenta. I.
Título.

CDU 2. ed.: 632.937

Índice para o catálogo sistemático:

1. Pragas – Controle biológico	632.937
2. Inseticidas vegetais	632.951
3. Pimenta	582.674

Catalogação na fonte elaborada pela bibliotecária
Ana Guimarães Pereira – CRB 10/1460

DAIANE CARVALHO DE LUCENA

ATIVIDADE BIOLÓGICA DE EXTRATOS DE *Piper aduncum* e *Piper hispidinervum* SOBRE *Anticarsia gemmatalis* e *Spodoptera frugiperda*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia da Universidade de Caxias do Sul, visando à obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dra. Neiva Monteiro de Barros

Co-orientador: Prof. Dr. Wilson Castro Silva

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 17 DE DEZEMBRO DE 2015.



Orientador: Prof^a. Dra. Neiva Monteiro de Barros



Coorientador: Prof. Dr. Wilson Castro Silva



Prof. Dr. João Lúcio de Azevedo



Prof. Dr. Sidnei Moura e Silva



Prof. Dr. Wilson Sampaio de Azevedo Filho

AGRADECIMENTOS

À Dra. Neiva Monteiro de Barros, pelos ensinamentos, confiança, incentivo, amizade e principalmente por sua paciência ao me orientar;

Ao Dr. Wilson Castro Silva pela confiança e por me co-orientar;

À Dra. Lúcia Bertholdo Vargas, pelos ensinamentos, incentivo, amizade e ajuda nesse trabalho;

Ao Ms. Aaron Machado pela amizade e enorme ajuda nesse trabalho. Muito obrigada mesmo!

À Vanessa Bertholdo Vargas pela amizade e ajuda durante os bioensaios, sem a qual, não seria possível a realização deste trabalho. Muito obrigada!

À Tamires Silva Lopes pela ajuda durante os bioensaios, sem a qual, não seria possível a realização deste trabalho. Muito obrigada!

Ao Dr. Sidnei Moura por emprestar o seu laboratório para a extração e análises químicas dos extratos;

À toda equipe do Laboratório de Controle de Pragas da Universidade de Caxias do Sul por ter contribuído de alguma forma nesse trabalho.

Aos meus pais, Renato Lahn de Lucena e Neiva C. de Lucena, e meu marido Rodrigo P. Carvalho por terem acreditado em mim sempre. Vocês são meus exemplos. Obrigada por tudo!

À todos os meus amigos e familiares que contribuíram direta e indiretamente para a conclusão deste trabalho.

*“Tente ser uma pessoa de sucesso, mas
efetivamente tente ser uma pessoa de valor.”*

Albert Einsten

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	7
LISTA DE TABELAS	8
RESUMO	9
ABSTRACT	10
1. INTRODUÇÃO	11
2. OBJETIVOS	12
2.1 Objetivo Geral	12
2.2 Objetivos Específicos	12
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
3.1 Pragas Agrícolas	13
3.2 Controle de Pragas	14
3.3 Inseticidas Botânicos	15
3.4 Piperáceas	19
3.5 Atividade Inseticida do Gênero <i>Piper</i>	20
3.6 <i>Piper aduncum</i>	23
3.7 <i>Piper hispidinervum</i>	24
4. MATERIAL E MÉTODOS	26
4.1 Coleta e identificação do material botânico	26
4.2 Extratos vegetais	26
4.4 Bioensaios	27
4.5 Análise estatística	28
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
5.1 Análise Fitoquímica de <i>P. aduncum</i>	29
5.2 Análise Fitoquímica de <i>P. hispidinervum</i>	30
5.3 Atividade inseticida dos extratos hexânico, acetato de etila e etanólico de <i>Piper aduncum</i> sobre <i>Anticarsia gemmatilis</i> e <i>Spodoptera frugiperda</i>	32
5.4 Atividade inseticida dos extratos hexânico, acetato de etila e etanólico de <i>P. hispidinervum</i> sobre <i>A. gemmatilis</i> e <i>S. frugiperda</i>	35
5.5 Parâmetros Biológicos de <i>A. gemmatilis</i> e <i>S. frugiperda</i> alimentadas com dieta artificial contendo o extrato hexânico, acetato de etila e etanólico de folhas de <i>P. aduncum</i>	38
5.6 Parâmetros Biológicos de <i>A. gemmatilis</i> e <i>S. frugiperda</i> alimentadas com dieta artificial contendo o extrato hexânico, acetato de etila e etanólico de folhas de <i>P. hispidinervum</i>	44

6. CONCLUSÕES.....	50
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Ciclo biossintético dos metabólitos secundários.....	18
Figura 2: Regiões onde são encontradas espécies do gênero <i>Piper</i>	19
Figura 3: Estruturas moleculares de alguns compostos fenólicos encontrados em <i>Piper</i>	22
Figura 4: <i>Piper aduncum</i>	24
Figura 5: <i>Piper hispidinervum</i>	25
Figura 6: Esquema geral para a obtenção de extratos das plantas.....	26
Figura 7: Composto majoritário encontrado nos extratos hexânico e acetato de etila de <i>P. aduncum</i> através da análise por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas.	29
Figura 8: Compostos majoritários identificados no extrato hexânico (Apiol) e acetato de etila (Pinocembrin) de <i>P. hispidinervum</i> através da análise por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas.....	32
Figura 9: Mortalidade cumulativa de <i>Anticarsia gemmatalis</i> e <i>Spodoptera frugiperda</i> alimentadas com dieta artificial contendo extratos: A) hexânico, B) acetato de etila e C) etanólico de folhas de <i>P. aduncum</i>	33
Figura 10: Mortalidade cumulativa de <i>A. gemmatalis</i> e <i>S. frugiperda</i> alimentadas com dieta artificial contendo extratos de folhas de <i>P. hispidinervum</i> : A) hexânico, B) acetato de etila e C) etanólico.	37
Figura 11: A) Pupa de <i>A. gemmatalis</i> deformada. B) Adultos de <i>A. gemmatalis</i> com malformação, provindos de ensaios com dieta artificial contendo o extrato hexânico de folhas de <i>P. hispidinervum</i>	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Percentual de metabólitos secundários identificados em estudos fitoquímicos realizados com espécies de <i>Piper</i>	20
Tabela 2: Alguns compostos fenólicos presentes em diversas espécies do gênero <i>Piper</i> com atividade inseticida.	22
Tabela 3: Compostos identificados nos extratos hexânico, acetato de etila e etanólico das folhas de <i>P. aduncum</i> através da análise por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas.	29
Tabela 4: Compostos identificados nos extratos hexânico e acetato de etila das folhas de <i>P. hispidinervum</i> através da análise por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas.	31
Tabela 5: Concentração Letal Mediana (CL50) dos extratos hexânico, acetato de etila e etanólico de <i>P. aduncum</i> sobre <i>A. gemmatalis</i> e <i>S. frugiperda</i>	35
Tabela 6: Concentração Letal Mediana (CL50) dos extratos hexânico, acetato de etila de <i>P. hispidinervum</i> sobre <i>A. gemmatalis</i> e <i>S. frugiperda</i>	38
Tabela 7: Parâmetros biológicos de <i>A. gemmatalis</i> e <i>S. frugiperda</i> alimentadas com dieta artificial contendo o extrato hexânico de folhas de <i>P. aduncum</i>	40
Tabela 8: Parâmetros biológicos de <i>A. gemmatalis</i> e <i>S. frugiperda</i> alimentadas com dieta artificial contendo o extrato acetato de etila de folhas de <i>P. aduncum</i>	41
Tabela 9: Parâmetros biológicos de <i>A. gemmatalis</i> e <i>S. frugiperda</i> alimentadas com dieta artificial contendo o extrato etanólico de folhas de <i>P. aduncum</i>	42
Tabela 10: Parâmetros biológicos de <i>A. gemmatalis</i> e <i>S. frugiperda</i> alimentadas com dieta artificial contendo o extrato hexânico de folhas de <i>P. hispidinervum</i>	45
Tabela 11: Parâmetros biológicos de <i>A. gemmatalis</i> e <i>S. frugiperda</i> alimentadas com dieta artificial contendo o extrato acetato de etila de folhas de <i>P. hispidinervum</i>	47
Tabela 12: Parâmetros biológicos de <i>A. gemmatalis</i> e <i>S. frugiperda</i> alimentadas com dieta artificial contendo o extrato etanólico de folhas de <i>P. hispidinervum</i>	48

RESUMO

Piper aduncum naturalmente encontrada na Amazônia e no sudeste do Brasil e *Piper hispidinervum* nativa do Acre são conhecidas pelos seus metabólitos secundários com atividade sobre insetos. Dentre os principais insetos-praga associados à produção agrícola, destacam-se *Anticarsia gemmatalis* e *Spodoptera frugiperda*. Este estudo objetivou avaliar os efeitos dos extratos hexânico, acetato de etila e etanólico de folhas de *P. aduncum* e *P. hispidinervum* sobre a mortalidade, duração dos períodos larval e pupal, peso, largura e comprimento das pupas de *A. gemmatalis* e *S. frugiperda*. A mortalidade larval de *A. gemmatalis* e *S. frugiperda* foi afetada pelos extratos de *P. aduncum* e *P. hispidinervum*. As taxas de mortalidade de *A. gemmatalis* nos ensaios com *P. hispidinervum* foram de 100% (hexano e acetato de etila) com CL₅₀ de 2,34 e 4,93 mg/mL, respectivamente, seguido pelos extratos de *P. aduncum* com 93,3% (hexano) e 90% (acetato de etila) com CL₅₀ de 6,35 e 5,79 mg/mL, respectivamente. Com o extrato etanólico de ambas as plantas, houve baixas taxas de mortalidade variando de 10,0% a 23,3%. A duração da fase larval foi afetada em todos os extratos testados, tanto em *A. gemmatalis* quanto em *S. frugiperda*. A duração da fase pupal de *S. frugiperda* não foi afetada nos extratos acetato de etila de *P. aduncum* e etanólico de *P. hispidinervum*. O peso das pupas de ambos os insetos foi reduzido em todos os extratos das duas plantas. Alterações no comprimento e na largura das pupas foram observadas apenas em extratos de *P. hispidinervum*. Malformações em pupas e adultos de *A. gemmatalis* ocorreram em extrato hexânico de *P. hispidinervum*. Esses efeitos podem ser explicados pela presença de fenilpropanóides e sesquiterpenos nos extratos de *P. aduncum* e de fenilpropanóides, sesquiterpenos, um monoterpene e um flavonóide nos extratos de *P. hispidinervum*, identificados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. Assim, essas plantas podem apresentar potencial inseticida no controle de *A. gemmatalis* e *S. frugiperda*.

ABSTRACT

Piper aduncum found naturally in the Amazon and in southeastern Brazil and *Piper hispidinervum* Acre native are known for their secondary metabolites with biological activity on insects. Among the main insect pests associated with agricultural production, stand out *Anticarsia gemmatalis* and *Spodoptera frugiperda*. This study evaluated the effects of extracts hexane, ethyl acetate and ethanol leaves of *P. aduncum* and *P. hispidinervum* on mortality, length of larval and pupal periods, weight, width and length of the pupae of *A. gemmatalis* and *S. frugiperda*. The larval mortality *A. gemmatalis* and *S. frugiperda* was affected by the extracts *P. aduncum* and *P. hispidinervum*. Mortality rates in *A. gemmatalis* with *P. hispidinervum* assays were 100% (hexane and ethyl acetate) to LC₅₀ of 2.34 and 4.93 mg / mL, respectively, followed by *P. aduncum* extracts 93,3% (hexane) and 90% (ethyl acetate) LC₅₀ of 6.35 and 5.79 mg / mL, respectively. With the ethanolic extracts of both plants was low mortality rates ranging from 10% to 23.3%. The larval stage was affected in all the extracts tested, both in *A. gemmatalis* as in *S. frugiperda*. The duration of the pupal stage of *S. frugiperda* was not affected in ethyl acetate extracts of *P. aduncum* and ethanol of *P. hispidinervum*. The weight of the pupae of both insects was reduced by all extracts of the two plants. Changes in the length and width of the pupae were observed only in *P. hispidinervum* extracts. Malformations in pupae and adults of *A. gemmatalis* occurred in hexane extract of *P. hispidinervum*. These effects can be explained by the presence of phenylpropanoids and sesquiterpenes in *P. aduncum* extracts and phenylpropanoids, sesquiterpenes, a monoterpene and a flavonoid in *P. hispidinervum* identified by gas chromatography coupled to mass spectrometry. Thus, these plants could present potential insecticide in control of *A. gemmatalis* and *S. frugiperda*.

1. INTRODUÇÃO

A cultura da soja e do milho tem ocupado uma extensa área de cultivo no Rio Grande do Sul formando agroecossistemas muito simplificados e vulneráveis. Com os benefícios dessas culturas surgiram problemas, tais como o uso indiscriminado de agrotóxicos, com impactos adversos sobre o ambiente. São evidentes as consequências ecológicas negativas do uso excessivo destes produtos, para a saúde humana, quanto para a contaminação do solo, água, impactando na cadeia alimentícia e outros.

Todos estes fatores têm direcionado pesquisas para encontrar medidas de controle menos prejudiciais ao ambiente. Uma das alternativas para o controle de *Anticarsia gemmatilis* e *Spodoptera frugiperda* têm sido a utilização de produtos naturais com a finalidade de viabilizar um produto ecologicamente mais seguro. O uso de plantas no controle de pragas é de fundamental importância para agricultura familiar e para o desenvolvimento sustentável. A grande diversidade de plantas no mundo possibilita a pesquisa de novos produtos que poderão vir a substituir ou diminuir o uso de defensivos químicos. Diversas plantas de importância toxicológica tem se destacado, tais como *Piper aduncum* e *Piper hispidinervum*. Pesquisas realizadas reportam que essas plantas apresentam atividade inseticida e antimicrobiana.

Entretanto, não são conhecidos na literatura trabalhos que demonstrem o efeito inseticida de extratos dessas plantas sobre *Anticarsia gemmatilis* e *Spodoptera frugiperda*. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a ação dos extratos hexânico, acetato de etila e etanólico das plantas *P. aduncum* e *P. hispidinervum* sobre *A. gemmatilis* e *S. frugiperda*. e caracterização química destes extratos.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a atividade inseticida dos extratos de *Piper aduncum* e *Piper hispidinervum* sobre as espécies de noctuídeos *Anticarsia gemmatalis* e *Spodoptera frugiperda*.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar o potencial inseticida de extratos hexânico, acetato de etila e etanólico de *P. aduncum* e *P. hispidinervum* sobre *A. gemmatalis* e *S. frugiperda*.
- Avaliar os efeitos secundários dos extratos sobre parâmetros biológicos de *A. gemmatalis* e *S. frugiperda*.
- Analisar fitoquimicamente os extratos hexânico, acetato de etila e etanólico de folhas de *P. aduncum* e *P. hispidinervum* por meio de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Pragas Agrícolas

São consideradas pragas os organismos que apresentam um aumento da sua densidade populacional em níveis anormais e que possam afetar direta ou indiretamente a espécie humana, trazendo algum tipo de perda econômica (Brechelt, 2004). O *status* de praga de uma determinada população de organismos está diretamente relacionado com a abundância de indivíduos, bem como o dano que os mesmos podem causar (Gullan & Cranston, 2007). Dentre os diferentes tipos de pragas conhecidas, se destacam os insetos, os quais são responsáveis por causar prejuízos da ordem de bilhões de dólares por ano em todo o mundo (Parra et al., 2002).

Os níveis de abundância de pragas são determinados por características biológicas e ecológicas das espécies e do ambiente. Os agroecossistemas apresentam todas as características ideais para o desenvolvimento de pragas, ou seja, possuem duração limitada, ocorrem de forma abrupta, são formados por plantas da mesma espécie e idade (Garcia, 2002). Essas características não ocorrem em ambientes naturais, onde há uma diversidade de espécies que interagem no tempo e no espaço.

Conforme os níveis populacionais e a frequência de ocorrência, as pragas podem ser classificadas como: a) pragas-chave: são espécies que sempre ocorrem em níveis populacionais elevados, com pouca variação desses níveis a cada ano, que, se não controladas, podem causar elevados danos econômicos. Geralmente as plantas cultivadas apresentam poucas espécies referidas como pragas-chave (Garcia, 2002; Brechelt, 2004). b) pragas ocasionais: são espécies cujo nível populacional se apresenta em quantidade prejudicial somente em determinadas épocas. Geralmente apresentam baixo nível populacional, não apresentando importância econômica. O rápido incremento populacional pode estar relacionado às condições ambientais favoráveis ou com desequilíbrios causados pelo homem (Brechelt, 2004). c) pragas secundárias: são espécies que geralmente ocorrem em níveis populacionais baixos, mas podem apresentar importância econômica com o aumento da população. Este aumento está relacionado com algum desequilíbrio ambiental, provavelmente oriundo de práticas inadequadas de manejo (Pedigo & Rice, 1996).

A cultura da soja tem destaque mundial por apresentar significativa importância socioeconômica, sendo a cultura agrícola brasileira que mais cresceu nas últimas três décadas, correspondendo a 49% da área plantada em grãos no país. Além de ser componente essencial

na fabricação de rações animais, é crescente a utilização do grão da soja na alimentação humana (MAPA, 2015).

Anticarsia gemmatalis (Hübner, 1818), conhecida como lagarta-da-soja, é uma das principais pragas da soja (Oliveira et al., 1993), podendo causar desfolhamento que pode chegar a 100% (Kogan et al., 1977). Sua incidência nas lavouras ocorre a partir do mês de novembro, nas regiões ao Norte do Estado do Paraná, expandindo-se nos meses de dezembro a janeiro para as demais do Sul do país. O controle dessa praga é realizado utilizando uma grande quantidade de inseticidas (Kogan et al., 1977). Em algumas regiões é comum a utilização de mais de cinco aplicações de inseticidas na safra. Esse uso exagerado de inseticidas favorece o aumento da população de insetos resistentes aos produtos utilizados e a diminuição da diversidade de agentes de controle (Cruz & Monteiro, 1999). *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797), conhecida como lagarta-do-cartucho, destaca-se por se alimentar em mais de 80 espécies de plantas, incluindo o algodoeiro, milho e soja (Pogue, 2002). *S. frugiperda* é considerada uma praga extremamente polífaga que, além de causar perdas significativas na cultura do milho, seus surtos tem ocasionado perdas relevantes também no algodão, soja e solanáceas cultivadas (Capinera, 2002; Pogue, 2002; Bastos & Torres, 2004).

Na cultura do milho, a lagarta de *S. frugiperda* tem o cartucho como seu nicho preferido (Cruz & Monteiro, 1999), enquanto que na soja, as lagartas se alimentam inicialmente das folhas, passando depois a consumir também vagens na fase inicial de formação (Barros et al., 2010).

3.2 Controle de Pragas

Atualmente, uma das principais formas de combater insetos-praga é através do uso de agrotóxicos. A agricultura brasileira teve um aumento de mais de 72% nas vendas de agrotóxicos entre 2006 e 2012, e o consumo médio por hectare aumentou de 7 para 10 kg, representando 43,2%. Desde 2008, o Brasil ocupa a primeira posição no consumo mundial, quando ultrapassou os Estados Unidos. Atualmente, é responsável pelo consumo de 1/5 dos agrotóxicos produzidos no mundo entre 2000 e 2010. Tradicionalmente, os inseticidas mais usados para combater as pragas têm sido os piretróides e os fosforados, seguidos dos organoclorados (Assad, 2012).

O aumento da resistência de diversos insetos aos inseticidas, a ressurgência de pragas primárias, o surgimento de pragas secundárias e os efeitos adversos sobre a população de

inimigos naturais foram alguns dos fatores que estimularam a busca por estratégias de controle, com base no manejo integrado de pragas (Gallo et al., 2002).

O Manejo Integrado de Pragas (MIP) consiste na utilização de métodos de controle variados, sendo necessário o conhecimento e planejamento do agroecossistema em questão, analisando os custos e benefícios da sua implementação e o conhecimento da tolerância da cultura ao ataque de pragas, bem como do momento certo para o controle (Panizzi & Parra, 1991). Dessa forma, o objetivo do MIP é minimizar a aplicação dos inseticidas químicos, pois o uso indiscriminado e incorreto desses produtos tem acarretado diversos problemas (resíduos nos alimentos, destruição de inimigos naturais, intoxicação de aplicadores e aparecimento de populações de pragas resistentes aos inseticidas), dando prioridade a outras alternativas de controle, como, o biológico ou o melhoramento de plantas (Brechelt, 2004).

O manejo de pragas deve consistir na aplicação de técnicas que levem em consideração o fato de existir uma grande interação dos insetos com o ambiente, de forma a gerar uma redução satisfatória da densidade populacional ou dos danos causados (Pedigo & Rice, 1996).

Dentre as formas de controle de pragas, o uso dos inseticidas botânicos tem sido uma alternativa para ser utilizada em programas de manejo integrado de pragas. As plantas produzem uma grande variedade de metabólitos secundários importantes na mediação de interações entre elas e seu ambiente biótico (Kessler & Baldwin, 2002). O crescente interesse na possível aplicação de metabólitos secundários para manejo de pragas dirigiu a investigação no sentido de buscar fontes naturais de compostos biologicamente ativos com novos mecanismos de ação (Meinwald, 2001).

3.3 Inseticidas Botânicos

O uso de produtos naturais, que não causam tanta agressão ao meio ambiente é considerado um método de controle alternativo de insetos-praga. Considerando que plantas, insetos, e outros micro-organismos coevoluíram, as plantas são conhecidas como fontes naturais de substâncias inseticidas e antimicrobianas, já que a produção das mesmas ocorre em resposta a um ataque patogênico no vegetal (Vendramim & Thomazini, 2001).

A extensão dos efeitos e o tempo de ação destes inseticidas botânicos são dependentes da dosagem utilizada, de maneira que a mortalidade ocorre nas dosagens maiores e os efeitos menos intensos e mais duradouros nas dosagens menores (Roel, 2001).

O objetivo principal no que se refere a insetos-praga na agricultura é a redução ou, se possível, a inibição da oviposição e a alimentação do inseto e, conseqüentemente, o crescimento da população da praga.

A utilização de produtos vegetais com ação inseticida apresenta diversos efeitos sobre os insetos. Dentre eles, pode-se citar repelência, inibição da oviposição, inibição do crescimento, alterações morfogenéticas, alterações do sistema hormonal, alterações no comportamento sexual, esterilização de adultos, mortalidade na fase imatura ou adulta (Gallo et al., 2002; Kathrina & Antonio, 2004).

O metabolismo é definido como a soma de todas as reações bioquímicas efetuadas por um organismo. As plantas produzem uma vasta e diversificada variedade de compostos orgânicos, sendo que a grande maioria não está envolvida diretamente no crescimento e desenvolvimento do vegetal. Essas substâncias, tradicionalmente referidas como metabólitos secundários, possuem distribuição limitada em famílias e gêneros do reino vegetal. Suas funções estão relacionadas a defesa contra estresse biótico e abiótico. Em contraste, os metabólitos primários, tais como aminoácidos, carboidratos e lipídios, são encontrados em todas as plantas e executam funções metabólicas que são essenciais a vida do vegetal (Hussain et al., 2012).

Os terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados formam as três principais classes de metabólitos secundários das plantas utilizados na defesa contra estresse biótico e abiótico (Taiz & Zeiger, 2004).

Os terpenos são constituídos de unidades pentacarbonadas derivadas do isopreno constituindo o grupo mais numeroso de metabólitos secundários apresentando funções variadas nos vegetais. Relatos indicam que monoterpenos como, o linalol possuem atividade inseticida, por que inibem a atividade da enzima acetilcolinesterase (Sertkaya et al., 2010). Segundo De Oliveira et al. (1997), monoterpenos como β -mirceno, α -pineno, d-limoneno, α -terpineno, citral, citronela e cânfora podem inibir a enzima P-450 *in vitro*.

Os sesquiterpenos, em geral, apresentam funções protetoras contra fungos, bactérias e insetos. Os triterpenoides e seus derivados, os esteroides, apresentam funções de proteção contra herbívoros (Taiz & Zeiger, 2004).

Conforme Abdel-Sattar et al. (2010), as propriedades inseticidas e repelentes do óleo essencial das folhas e frutos de *Schinus molle* sobre *Trogoderma granarium* e *Tribolium castaneum* estariam associadas a presença de terpenos. De acordo com Picmam (1986), os sesquiterpenos inibem a alimentação dos insetos e conseqüentemente ocasionam a sua mortalidade.

Os compostos fenólicos pertencem a uma classe de compostos que inclui uma grande diversidade de estruturas. Estas possuem pelo menos um anel aromático no qual, um hidrogênio é substituído por um grupamento hidroxila. São classificados em fenóis simples, ácidos fenólicos, fenilpropanoides, cumarinas, cromenos, xantonas, flavonoides, lignanas, ligninas e taninos (Simões et al., 2007). Dentre os compostos fenólicos pertencentes ao metabolismo secundário dos vegetais, os fenóis têm essencialmente funções de defesa (contra herbívoros, bactérias, fungos, vírus ou plantas competidoras) e de sinalização (atração de agentes polinizadores ou dispersores de sementes). Alguns autores atribuem aos fenóis presentes em óleos essenciais e extratos vegetais a mortalidade inseticida (Santana et al., 2015; Pavella, 2011; Almeida et al., 2009). Além dos fenóis, os flavonoides constituem uma das maiores classes de compostos fenólicos de plantas, apresentando funções de defesa e pigmentação (Vieira & Agostin-Costa, 2007).

Os compostos nitrogenados podem apresentar ação tóxica ou deterrente. Dentre eles estão os alcalóides, os glicosídicos cianogênicos e glucosinolatos. Os alcalóides tem função de defesa contra predadores, especialmente mamíferos, devido a sua toxicidade e a capacidade de deterrência (Taiz & Zeiger, 2004). Tem sido observado que muitas plantas que produzem alcaloides são evitadas por animais ou insetos em sua dieta, isso certamente devido a sua toxicidade ou ao fato de a maioria dos alcaloides possuir efeito repelente (Simões et al., 2007).

Os compostos nitrogenados glicosídicos são metabólitos secundários de grande importância e não são tóxicos, mas rapidamente decompõem-se quando a planta é lesada, produzindo substâncias voláteis como o ácido cianídrico. A cianogênese tem sido detectada em pelo menos 2.650 espécies de plantas pertencentes a mais de 130 famílias (Buhrmester et al., 2000).

Os metabólitos podem atuar de várias maneiras, em especial quando é um complexo que é responsável por sua ação sobre o inseto. Em geral, pode-se distinguir três tipos de mecanismo de ação de uma substância de origem vegetal sobre os insetos: A) Ação tóxica, repelente ou antialimentar: os compostos com ação inseticida atuam causando a morte do inseto por intoxicação. Tal ação tóxica interfere na transmissão sináptica ou axônica dos impulsos nervosos nos insetos. Com sua ação repelente, os compostos presentes fazem com que os insetos se afastem da planta, inibindo a alimentação ou oviposição na mesma (Kathrina & Antônio, 2004). B) Ação sobre órgãos ou moléculas-alvo: Certos inseticidas botânicos podem agir no sistema neuroendócrino interferindo nos processos normais de troca de tegumento (ecdise) e/ou metamorfose ou podem interferir no metabolismo respiratório das

células, assim interferindo na síntese de energia (Kathrina & Antonio, 2004). C) Ação por contato ou ingestão: As substâncias que atuam por contato afetam o sistema nervoso central, que é acessível para as substâncias que possuem ação inseticida e atingem toda a superfície do corpo do inseto ou suas vias respiratórias, causando assim, sua morte. Já substâncias que atuam por ingestão (caracteriza o modo de ação de um inseticida que age e penetra no organismo por via oral), afetam o sistema digestório, o de biossíntese de hormônios da ecdise ou a formação da camada de quitina da cutícula do inseto. Como exemplo, a salanina (presente nos extratos de *Azadirachta indica*) provoca uma diminuição do peristaltismo (movimentos intestinais) resultando numa acentuada perda de apetite o que pode resultar na morte do inseto (Kathrina & Antonio, 2004).

Os metabólitos secundários são originários a partir de duas rotas metabólicas intermediárias (Figura 1) que são derivadas da glicose: a do ácido chiquímico e do acetato. O ácido chiquímico é precursor de taninos, cumarinas, alcaloides derivados dos aminoácidos aromáticos e fenilpropanoides, compostos que tem em comum a presença de um anel aromático na sua composição. Os derivados do acetato são terpenos, esteroides, ácidos graxos e triglicerídeos (Bakkali et al., 2008).

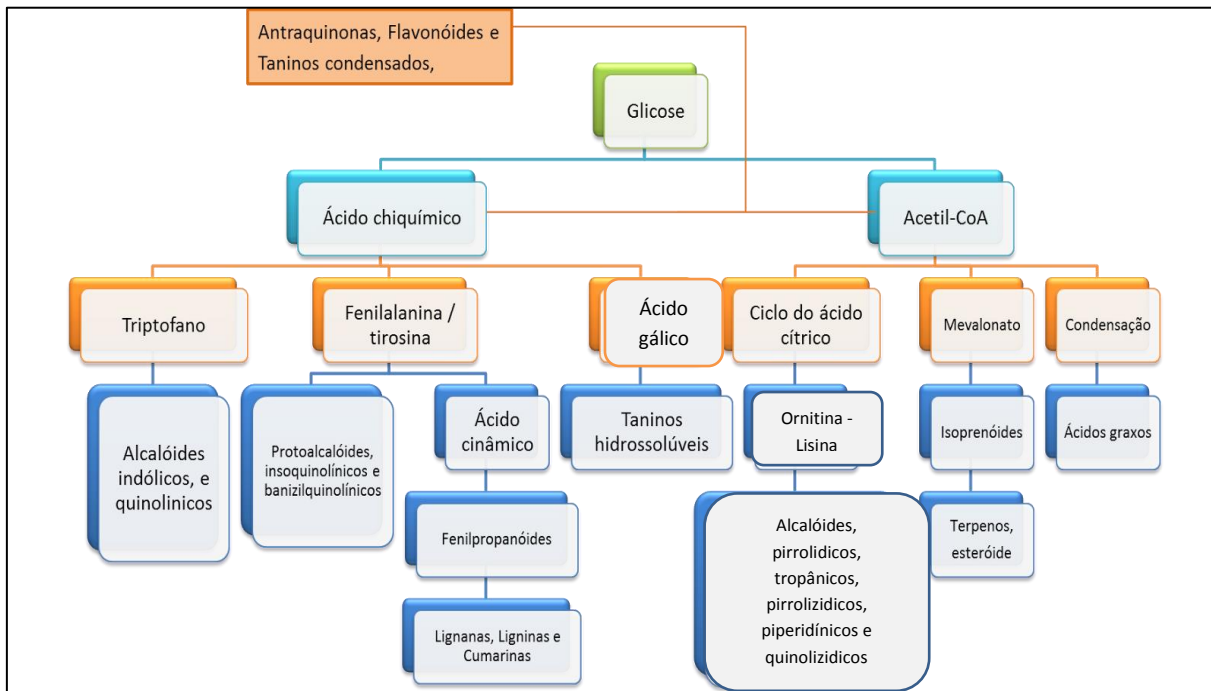


Figura 1: Ciclo biossintético dos metabólitos secundários (Simões et al., 2007).

Os produtos do metabolismo secundário das plantas variam em intensidade e composição de acordo com a espécie, variabilidade genética e fatores ambientais (Falkenberg et al., 2000).

A identificação e o isolamento de compostos vegetais com propriedades inseticidas representam alternativa promissora à incorporação de novas substâncias no manejo de pragas, configurando-se assim, numa alternativa aos produtos químicos convencionais, visto a evolução contínua da resistência de pragas a inseticidas químicos (Tabashnik & Roush, 1990).

3.4 Piperáceas

A família Piperaceae pertence à ordem Piperales e constitui-se em uma das mais primitivas famílias entre as angiospermas (Wanke et al., 2007). Essa é encontrada nas regiões tropicais e subtropicais dos dois hemisférios (Kato & Furlan, 2007), que compreende atualmente 4 gêneros, *Piper*, *Peperomia*, *Sarchorhachis* e *Ottonia*, sendo os gêneros *Piper* e *Peperomia* os mais representativos com aproximadamente 2000 e 1700 espécies, respectivamente (Souza & Lorenzi, 2005).

As espécies representantes desta família são plantas herbáceas, arbustivas ou pequenas árvores, terrestres ou epífitas, usualmente com mais de três metros de altura. O caule é nodoso, as folhas são inteiras, alternadas, pecioladas, com ou sem estípulas (Gogosz et al., 2012). Cerca de 1300 espécies das 2000 descritas para *Piper* estão na região neotropical, seguidas por 600, encontradas na Ásia e 100 no Pacífico Sul (Isnard et al., 2012) (Figura 2). Espécies do gênero *Piper* têm uma notável importância em fitoquímica, etnobotânica e atividade biológica (Parra et al., 2011).

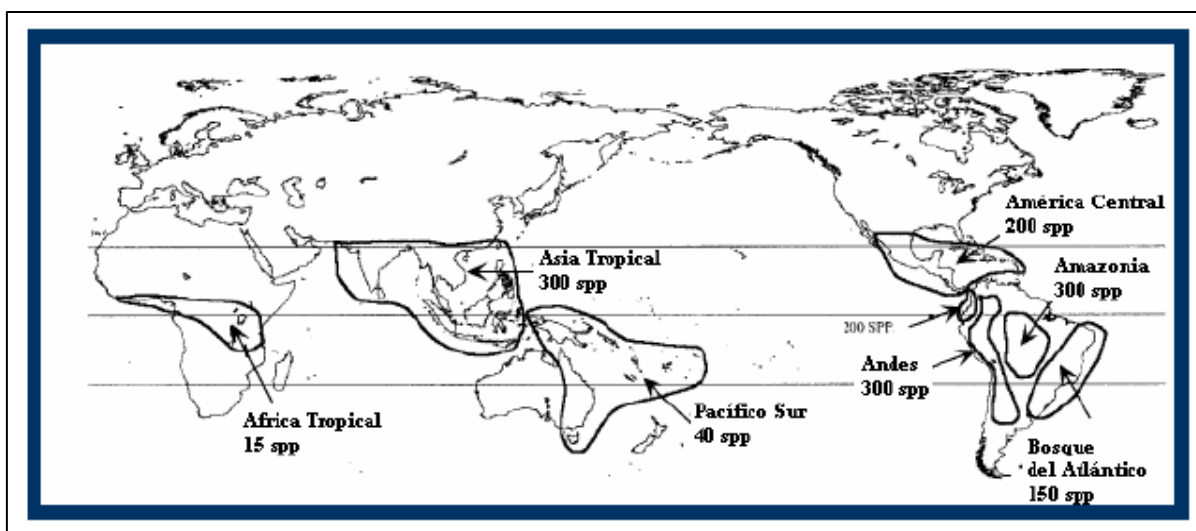


Figura 2: Regiões onde são encontradas espécies do gênero *Piper* (Fonte: Jaramillo e Manos, 2001).

Uma ampla variedade de metabólitos secundários tem sido identificada no gênero *Piper*, dentre as 112 espécies estudadas, 670 metabólitos secundários foram isolados (Dyer, & Parmer, 2004), distribuídos em classes, conforme ilustrado na tabela 1.

Tabela 1: Percentual de metabólitos secundários identificados em estudos fitoquímicos realizados com espécies de *Piper*

Compostos isolados de <i>Piper</i>	
Composto	Quantidade
Alcalóides/ Amidas	28%
Lignanas/ Neolignanas	18%
Terpenos	14%
Propenilfenóis	6%
Flavonas/ Flavanonas	3%
Cavapironas	3%
Chalconas/ Diidrochalconas	3%
Esteróides	2%
Piperolídeos	1%
Compostos variados	22%

Fonte: Reigada, 2009.

3.5 Atividade Inseticida do Gênero *Piper*

Em ensaios com óleos essenciais de *Piper aduncum*, *Piper marginatum*, *Piper divaricatum* e *Piper callosum* sobre *Solenopsis saevissima* (Hymenoptera), verificou-se que em 48h a menor concentração letal mediana foi de 58.4 mg/L em *P. aduncum*, sendo o composto majoritário o fenilpropanoide dilapiol (Souto et al., 2012).

Extrato acetônico de folhas de *P. aduncum* nas concentrações de 8% e 4% ocasionaram mortalidade de 72% e 52%, respectivamente de ninfas do percevejo marrom *Euschistus heros* (Hemiptera), reduzindo também significativamente a sobrevivência e a reprodução dos insetos adultos (Piton et al., 2014).

Autores avaliaram o óleo essencial de *Piper crassinervum* sobre o coleóptero *Sitophilus zeamais* (Coleoptera) através de métodos de contato, verificando-se repelência e efeito tóxico nesse inseto (Salgado et al., 2012).

Ao avaliar a atividade larvicida dos óleos essenciais de *Piper arboreum*, *P. marginatum* e *P. aduncum* sobre *Aedes aegypti* (Diptera), Santana et al. (2015) observaram que as espécies de *Piper* são ricas em fenilpropanóides e terpenos com atividade inseticida

comprovada. Os principais compostos encontrados nessas Piperaceas foram o germacreno-D, (E)-metilo de isoeugenol e apiol, respectivamente (Santana et al., 2015).

Extratos metanólicos de ramos de *Piper alatabaccum* e de folhas de *Piper tuberculatum* apresentaram atividade inseticida contra *Anopheles darlingi* (Diptera), com concentração letal (LC₅₀ e LC₉₀) de 194 e 333 ppm para *P. tuberculatum* e 235 e 401 ppm para *P. alatabaccum*, respectivamente (Trindade et al., 2012).

Os extratos aquosos da pimenta-do-reino, *Piper nigrum*, demonstraram atividade inseticida sobre a mosca-doméstica, *Musca domestica* (Diptera) (Miyakado et al., 1989).

Estudos envolvendo o potencial inseticida de *P. tuberculatum* sobre vários insetos, como o de Miranda et al. (2002) que efetuaram aplicação tópica de extrato orgânico de sementes de *P. tuberculatum* em *Alabama argilacea* (Lepidoptera), verificaram uma toxicidade dose-dependente de 219 mg/inseto após 72 horas de exposição.

Navickiene et al. (2007), após testarem extratos orgânicos de sementes, folhas e talos de *P. tuberculatum*, verificaram que esses extratos apresentam atividade inseticida potencial, tendo sido o extrato de sementes o mais eficaz em *A. gemmatilis* (Lepidoptera). Duas isobutilamidas, pelitorina e 4,5 diidropiperlonguminina, isoladas dessas sementes também foram avaliadas e provocaram 100% de mortalidade, apresentando uma relação positiva entre dose e mortalidade.

Ao avaliar o potencial inseticida do extrato acetônico das folhas de *Piper hispidum* sobre *Hypothenemus hampei* (Coleoptera), Santos et al. (2010), observou na exposição em superfície contaminada, 100% de mortalidade. Na aplicação tópica, observou que atingiu 60 a 65% de mortalidade (Santos et al., 2010).

Na avaliação do efeito dos extratos vegetais (hexânico, éter etílico, etanólico e metanólico) de frutos de *P. tuberculatum* sobre o ácaro *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, constatou-se que o extrato hexânico apresentou alta atividade larvicida (Lima et al., 2014).

O extrato de sementes de *Piper guineense* foi estudado por Ashamo & Odeyemi (2001) no controle de *S. zeamais* (Coleoptera) aplicado topicamente a grãos de milho. Os autores observaram 90% de mortalidade dos insetos, com a aplicação de 30 mg /mL do extrato.

Na busca de compostos com atividade inseticida em Piperaceas, destacam-se alguns como o apiol, miristicina, eugenol, safrol e dilapiol (Tabela 2 e Figura 3).

Tabela 2: Alguns compostos de derivados fenólicos presentes em diversas espécies do gênero *Piper* com atividade inseticida.

Entrada	Fórmula Molecular	Espécie	Referência
1	C ₁₂ H ₁₄ O ₄	<i>P. aduncum</i>	Almeida et al., 2009; Santana et al., 2015;
2	C ₁₁ H ₁₂ O ₃	<i>P. permucronatum</i>	Scott et al., 2000
3	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	<i>P. divaricatum</i>	Souto et al., 2012
		<i>P. hispidinervum</i>	Cruz et al., 2014
4	C ₁₀ H ₁₀ O ₂	<i>P. hispidinervum</i>	Cruz et al., 2014
		<i>P. callosum</i>	Souto et al., 2012
		<i>P. aduncum</i>	Santana et al., 2015
5	C ₁₂ H ₁₄ O ₄	<i>P. aduncum</i>	Almeida et al., 2009; Souto et al., 2012
		<i>P. hispidum</i>	Cruz et al., 2014; Facundo et al., 2008

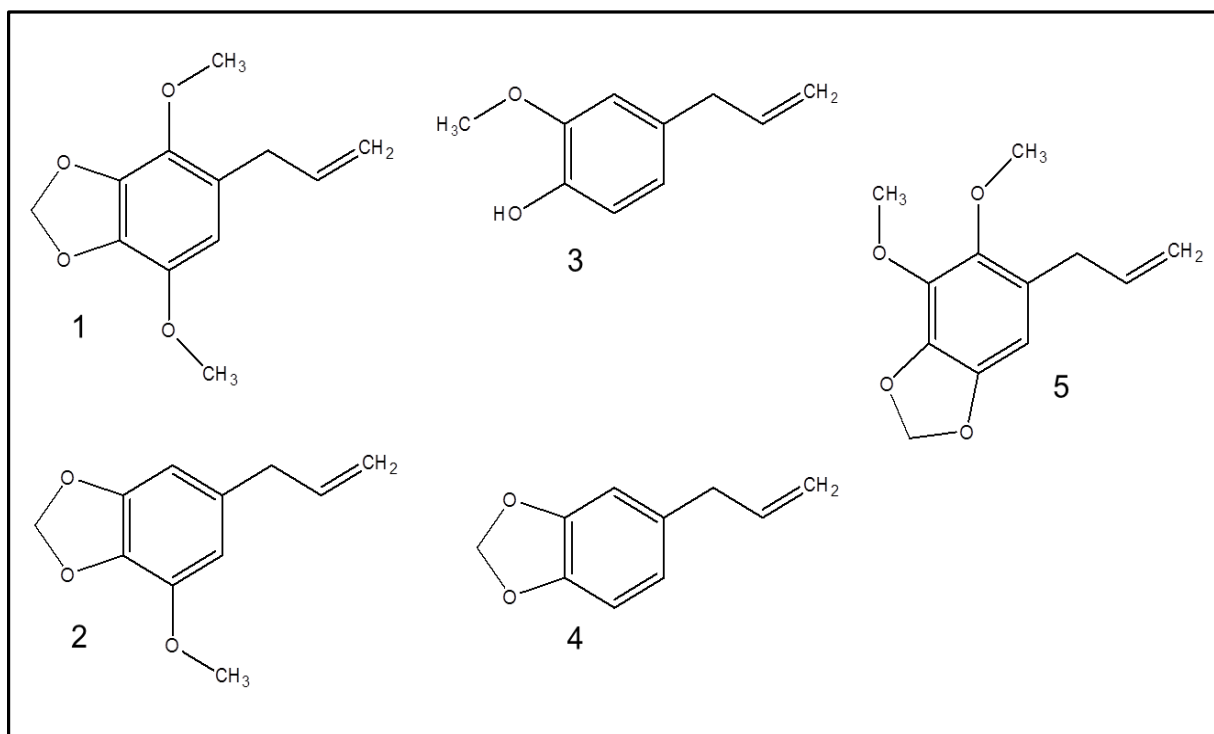


Figura 3: Estruturas moleculares de alguns compostos fenólicos encontrados em *Piper*. (1 – Apiol; 2 – Miristicina; 3 – Eugenol; 4 – Safrol; 5 – Dilapiol.). Fonte: Simões et al., 2007.

3.6 *Piper aduncum*

P. aduncum (Linnaeus, 1753) é conhecida popularmente como pimenta-de-macaco ou aperta-ruão (Vianna et al., 1997; Lorenzi & Matos, 2008) (Figura 4), ocorrendo naturalmente na Amazônia e no sudeste do Brasil (Lustosa et al., 2007). As plantas de *P. aduncum* são arbustos ou árvores pequenas de até 8 metros de altura. As folhas são elípticas ou lanceoladas, ápice bastante longo e nitidamente acuminado, base arredondada com 4 a 7 cm de largura e 12 a 20 cm de comprimento, áspera e com nervuras paralelas a partir do meio. As espigas têm 2 a 3 mm de espessura por 8 a 15 mm de comprimento, brácteas arredondadas ou triangular subpeltada; o fruto é uma drupa ovóide pequena (Yunker, 1972).

Os constituintes químicos da composição do óleo essencial da espécie *P. aduncum* são dilapiol, α -pineno, α -copaeno, limoneno, α -ocinemo, β -ocinemo, γ -terpineno, terpinen-4-ol, piperitona, β -cariofileno e apiol (Almeida et al., 2009).

O óleo essencial da *P. aduncum* tem comprovada ação inseticida, induzindo alta mortalidade em *A. aegypti* (Diptera) (80%) e *Aedes albopictus* (Diptera) (71.6%) (Misni et al., 2011). Fazolin et al. (2005) avaliaram o efeito da aplicação tópica e da ação por contato de diferentes concentrações do óleo de *P. aduncum*, por meio da mortalidade e consumo foliar de *Cerotoma tingomarianus* (Coleoptera) em plantas de feijão.

Na avaliação do óleo de *P. aduncum* e de *P. hispidinervum* no controle de larvas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera) observou-se toxicidade elevada e efeito inseticida nas concentrações acima de 3,0% (v/v) com *P. hispidinervum* e 2,5% (v/v) com *P. aduncum* (Fazolin et al., 2007).

Extratos das folhas de *P. aduncum* têm sido relatados na literatura por apresentarem atividade bactericida (Kloucek et al., 2005; Lago et al., 2009) acaricida (Silva et al., 2009), antiprotozoária, antimalarial (Valadeau et al., 2009) e antiviral (Lohezic-Le Devehat et al., 2002) e também atividade inseticida (Hemiptera e Diptera) (Silva et al., 2007; Pohlit et al., 2004; Bernard et al., 1995).

Conforme, Siva et al. (2007), tanto o extrato aquoso de folhas quanto o extrato de raízes de *P. aduncum* apresentam atividade inseticida sobre adultos de *Aetalion* sp. (Hemiptera).

Em uma avaliação com extratos aquosos, etanólicos e metanólicos de *P. aduncum* e *P. tuberculatum* contra *A. aegypti* (Diptera), observou-se 100% de mortalidade das larvas com extratos metanólicos (Pohlit et al., 2004).

Extratos alcoólicos de folhas de dezesseis espécies de *Piper*, evidenciaram maior atividade de *P. aduncum* para larvas de segundo ínstar de *Aedes atropalpus* (Diptera), provocando 92% de mortalidade nas larvas desse culicídeo à concentração de 1 ppm (Bernard et al., 1995).

Os dados apresentados na literatura demonstram que *P. aduncum* possui compostos químicos com atividade inseticida. Dessa forma, os metabólitos secundários dessa espécie poderiam ser tóxicos para *A. gemmatalis* e *S. frugiperda*.



Figura 4: *Piper aduncum*. Fonte: Aaron Machado.

3.7 *Piper hispidinervum*

P. hispidinervum (C. DC., 1917) conhecida popularmente como pimenta-longa, pertencente à família Piperaceae, é uma planta nativa do Acre. Caracteriza-se por ser uma planta arbustiva com folhas lanceoladas ou elípticas, opacas em ambas as faces, com 4-7cm de largura e 5-10 cm de comprimento, possui espigas alongadas e curvadas de 2-3mm de espessura por 10-12cm de comprimento, com flores minúsculas e frutos obpiramidais (Yuncker, 1972) (Figura 5).

Na análise da composição química do óleo essencial de *P. hispidinervum*, sete compostos majoritários foram identificados, sendo que aproximadamente 90% correspondem apenas ao fenilpropanoide safrol; os demais se caracterizam por serem monoterpenos e sesquiterpenos (Riva et al., 2011).



Figura 5: *Piper hispidinervum*. Fonte: Aaron Machado.

Estudos recentes têm demonstrado que o extrato aquoso de frutos de *P. hispidinervum* apresenta atividade antimicrobiana (Tavanti et al., 2014) e o óleo essencial de *P. hispidinervum* apresenta atividade antifúngica, antimicrobiana (Fazolin et al., 2007; Estrela et al., 2006; Soares et al., 2012; Zacaroni et al., 2009; Sauter et al., 2012) e inseticida (Lepidoptera e Coleoptera) (Cruz et al., 2014; Lima et al., 2009; Estrela et al., 2006).

Óleo essencial de *P. hispidinervum* e *P. aduncum* apresentaram efeito inseticida sobre o coleóptero *S. zeamais*, sendo este mais suscetível ao efeito de contato do óleo de *P. hispidinervum* (CL_{50} de 0,51 mL/cm²) em relação ao de *P. aduncum* (CL_{50} de 2,87 mL/cm²), com taxa de mortalidade próxima a 100% nas concentrações de 20% e 30% do óleo de *P. hispidinervum*. Quanto ao efeito fumigante, a susceptibilidade foi maior no óleo de *P. aduncum* do que no de *P. hispidinervum*. Óleos essenciais de *P. aduncum* e *P. hispidinervum* possuem efeito inseticida em *S. zeamais* (Estrela et al., 2006).

No óleo essencial de *P. hispidinervum* foi observado interferência no desenvolvimento de *S. frugiperda*, ocorrendo mortalidade larval, período larval e pupal prolongado e diminuição na quantidade de ovos dos indivíduos (Cruz et al., 2014).

Ao analisar os resultados do óleo essencial de *P. hispidinervum* sobre *S. frugiperda* observou-se que o extrato causou redução alimentar e mortalidade, sendo o safrol (82%) seu constituinte majoritário. Verificou-se mortalidade no teste de ingestão em lagartas de 1º ínstar com CL_{50} = 16,2 mg/mL e para lagartas de 3º ínstar a CL_{50} = 9,4 mg/mL (Lima et al., 2009). Conforme a literatura, *P. hispidinervum* apresenta metabólitos com atividade sobre lepidópteros e coleópteros.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Coleta e identificação do material botânico

Folhas de *P. aduncum* e *P. hispidinervum* foram coletadas no mês de novembro de 2012 (IBAMA – processo: 02001.004239/2013-05) em espécimes cultivados no Horto de Plantas Medicinais da Universidade Nilton Lins (UNINILTONLINS), situada na cidade de Manaus-AM, localizada a uma latitude S 03°03'36.5" e longitude W 060°00'31.7, identificadas e depositadas no herbário da Universidade de Caxias do Sul (HUCS 42569 e HUCS 42570, respectivamente).

4.2 Extratos vegetais

As folhas das plantas foram desidratadas em estufa à temperatura de 40 °C durante cinco dias e em seguida trituradas em moinho do tipo faca. As extrações foram realizadas utilizando o método de extração à quente em aparelho tipo Soxhlet, com o tempo de oito horas para cada extração. Foram usados 200g de folhas trituradas e três litros de cada solvente, utilizando a sequência de solventes de polaridade crescente: hexano, acetato de etila e etanol levando ao esgotamento da planta. Após as extrações, os solventes foram evaporados por meio de evaporador rotativo para obtenção dos extratos brutos (Figura 6) (Silva et al., 2007).

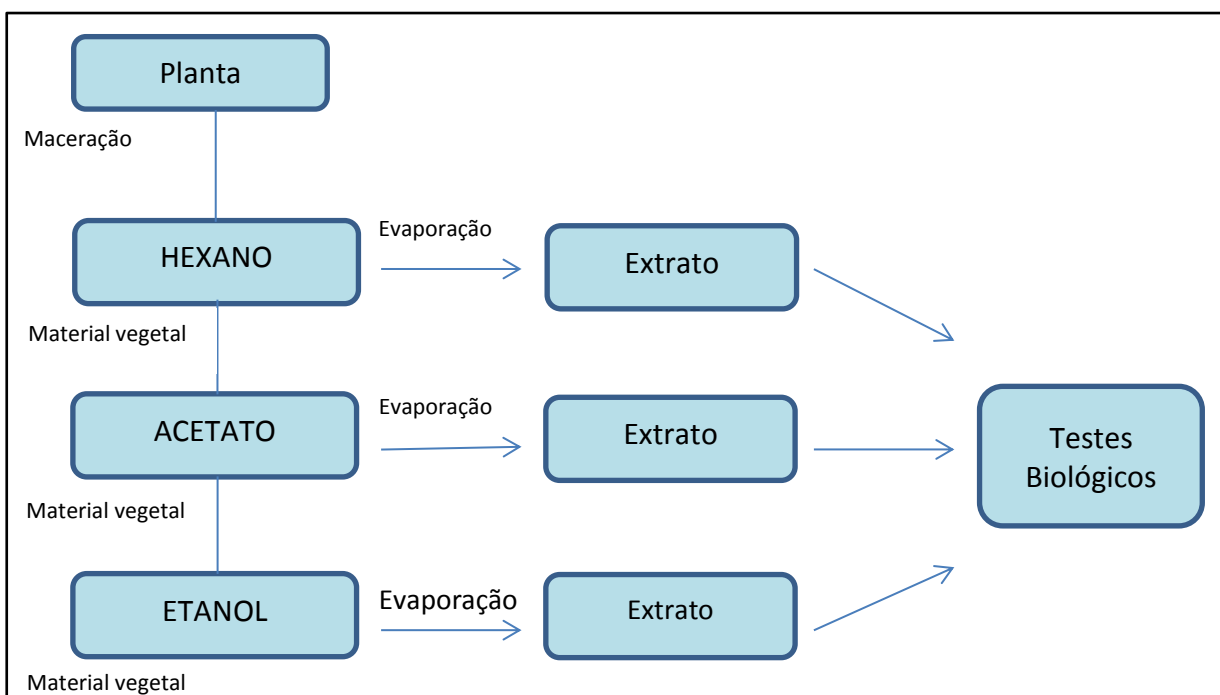


Figura 6: Esquema geral para a obtenção de extratos das plantas.

4.3 Análise Fitoquímica

A composição química dos extratos vegetais usados neste estudo foi determinada através de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC/MS). As análises foram realizadas em cromatógrafo gasoso acoplado a detector seletivo de massas Hewlett-Packard 6890/MSD 5973, equipado com software HP Chemstation e espectroteca Wiley 275. Foi utilizada uma coluna capilar de sílica fundida HP-5MS (30m x 250m) 0,50 m espessura de filme (Hewlett-Packard, Palo Alto, USA). A metodologia foi adaptada de Santos et al., (2009), onde: temperatura da coluna, 60°C (8 min.) para 180°C a 3°C/min. e 20°C/min. até 230°C; injetor 220°C, interface 250°C; razão de Split 1:100; gás de arraste He (56 Kpa); fluxo 1,0 mL/min.; energia de ionização 70 Ev. A identificação dos constituintes foi feita por procura em biblioteca de espectros de massa do computador e tempos de retenção.

4.4 Bioensaios

As lagartas *A. gemmatalis* (Erebidae) e *S. frugiperda* (Noctuidae) foram provenientes da criação em dieta artificial mantida no insetário do Laboratório de Controle de Pragas do Instituto de Biotecnologia da Universidade de Caxias do Sul, segundo metodologia descrita por Greene et al. (1976).

Os extratos hexânico, acetato de etila e etanólico de cada planta foram solubilizados em Tween-80 – 5% nas concentrações de 1,0; 2,5; 5,0; 10,0 e 15,0 mg/mL (foram feitos testes preliminares para estabelecer as concentrações) e foram diluídos, de forma homogênea na dieta artificial e grupo controle (sem extratos). Para os testes biológicos, foram utilizadas 30 lagartas de 3º ínstar para cada tratamento e um grupo controle, totalizando 180 lagartas de *A. gemmatalis* e 180 lagartas de *S. frugiperda* para cada extrato de *P. aduncum* e *P. hispidinervum*. Cada lagarta foi colocada individualmente em copo plástico de 50mL, juntamente com um chumaço de algodão umedecido e 1g de dieta artificial com extrato, disponível para alimentação durante sete dias. As taxas de mortalidade foram avaliadas diariamente até o estágio de pupa. Após este período, as lagartas sobreviventes foram alimentadas com dieta sem adição de extratos, avaliando-se os efeitos na duração da fase larval e pupal, peso, comprimento e largura da pupa. Os bioensaios foram mantidos em sala climatizada (temperatura de 25 ± 1 °C e umidade relativa de $70 \pm 5\%$) (Silva et al., 2007).

4.5 Análise estatística

Os dados experimentais, como a mortalidade, tempo larval e pupal e os parâmetros morfométricos foram analisados utilizando ANOVA, cujas médias foram comparadas pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$) com o auxílio do programa Statistical Package for the Social Sciences (SPSS for Windows 17.0). Os gráficos foram elaborados utilizando-se o software Prism Graph Pad 6.1. O método de Probit (Finney, 1971) foi utilizado para a determinação dos valores da concentração letal mediana (CL_{50}).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análise Fitoquímica de *P. aduncum*

Os resultados da cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas mostraram que dos compostos identificados no extrato hexânico de *P. aduncum*, 92,4% foram fenilpropanóides, destacando-se o apiol como composto majoritário com 90,7%, e 6,8% foram sesquiterpenos (β -cariofileno e β -selineno). No extrato acetato de etila e etanólico de *P. aduncum* foi identificado o fenilpropanóide apiol com 54,9% e 21,0%, respectivamente (Tabela 3 e Figura 7).

Tabela 3: Compostos identificados nos extratos hexânico, acetato de etila e etanólico das folhas de *P. aduncum* através da análise por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas.

Entrada	Extratos	Composto	Tempo de Retenção	Abundância (%)
1	Hexânico	Apiol	21.57	90,7
	Acetato		21.52	54,9
	Etanólico		21.52	21,0
2	Hexânico	β -cariofileno	18.41	3,6
3	Hexânico	β -selineno	19.54	1,5
4	Hexânico	Miristicina	20.00	1,7

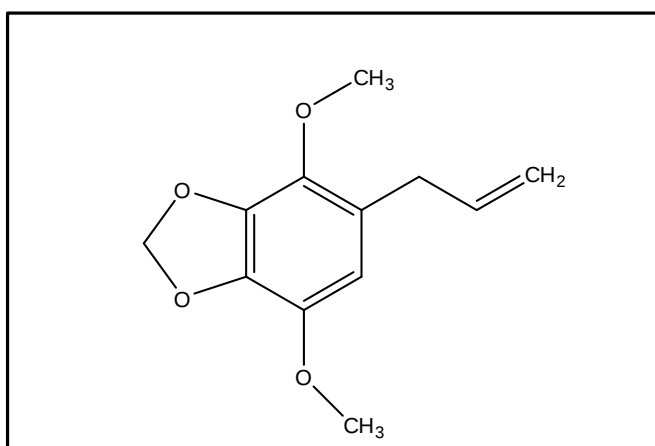


Figura 7: Composto majoritário (Apiol) encontrado nos extratos hexânico e acetato de etila de *P. aduncum* através da análise por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas.

A presença de fenilpropanóides e sesquiterpenos corroboram com o que foi encontrado na literatura para piperaceas (Almeida et al., 2009; Riva et al., 2011; Cruz et al., 2014), sendo o fenilpropanóide apiol um dos componentes majoritários do óleo essencial de *P. aduncum* (Santana et al., 2015).

A diferença entre a quantidade de compostos obtidos nos distintos extratos de *P. aduncum* deve estar relacionada à polaridade dos solventes, assim como observado por Lima et al. (2014) em *P. tuberculatum*, os quais verificaram que o extrato hexânico mostrou alta atividade larvídica contra *R. microplus* ($CL_{50} = 0.04$ mg/mL), seguido por extratos éter etílico, etanólico e metanólico.

5.2 Análise Fitoquímica de *P. hispidinervum*

O extrato hexânico e acetato de etila apresentaram uma quantidade bastante diferenciada de compostos. Enquanto isso no extrato etanólico não foi identificado nenhum composto.

Dos compostos identificados no extrato hexânico de *P. hispidinervum*, 11,8% foram fenilpropanóides, destacando-se o apiol como composto majoritário identificado com 10,7%, 36,9% foram sesquiterpenos e 1,6% foram monoterpenos. No extrato acetato de etila de *P. hispidinervum* foi identificados sesquiterpenos (11,9%), monoterpenos (1,2%) e o flavonoide pinocembrin como composto majoritário (21,6%) (Tabela 4).

Fenilpropanóides e sesquiterpenos foram os principais componentes identificados nos extratos da planta, corroborando com os componentes encontrados em outros estudos com óleo essencial de *P. hispidinervum* (Cruz et al., 2014). Facundo et al. (2008) ao realizarem um estudo fitoquímico do óleo essencial dos talos de *P. tuberculatum* verificaram a presença de 15,2% de monoterpenos e 77,5% de sesquiterpenos. Os mesmos autores também identificaram que os constituintes químicos do óleo essencial das raízes de *P. hispidum* foi 92,2% representado por fenilpropanóides, correspondendo aos três compostos majoritários apiol, elemicina e dilapiol.

Em *P. hispidinervum*, também foram observadas diferenças nas quantidades e nos compostos dos extratos, sendo atribuído este fato a polaridade dos solventes (Ravindran et al. 2011; Lima et al., 2014).

Tabela 4: Compostos identificados nos extratos hexânico e acetato de etila das folhas de *P. hispidinervum* através da análise por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas.

Entrada	Extrato	Composto	Tempo de Retenção	Abundância (%)
1	Hexânico	Apiol	21.52	10,7
2	Hexânico	Aromodendreno	18.78	1,1
3	Hexânico e Acetato	Juniperol	22.03 22.04	5,7 1,0
4	Hexânico e Acetato	α -selineno	19.66 19.67	9,0 4,9
5	Hexânico e Acetato	β -cariofileno	18.40 18.47	6,9 1,7
6	Hexânico e Acetato	β -selineno	19.53 19.54	9,2 4,2
7	Hexânico	δ -cadineno	19.33	2,8
8	Hexânico	γ -gurjuneno	21.62	1,1
9	Hexânico	γ -selineno	20.05	2,8
10	Hexânico	γ -terpineno	11.72	1,6 1,2
12	Acetato	Pinocembrin	28.22	21,6

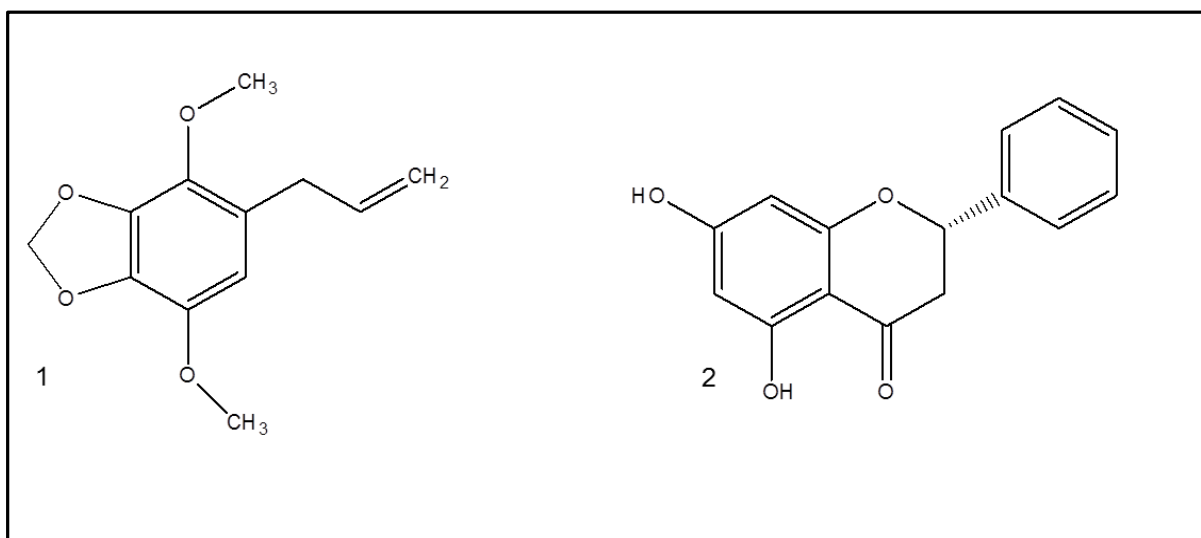


Figura 8: Compostos majoritários identificados no extrato hexânico (Apiol) e acetato de etila (Pinocembrin) de *P. hispidinervum* através da análise por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas. (1 – Apiol; 2 – Pinocembrin)

5.3 Atividade inseticida dos extratos hexânico, acetato de etila e etanólico de *Piper aduncum* sobre *Anticarsia gemmatilis* e *Spodoptera frugiperda*

As plantas são uma fonte importante de produtos naturais biologicamente ativos que apresentam ação tóxica, repelente e/ou antialimentar, ação sobre órgãos ou moléculas-alvo ou ainda ação por contato ou ingestão (Kathrina & Antonio, 2004).

Nos ensaios realizados com *P. aduncum* no presente estudo, verificou-se que os percentuais de mortalidade de *A. gemmatilis* e *S. frugiperda*, submetidas a diferentes concentrações de extrato hexânico de folhas de *P. aduncum*, variaram de 3,3 a 93,3% e de 3,3 a 96,6%, respectivamente. Nas concentrações de 5,0, 10,0 e 15,0 mg/ml verificou-se diferenças quanto ao percentual de mortalidade de *A. gemmatilis* e *S. frugiperda* em relação ao controle (Fig. 9. A).

Os valores médios de mortalidade de *A. gemmatilis* e *S. frugiperda* nos ensaios com extrato acetato de etila variaram de 6,6% a 90,0%. A maior concentração, 15 mg/ml, induziu 90,0% de mortalidade de *A. gemmatilis* e 43,3% de mortalidade de *S. frugiperda* (Fig. 9. B).

O extrato etanólico de *P. aduncum* induziu 23,3% de mortalidade de *A. gemmatilis* e 26,6% de mortalidade de *S. frugiperda*, na maior concentração avaliada (15 mg/ml), não apresentando diferenças estatísticas significativas em relação às demais concentrações e ao grupo controle para ambas espécies de insetos (Fig. 9. C).

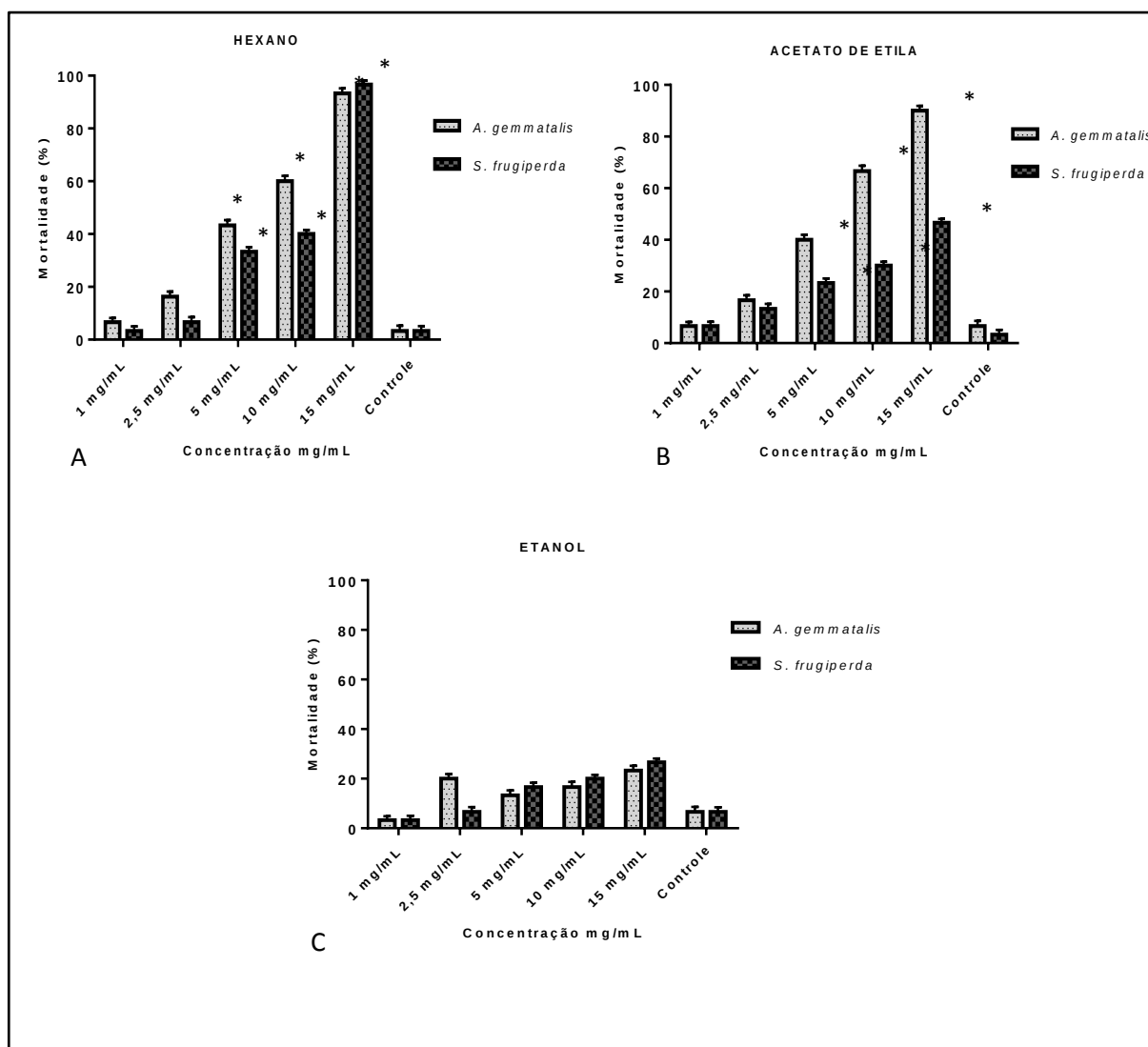


Figura 9: Mortalidade cumulativa de *Anticarsia gemmatalis* e *Spodoptera frugiperda* alimentadas com dieta artificial contendo extratos: A) hexânico, B) acetato de etila e C) etanólico de folhas de *P. aduncum*.

*médias de mortalidade diferem em relação ao controle pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

As diferenças observadas nas taxas de mortalidade induzidas pelos três extratos neste trabalho poderiam estar associadas a composição qualitativa e quantitativa dos compostos identificados nos extratos.

A mortalidade de *A. gemmatalis* e *S. frugiperda* ocasionada pelos extratos hexânico e acetato de etila deste trabalho sugere que, a exemplo de outras piperáceas (Santana et al., 2015; Lima et al., 2014; Salgado et al., 2012; Trindade et al., 2012; Souto et al., 2012), *P. aduncum* também apresenta fenilpropanóides como apiol e a miristicina, os quais possuem atividade inseticida comprovada na literatura (Vidal et al., 2008).

O apiol foi o composto majoritário (90,71%) identificado nos extratos hexânico e acetato de etila desse trabalho. Conforme Santana et al. (2015) o apiol foi um dos dois

constituintes principais do óleo essencial de *P. aduncum* ao qual foi atribuída a atividade larvívica contra o vetor da dengue *A. aegypti* (Diptera). Outros autores comprovam a atividade biológica do apiol na interferência do crescimento e na redução da fecundidade de moscas adultas da espécie *Parasarcophaga dux* (Diptera) (Khalaf, 2004). Estudos com óleo essencial de frutos de *Petroselinum crispum* cujos dois principais compostos foram apiol e miristicina mostraram alta efetividade para inibir a oviposição de *Pseudaletia unipuncta* (Sousa et al., 2015).

Os fenilpropanóides apiol e miristicina ao serem ingeridos pelo inseto formam um complexo com importantes enzimas de detoxificação, as monoxigenases dependentes do citocromo P450 (Wilkinson et al., 1984). Essas enzimas também denominadas simplesmente de P450 participam de muitos processos de transformação no inseto, incluindo biossíntese de ecdisteróides e do hormônio juvenil e na detoxificação de compostos de plantas e inseticidas (Berenbaum, 2002). Quando sinergistas, como apiol ou a miristicina se ligam a P450 ocorre a inativação desta enzima, que fica impedida de metabolizar moléculas inseticidas (Bernard & Philogene, 1993; Hodgson et al., 1995).

O efeito inseticida desses fenilpropanóides também pode estar associado a ação conjunta com outros compostos bioativos minoritários, como os sesquiterpenos β -cariofileno e β -selineno presentes nos extrato hexânico. Segundo Veiga Junior et al., (2005), o β -cariofileno é descrito na literatura como bactericida e insetífugo. Costantin et al. (2001) identificaram β -cariofileno, α e β -pineno, biciclogermacreno, espatulenol e germacreno-D em *Piper cernuum* com atividade antimicrobiana. Outros autores observaram que o β -cariofileno inibiu o crescimento de parasita de *Trypanosoma cruzi* e *Leishmania brasiliensi* (Leite et al., 2013).

Os resultados indicam que o extrato hexânico de *P. aduncum* apresenta moléculas (apiol, miristicina e β -cariofileno) que poderiam estar relacionadas com a mortalidade dos insetos.

As taxas de mortalidade de *A. gemmatilis* e *S. frugiperda*, quando comparadas entre si nas concentrações avaliadas, mostraram diferenças estatísticas somente nos ensaios com extrato acetato de etila a partir da concentração 10mg/mL. Isso deve estar ligado ao fato de *S. frugiperda* ser polífaga e por isso mais resistente, degradando uma maior quantidade de compostos. Desta forma, pode-se supor que suas menores taxas de mortalidade comparadas a *A. gemmatilis* poderiam estar relacionadas a tal fato, o que poderia justificar a CL₅₀ menor em *A. gemmatilis*. Conforme Fortunatto et al., (2007), insetos polípagos, como *S. frugiperda*, possuem uma grande diversidade de enzimas digestivas, as quais estão relacionadas a

diversidade da composição química da sua dieta. Assim, insetos polívoros poderiam metabolizar melhor os compostos da dieta quando comparados a insetos não polívoros, como *A. gemmatilis*.

Em relação aos valores estimados da concentração letal mediana (CL₅₀) para *A. gemmatilis*, os extratos hexânico e acetato de etila apresentaram a mesma toxicidade. Em relação ao potencial de toxicidade do extrato hexânico para as duas espécies de lepidópteros, verificou-se que esse extrato apresentou a mesma eficácia. Nos ensaios com extrato etanólico em *A. gemmatilis* e com extrato acetato de etila e etanólico em *S. frugiperda* os percentuais de mortalidade foram baixos, impossibilitando o cálculo da CL₅₀. (Tabela 5).

Tabela 5: Concentração Letal Mediana (CL₅₀) dos extratos hexânico, acetato de etila e etanólico de *P. aduncum* sobre *A. gemmatilis* e *S. frugiperda*.

Inseto	Extrato	CL ₅₀ (mg/mL)	Intervalo de Confiança
<i>A. gemmatilis</i>	Hexano	6,35 ^{ab}	4,82 - 7,98
	Acetato de etila	5,79 ^a	4,57 - 7,39
<i>S. frugiperda</i>	Hexano	8,22 ^b	7,87 - 9,11

*médias de mortalidade seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste Tukey (P≤0,05).

5.4 Atividade inseticida dos extratos hexânico, acetato de etila e etanólico de *P. hispidinervum* sobre *A. gemmatilis* e *S. frugiperda*.

Os extratos de *P. hispidinervum* apresentaram atividade inseticida, sendo que os valores de mortalidade de *A. gemmatilis*, submetidas a diferentes concentrações de extrato hexânico de folhas de *P. hispidinervum*, atingiram 100% nas concentrações 5,0, 10,0 e 15,0 mg/ml. Considerando a mortalidade de *A. gemmatilis*, a partir da concentração de 2,5 mg/mL observou-se diferença estatística em relação ao grupo controle. Em *S. frugiperda*, com o mesmo extrato, os percentuais de mortalidade variaram de 10,0 a 53,3%, observando-se diferença estatística em relação ao grupo controle a partir da concentração de 5,0 mg/mL, a qual apresentou o mesmo percentual de mortalidade das concentrações de 10,0 e 15,0 mg/mL (Figura 10. A).

Na avaliação da mortalidade de *A. gemmatalis* e *S. frugiperda* nos ensaios com extrato acetato de etila de folhas de *P. hispidinervum*, verificou-se que as concentrações 5,0, 10,0 e 15,0 mg/mL apresentaram o mesmo potencial inseticida, entretanto, induziram maior percentual de mortalidade em relação às demais concentrações avaliadas e ao grupo controle (Figura 10. B).

As médias de mortalidade de *A. gemmatalis* e *S. frugiperda* expostas a todas as concentrações de extrato etanólico de folhas de *P. hispidinervum* não apresentaram diferenças estatísticas em relação ao grupo controle (Figura 10. C).

A mortalidade acumulada evidenciou a menor atividade do extrato etanólico de folhas de *P. hispidinervum*, no qual induziu no máximo a 10,0% de mortalidade de *A. gemmatalis* e 13,3% de *S. frugiperda*.

A bioatividade de *P. hispidinervum* poderia estar relacionada aos compostos identificados (fenilpropanoides, sesquiterpeno, monoterpeno e flavonóide) nos extratos dessa planta. Conforme Estrela et al. (2006), o efeito de algumas algumas Piperaceas sobre a mortalidade de insetos-praga, como *S. frugiperda*, poderia ser atribuída à presença de sesquiterpenos e monoterpenos encontrados nas plantas.

Entre os extratos vegetais e óleos essenciais utilizados na proteção de culturas, destacam-se os que possuem a classe dos terpenos entre os seus compostos químicos. Os terpenos possuem atividade ovicida, larvicida, repelente, antialimentar e efeitos tóxicos em uma grande variedade de insetos (Sellamuthu et al., 2013). Conforme Bloomquist (2003) e Priestley et al. (2003), os terpenos causam inibição neuronal dos insetos ocasionando sua morte.

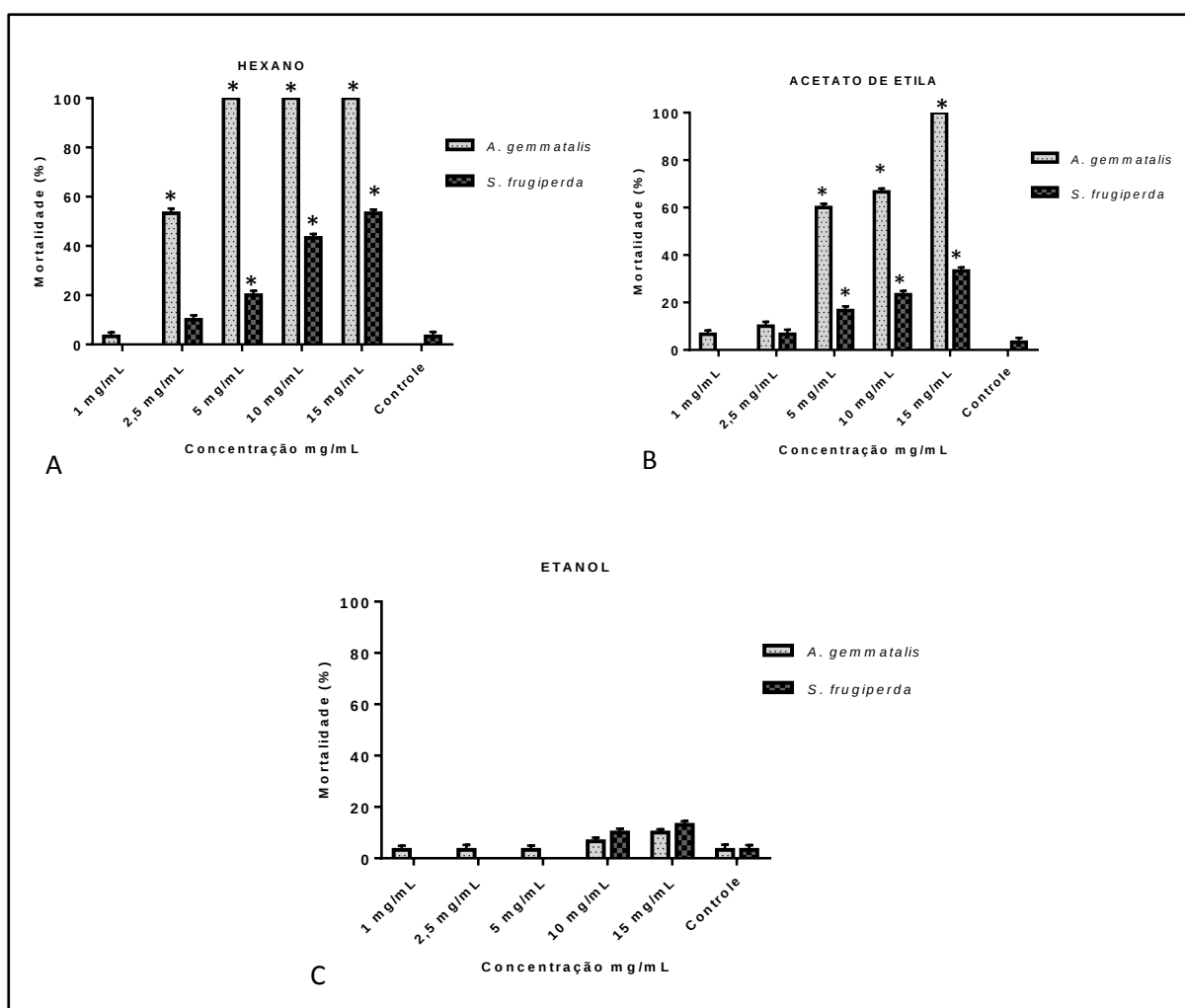


Figura 10: Mortalidade cumulativa de *A. gemmatalis* e *S. frugiperda* alimentadas com dieta artificial contendo extratos de folhas de *P. hispidinervum*: A) hexânico, B) acetato de etila e C) etanólico.

*médias de mortalidade diferem em relação ao controle pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Os monoterpenos, como o γ -terpineno, composto encontrado no extrato hexânico de *P. hispidinervum*, podem causar interferência tóxica nas funções bioquímicas e fisiológicas em insetos (Dunkel & Sears, 1998). A ação dos monoterpenos sobre artrópodes tem sido relacionada com a inibição da acetilcolinesterase e monoxigenases dependentes do citocromo P450 ou atuando no sistema nervoso do artrópode (De-Oliveira et al., 1997). Tais compostos ligando-se a enzimas e interferem em vias metabólicas específicas de detoxificação (Bernard & Philogene, 1993).

No extrato acetato de etila foram identificados, além de sesquiterpenos e um monoterpeno, um flavonóide como composto majoritário, o pinocembrin (21,66%). Relatos afirmam que este composto, presente no própolis, apresenta propriedades antimicrobianas (Cushnie & Lamb, 2005). Os flavonoides representam uma classe importante de polifenóis

com propriedades inseticidas sobre lepidópteros como *Spodoptera litura* (Morimoto et al., 2003).

Ao compararmos as taxas de mortalidade, *A. gemmatalis* foi mais suscetível que *S. frugiperda*, nos ensaios com extrato hexânico e acetato de etila. Essa diferença pode ser atribuída ao fato de *S. frugiperda* ser polífaga, e por isso degradar uma maior quantidade de compostos.

Em relação aos valores estimados da concentração letal mediana CL_{50} para *A. gemmatalis*, o extrato hexânico apresentou maior toxicidade do que o acetato de etila. Comparando-se a atividade inseticida do extrato hexânico para as duas espécies de lepidópteros, verificou-se que este extrato foi mais eficaz para *A. gemmatalis*. As taxas de mortalidade de *A. gemmatalis* obtidas nos ensaios com extrato etanólico e de *S. frugiperda* com extrato acetato de etila e etanólico foram baixas, impossibilitando o cálculo da CL_{50} . (Tabela 6).

Tabela 6: Concentração Letal Mediana (CL_{50}) dos extratos hexânico, acetato de etila de *P. hispidinervum* sobre *A. gemmatalis* e *S. frugiperda*.

Lagarta	Extrato	CL_{50} (mg/mL)	Intervalo de confiança
<i>A. gemmatalis</i>	Hexano	2,34 ^a	1,25 – 3,82
	Acetato de etila	4,93 ^b	3,24 – 5,67
<i>S. frugiperda</i>	Hexano	13,14 ^c	9,64 – 23,11

*médias de mortalidade seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,0$)

5.5 Parâmetros Biológicos de *A. gemmatalis* e *S. frugiperda* alimentadas com dieta artificial contendo o extrato hexânico, acetato de etila e etanólico de folhas de *P. aduncum*

Em relação aos parâmetros biológicos, verificou-se que a duração do período larval de *A. gemmatalis* alimentadas com dieta contendo extrato hexânico de folhas de *P. aduncum* prolongou-se com o aumento das concentrações dos extratos, observando-se diferenças estatísticas em relação ao grupo controle a partir da concentração de 5,0 mg/mL. A duração do período pupal a partir da concentração de 2,5 mg/ml aumentou em cerca de um dia. Os

insetos submetidos aos tratamentos com extrato hexânico reduziram o peso pupal. Apenas na concentração 15,0 mg/mL as pupas apresentaram comprimento menores que as do grupo controle. Na largura das pupas não foram observadas diferenças entre as tratadas e as do grupo controle (Tabela 7).

Em *S. frugiperda*, a duração do período larval foi prolongada em todas as concentrações quando comparadas com o controle. Entretanto as pupas tratadas com extrato hexânico nas concentrações de 2,5; 5,0 e 10,0 mg/mL apresentaram a mesma duração larval. Em relação à duração pupal, a partir da concentração 2,5 mg/mL, ocorreu prolongamento quando comparado ao grupo controle. Em todas as concentrações dos extratos verificou-se redução de peso pupal. Em relação à largura e comprimento das pupas não houve diferenças estatísticas em relação ao grupo controle. Na concentração 15 mg/mL obteve-se 96,6% de mortalidade durante os primeiros cinco dias, inviabilizando a análise dos parâmetros biológicos (Tabela 7).

Tabela 7: Parâmetros biológicos de *A. gemmatalis* e *S. frugiperda* alimentadas com dieta artificial contendo o extrato hexânico de folhas de *P. aduncum*.

<i>Anticarsia gemmatalis</i>						
Parâmetros Biológicos	Controle	1mg/mL	2,5mg/mL	5mg/mL	10mg/L	15mg/mL
N	29	29	25	17	12	2
Duração larval (dias)	8,9±1,87 a	9,2±1,75 ab	9,8±1,75 ab	10,3±2,47 bc	11,8±2,30 c	11,5±0,5 c
Duração pupal (dias)	9,9±1,24 a	10,6±1,20 ab	11,3±1,68 b	11,4±1,61 b	11,7±1,22 b	11,5±1,34 b
Peso pupal (mg)	0,2436±0,02 a	0,2167±0,02 b	0,2180±0,02 b	0,2208±0,01 b	0,2139±0,01b	0,1959±0,002c
Largura pupal (mm)	5,19±0,22 a	4,94±0,35 a	5,04±0,24 a	5,09±0,20 a	5,01±0,32 a	4,85±0,32 a
Comprimento pupal (mm)	18,14±0,59 a	17,90±0,78 a	17,68±0,72 a	17,65±0,65 a	17,30±0,67ab	16,88±0,53 b
<i>Spodoptera frugiperda</i>						
Parâmetros Biológicos	Controle	1mg/mL	2,5mg/mL	5mg/mL	10mg/L	15mg/mL
N	29	29	28	20	18	1
Duração larval (dias)	19,8±1,34 a	21,5±1,36 b	22,8±1,25 bc	23,4±1,29 c	23,5±1,46 c	-
Duração pupal (dias)	11,4±1,27 a	12,1±1,28 ab	13,2±1,34 bc	13,4±1,51 c	13,5±1,46 c	-
Peso pupal (mg)	0,2127±0,02 a	0,1869±0,02 b	0,1967±0,01 b	0,1974±0,02 b	0,1913±0,39b	-
Largura pupal (mm)	4,79±0,30 a	4,57±0,49 a	4,65±0,34 a	4,72±0,42 a	4,74±0,39 a	-
Comprimento pupal (mm)	15,77±1,05 a	14,99±0,76 a	15,29±0,85 a	15,41±1,07 a	15,63±1,28 a	-

*Médias seguidas pelas mesmas letras, nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

Nos ensaios com *A. gemmatalis* observou-se o prolongamento dos estágios larval e pupal a partir da concentração de 5,0 mg/mL de extrato acetato de etila de folhas de *P. aduncum* quando comparados ao controle. Nos ensaios verificou-se redução do peso pupal em todas as concentrações dos extratos. Entretanto, em relação à largura e comprimento não houve diferença estatística entre o grupo controle e as concentrações avaliadas (Tabela 8).

A duração do período larval de *S. frugiperda* foi prolongada em 1,8 dias na concentração 15,0 mg/mL em relação ao grupo controle. Quanto à duração do período pupal, o grupo controle não apresentou diferenças estatísticas em relação aos tratamentos em todas as concentrações avaliadas. Entretanto, as pupas provenientes dos ensaios com o extrato na concentração de 15,0 mg/mL apresentaram redução de peso. Quanto à largura e o comprimento das pupas, não houve diferença entre os tratamentos (Tabela 8).

Tabela 8: Parâmetros biológicos de *A. gemmatalis* e *S. frugiperda* alimentadas com dieta artificial contendo o extrato acetato de etila de folhas de *P. aduncum*.

<i>Anticarsia gemmatalis</i>						
Parâmetros Biológicos	Controle	1mg/mL	2,5mg/mL	5mg/mL	10mg/ml	15mg/mL
N	28	28	25	18	10	3
Duração larval (dias)	14,1±1,30 a	14,7±1,34 a	15,4±1,20 ab	16,2±1,22 b	17,3±1,46 b	17,8±1,45 b
Duração pupal (dias)	9,2±1,25 a	10,1±1,27 ab	10,1±1,34 ab	11,3±1,31 b	13,1±1,21 c	13,2±1,23 c
Peso pupal (mg)	0,2921±0,03 a	0,2563±0,03 b	0,2359±0,03 b	0,2287±0,03 b	0,2058±0,03 c	0,2062±0,03 c
Largura pupal (mm)	5,87±0,31 a	5,33±0,36 a	5,25±0,39 a	5,25±0,34 a	4,87±0,49 a	5,77±0,36 a
Comprimento pupal (mm)	18,94±1,00 a	17,68±0,88 a	17,56±1,01 a	17,11±1,27 a	17,52±0,94 a	18,82±0,26 a
<i>Spodoptera frugiperda</i>						
Parâmetros Biológicos	Controle	1mg/mL	2,5mg/mL	5mg/mL	10mg/ml	15mg/mL
N	29	28	26	23	21	16
Duração larval (dias)	19,8±1,26 a	18,1±1,32 a	18,6±1,29 a	19,3±1,34 a	19,5±1,38 a	21,3±1,35 b
Duração pupal (dias)	11,4±1,37 a	11,5±1,39 a	11,5±1,29 a	11,6±1,34 a	11,6±1,37 a	11,7±1,39 a
Peso pupal (mg)	0,2127±0,16 a	0,2104±0,02 a	0,2068±0,24 ab	0,2022±0,03ab	0,2010±0,02ab	0,1939±0,03b
Largura pupal (mm)	4,79±0,30 a	4,78±0,34 a	4,48±0,41 a	4,44±0,52 a	4,37±0,51 a	4,32±0,62 a
Comprimento pupal (mm)	15,77±1,05 a	15,75±1,07 a	15,97±1,23 a	16,47±0,81 a	16,19±1,08 a	15,66±0,91 a

*Médias seguidas pelas mesmas letras, nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

A duração do período larval nos ensaios com *A. gemmatalis* variou de 17,9 a 19,8 dias e prolongou-se significativamente a partir da concentração de 2,5 mg/mL do extrato etanólico das folhas de *P. aduncum* em relação ao controle. A duração da fase pupal variou de 15,2 a 18,1 dias e prolongou-se a partir da concentração de 1,0 mg/mL. As pupas apresentaram redução de peso em todos os tratamentos em relação ao controle. Quanto à largura e comprimento não houve diferença estatística entre o controle e as concentrações avaliadas nos tratamentos (Tabela 9).

As durações dos períodos larval e pupal de *S. frugiperda* prolongaram-se a partir da concentração de 1,0 mg/mL quando comparadas ao controle. Em relação ao peso pupal, na concentração 15,0 mg/mL, as pupas apresentaram peso menor em relação às demais concentrações avaliadas e ao grupo controle. Quanto à largura e o comprimento das pupas, o

grupo controle não apresentou diferença estatística significativa em relação às concentrações avaliadas (Tabela 9).

Tabela 9: Parâmetros biológicos de *A. gemmatalis* e *S. frugiperda* alimentadas com dieta artificial contendo o extrato etanólico de folhas de *P. aduncum*.

<i>Anticarsia gemmatalis</i>						
Parâmetros Biológicos	Controle	1mg/ML	2,5mg/mL	5mg/mL	10mg/mL	15mg/mL
N	28	29	26	26	25	23
Duração larval (dias)	16,4±1,24 a	17,9±1,29 ab	18,5±1,25 bc	18,2±1,24 bc	18,7±1,33 bc	19,8±1,37 c
Duração pupal (dias)	13,3±1,32 a	15,2±1,35 b	16,2±1,35 bc	16,4±1,39 bc	17,2±1,45 c	18,1±1,43 d
Peso pupal (mg)	0,2771±0,02 a	0,2203±0,03 b	0,2291±0,02 b	0,2172±0,02 b	0,2460±0,02c	0,2473±0,01c
Largura pupal (mm)	5,77±0,58 a	5,27±0,46 a	5,44±0,31 a	5,24±0,20 a	5,39±0,37 a	5,39±0,40 a
Comprimento pupal (mm)	18,70±0,74 a	17,24±1,48 a	17,45±0,57 a	17,88±0,81 a	17,79±0,87 a	17,63±0,62 a
<i>Spodoptera frugiperda</i>						
Parâmetros Biológicos	Controle	1mg/mL	2,5mg/mL	5mg/mL	10mg/mL	15mg/mL
N	30	29	28	25	24	22
Duração larval (dias)	14,9±1,31 a	18,6±1,34 b	19,2±1,29 b	21,3±1,35 c	21,3±1,39 c	21,5±1,41 c
Duração pupal (dias)	11,2±1,25 a	13,3±1,29 b	13,5±1,32 b	13,5±1,29 b	13,6±1,32 b	13,6±1,34 b
Peso pupal (mg)	0,2292±0,02 a	0,2107±0,2 a	0,2166±0,02 a	0,2129±0,33 a	0,2154±0,02a	0,1873±0,02 b
Largura pupal (mm)	4,86±0,24 a	4,66±0,33 a	4,66±0,43 a	4,84±0,49 a	4,51±0,54 a	3,88±0,71 a
Comprimento pupal (mm)	16,64±0,79 a	16,02±0,86 a	16,13±1,03 a	16,12±0,85 a	16,14±0,96 a	15,84±1,04 a

*Médias seguidas pelas mesmas letras, nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

O prolongamento das fases larval e pupal nos diferentes extratos pode ser atribuído à presença de inibidores de crescimento ou substâncias tóxicas (fenilpropanóides e sesquiterpenos) nos extratos.

Estudos tem mostrado que compostos orgânicos de plantas com atividade inseticida podem atuar como inibidores da síntese de quitina e podem afetar crescimento, desenvolvimento, reprodução e diapausa em insetos (Aguiar-Menezes, 2005). Fenilpropanoides apresentam efeito tóxico sobre os insetos, o que poderia ocasionar efeitos sobre o ciclo de vida dos insetos (Kim & Lee, 2014; Regnault-Roger et al., 2012).

As alterações morfológicas e fisiológicas observadas nos ensaios sugerem interferência de algum componente do extrato no sistema hormonal que regula o desenvolvimento larval do inseto (Trindade et al., 2000). Essas alterações, de acordo com Mordue & Blackwell (1993) resultam da redução na concentração do ecdisônio ou atraso da sua liberação na hemolinfa, afetando o desenvolvimento larval, diminuindo a população do inseto reduzindo danos às plantas.

Em condições de campo, o prolongamento da fase larval pode aumentar o tempo de exposição da praga aos inimigos naturais, bem como reduzir o número de gerações (Torres et al., 2001).

Outros autores observaram em *S. frugiperda*, alimentada com dieta contendo extratos aquosos de *Ricinus communis*, prolongamento significativo da duração larval quando comparados ao grupo controle (Santiago et al., 2008). Conforme Knaak et al. (2012), extratos aquosos obtidos por maceração e infusão com as espécies *Malva silvestres*, *Canavalia ensiformes* (semente), *Cordia verbenaceae*, *Curcuma zedoaria* e *Cymbopogon citratus* prolongaram o estágio larval de *S. frugiperda*.

Em relação aos parâmetros morfométricos (peso, comprimento e largura), verificou-se que os indivíduos alimentados com dieta acrescida de extrato deram origem a pupas e adultos pequenos. Esse efeito poderia ser atribuído à presença de inibidores de crescimento ou substâncias tóxicas no extrato. Conforme Tanzubil & McCaffery (1990) a inibição do crescimento pode ser decorrente da baixa eficiência da conversão do alimento ingerido e digerido, causada por inibidores de enzimas digestivas ou pelo desvio de parte dele para a degradação de substâncias tóxicas presentes no substrato alimentar.

As reservas dos lepidópteros são acumuladas durante o desenvolvimento larval, sendo que as condições adversas nesse processo determinam assincronia com as populações normais causando problemas na reprodução desses insetos (Rodriguez & Vendramim, 1997; Matos et al., 2006), fecundidade e o baixo desempenho da descendência (Fantinou et al., 2008).

Em estudos semelhantes, os extratos de folhas de *A. coriacea* e *A. dioica* com alto conteúdo de compostos fenólicos, como observado nesse estudo, diminuíram o ganho de peso, emergência de adultos, fecundidade, fertilidade e eclosão de ovos de *S. frugiperda* (Freitas et al. 2014).

5.6 Parâmetros Biológicos de *A. gemmatalis* e *S. frugiperda* alimentadas com dieta artificial contendo o extrato hexânico, acetato de etila e etanólico de folhas de *P. hispidinervum*

Em relação aos parâmetros biológicos de *A. gemmatalis* alimentadas de dieta com extrato hexânico, verificou-se que a duração do período larval foi prolongada a partir da concentração de 1,0 mg/mL, entretanto, não se observou diferença estatística com a concentração de 2,5 mg/mL. A duração do período pupal foi prolongada em 1,4 dias na concentração de 1,0 mg/mL e de 3,5 dias na concentração de 2,5 mg/mL, em relação ao grupo controle, respectivamente. Na concentração 5,0 mg/mL obteve-se 96,66% de mortalidade durante os primeiros sete dias e nas concentrações 10,0 e 15,0 mg/mL observou-se mortalidade de 100% em dois dias, inviabilizando a análise dos parâmetros biológicos.

Os insetos submetidos aos tratamentos com extrato hexânico reduziram o peso pupal. Em relação à largura e o comprimento, apenas as pupas na concentração 2,5 mg/mL foram menores que as do grupo controle (Tabela 10). Foram observadas pupas e adultos com anomalias na concentração 2,5 mg/mL (Figura 11. A e 11. B).

Em *S. frugiperda*, a duração do período larval foi prolongada ocorrendo diferenças em relação ao grupo controle a partir da concentração 10,0 mg/mL. Entretanto, o mesmo efeito não foi observado sobre a duração do estágio de pupa que apresentou prolongamento em relação ao controle a partir da concentração de 2,5 mg/mL. As pupas do controle apresentaram peso, largura e comprimento maiores do que as pupas tratadas com o extrato hexânico nas concentrações 10,0 e 15,0 mg/mL (Tabela 10).

Tabela 10: Parâmetros biológicos de *A. gemmatalis* e *S. frugiperda* alimentadas com dieta artificial contendo o extrato hexânico de folhas de *P. hispidinervum*.

<i>Anticarsia gemmatalis</i>						
Parâmetros Biológicos	Controle	1mg/mL	2,5mg/mL	5mg/mL	10mg/mL	15mg/mL
N	30	29	14	1	0	0
Duração larval (dias)	14,5±1,24 a	18,2±1,37 b	19,8±1,42 b	-	-	-
Duração pupal (dias)	8,7±1,31 a	10,1±1,39 b	12,2±1,41 c	-	-	-
Peso pupal (mg)	0,2854±0,020 a	0,2538±0,030 b	0,1878±0,124 c	-	-	-
Largura pupal (mm)	5,50±0,40 a	5,37±0,48 a	3,60±0,38 b	-	-	-
Comprimento pupal (mm)	19,09±0,66 a	18,21±0,77 ab	17,16±0,17 b	-	-	-
<i>Spodoptera frugiperda</i>						
Parâmetros Biológicos	Controle	1mg/mL	2,5mg/mL	5mg/mL	10mg/mL	15mg/mL
N	29	30	27	24	17	14
Duração larval (dias)	16,5±1,21 a	16,2±1,25 a	17,4±1,22 a	17,4±1,23 a	21,2±1,28 b	23,3±1,25 c
Duração pupal (dias)	10,9±1,27 a	12,3±1,29 ab	12,5±1,28 b	12,4±1,30 b	14,5±1,31 c	14,7±1,27 c
Peso pupal (mg)	0,2232±0,03 a	0,2194±0,01 a	0,2140±0,03 a	0,2199±0,02 a	0,1659±0,07b	0,1634±0,09b
Largura pupal (mm)	4,69±0,33 a	4,56±0,20 a	4,65±0,46 a	4,61±0,38 a	3,45±0,37 b	3,38±0,57 b
Comprimento pupal (mm)	16,57±0,87 a	16,74±0,64 a	16,21±1,10 a	16,23±0,81 a	14,38±0,31 b	14,44±0,50 b

*Médias seguidas pelas mesmas letras, nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

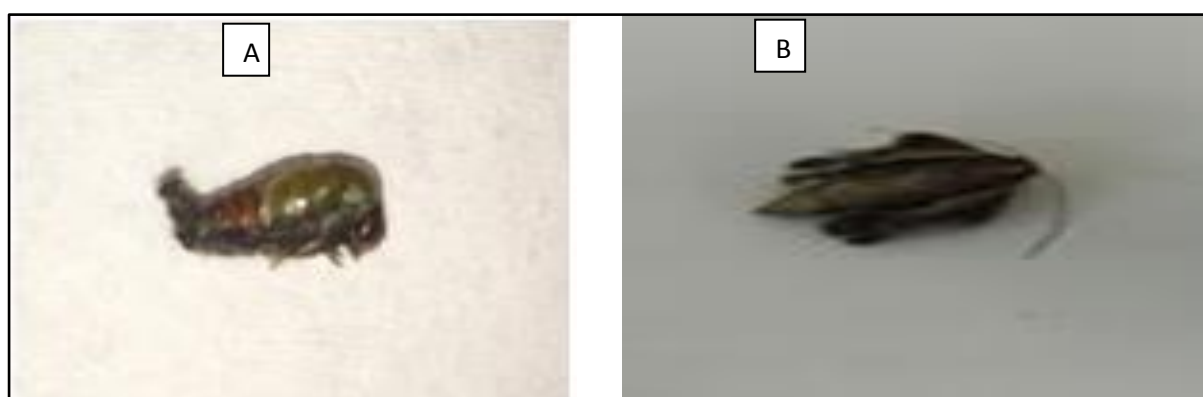


Figura 11: A) Pupa de *A. gemmatalis* deformada. B) Adultos de *A. gemmatalis* com malformação, provindos de ensaios com dieta artificial contendo o extrato hexânico de folhas de *P. hispidinervum*.

Nos ensaios com *A. gemmatalis* alimentadas, com dieta acrescida de extrato acetato de etila, observou-se o prolongamento do período larval e pupal, verificando-se diferenças estatísticas entre todas as concentrações e o grupo controle.

Em relação ao período larval e pupal de *A. gemmatalis* alimentadas com dieta acrescida de extrato acetato de etila verificou-se que os períodos foram prolongados em todas as concentrações.

As pupas do controle apresentaram pesos maiores do que as pupas tratadas com extratos em todas as concentrações avaliadas. Estatisticamente, não foram verificadas diferenças na largura das pupas entre o grupo controle e os tratamentos em todas as concentrações avaliadas. Entretanto, em relação ao comprimento das pupas, verificou-se diferenças estatísticas entre o grupo controle e a concentração de 10,0 mg/mL. Na concentração 15,0 mg/mL obteve-se 100% de mortalidade nos primeiros quatro dias, inviabilizando a análise dos parâmetros biológicos (Tabela 11).

A duração do período larval e pupal de *S. frugiperda* foi prolongada em todas as concentrações do extrato acetato de etila avaliados, quando comparados ao controle. O peso das pupas no controle foi maior do que nas tratadas com as concentrações de 10,0 e 15,0 mg/mL. Entretanto, na largura e comprimento das pupas não houve diferenças estatísticas entre controle e tratamentos (Tabela 11).

Tabela 11: Parâmetros biológicos de *A. gemmatalis* e *S. frugiperda* alimentadas com dieta artificial contendo o extrato acetato de etila de folhas de *P. hispidinervum*.

<i>Anticarsia gemmatalis</i>						
Parâmetros Biológicos	Controle	1mg/mL	2,5mg/mL	5mg/mL	10mg/mL	15mg/mL*
N	30	28	27	12	10	0
Duração larval (dias)	11,5±1,31 a	14,2±1,38 b	14,7±1,37 b	15,4±1,41 b	17,1±1,42 c	-
Duração pupal (dias)	10,1±1,25 a	12,3±1,27 b	14,4±1,31 c	14,8±1,32 c	16,7±1,32 d	-
Peso pupal (mg)	0,2854±0,02 a	0,2402±0,02 b	0,2490±0,018 b	0,2470±0,02 b	0,2255±0,03c	-
Largura pupal (mm)	5,50±0,40 a	5,27±0,36 a	5,23±0,26 a	5,09±0,29 a	4,84±0,38 a	-
Comprimento pupal (mm)	19,09±0,66 a	18,01±0,78 a	18,60±1,13 a	18,12±0,65 a	16,67±1,65 b	-
<i>Spodoptera frugiperda</i>						
Parâmetros Biológicos	Controle	1mg/mL	2,5mg/mL	5mg/mL	10mg/mL	15mg/mL
N	29	30	28	25	23	20
Duração larval (dias)	13,8±1,24 a	15,8±1,26 b	18,5±1,29 c	18,5±1,31 c	20,8±1,33 d	21,2±1,35 d
Duração pupal (dias)	9,5±1,29 a	11,6±1,31 b	13,9±1,29 c	13,8±1,34 c	13,8±1,35 c	15,6±1,34 d
Peso pupal (mg)	0,1690±0,01 a	0,1624±0,01 a	0,1617±0,03 a	0,1612±0,02 a	0,1365±0,06b	0,1404±0,07 b
Largura pupal (mm)	4,65±0,34 a	4,34±0,33 a	4,48±0,31 a	4,07±0,58 a	4,28±0,22 a	4,39±0,30 a
Comprimento pupal (mm)	14,78±0,65 a	14,63±0,68 a	14,24±1,22 a	14,90±0,81 a	14,25±0,16 a	14,33±0,17 a

* Médias seguidas pelas mesmas letras, nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

A duração do período larval e pupal de *A. gemmatalis*, nos ensaios com dieta acrescida de extrato etanólico foi prolongada, observando-se diferença estatística a partir da concentração de 1,0 mg/mL em relação ao grupo controle. As pupas do grupo controle apresentaram peso maior do que as tratadas. Nos parâmetros largura e comprimento pupal, não se observou diferenças estatísticas entre as concentrações avaliadas e o grupo controle (Tabela 12).

A duração do período larval de *S. frugiperda* foi prolongada diferindo do grupo controle a partir da concentração de 10,0 mg/mL. Entretanto, o mesmo efeito não foi observado sobre a duração do período pupal, não sendo verificadas diferenças entre as

concentrações e o grupo controle. Não foram observadas diferenças estatísticas, quanto ao peso, largura e comprimento das pupas, entre grupo controle e tratamentos (Tabela 12).

Tabela 12: Parâmetros biológicos de *A. gemmatalis* e *S. frugiperda* alimentadas com dieta artificial contendo o extrato etanólico de folhas de *P. hispidinervum*.

<i>Anticarsia gemmatalis</i>						
Parâmetros Biológicos	Controle	1mg/mL	2,5mg/mL	5mg/mL	10mg/mL	15mg/mL
N	29	29	29	29	28	27
Duração larval (dias)	10,6±1,45 a	12,3±1,35 b	12,5±1,34 b	15,2±1,37 c	15,8±1,35 c	15,7±1,38 c
Duração pupal (dias)	10,7±1,26 a	12,3±1,26 b	12,5±1,29 b	14,5±1,31 c	21,46±1,28 c	14,6±1,28 c
Peso pupal (mg)	0,2955±0,02 a	0,2545±0,04 b	0,2562±0,03 b	0,2592±0,03 b	0,2552±0,02 b	0,2448±0,02 b
Largura pupal (mm)	6,06±0,42 a	5,82±0,62 a	5,54±0,47 a	5,44±0,30 a	5,58±0,40 a	5,43±0,29 a
Comprimento pupal (mm)	18,82±0,95 a	18,24±1,14 a	17,54±1,08 a	17,47±1,14 a	17,13±0,61 a	17,80±0,85 a
<i>Spodoptera frugiperda</i>						
Parâmetros Biológicos	Controle	1mg/mL	2,5mg/mL	5mg/mL	10mg/mL	15mg/mL
N	29	30	30	30	27	26
Duração larval (dias)	16,5±1,31 a	15,3±1,34 a	15,6±1,35 a	15,8±1,32 a	18,2±1,37 b	18,5±1,39 b
Duração pupal (dias)	10,9±1,26 a	11,1±1,27 a	11,2±1,31 a	11,3±1,29 a	11,2±1,32 a	11,3±1,32 a
Peso pupal (mg)	0,2436±0,02 a	0,2465±0,02 a	0,2439±0,03 a	0,2423±0,03 a	0,2465±0,02 a	0,2428±0,02 a
Largura pupal (mm)	5,19±0,22 a	5,11±0,55 a	4,96±0,48 a	5,17±0,53 a	5,14±0,67 a	5,32±0,52 a
Comprimento pupal (mm)	17,14±0,59 a	17,31±0,75 a	17,75±0,74 a	17,53±0,74 a	17,45±0,82 a	17,85±0,72 a

*Médias seguidas pelas mesmas letras, nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Nos ensaios com extrato hexânico, acetato de etila e etanólico verificou-se prolongamento das fases larval e pupal das duas espécies de lagartas. Conforme a literatura, as reservas dos lepidópteros são acumuladas durante o desenvolvimento larval, sendo que as condições adversas nesse processo determinam assincronia com as populações normais reduzindo a copulação (Rodriguez & Vendramim, 1997), fecundidade e o desempenho da descendência (Fantinou et al., 2008).

Quanto às alterações nos parâmetros morfométricos (peso, comprimento e largura) observadas nos três extratos, verificou-se pupas de menor peso, largura e comprimento, as

quais originaram adultos pequenos, o que possivelmente levará a dificuldades na cópula, acarretando problemas na reprodução e consequentemente diminuição de insetos na próxima geração.

Em estudos semelhantes, o óleo essencial de *P. hispidinervum* ocasionou redução do peso e aumento do período pupal de *S. frugiperda* quando comparados com o controle. Os autores afirmaram que esses efeitos estão possivelmente associados à presença de mono e sesquiterpenos presentes no óleo essencial (Cruz et al., 2014).

Nos ensaios com extrato hexânico ocorreu malformações em pupas e adultos de *A. gemmatalis*. Anormalidades na formação de pupas e adultos de lepidópteros também foram observadas por outros autores em *A. gemmatalis* com extratos aquosos de *Labramia bojeri* (Macedo et al., 2014) e em *S. frugiperda* com extratos de *Cabralea canjerana* e *Araucaria angustifolia* (Magrini et al., 2015; Branco et al., 2014). Conforme Pereira et al. (2008), o óleo essencial de *P. hispidinervum* tem sido relatado exercendo efeito na redução do número de ovos e emergência de adultos de *C. maculatus*.

A bioatividade dos extratos de *P. hispidinervum* observadas sobre *A. gemmatalis* e *S. frugiperda* pode ser devido a ação combinada dos compostos identificados em cada extrato como os sesquiterpenos, monoterpenos, fenilpropanóides e flavonóides, ou da presença de outros compostos não identificados pela análise realizada que tenham atividade inseticida.

6. CONCLUSÕES

Com base nos resultados da avaliação da atividade biológica dos extratos hexânico, acetato de etila e etanólico de folhas de *P. aduncum* e *P. hispidinervum* sobre *A. gemmatilis* e *S. frugiperda*, conclui-se que:

- Extratos das folhas de *P. aduncum* e *P. hispidinervum* apresentaram fenilpropanóides e sesquiterpenos, sendo que *P. hispidinervum* também apresentou um monoterpene e um flavonóide;
- O apiol foi o composto majoritário encontrado nos extratos hexânico e acetato de etila de *P. aduncum*;
- Entre os compostos identificados no extrato hexânico de *P. hispidinervum*, o apiol foi o composto majoritário, sendo que no extrato de acetato de etila, o pinocembrin foi o composto predominante.
- *A. gemmatilis* foi mais suscetível que *S. frugiperda* nos ensaios com extrato acetato de etila de *P. aduncum* e extratos hexânico e acetato de etila de *P. hispidinervum*;
- A menor CL_{50} (2,34mg/mL) foi obtida com o extrato hexânico de *P. hispidinervum* em *A. gemmatilis*;
- Extratos de *P. aduncum* e *P. hispidinervum* ocasionaram efeitos secundários sobre o desenvolvimento dos insetos (prolongamento das fases larval e pupal, redução do peso, comprimento e largura pupal e malformações de pupas e adultos);
- A ação dos extratos sobre a mortalidade e os efeitos secundários em *A. gemmatilis* e *S. frugiperda* pode ser atribuída à presença dos compostos com efeito ou ação sinérgica;

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abdel-Sattar, E.; A. Zaitoun, M. A. Farag, S H. Gayed & F. M. Harraz. 2010. Chemical composition, insecticidal and insect repellent activity of *Schinus molle* L. leaf and fruit essential oils against *Trogoderma granarium* and *Tribolium castaneum*. *Natural Product Research*, 24(3): 226–235.

Aguiar-Menezes, E. L. M. 2005. *Inseticidas Botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola*. Seropédica/RJ. (EMBRAPA Agrobiologia, Documentos 205). 58p.

Almeida, R. R. P.; R. N. P. Souto, M. H. L. Silva & J. G. S. Maia. 2009. Chemical Variation in *Piper aduncum* and Biological Properties of Its Dillapiole-Rich Essential Oil. *Chemistry & Biodiversity*, 9(6):1427-1434.

Ashamo, M. O. & O. O. Odeyemi. 2001. Protection of maize against *Sitophilus zeamais* Motsch. using seed extracts from some indigenous plants. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*, 108:320-327.

Assad, L. 2012. Agrotóxicos. *Ciência e Cultura*, 64(4): 6-8.

Bakkali, F.; D. Alverbeck & M. Idaomar. 2008. Biological effects of essential oils. *Food and Chemical Toxicology*, Oxford, 46(2):446-475.

Barros, E. M.; J. B. Torres & A. F. Bueno. 2010. Oviposição, Desenvolvimento e Reprodução de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em Diferentes Hospedeiros de Importância Econômica. *Pest Management – Neotropical Entomology*, 36 (6): 996 – 1001.

Bastos, C. S. & J. B. Torres. 2004. Os perigos às escondidas. *Revista Cultivar*, 60:10-13.

Berenbaum, M. R. 2002. Postgenomic chemical ecology: From genetic code to ecological interactions. *Journal of Chemical Ecology*, 28(5): 873-896.

Bernard, C. B.; H. G. Krishanmurty, D. Chauret, T. Durst, B. J. R. Philogène, P. Sánchez-Vindas, C. Hasbun, L. Poveda & L. San Román. 1995. Insecticidal defenses of Piperaceae from the neotropics. *Journal of Chemical Ecology*, 21(6): 801-814.

Bernard, C. B. & B. J. Philogene. 1993. Isecticide synergists: role, importance and perspectives. *Journal of Toxicology and Environmental Health*. Washington. 38: 199-223.

Bloomquist, J. R. 2003. Chloride channels as tools for developing selective insecticides. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 54(4): 145–156.

Branco, C. S.; E. D. Lima, E. Pavao, L. R. Bertholdo-Vargas, N. M. Barros & M. Salvador. 2014. *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze induces oxidative and genotoxic damage in *Anticarsia gemmatilis* larvae Hübner (Lepidoptera: Erebidæ). *Journal of Pest Management*, 60:114-120.

Brechelt, A. 2004. *O Manejo Ecológico de Pragas e Doenças*. Santa Cruz do Sul, República Dominicana: Fundação Agricultura e Meio Ambiente (FAMA), Rede de Ação em Praguicidas e suas Alternativas para a América Latina (RAP-AL), 33 p.

Buhrmester, R. A.; J. E. Ebinger & D. S. Seigler. 2000. Sambunigrin and cyanogenic variability in populations of *Sambucus canadensis* L. (Caprifoliaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 28: 689-695.

Capinera, J. L. 2002. *Handbook of vegetable pests*. San Diego: Academic Press. 2700p.

Costantin, M. B.; P. Sartorelli, R. Limberger, A. T. Henriques, M. Steppe, M. J. P. Ferreira, M. T. Ohara, V. P. Emerenciano & M. J. Kato. 2001. Essential oils from *Piper cernuum* and *Piper regnelli* – Antimicrobial activities and analyses by GC/MS and C13 NMR. *Planta Médica*, 67: 771-773.

Cruz, G. S.; V. Wanderley-Teixeira, J. V. Oliveira, A. A. Correia, M. O. Breda, T. J. S. Alves, F. M. Cunha, A. A. C. Teixeira, K. A. Dutra, & D. M. A. F. Navarro. 2014. Bioactivity of *Piper hispidinervum* (Piperales: Piperaceae) and *Syzygium aromaticum* (Myrtales: Myrtaceae)

Oils, with or without Formulated Bt on the Biology and Immunology of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology*, 107(1): 144-153.

Cruz, I. & M. A. R. Monteiro. 1999. *Controle biológico de Spodoptera frugiperda utilizando o parasitóide de ovos Trichogramma*. Sete Lagoas/MG: (EMBRAPA CNPMS, Circular Técnica, 30). 40p.

Cushnie, T. & A. J. Lamb. 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. *Journal of Antimicrobial Agents*, 26: 343 – 356.

De Oliveira, A. C.; L. F. Ribeiro-Pinto, J. R. Paumgarten. 1997. In vitro inhibition of CYP2B1 monooxygenase by myrcene and other monoterpenoid compounds. *Toxicology Letters*, 92: 39–46.

Dunkel, F.V. & L. J. Sears. 1998. Fumigant properties of physical preparations from mountain big sagebrush, *Artemisia tridentata* Nutt. sp. *vaseyana* (Rydb.) beetle for stored grain insects. *Journal of Stored Products Research*, 34(4): 307-321.

Dyer, L. A. & A. N. Palmer. 2004. *Piper: a model genus for studies of evolution, chemical ecology and trophic interactions*. New York: Kluwer Academic Publishers, 228p.

Estrela, J. L. V.; M. Fazolin, V. Catani, M. R. Alécio & M. S. Lima. 2006. Toxicidade de óleos essenciais de *Piper aduncum* e *Piper hispidinervum* em *Sitophilus zeamais*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 41(2): 217-222.

Facundo, V.D.; A.R. Polli, R.V. Rodrigues, J.S.L.T. Militão, R.G. Stabelli & C.T. Cardoso. 2008. Constituintes químicos fixos e voláteis dos talos e frutos de *Piper tuberculatum* Jacq. e das raízes de *P. hispidum*. *Acta Amazônica*, 38(4):733-742.

Falkenberg, M. B.; R. I. Santos & C. M. O Simões. 2000. *Farmacognosia: da Planta ao Medicamento*. In: SIMÕES, C. M. O. SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. *Introdução à Análise Fitoquímica*. 2. ed. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p. 163-179.

Fantinou, A. A.; D. C. Perdiks & N. Stamogianis. 2008. Effect of larval crowding on the life history traits of *Sesamia nonagrioides* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Entomolog*, 105: 625-630.

Fazolin, M.; J. L. V. Estrela, V. Catani, M. R. Alécio & M. S. Lima. 2007. Insecticidal properties of essential oils of *Piper hispidinervum* C. DC.; *Piper aduncum* L. and *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. & K. Shum against *Tenebrio molitor* L., 1758. *Ciência e Agrotecnologia*, 31: 113-120.

Fazolin, M.; J. L. V. Estrela, V. Catani, M. S. L. Lima, R. Marcio & M. R. Alécio. 2005. Toxicidade do Óleo de *Piper aduncum* L. a Adultos de *Cerotoma tingomarianus* Bechyne (Coleoptera: Chrysomelidae). *Neotropical Entomology*, 34(3): 485-489.

Finney, D. J. 1971. *Probit analysis*. 3th ed. London: Cambridge University Press. 25p.

Fortunato, F. S.; M. G. A. Oliveira, M. H. N. Brumano, C. H. O. Silva, R. N. C. Guedes & M. A. Moreira. 2007. Lipoxygenase-induced defence of soybean varieties to the attack of the velvet wean Caterpillar (*Anticarsia gemmatilis* Hübner). *Journal of Pest Science*, 80: 241-247.

Freitas, A. F.; F. F. Pereira, A. S. N. Formagio, J. T. Lucchetta, M. C. Vieira & R. M. Mussury. 2014. Effects of Methanolic Extracts of *Annona* Species on the Development and Reproduction of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). *Neotropical Entomology*, 43: 446-452.

Gallo, D.; O. Nakano; S. Silveira Neto; R. P. L. Carvalho; G. C. Baptista; E. Berti Filho; J. R. P. Parra; R. A. Zuccchi; S. B. Alves; J. D. Vendramim; L. C. Marchini; J. R. S. Lopes & C. Omoto. 2002. *Entomologia Agrícola*. Piracicaba: FEALQ. 920p.

Garcia, F. R. M. 2002. *Zoologia Agrícola: Manejo Ecológico de Pragas*. 2ed. Porto Alegre. Rígel. 240p.

Gogosz, A. M.; M. R. T. Boeger, R. R. B. Negrelle & C. Bergo. 2012. Anatomia foliar comparativa de nove espécies do gênero *Piper* (Piperaceae). *Rodriguésia*, 63(2): 405-417.

- Greene, G. L.; N. C. Leppla & W. A. Dickerson. 1976. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. *Journal of Economic Entomology*, 69 (4): 487-488.
- Gullan, P. J. & P. S. Cranston. 2007. *Os insetos: um resumo de entomologia*. 3. ed. São Paulo: Roca. 440 p.
- Hodgson, E.; D. Ryu, N. Adams & P. E. Leviet. 1995. Biphasic responses in synergistic interactions. *Toxicology*, 105:211-216.
- Hussain, M. S.; S. Fareed, S. Ansari, M. A. Rahman, I. Z. Ahmad & M. Saeed. 2012. Current approaches toward production of secondary plant metabolites. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 4(1): 10–20.
- Isnard, S.; J. Prosperi, S. Wanke, S. T. Wagner, M. S. Samain, S. Trueba, L. Frenzke, C. Neinhuis & N. P. Rowe. 2012. Growth form evolution in piperales and its relevance for understanding angiosperm diversification: an integrative approach combining plant architecture, anatomy, and biomechanics. *Journal of Plant Sciences*, 173(6): 610-639.
- Jaramillo, M. A. & P. S. Manos. 2001. Phylogeny and patterns of floral diversity in the genus *Piper* (Piperaceae). *American Journal of Botany*, 88: 701-716.
- Kathrina, G. A. & L. O. J. Antonio. 2004. Controle biológico de insetos mediante extratos botânicos. In: CARBALL, M., F. GUAHARAY. *Control biológico de plagas agrícolas*, 137-160.
- Kato, M. J. & M. Furlan. 2007. Chemistry and evolution of the Piperaceae. *Pure and Applied Chemistry*, 79(4): 529-538.
- Kessler, A. & I. T. Baldwin. 2002. Plant responses to insect herbivory: the emerging molecular analysis. *Annual Review of Plant Biology*, 53: 299–328.
- Khalaf, A. F. 2004. Toxicological efficacy of some indigenous dill compounds against the flesh fly, *Parasarcophaga dux* Thomson. *Journal of the egyptian Society of Parasitology*, 34: 227-237.

Kim, S. I. & D. W. Lee. 2014. Toxicity of basil and orange essential oils and their components against two coleopteran stored products insect pests. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 17(1): 13-17.

Kloucek, P.; Z. Polesny, B. Svobodova, E. Vlkova & L. Kokoska. 2005. Antibacterial screening of some Peruvian medicinal plants used in Calleria District, *Journal of Ethnopharmacology*, 99: 309–312.

Knaak, N.; M. S. Tagliari, V. Machado & L. M. Fiuza. 2012. Atividade Inseticida de Extratos de Plantas Medicinais Sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). *BioAssay*, 7(1):1-6.

Kogan, M.; S. G. Turnipseed, M. Shepard, E. B. Oliveira & A. Borgo. 1977. Pilot insect pest management program for soybean in Southern Brazil. *Journal of Economic Entomology*, 5: 659-663.

Lago, J. H. G.; A. Chen, M. C. M. Young, E. F. Guimarães, A. Oliveira & M. J. Kato. 2009. Prenylated benzoic acid derivatives from *Piper aduncum* and *Piper hostmannianum*. *Phytochemistry Letters*, 2: 96-98.

Leite, N. F.; C. E. Sobral-Souza, R. S. Albuquerque, D. I. V. Brito, A. K. L. S. Lavor, L. B. B. Alencar, S. R. Tintino, J. V. A. Ferreira, F. G. Figueredo, L. F. Lima, F. A. B. Cunha, A. I. Pinho & H. D. M. Coutinho. 2013. Atividade antiparasitária *in vitro* e citotóxica de cariofileno e eugenol contra *Trypanossoma cruzi* e *Leishmania brasiliensis*. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 18(4): 522-528.

Lima, R. K.; M. G. Cardoso, J. C. Moraes, B. A. Melo, V. G. Rodrigues & P. L. Guimarães. 2009. Atividade inseticida do óleo essencial de pimenta longa (*Piper hispidinervum* C. DC.) sobre lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). *Acta Amazonica*, 39(2): 377-382.

Lima, A. S.; J. G. N. S. Filho; S. G. Pereira; G. M. S. P. Guillon & L. S. Santos. 2014. Acaricide activity of different extracts from *Piper tuberculatum* fruits against *Rhipicephalus microplus*. *Parasitology Research*, 113: 107–112.

Lorenzi, H. & F. J. A. Matos. 2008. *Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas*. São Paulo: Instituto Plantarum, 576p.

Lohezic-Le Devehat. F; A. Bakhtiar, C. Bezivin, M. Amoros & J. Boustie. 2002. Antiviral and cytotoxic activities of some Indonesian plants. *Fitoterapia*, 73(5): 400-405.

Lustosa, F. L. F.; S. C. C. Oliveira & L. A. Romeiro. 2007. Efeito alelopático de extrato aquoso de *Piper aduncum* e *Piper tectoniifolium* na germinação e crescimento de *Lactuca sativa*. *Revista Brasileira de Biociências*, 5: 849-851.

Macedo, M. L. R.; C. E. G. Kubo, M. G. M. Freire, R. T. A. Júnior & J. R. P. Parra. 2014. Entomocidal effects of beech apricot, *Labramia bojeri*, seedextract on a soybean pest, the velvetbean moth, *Anticarsia gemmatilis*, and its enzymatic activity. *Journal of Insect Science*: 26: 14-27.

Magrini, F. E.; A. Specht, J. Gaio, C. P. Girelli, I. Miguez, H. Heinzen, J. Saldana, V. C. Sartori & V. Cesio. 2015. Antifeedant activity and effects of fruits and seeds extracts of *Cabralea canjerana canjerana* (Vell.) Mart. (Meliaceae) on the immature stages of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). *Industrial Crops and Products* 65: 150–158.

MAPA. 2015. *Ministério da Agricultura: Soja e Milho*. Disponível em: www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/soja/milho. Acessado em: 12 de setembro de 2015.

Matos, A. P.; L. Nebo, E. R. Calegari, L. G. Batista-Pereira, P. C. Vieira, J. B. Fernandes, M. F. G. F. Silva, P. F. Filho & R. R. Rodrigues. 2006. Atividades biológicas de extratos orgânicos de *Trichilia* spp. (Meliaceae) sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera:Noctuidae) em dietaartificial. *BioAssay*. 1:1-7

Meinwald, J. 2001. Sex, violence and drugs in the world of insects: a chemist's view. *Science* 5: 80–92.

Misni, N.; H. Othman, S. Sulaiman. 2011. The effect of *Piper aduncum* Linn. (Family: Piperaceae) essential oil as aerosol spray against *Aedes aegypti* (L.) and *Aedes albopictus* Skuse. *Tropical Biomedicine*, 28(2): 249-258.

Miranda, J. E.; J. E. M. Oliveira, K. C. G. Rocha, S. A. Bortoli, H. M. D. Navickiene, M. J. Kato & M. Furlan. 2002. Potencial inseticida do extrato de *Piper tuberculatum* (Piperaceae) sobre *Alabama argillacea* (Huebner, 1818) (Lepidoptera: Noctuidae). *Revista Brasileira de Oleoginosas e Fibrosas*, 6(2): 557-563.

Miyakado, M.; I. Nakaiama & N. Ohno. 1989. *Insecticidal unsaturated isobutylamides*: From natural products to agrochemical leads. In: ARNASON, J. T.; PHILOGÈNE, B. J. R.; MORAND, P. J. *Insecticides of plant origin*. New York: American Chemical Society, 418 p.

Mordue, A. J. & Blackwell, A. 1993. Azadirachtin: an update. *Journal of Insect Physiology*, 39: 903-924.

Morimoto, M.; K. Tanimoto, S. Nakano, T. Ozaki, A. Nakano & K. Komai. 2003. Insect antifeedant activity of flavones and chromones against *Spodoptera litura*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(2): 389-393.

Navickiene, H. M. D.; J. E. Miranda, S. A. Bortoli, M. J. Kato, V. S. Bolzani & M. Furlan. 2007. Toxicity of extracts and isobutyl amides from *Piper tuberculatum*: potent compounds with potential for the control of the velvetbean caterpillar, *Anticarsia gemmatilis*. *Pest Management Science*, 63: 399-403.

Oliveira, L. J.; C. B. Hoffmann-Campo & M. A. Mazzarin. 1993. Aspectos biológicos e nutricionais de *Anticarsia gemmatilis* Hüb. (Lepidoptera: Noctuidae) em diversos genótipos de soja. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 22: 547-552.

Panizzi, A. R. & J. R. P. Parra. 1991. A ecologi nutricional e o manejo integrado de pragas. In: PANIZZI, A. R.; PARRA, J. R. P. *Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas*. São Paulo: Manole, p. 313- 336.

Parra, J. E.; W. A. Delgado, L. E. Cuca. 2011. Cumanensic acid, a new chromene isolated from *Piper cumanense* Kunth. (Piperaceae). *Phytochemistry Letters*, 226: 280-282.

Parra, J. R. P.; Botelho, P. S. M.; Corrêa-Ferreira, B. S.; Bento, J. M. S. 2002. Controle biológico: terminologia. In: Parra, J. R. P.; Botelho, P. S. M.; Corrêa-Ferreira, B. S.; Bento, J. M. S. (Ed.). *Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores*. São Paulo: Manole, p. 1-16.

Pavela, R. 2011. Antifeedant and larvicidal effects of some phenolic components of essential oils *Lasps* lines of introduction against *Spodoptera littoralis* (Boisd.). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 14: 266–273.

Picman, A. K. 1986. Biological activities of sesquiterpene lactones. *Biochemical Systematics and Ecology*, 14: 255-281.

Pedigo, L. P. & M. E. Rice. 1996. *Entomology and Pest Management*. 6ed. Prentice Hall, Englewood Cliffs, New Jersey.

Pereira, A.C.R., J. V. Oliveira, M. G. Gondim Junior, and C.A.G. Câmara. 2008. Atividade inseticida de óleos essenciais e fixos sobre (*Callosobruchus maculatus* Fabr., 1775) (Coleoptera: Bruchidae) em grãos de caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]. *Ciência e Agrotecnologia* 32: 717-724.

Piton, L. P.; L. M. Turchen; A. R. Butnariu & M. J. B. Pereira. 2014. Natural insecticide based-leaves extract of *Piper aduncum* (Piperaceae) in the control of stink bug brown soybean. *Ciência Rural*, 44(11): 1915-1920.

Priestley, C. M.; E. M. Williamson, K. A. Wafford, D. B. Satelle. 2003. Thymol, a constituent of thyme essential oil, is a positive allosteric modulator of human GABAA receptors and a homo-oligomeric GABA receptor from *Drosophila melanogaster*. *British Journal of Pharmacology*, 140: 1363–1372.

- Pohlit, A. M.; E. C. J. Quinard, S. M. Nunomura, W. P. Tadei & A. F. Hidalgo. 2004. Screening of plants found in the State of Amazonas, Brazil for larvicidal activity against *Aedes aegypti* larvae. *Acta amazônica*, 34(1): 97 – 105.
- Pogue, M. G. 2002. A word revision of the genus *Spodoptera* (Guenée) (Lepidoptera: Noctuidae). *Memoirs of the American Entomological Society*, 43: 1-202.
- Ravindran, R.; S. Juliet, K. G. Ajith Kumar, A. R. Sunil, S. N. Nair, K. K. Amithamol, A. K. S. Rawat & S. Ghosh. 2011. Toxic effects of various solvents against *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus*. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 2: 160–162.
- Regnault-Roger, C.; C. Vincent & J. T. Arnason. 2012. Arnason, Essential oils in insect control: low-risk products in a high-stakes world. *Annual Review of Entomology*, 57: 405-424.
- Reigada, J. B. 2009. Bioprospecção em espécies de Piperaceae. 133 p. *Dissertação de mestrado*. Universidade de São Paulo. Instituto de Química. São Paulo.
- Riva, D.; E. L. Simionatto, A. Wisniewski, A. R. Salerno & T. H. Schallenberger. 2011. Estudo da adaptação da espécie *Piper hispidinervum* C. DC. (pimenta longa) à região do Vale do Itajaí – SC, através da composição química do óleo essencial obtido por hidrodestilação por micro-ondas e convencional. *Acta Amazonica*, 41(2): 297 – 302.
- Rodríguez, H. C. & Vendramim, J. D. 1997. Avaliação da bioatividade de extratos aquosos de Meliaceae sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). *Revista de Agricultura*, 72(3): 305-318.
- Roel, A. R. 2001. Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o desenvolvimento rural sustentável. *Revista Internacional de Desenvolvimento Local*. 1(2): 43-15.
- Salgado, D. N.; L. R. D. Faroni & A. Soto. 2012. Aceite essencial de *Piper crassinervum* para o controle de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *Boletín Científico Museu de História Natural*, 16(1): 99-107.

Santana H. T.; F. T. T. Trindade, R. G. Stabeli, A. A. E. Silva, J. S. T. L. Militão & V. A. Facundo. 2015. Essential oils of leaves of *Piper* species display larvicidal activity against the dengue vector, *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 17(1):105-111.

Santiago, G. P.; L. E. M. Pádua, P. R. R. Silva, E. M. S. Carvalho & C. B. Maia. 2008. Efeitos de Extratos de Plantas na Biologia de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) Mantida em dieta Artificial. *Ciência e Agrotecnologia*, 32(3): 792-796.

Santos, M. R. A.; A. G. Silva, R. A. Lima, D. K. S. Lima, L. A. P. Sallet, C. A. D. Teixeira, A. R. Polli & V. A. Facundo. 2010. Atividade inseticida do extrato das folhas de *Piper hispidum* (Piperaceae) sobre a broca-do-café (*Hypothenemus hampei*). *Revista Brasileira de Botânica*, 33(2): 319-324.

Sauter, I. P.; G. E. Rossa, A. M. Lucas, S. P. Cibulski, P. M. Roehe, L. A. A.S. Silva, M. B. Rott, R. M. F. Vargas, E. Cassel & G. L. Poser. 2012. Chemical composition and amoebicidal activity of *Piper hispidinervum* (Piperaceae) essential oil. *Industrial Crops and Products*, 40: 292– 295.

Scott, J. G.; M. Foroozesh, N. E Hopkins, T. G. Alefantis & W. L Alworth. 2000. Inhibition of Cytochrome P450 6D1 by Alkynylarenes, Methylenedioxyarenes, and Other Substituted Aromatics. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 67: 63–71.

Sellamuthu, P. S.; D. Sivakumar & P. Soundy. 2013. Antifungal activity and chemical composition of thyme, peppermint and citronella oils in vapor phase against avocado and peach postharvest pathogens. *Journal of Food Safety*, 33: 86–93.

Sertkaya, E.; K. Kaya & S. Soylu. 2010. Acaricidal activities of the essential oils from several medicinal plants against the carmine spider mite (*Tetranychus cinnabarinus* Boisdu.) (Acarina: Tetranychidae). *Industrial Crops and Products*, 31:107–112.

Silva, W. C.; J. R. S. Martins, H. E. M. Souza, H. Heinzen, M. V. Cesio, M. Mato, F. Albrecht, J. L. Azevedo & N. M. Barros. 2009. Toxicity of *Piper aduncum* L. (Piperaceae):

Piperaceae) from the Amazon forest for the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). *Veterinary Parasitology*, 164: 267-274.

Silva, W. C.; J. D. Ribeiro, H. E. M. S. Souza & R. S. Corrêa. 2007. Atividade inseticida de *Piper aduncum* L. (Piperaceae) sobre *Aetalion* sp. (Hemiptera: Aetalionidae), praga de importância econômica no Amazonas. *Acta Amazonica*, 37(2): 293-298.

Simões, C. M. O.; E. P. Schenkel; G. Gosmann; J. C. P. Mello; L. A. Mentz; P. R. Petrovick. 2007. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 6ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 1104p.

Soares, C. S.; M. Silva, M. B. Costa, C. E. S. Bezerra, L. M. Carvalho & A. H. V. Soares. 2012. Atividade Inseticida de óleos essenciais sobre *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas) (Hemiptera: Aphididae) em roseira. *Revista Brasileira de Agroecologia*, 7(1):169-175.

Sousa, R. M. O. F.; J. S. Rosa, L. Oliveira, A. Cunha & M. Fernandes-Ferreira. 2015. Activities of Apiaceae essential oils and volatile compounds on hatchability, development, reproduction and nutrition of *Pseudaletia unipuncta* (Lepidoptera: Noctuidae). *Industrial Crops and Products*, 63: 226–237.

Souto, R. N. P.; A. Y. Harada, E. H. Andrade, J. G. Maia. 2012. Insecticidal activity of Piper essential oils from the Amazon against the fire ant *Solenopsis saevissima* (Smith) (Hymenoptera: Formicidae). *Neotropical Entomology*, 41(6): 510-517.

Souza, V. C. & H. Lorenzi. 2005. *Botânica sistemática: guia ilustrado para a identificação das famílias de Angiosperma da flora brasileira*. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 640p.

Tabashnik, B. E. & R. T. Roush. 1990. Introduction. In: ROUSH, R. T.; TABASHNIK, B. E. (Ed.). *Pesticide resistance in arthropods*. New York: Chapman and Hall, p.1-3.

Taiz, L. & E. Zeiger. 2004. *Fisiologia vegetal*. Porto Alegre: Artmed, 719 p.

Tanzubil, P. B. & A. R. McCaffery. 1990. Effects of azadirachtin and aqueous neem seed extracts on survival, growth and development of the African armyworm, *Spodoptera exempta*. *Crop Protection*, 9: 383-386.

Tavanti, T. R.; V. Takeshit, F. F. Oliveira & L. F. C. Ribeiro. 2014. Ocorrência de *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*, e uso de biopesticidas no controle de mancha angular na abobrinha “menina brasileira”. *Agrarian Academy*, 1(2): 109-124.

Trindade, F. T.T.; R. G. Stabeli, V. A. Facundo, C. T. Cardoso, M. A. Silva, L. H. S. Gil, I. Silva-Jardim & A. A. Silva. 2012. Evaluation of larvicidal activity of the methanolic extracts of *Piper alatabaccum* branches and *Piper tuberculatum* leaves and compounds isolated against *Anopheles darlingi*. *Brazil Journal Pharmacognosia*, 22:979–984.

Trindade, R. C. P.; I. M. R. Marques, H. S. Xavier & J. V. Oliveira. 2000. Extrato metanólico da amêndoa da semente de nim e a mortalidade de ovos e lagartas da traça-do-tomateiro. *Scientia Agricola*, 57(3):407-413.

Torres, A. L.; R. Barros & J. V. Oliveira. 2001. Efeito de extratos aquosos de plantas no desenvolvimento de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). *Neotropical Entomology*, 30(1): 151-156.

Valadeau, C.; A. Pabon, E. Deharo, J. Alban-Castilho, Y. Estevez, F. A. Lores, R. Rojas, D. Gamboa, M. Sauvain, D. Castilho, G. Bourdy. 2009. Medicinal plants from the Yanasha (Peru): evaluation of the leishmanicidal and antimalarial activity of selected extracts. *Journal of Ethnopharmacol*, 123(3): 413-422.

Veiga Junior, V. F.; A. C. Pinto & M. A. M. Maciel. 2005. Plantas medicinais: cura segura? *Química Nova*, 28(3): 519-28.

Vendramim, J. D. & A. P. B.W. Thomazini. 2001. Traça *Tuta absoluta* (Meyrick) em cultivares de tomateiro tratadas com extratos aquosos de *Trichilia pallida* Swartz. *Science Agrícola*, 58: 607-611.

Vianna, W. O. & G. Akisue. 1997. *Caracterização morfológica de Piper aduncum*. Bragança Paulista: LECTA, 15(1-2): 11-62.

Vidal, J.; A. Carbajal, M. Sisniegas & M. Bobadilla. 2008. Efecto tóxico de Argemone subfusiformis Ownb. y Tagetes patula Link sobre larvas del IV estadio y pupas de *Aedes aegypti* L. *Peruvian Journal of Biology*, 15(2): 103-109.

Vieira, R. F. & T.S. Agostin-Costa. 2007. Caracterização Química de Metabólitos Secundários em Germoplasma Vegetal. In: NASS, L.L. (Editor Técnico). Recursos Genéticos Vegetais. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 343-376.

Zacaroni, L. M.; M. G. Cardoso, P. E. Souza, L. G. L. Guimarães & A. P. S. P. Salgado. 2009. Potencial fungitóxico do óleo essencial de *Piper hispidinervum* (pimento longa) sobre os fungos fitopatogênicos *Bipolaris sorokiniana*, *Fusarium oxysporum* e *Colletotrichum gloeosporioides*. *Acta amazônica*, 39(1): 193-198.

Yunker, T. G. 1972. The Piperaceae of Brazil, *Hoehnea*, 2:19-366.

Wanke, S.; M. A. Jaramillo; T. Borsch; M. S. Samain, D. Quandt & C. Neinhuis. 2007. Evolution of Piperrales-matK gene and trnK intron sequence data reveal ineage specific resolution contrast. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 42: 477-497.

Wilkinson, C. F.; M. Murray & C. B. Marcus. 1984. Interaction of methylenedioxyphenyl compounds with cytochrome P-450 and microsomal oxidation. *Reviews in Biochemical Toxicology*, 6: 27-63.