



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

MATEUS GIMENEZ CARVALHO

**ESTUDOS VISANDO O CONTROLE DE *DIABROTICA
SPECIOSA* ATRAVÉS DE ISCAS CONTENDO EXTRATOS
DE FAGOESTIMULANTE COM INSETICIDAS NATURAIS E
SINTÉTICOS**

MATEUS GIMENEZ CARVALHO

ESTUDOS VISANDO O CONTROLE DE *DIABROTICA SPECIOSA* ATRAVÉS DE ISCAS CONTENDO EXTRATOS DE FAGOESTIMULANTE COM INSETICIDAS NATURAIS E SINTÉTICOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito à obtenção do título de Mestre em Agronomia.

Orientador: Prof. Dr. Maurício Ursi Ventura.

Londrina
2012

**Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da
Universidade Estadual de Londrina.**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

C331e Carvalho, Mateus Gimenez.

Estudos visando o controle de *Diabrotica speciosa* através de iscas contendo extratos de fagoestimulante com inseticidas naturais e sintéticos / Mateus Gimenez Carvalho. – Londrina, 2012.
39 f. : il.

Orientador: Mauricio Ursi Ventura.

Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2012.
Inclui bibliografia.

1. Inseticidas biológicos – Teses. 2. Inseticidas sintéticos – Teses. 3. Coleoptero – Controle – Teses. 4. Pragas agrícolas – Teses. I. Ventura, Mauricio Ursi. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. III. Título.

CDU 632.951

MATEUS GIMENEZ CARVALHO

**ESTUDOS VISANDO O CONTROLE DE *DIABROTICA SPECIOSA*
ATRAVÉS DE ISCAS CONTENDO EXTRATOS DE
FAGOESTIMULANTE COM INSETICIDAS NATURAIS E SINTÉTICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito à obtenção do título de Mestre em Agronomia.

Orientador: Prof. Dr. Maurício Ursi Ventura.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Maurício Ursi Ventura
UEL –Londrina - PR

Prof. Dr. Francisco Assis Marques
UFPR - Londrina – PR

Prof. Dr. João Antônio Cyrino Zequi
Unifil- Londrina – PR

Prof. Dr. Amarildo Pasini
UEL –Londrina – PR

Prof. Dr. Daniel Ricardo Sosa-Gomez
Embrapa – Londrina – PR

Londrina, 15 de Fevereiro de 2013.

Ao meu pai Nilson e minha mãe Brígida, aos meus irmãos Filipe e Davi, a minha namorada Anaisa e a todos os meus familiares e amigos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por possibilitar esta conquista e aprendizado em minha vida.

Aos meus familiares; em especial aos meus pais Nilson e Brígida que são meus exemplos, aos meus irmãos Filipe e Davi e a minha namorada Anaisa que sempre me deram apoio e compreensão.

Ao meu orientador professor Dr. Mauricio Ursi Ventura não só pela orientação neste trabalho, mas, principalmente pela amizade que foi conquistada nestes anos.

À coordenação do Curso de Pós-graduação em Agronomia e aos professores do Departamento de Agronomia.

Aos meus amigos do laboratório de Entomologia que também me auxiliaram na conclusão deste trabalho; além de todos os momentos de descontração e alegria; em especial a Aline “Cidinha” e Viviane. Além de meus amigos e colegas Kelly, Junio, Janaina, Adriano, Thaís, Orcial, Mariana, André e Eder.

Ao técnico e biólogo Davi César Tramontina pela amizade, conselho, constante ajuda e todos os momentos divertidos.

Aos funcionários do Departamento e da Pós-graduação de Agronomia, Lab. de Fitopatologia e de Solos, do Horto e da Fazenda Escola, em especial a Weda, Graciane, José, João, Leonardo, ao “Seu” Bié, ao “Irmão” e ao Cicero.

Gostaria de agradecer também aos meus amigos Lucas, Renan, Pedrinho, Flávia, José Preto, Sumaya, Padre Afonso, Padre Alexandre, Guilherme e a todos os amigos do movimento de Schoenstatt.

À Universidade Estadual de Londrina, pela minha formação como profissional.

CARVALHO, Mateus Gimenez. **Estudos Visando o Controle de *Diabrotica speciosa* Através de Iscas Contendo Extratos de Fagoestimulante com Inseticidas Naturais e Sintéticos**. 2012. 39 f. Dissertação mestrado (Mestrado em Engenharia Agrônômica) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina. 2012.

RESUMO

Diabrotica speciosa (Coleoptera: Chrysomelidae) é uma importante praga polífaga na América Latina, atualmente controlada com inseticidas sintéticos. Este estudo tem como objetivo avaliar as respostas de *D. speciosa* a uma isca foliar com diferentes extratores de cucurbitacina, em condições laboratoriais e a utilização desta isca associada a um inseticida botânico ou sintético, para o controle da praga em estudo. Foram realizados teste de dupla escolha pareado com insetos adultos, cujos tratamentos utilizaram diferentes tipos de extratores de cucurbitacina: Água; Etanol; Etanol+Água e Etanol+Água+Butanol. Os tratamentos foram realizados com círculos de folhas de feijão, pulverizadas manualmente, com extratos. Também foi realizado outro teste com o melhor extrato testado no bioensaio anterior, em combinação com os seguintes inseticidas de origem vegetal: extrato de *Tephrosia* sp., extrato de *Annona squamosa* e o inseticida carbaril, de origem sintética. Os extratos e os inseticidas foram misturados e pulverizados em plantas de milho, cultivadas em vaso. Após a pulverização foram ofertados círculos de folhas tratadas e não tratadas aos adultos de *D. speciosa* em teste de dupla escolha. Em confinamento foram ofertadas apenas folhas tratadas aos insetos adultos, em diferentes dias, observando o consumo da folha pelo inseto, mesmo tratada com inseticida; bem como o efeito residual apresentado. No primeiro teste de dupla escolha foi analisado o consumo foliar (mm²) para escolha do melhor extrator e no segundo teste, além da área foliar, também foi analisada, a mortalidade (%) dos insetos. No teste da escolha do melhor extrator se obteve o etanol e a melhor concentração foi a 40%, em que o inseto fez o consumo de aproximadamente 74mm² da folha, o que representou 23,55% da área da folha. No teste que utilizou isca+inseticida os resultados mostram que, mesmo as folhas possuindo inseticida, a isca de cucurbitacina mantém o estímulo ao inseto para o consumo de folhas tratadas. Os extratos de *Tephrosia* e *A. squamosa* foram eficazes na mortalidade dos insetos apenas na primeira avaliação, que foi no dia em que foi feita a aplicação, diferentemente do inseticida carbaril que foi eficaz em todas as avaliações.

Palavras-chave: Isca. semioquímico. *Lagenaria vulgaris*. fagoestimulante

CARVALHO, Matthew Gimenez. **Studies Aimed at Control of *Diabrotica speciosa* Through Baits Containing extracts phagostimulant with Natural and Synthetic Insecticides.** 2012. 39 p. Masters Dissertation (Masters in Agricultural Engineering) - State University of Londrina, Londrina. 2012.

ABSTRACT

Diabrotica speciosa (Coleoptera: Chrysomelidae) is an important polyphagous pest in Latin América, its control is carried out with synthetic insecticides. This way, the objective of this study was to evaluate the responses of *D. speciosa* to a leaf bait with different extractors of cucurbitacin in laboratory, and the use of this insecticide bait associated with a botanical insecticide, for control of the pest in study. They were performed a double choice test paired with adult insects, whose treatments are used with different types of extractors of cucurbitacin: Water, Ethanol, Ethanol+Water and Ethanol+Water+Butanol. The treatments were performed with circles of bean leaves, manually sprayed with extracts. Another test was also performed with the best extracts tested in the previous bioassays in combination with the following insecticides of plant origin: extract of *Tephrosia* spp., extract of *Annona squamosa* and the insecticide carbaryl, synthetic origin. The extracts and insecticides were mixed and sprayed on corn plants, those grown in pots. After spraying rounds were offered leaves of treated and untreated adults of *D. speciosa* in double choice test. In confinement treated leaves were offered only to adult insects, on different days, observing the consumption of leaves by the insect, even treated with insecticide, as well as the residual effect presented. In the first test pair was analyzed leaf consumption (mm^2) to choose the best extractor, and was analyzed in the second test than the leaf area, also mortality (%) of insects. In choosing the best test we obtained the best extractor ethanol and best dose of the bait was 40% in the insect did the consumption of about 74 mm^2 leaf represented 23,55% the leaf. The test of insecticide+ bait result show that, even the leaves possessing insecticidal, the bait cucurbitacina keeps the insect to stimulate the consumption of treated leaves. The extracts of *Tephrosia* sp. and *A. squamosa* were effective in killing the insect only in the first evaluation, which was the day application was made, unlike of the insecticide carbaryl was effective in all evaluations.

Keywords: Bait. Semiochemicals. *Lagenaria vulgaris*. phagostimulant.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	8
2	REVISÃO DE LITERATURA	10
2.1	O GÊNERO DIABROTICA (COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE)	10
2.2	UTILIZAÇÃO DE ISCAS NO MANEJO INTEGRADO DE PRAGAS	11
2.3	ISCA PARA DIABROTICA SPP	12
2.4	INSETICIDAS BOTÂNICOS	14
2.5	TEPHROSIA SPP	15
2.6	ANNONACEAE	16
3	ESTUDOS VISANDO O CONTROLE DE DIABROTICA SPECIOSA ATRAVÉS DE ISCAS CONTENDO EXTRATOS DE FAGOESTIMULANTE COM INSETICIDAS NATURAIS E SINTÉTICOS	19
3.1	RESUMO E ABSTRACT	19
3.2	INTRODUÇÃO.....	21
3.3	MATERIAL E MÉTODOS	23
3.3.1	Diferentes Extratores da Isca de Cucurbitacina	23
3.3.2	Mistura de Isca + Inseticidas	24
3.3.3	Delineamento Experimental e Análise Estatística.....	25
3.4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
3.4.1	Extratos de Isca com Curcubitacina	25
3.4.2	Mistura Isca + Inseticidas	27
3.4.3	Conclusão	33
	REFERÊNCIAS	34

1 INTRODUÇÃO

Diabrotica speciosa (Germar, 1824) é um importante inseto-praga da agricultura na América Latina. No estágio larval alimenta-se de raízes das gramíneas, tendo preferência pelo milho (*Zea mays* L.) Na fase adulta este inseto tem preferência por folhas de feijão e soja, mas pode atacar diversas culturas de interesse comercial. Seu controle é realizado quase que exclusivamente com inseticidas sintéticos, o que podem causar danos irreparáveis ao ambiente, além de reinfestação e resistência dos insetos. Em se tratando de larvas, as dificuldades de manejo são ampliadas, pois possuem o hábito subterrâneo. Desta forma, o controle com inseticida tem um custo muito elevado e é pouco eficaz.

Os diabroticíneos, pertencentes à tribo Luperini (Coleoptera: Chrysomelidae), mantêm uma relação coevolutiva com plantas da família Cucurbitaceae (METCALF & LAMPMAN, 1989). Esta relação é atribuída principalmente à cucurbitacina, uma substância secundária que é amarga ao paladar e tóxica a muitos insetos. No entanto, para os diabroticíneos, é fagoestimulante e arrestante (CHAMBLIS & JONES, 1966; HOWE et al., 1976). Em contato com alimento contendo esta substância, o inseto alimenta-se compulsivamente. *D. speciosa* responde muito bem a cucurbitácea *Lagenaria vulgaris* L. Em estudos realizados por Arruda et al. (2005) foi possível obter uma isca amilácea de curcubitacina com efeito satisfatório feita com frutos de *L. vulgaris*. Existem relatos que iscas juntamente com semioquímicos foram eficazes, permitindo assim uma redução de inseticidas químicos sintéticos.

A utilização de iscas associadas a inseticidas químicos sintéticos ou até mesmo orgânicos, na interceptação de *D. speciosa* na bordadura de cultivos hospedeiros, poderia ser aplicada de forma viável, pois em estudos de Tallamy e Halawish (1993), estes consideram que as fêmeas têm uma maior resposta à curcubitacina principalmente após a cópula. Alguns inseticidas têm sido utilizados no controle deste inseto associados a iscas, como é o caso do inseticida carbaril, não apresentando efeito repelente à praga, porém este produto possui limitações de uso, principalmente em cultivos orgânicos. A busca por inseticidas de origem vegetal tem sido divulgada em relatos e trabalhos desenvolvidos a partir de extratos de sementes que possuem efeito inseticida, podendo assim serem utilizados em

associação com a isca de cucurbitacina, sendo uma alternativa para o controle de *D. speciosa*.

Objetivou-se com este estudo avaliar as respostas de *D. speciosa* com formulações de iscas feitas a partir de extratos de frutos de *L. vulgaris*, com diferentes solventes para a extração de cucurbitacina e a possível utilização desta isca associada a um inseticida botânico (extrato de *Tephrosia* sp. e extrato de *A. squamosa*) e a um inseticida sintético (carbaril). Os testes desenvolvidos possibilitaram avaliar a preferência do inseto *D. speciosa* pelas folhas tratadas com isca+inseticida, e a possibilidade do controle da praga em condições laboratoriais.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O GÊNERO *DIABROTICA* (COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE)

Diabrotica speciosa (Germar, 1824) (Coleoptera:Chrysomelidae) vulgarmente conhecida como “vaquinha, "brasileirinho" e "patriota", é uma praga polífaga muito frequente em diversos cultivos, e de grande disseminação no estados brasileiros e alguns países da America do Sul (ÁVILA, 1999).

O adulto é um besourinho de coloração verde com 5 a 6 mm de comprimento, de cabeça castanha, trazendo nos élitros três manchas amareladas. A fêmea faz postura no solo, que medem cerca de 10mm de comprimento e são de coloração branca leitosa (GALLO, 2002).

As fêmeas depositam seus ovos próximos à base das plantas hospedeiras, cujas raízes são consumidas pelo inseto em sua fase larval (GASSEN, 1996), sendo as gramíneas da família Poaceae as preferidas neste período. Devido a sua alimentação, Marques, Ávila e Parra (1999) constataram que desde as menores densidades populacionais, larvas de *D. speciosa* causam redução significativa no peso seco de raízes e parte aérea, e na altura do milho (*Zea mays*).

Em batata (*Solanum tuberosum*), a fase de tuberização, é propensa ao ataque esporádico de pragas do solo. Os besouros podem causar danos sérios, destacando-se as larvas alfinete (*D. speciosa*), as quais destroem o sistema radicular no estado vegetativo e de tuberização (LIMA & RACCA FILHO 1996).

O manejo de *D. speciosa* está restrito basicamente ao controle químico sintético visando o seu controle. As larvas são controladas por aplicações no solo com produtos que possuem um elevado custo e são perigosos ao ambiente (ARRUDA-GATTI; VENTURA 2003). Para os adultos o controle é feito através de pulverizações de inseticidas químicos foliares. Entretanto Martinez (2003), diz que o controle químico de *D. speciosa* tem pouca eficiência, devido à contínua reinfestação das áreas, em função da praga se deslocar de áreas adjacentes.

2.2 UTILIZAÇÃO DE ISCAS NO MANEJO INTEGRADO DE PRAGAS

As iscas têm sido utilizadas de várias formas no manejo integrado de pragas, para diversas ordens de insetos. Iscas atrativas com estimulantes alimentares têm sido utilizadas para analisar a distribuição de espécies de insetos; certificação de uma região ou país quanto à ausência de determinada espécie-praga; e em programas de erradicação de espécies-praga e de manejo integrado (NASCIMENTO et al., 2000).

Esta técnica pode ser usada, por exemplo, para detectar as primeiras infestações de uma determinada praga, para monitorar populações já estabelecidas e para observar as aplicações de inseticidas no momento em que o nível populacional atinge o nível de ação (JUTSUM & GORDON 1989).

Vários atrativos como açúcar mascavo, sacarose, proteína hidrolisada de milho, sucos de frutas e vinagre de vinho são utilizados em armadilhas, no monitoramento de insetos e, quando adicionados a inseticidas, são recomendados para o controle de pragas (NASCIMENTO et al., 2000; GRAVENA & BENVENGA, 2003).

Algumas isca são conhecidas e amplamente utilizadas em lavouras, como por exemplo, para o inseto praga da fruticultura mosca-das-frutas (Diptera: Tephritidae), em que a eficácia de seu controle é dependente da disponibilidade de bons atrativos e armadilhas (SALLES, 1999). No Rio Grande do Sul e Santa Catarina, é utilizado suco de uva para monitoramento de *Anastrepha* spp em macieira e pessegueiro (SALLES, 1991). Em São Paulo, usa-se o hidrolisado enzimático de proteína para o monitoramento de mosca-das-frutas em citros, sendo o mesmo recomendado para outras fruteiras (NASCIMENTO et al., 2000).

Um controle muito pesquisado em todo o Brasil é para a broca-do-rizoma-da-bananeira ou moleque-da-bananeira (*Cosmopolites sordidus*) (Germ., 1824). Esta espécie é amplamente distribuída por todas as regiões do Brasil, sendo considerada uma das mais sérias pragas da bananeira. (ARLEU & SILVEIRA-NETO 1984). Na tentativa de utilizar produtos menos tóxicos ao homem e com menores danos ao meio ambiente, vários estudos com entomopatógenos para o controle de *C. sordidus* foram realizados, cujo enfoque maior tem sido dado ao fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana*, utilizado em iscas do próprio pseudocaule da bananeira ou do rizoma (BATISTA FILHO et al., 1994).

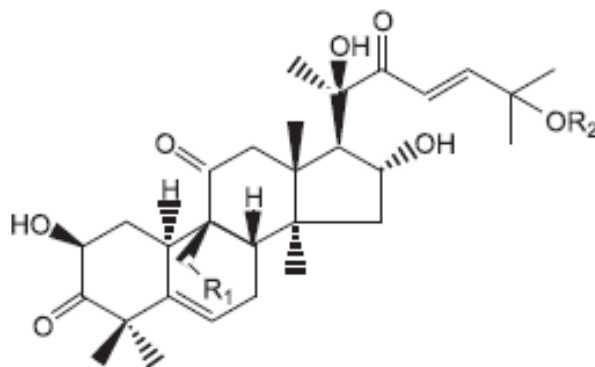
Segundo Metcalf *et al.* (1987), iscas contendo semioquímicos e inseticidas são ferramentas para o manejo de populações de *Diabrotica* spp. O uso de iscas visa diminuir a população de adultos, sendo esta feita para diminuir o número de ovos e, conseqüentemente, diminuir o número de larvas e os danos que causariam nas plantas de milho da safra seguinte (CHANDLER, 2003).

2.3 ISCA PARA *DIABROTICA* SPP

O processo de co-evolução entre as plantas da família Cucurbitaceae e insetos pertencentes aos gêneros *Acalymma*, *Aulacophora*, *Cerotoma* e *Diabrotica* da tribo Luperini (Coleoptera: Chrysomelidae), fornecem um exemplo clássico do papel de substâncias vegetais secundárias, os cairomônios, em que estes insetos apresentam estreita relação com as cucurbitacinas presente naquelas plantas (METCALF E LAMPMAN, 1989).

A família Cucurbitaceae contém mais de 900 espécies de plantas em cerca de 100 gêneros, como *Cucurbita*, *Cucumis*, *Citrullus*, *Lagenaria*, *Marah*, *Sicyos*, *Echinocystis*, *Ecbalium* e *Bryonia*. Essas plantas são caracterizadas pela biossíntese de um grupo de mais de 20 triterpenóides tetracíclicos oxigenados, as cucurbitacinas (METCALF; METCALF, 1992) (Figura 1).

Figura 1 - Estrutura da cucurbitacina B $R_1 = H$, $R_2 = Ac$



As cucurbitacinas exercem efeito fagoestimulante e arrestante nestes coleópteros (CHAMBLIS E JONES, 1966; HOWE *et al.*, 1976), ou seja, o inseto alimenta-se compulsivamente. Assim, para estes as cucurbitacinas não são

tóxicas, pois no processo evolutivo, tais insetos foram selecionados quanto a capacidade de sequestrar e estocar o composto 23,24-dihidrocurcubitacina D na hemolinfa, utilizando-o para sua própria proteção (NISHIDA E FUKAMI, 1990).

Os insetos também podem responder de maneira diversa ao vários tipos de cucurbitacina. A qualidade e a quantidade das cucurbitacinas variam de acordo com a espécie e fenologia da planta (METCALF; LAMPMAN, 1989). De acordo com, Metcalf e Metcalf (1992), nas cucurbitáceas a cucurbitacina B (cuc B) é a forma predominante, encontrada em 91% de todas as espécies caracterizadas, seguidas por cuc D (69%), cucs G e H (47%), cuc E (42%), cuc I (22%), cucs J e H (9%), e cuc A (7%). Cucurbitacinas C, F e L têm sido encontradas em apenas 2% das espécies.

Segundo Fleischer e Kirk (1994), o comportamento alimentar e de movimento de diabroticíneos é influenciado pela associação, nas plantas, de cucurbitacinas e voláteis de flores. Os voláteis fazem o papel de atratividade, para que os insetos encontrem a planta. Podem ser citados como exemplo: 1,4-dimethoxybenzene, TIC (1,2,4-trimethoxybenzene + indole + transcinnamaldehyde) e VIP (veratrole + indole + phenilacetaldehyde) de flores de *Cucurbita* spp. que foram atrativos à *D. speciosa* (VENTURA *et al.*, 2000), que também responde aos frutos, conhecidos popularmente por purungo ou porongo (*L. vulgaris*) (ROEL & ZATARIM, 1989; VENTURA *et al.*, 1996), que apresentam 0,28% de cuc B (ARRUDA *et al.*, 2005).

A eficiência de armadilhas, em termos da sua capacidade de atrair e matar besouros depende: do modelo da armadilha, do vigor e longevidade do caiomônio, e da capacidade da curcubitacina para induzir os insetos para a alimentação onde há inseticida (LUNA e XUE 2009). Estes semioquímicos, quando combinados com um inseticida, podem melhorar muito a eficiência do inseticida, atraindo os besouros para partículas tóxicas, e induzindo-os a se alimentarem delas (METCALF *et al.*, 1987).

Mikami (2007) utilizou uma isca e evidenciou que, de modo geral, a mortalidade de *D. speciosa* foi superior quando em tratamento com isca de cucurbitacina associado ao inseticida carbaril, se comparado com a testemunha e apenas o inseticida. Quando utilizado apenas os inseticida carbaril, as mortalidades dos insetos foram irregulares, podendo ser atribuído à falta de tateamento e ingestão, uma vez que o inseticida age por contato e ingestão (AGROFIT, 2011).

Assim, a autora afirma que a adição da isca produziu uma maior eficiência do inseticida.

Para *D. speciosa* uma isca com cucurbitacina também foi formulada em amido geleificado em “spray dry” e se mostrou eficiente para estimular o comportamento arrestante e fagoestimulante. Da mesma forma, quando aplicado em condições de campo, em cultura do feijão, registrou-se número significativamente maior de insetos nas parcelas que foram tratadas com a isca (ARRUDA *et al.*, 2005).

Entretanto, as iscas desenvolvidas em “spray-dry” apresentam dificuldades de aplicação em função de serem preparadas com o pó do fruto de purungo seco, o que provoca entupimento dos bicos. Outra dificuldade se refere ao equipamento que produz a formulação, pois o mesmo tem alto custo e exige um protocolo muito bem estabelecido para o alcance dos percentuais desejados (MIKAMI, 2007).

2.4 INSETICIDAS BOTÂNICOS

Com a modernização da agricultura após a Segunda Guerra, os processos de produção de alimentos passaram por grandes transformações sendo utilizados máquinas e equipamentos agrícolas, além de fertilizantes e defensivos agrícolas sintéticos, tornando o sistema altamente dependente de recursos externos às propriedades rurais.

O aumento da produtividade das culturas só foi possível pela descoberta e utilização de inseticidas químicos (DAYAN *et al.*, 2009). Porém, a adoção de tecnologias desenvolvidas com o objetivo de alcançar altas produtividades, sem considerar seus impactos sobre o meio ambiente, a organização social e a cultura das comunidades locais, têm gerado entre outras consequências negativas, grandes desastres ambientais, a exclusão do homem do campo, bem como a produção de alimentos com resíduos nocivos à saúde humana, fazendo com que a agricultura passasse a ser uma ameaça à população (MORAES *et al.*, 2007).

O uso de extratos de plantas no controle de pragas pode ser uma alternativa ao controle químico convencional realizado, principalmente em hortaliças, pois reduz o custo de produção, diminui o impacto ambiental e diminui a dependência dos inseticidas sintéticos (VIANA e PRATES, 2003).

A utilização dos produtos vegetais com atividade inseticida pode causar os seguintes efeitos sobre os insetos: repelência, inibição da alimentação, da oviposição e do crescimento, alterações do sistema hormonal, alterações morfogênicas, alterações no comportamento sexual, esterilização dos adultos, mortalidade na fase imatura ou adulta, entre outros (SCHMUTTERER, 1988).

Esse produto pode ser o próprio material vegetal, normalmente moído até ser reduzido a pó (WIESBROOK, 2004). Os inseticidas botânicos têm uma pequena persistência no meio ambiente e uma baixa toxicidade, quando comparados com os inseticidas sintéticos mais utilizados (HOSSAIN E POEHLING, 2006). Há um número grande de plantas, cuja atividade inseticida têm sido estudadas. As famílias Meliaceae, Rutaceae, Asteraceae, Annonaceae, Labiatae e Canellaceae são consideradas as mais promissoras (VENZON et al, 2006).

2.5 *TEPHROSIA* SPP.

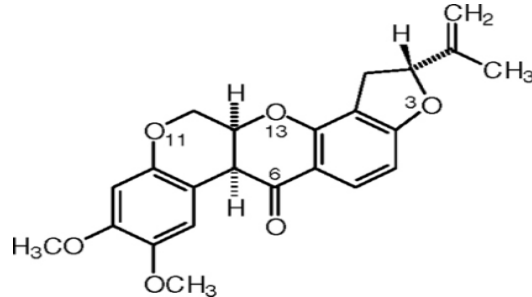
Ling (2003) mostra que as rotenonas são toxinas naturais produzidas em algumas plantas tropicais da família Leguminosae. São encontradas principalmente em raízes e sementes de *Derris* spp. (*D. elliptica*), *Lonchocarpus* spp. (*L. utilis* e *L. urucu*), *Tephrosia* spp. e *Dalbergia paniculata*. Durante séculos, foram muito utilizadas por indígenas para capturar peixes, pois tem efeito tóxico e causa paralisia em alguns deles.

A atividade inseticida presente influenciou a importação das plantas com rotenona. A partir dos anos 50, mais de 3,5 mil toneladas anuais de raízes de *Derris lonchocarpus* e *Tephrosia* spp. foram importados pelos Estados Unidos. (VIEGAS JÚNIOR, 2003). Mas houve uma queda de 1,5 mil toneladas na importação nos anos 60, devido a maior atenção aos produtos sintéticos. Com a retomada da importância dos inseticidas botânicos, a rotenona volta a ser objeto de estudos para controle de insetos (ISMAN, 1997).

A rotenona interrompe o metabolismo energético das mitocôndrias, interferindo na produção de adenosina trifosfato (ATP), por inibir o transporte de elétrons, uma vez que atua como inibidor da enzima NADH₂ – desidrogenase glutâmica da cadeia respiratória. Como a fosforilação oxidativa (um dos processos de formação do ATP) está acoplada ao transporte de elétrons, obviamente, o ATP não é produzido na presença da rotenona, o que leva a redução das taxas

respiratórias e cardíacas (MATSUMURA, 1976; KATHRINA & ANTONIO, 2004). Esta substância não é persistente sendo facilmente degradada em condições naturais, devido à sensibilidade à luz, calor (> 25°C) e oxigênio (LING, 2003).

Figura 2 - Estrutura da Rotenona



Quando extratos vegetais foram testados, os ensaios com rotenona, obtidos através de *Derris urucu*, foram os que apresentaram maior percentual de eficiência na mortalidade de *Cerotoma tingomarianus* Bechyné (Coleoptera: Chrysomelidae). Apenas quando comparado com a eficiência do inseticida Carbaril o extrato de *D.urucu* foi menor (FAZOLIN, 2002).

Extratos de folhas de *Tephrosi. vogelli*, usando como extratores: hexano, acetona e etanol, foram testados nos besouros *Acanthoscelides obtectus* (SAY.), *Collosobruschus maculatus* L. e *Collosobruschus chinensis* L. (Coleoptera: Bruchidae). Os extratos de acetona e etanol foram ineficazes para as espécies de *C. maculatus*, *C. chinensis* e para *A. obtectus* o efeito foi pouco expressivo. Porém, o extrato de hexano foi eficiente para o controle das três espécies, resultando em mortalidade de adultos e redução do número de ovos (KOONA E DORN, 2005). Koono et al. (2007), trabalhando com os mesmos extratos, porém com *Sitophilus zeamais*, também observaram melhores efeitos do extrato de hexano. A atividade do extrato hexânico de baixa polaridade é coerente com a apolaridade dos rotenóides.

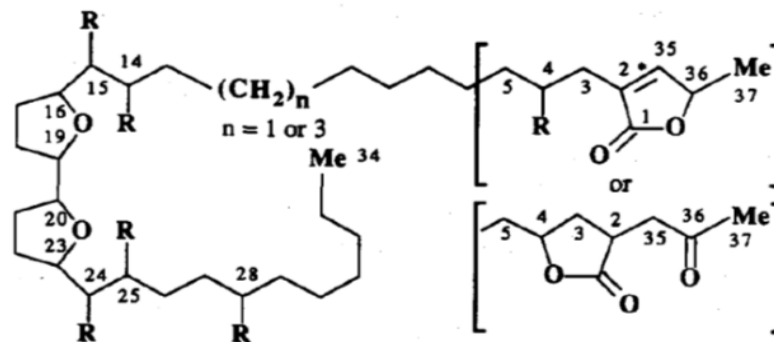
2.6 ANNONACEAE

As acetogeninas são substâncias naturais presentes nas cascas, raízes e, principalmente, em sementes de representantes da família Annonaceae. São caracterizadas por apresentarem 32 a 34 átomos de carbono, contendo um anel γ -lactônico, geralmente α,β -insaturado e um, dois ou três anéis tetrahydrofurânicos, que podem ser ou não adjacentes (Santos et. al.,1994). Como as acetogeninas são

ácidos graxos de cadeia longa, podem ser extraídas através de solventes orgânicos como etanol, diclorometano, hexano e metanol (JOHNSON et al., 2000).

Segundo Alali *et al.* (1999), algumas espécies da família Annonaceae apresentam em sua composição substâncias com potencial inseticida, sendo a principal a acetogenina, que vem sendo estudada, ainda de forma restrita, no controle de alguns insetos-praga.

Figura 3 - Estrutura da Acetogenina



As acetogeninas com potencial inseticida, contida em um tipo de graviola (*Annona muricata*), podem ser 10 mil vezes mais eficientes que a adriamicina que é utilizada no combate a diversos cânceres (MOSS, 2003). Ainda segundo Damaceno et al (2002), em algumas populações rurais do Brasil as anonáceas são utilizadas como controladoras de fertilidade, fazendo o uso de extrato de sementes de fruta do conde (*Annona squamosa*) como abortivo.

Assim as acetogeninas são conhecidas como inibidoras do Complexo I (NADH: ubiquinona oxireductase), nos sistemas de transporte de elétrons da mitocôndria e da NADH: oxidase da membrana plasmática, que induzem a apoptose (morte programada da célula), talvez como consequência da falta de ATP, tendo um potencial na aplicação como inseticida e antitumoral (JOHNSON et al., 2000).

Assim, estudos com extratos etanólico das folhas e de sementes de graviola e fruta-do-conde, constataram que o extrato de sementes de fruta-do-conde foram mais ativos do que o de graviola sobre *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) (LIMA, 2007). Quando Silva et al. (2007) utilizou extratos de sementes de *A. coriacea*, estas provocaram mortalidade de lagartas de *Tuta absoluta* (Meyrick,

1917) (Lepidoptera: Pyralidae)., Neste mesmo trabalho, também foram oferecidas folhas de tomateiro (*Lycopersicon esculentum*) tratadas com extrato metanólico de sementes da anonácea às lagartas recém eclodidas, sendo que a menor concentração, de 0,5%, foi suficiente para causar 86,4% de mortalidade das lagartas.

Llanos et al. (2008), testando extratos de sementes de graviola (*A. muricata*), extraídos com três diferentes solventes, hexano, acetato de etila e etanol, observaram ação inseticida sobre *S. zeamais* (Coleoptera: Curculionidae), tendo sido atribuída a ação inseticida à presença da acetogenina.

3 ESTUDOS VISANDO O CONTROLE DE *DIABROTICA SPECIOSA* ATRAVÉS DE ISCAS CONTENDO EXTRATOS DE FAGOESTIMULANTE COM INSETICIDAS NATURAIS E SINTÉTICOS

3.1 RESUMO E ABSTRACT

Diabrotica speciosa (Coleoptera: Chrysomelidae) é uma importante praga polífaga na América Latina, sendo seu controle é realizado com inseticidas sintéticos. Este estudo tem como objetivo avaliar as respostas de *D. speciosa* a uma isca foliar com diferentes solventes extratores de cucurbitacina, em condições laboratoriais e a utilização de desta isca associada a um inseticida botânico, para o controle desta praga. Foram realizados teste de dupla escolha pareado com insetos adultos, cujos tratamentos utilizaram diferentes tipos de extratores de cucurbitacina: Água; Etanol; Etanol+Água e Etanol+Água+Butanol. Os tratamentos foram realizados com círculos de folhas de feijão, pulverizadas manualmente, com extratos. Também foi realizado outro teste com o melhor extrato testado no bioensaio anterior, em combinação com os seguintes inseticidas de origem vegetal: extrato de *Tephrosia* sp., extrato de *Annona squamosa* e o inseticida carbaril, de origem sintética. Os extratos e os inseticidas foram misturados e pulverizados em plantas de milho, cultivadas em vaso. Após a pulverização foram ofertados círculos de folhas tratadas e não tratadas aos adultos de *D. speciosa* em teste de dupla escolha. Em confinamento foram ofertadas apenas folhas tratadas aos insetos adultos, em diferentes dias, observando o consumo da folha pelo inseto, mesmo tratada com inseticida; bem como o efeito residual apresentado. No primeiro teste de dupla escolha foi analisado o consumo foliar (mm²) para escolha do melhor solvente extrator e no segundo teste, além da área foliar, também foi analisada, a mortalidade (%) dos insetos. No teste da escolha do melhor solvente extrator se obteve o etanol e a melhor concentração foi a 40% em água, em que o inseto fez o consumo de aproximadamente 74mm² da folha, o que representou 23,55% de sua área foliar. No teste em que se utilizou isca+inseticida os resultados mostram que, mesmo as folhas possuindo inseticida, a isca de cucurbitacina mantém o estímulo ao inseto para o consumo de folhas tratadas. Os extratos de *Tephrosia* e *A. squamosa* foram eficazes na mortalidade dos insetos apenas na primeira avaliação, que foi no dia em que foi feita a aplicação, diferentemente do inseticida carbaril que foi eficaz em todas as avaliações.

Palavras-chave: Isca, semioquímico, purungo, fagoestimulante

Diabrotica speciosa (Coleoptera: Chrysomelidae) is an important polyphagous pest in Latin America, its control is carried out with synthetic insecticides. This way, the objective of this study was to evaluate the responses of *D. speciosa* to a leaf bait with different extractors of cucurbitacin in laboratory, and the use of this insecticide bait associated with a botanical insecticide, for control of the pest in study. They were performed a double choice test paired with adult insects, whose treatments were used with different types of extractors of cucurbitacin: Water, Ethanol, Ethanol+Water and Ethanol+Water+Butanol. The treatments were performed with circles of bean leaves,

manually sprayed with extracts. Another test was also performed with the best extracts tested in the previous bioassays in combination with the following insecticides of plant origin: extract of *Tephrosia* spp., extract of *Annona squamosa* and the insecticide carbaryl, synthetic origin. The extracts and insecticides were mixed and sprayed on corn plants, those grown in pots. After spraying rounds were offered leaves of treated and untreated adults of *D. speciosa* in double choice test. In confinement treated leaves were offered only to adults insects, on different days, observing the consumption of leaves by the insect, even treated with insecticide, as well as the residual effect presented. In the first test pair was analyzed leaf consumption (mm^2) to choose the best extractor, and was analyzed in the second test than the leaf area, also mortality (%) of insects. In choosing the best test we obtained the best extractor ethanol and best dose of the bait was 40% in the insect did the consumption of about 74 mm^2 leaf represented 23,55% the leaf. The test of insecticide+ bait result show that, even the leaves possessing insecticidal, the bait cucurbitacin keeps the insect to stimulate the consumption of treated leaves. The extracts of *Tephrosia* sp. and *A. squamosa* were effective in killing the insect only in the first evaluation, which was the day application was made, unlike of the insecticide carbaryl was effective in all evaluations.

Keywords: Bait, Semiochemicals, *Lagenaria vulgaris*, phagoestmulant.

3.2 INTRODUÇÃO

D. speciosa (Germar, 1824) é importante inseto-praga da agricultura na América Latina. No estágio larval alimenta-se de raízes das gramíneas da família Poaceae, tendo preferência pelo milho (*Zea mays* L.). Populações relativamente maiores passaram a ocorrer em função do crescimento do plantio de milho de entressafra (“safrinha”). Na fase adulta o inseto tem preferência por folhas de feijão e soja, mas pode atacar diversas culturas de interesse comercial.

Seu controle é realizado quase que exclusivamente com inseticidas sintéticos, o que implica em danos ao ambiente, além de reinfestação e resistência dos insetos (ARRUDA-GATTI e VENTURA, 2003). Em se tratando de larvas, as dificuldades de manejo são ampliadas, pois possuem hábito subterrâneo. Desta forma, o controle é realizado através do tratamento de sementes, aplicações de granulados e inseticidas líquidos no sulco de plantio. A aplicação deste tipo de inseticida tem um custo muito elevado e é pouco eficaz, resultando em poluição do solo e afetando significativamente a macro e micro fauna.

Os diabroticíneos, pertencentes à tribo Luperini (Coleoptera: Chrysomelidae), mantêm uma relação coevolutiva com plantas da família Cucurbitaceae (METCALF e LAMPMAN, 1989). Esta relação é atribuída principalmente à cucurbitacina, uma substância secundária que é amarga ao paladar e tóxica a muitos insetos. No entanto, para os diabroticíneos, é fagoestimulante e arrestante (CHAMBLIS e JONES, 1966; HOWE et al., 1976). Em contato com alimento contendo esta substância, o inseto alimenta-se compulsivamente. As cucurbitacinas são então sequestradas na hemolinfa do inseto, como estratégia de defesa contra predadores, assim a *D. speciosa* busca plantas de *Lagenaria vulgaris* (Cucurbitaceae), que possuem cucurbitacinas muito atraente para o inseto. A utilização da isca associada a inseticidas, na interceptação de *D. speciosa* na bordadura de cultivos hospedeiros, onde a fêmea oviposita (milho, batata, trigo e etc.), poderia ser uma estratégia viável no controle de *Diabrotica* spp.

Nos Estados Unidos, uma isca com semioquímicos, foi eficaz, permitindo seletividade e redução na concentração do inseticida convencional (CHANDLER & SUTTER, 1997; CHANDLER, 1998; FAUST & CHANDLER, 1998). No Brasil, na cultura do milho, os insetos deslocam-se de áreas adjacentes para o interior da lavoura onde ovipositam (Mikami e Ventura, 2008). Desta forma, o

controle para ser efetivo, deveria ser feito antes que o inseto entrasse na lavoura, fazendo este controle na bordadura das culturas com iscas.

A utilização de iscas associadas a inseticidas químicos sintéticos ou até mesmo de orgânicos, na interceptação de *D. speciosa* na bordadura de cultivos hospedeiros, poderia ser aplicada de forma viável, pois em estudo de Tallamy e Halaweish (1993), estes consideram que as fêmeas têm uma maior resposta à cucurbitacina principalmente após a cópula. Alguns inseticidas têm sido utilizados no controle deste inseto associado a iscas, que é o caso do inseticida carbaril, que não apresenta efeito repelente a praga, mas como é um produto carbamato neurotóxico sua utilização em cultivos orgânicos é proibida. A busca de inseticidas de origem vegetal também faz parte do objetivo do trabalho, com isso existem relatos e trabalhos com extratos de sementes que possuem efeito inseticida, podendo assim ser utilizado em associação com a isca de cucurbitacina sendo uma alternativa para o controle de *D. speciosa*.

O objetivo deste estudo foi avaliar as respostas de *D. speciosa* com formulações de iscas feitas a partir de extratos de frutos de *L. vulgaris*, com diferentes solventes para a extração de cucurbitacina. E uma possível utilização desta isca associada a uma inseticida botânica (extrato de *Tephrosia* sp. e extrato de *A. squamosa*), para visualizar se mesmo com a folha tratada com isca+inseticida o inseto *D. speciosa* continua tendo preferência pelas folhas tratadas, e também para um eventual controle da praga em condições laboratoriais.

3.3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Entomologia, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Londrina (CCA-UEL), Londrina-PR, Brasil. Nos testes foram utilizados insetos adultos de *D. Speciosa*, que foram coletados na horta da Fazenda Escola da UEL, estes permaneciam em quarentena por dois dias e alimentados no período com folhas de feijão e água, antes de serem utilizados.

3.3.1 Diferentes Extratores da Isca de Cucurbitacina

Os extratos foram preparados no laboratório de Ecologia Química e Síntese de Produtos Naturais do Departamento de Química da UFPR. Os frutos verdes de purungo (*L. vulgaris*) foram cortados transversalmente (0,20 m de espessura), secos em estufa (70°C) durante 48 horas e triturados em liquidificador até a obtenção de um pó. Assim, o pó de purungo (50g) foi misturado a uma solução do solvente (1000mL), na qual permaneceu 30 minutos em agitação. A seguir, após isso a mistura foi filtrada em papel filtro, obtendo assim os quatro extratos com concentração de 5,0% (m/v). As extrações foram realizadas com água (Ag); Etanol (Et); Etanol + Água (Et+Ag) na mesma proporção e Água + Butanol + Etanol (Ag+Et+Bu) também na mesma proporção.

Para verificar o melhor extrator, foram conduzidos ensaios com chance de escolha. Foram utilizadas folhas de feijão *Phaseolus vulgaris* cultivado em casa de vegetação. Círculos de folha de feijão (20 mm de diâmetro) foram colocadas em placas de Petri de plástico (9,0 cm de diâmetro) forradas com papel filtro umedecido com água destilada. No teste de dupla escolha pareado, quatro círculos de folhas de feijão foram dispostos na periferia de cada placa, alternando uma folha tratada e a testemunha. Um inseto adulto de *D. speciosa* foi colocado no centro de cada placa. Os extratos foram utilizados foram diluído em água nas concentrações de 10, 20, 30, 40 e 50% (v/v).

Foram utilizadas 10 placas por tratamento, sendo cada placa considerada uma unidade experimental. No experimento, a área foliar consumida (mm²) foi avaliada após 24 horas. No término do experimento os círculos de folhas eram secos e a seguir digitalizados e áreas foliares determinadas através do

programa SAFIRA (EMBRAPA, 2010). O índice de preferência (IP) foi calculado usando a seguinte fórmula $[(T-C)/(T+C)]*100$ (T= área das folhas tratadas consumida pelos insetos e C= área das folhas não tratadas consumida pelos insetos) (ESCOUBAS et al., 1993)

Figura 1- Teste de dupla escolha. Circulo de folhas feijão (*P. vulgaris*) na horizontal tratada e vertical não tratadas.



3.3.2 Mistura de Isca + Inseticidas

Para verificar a eficácia das iscas, e o efeito residual da isca + inseticida, foram conduzidos ensaios com chance de escolha e confinamento. Nestes experimentos foram utilizadas plantas de milho (*Zea mays* L.), cultivado em casa de vegetação com 40 dias após a semeadura. Foram utilizadas quatro repetições.

Este bioensaio foi realizado com o melhor extrato e concentração do experimento anterior, ou seja, o tratamento utilizado foi aquele em que se obteve a melhor resposta. Os tratamentos aplicados foram: Isca de Cucurbitacina (Is); Isca de Cucurbitacina + Extrato de *Tephrosia* sp.(Is+Thr); Isca de Cucurbitacina + Extrato de *Annona squamosa* (Is+An) ; Isca de Cucurbitacina + Carbaril (Is+Ca); Extrato de *Tephrosia* sp.(Thr); Extrato de *A. squamosa* (An); Carbaril (Ca) e Água Destilada (Te). Os extrato de *Tephrosia* sp. e *A. squamosa* foram aplicados em concentração de 5% (v/v) e o Carbaril (Sevin[®] 480 SC) de 0,75% (m/v). Os extratos de *Tephrosia*

sp. e de *A. squamosa* foram obtidos com o extrator acetato de etila, segundo metodologia de Mikami (2011).

Os experimentos foram avaliados, após a aplicação, com quatro e oito dias. Em cada uma das avaliações novas folhas eram coletadas das plantas anteriormente tratadas, para assim, verificar o efeito residual dos produtos.

Foram utilizadas dez repetições. A área foliar consumida (mm^2) foi avaliada após 48 horas. No término do experimento as folhas foram digitalizadas, e áreas foliares determinadas através do programa SAFIRA[®] (EMBRAPA, 2010).

3.3.3 Delineamento Experimental e Análise Estatística

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em todos os ensaios. Nos testes de dupla escolha, utilizou-se teste de Wilcoxon ($p < 0,05$) Para as avaliações de mortalidade foi utilizado o teste qui-quadrado para várias proporções ($p < 0,05$). O teste de Kruskal-Wallis foi utilizado para selecionar o melhor solvente extrator e a melhor dose da isca a ser utilizada no experimento mistura de isca+inseticida ($p < 0,05$). O pacote estatístico utilizado foi o Bioestat 5.0 (Ayres, Ayres Jr, Ayres & Santos, 2007)

3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.4.1 Extratos de Isca com Curcubitacina

Na avaliação os extratos de purungo comparados no teste de preferência, todas as folhas tratadas tiveram um consumo maior do que as folhas não tratadas, com um maior consumo no tratamento com extrato a 40% com um índice de preferência de 91,46. (Tabela 1). Estes resultados corroboram Arruda *et al.* (2005) que também observaram preferência de *D. speciosa* por iscas com cucurbitacina em testes em laboratório. A curcubitacina é um terpeno que é fagoestimulante e arrestante aos adultos de *Diabrotica* spp. (CHAMBILIS e JONES, 1966; HOWE *et al.*, 1976). Os resultados relatados com os diferentes solventes extratores de curcubitacina mostram que as características comportamentais que esta substância exerce sobre a *D. speciosa* estão sendo mantidas. Adultos de diabroticíneos são capazes de detectar cucurbitacinas em pequenas quantidades

(nanogramas) através de receptores sensoriais específicos localizados no palpo maxilar (METCALF *et al.*, 1987).

No teste com dupla chance de escolha, os maiores valores obtidos para o índice de preferência foram com extratos de etanol com diluição de 40% em água. Ainda no teste de dupla escolha, quando comparada apenas às áreas das folhas tratadas, o valor médio de maior consumo de área foliar foi no extrato feito com etanol (40%) com um consumo de médio 73,98 mm² de folha, representando um consumo de 23,55% da folha sendo superiores aos valores verificados nos tratamentos água, água+etanol e água+butanol+etanol que tiveram valores médios de consumo de 49.16 mm² (15.65%), 44.61 mm² (14.2%) e 36.44 mm² (11.6%) respectivamente (Tabela 2). De maneira geral, os resultados foram superiores nas maiores concentrações, o que indica maior eficiência de iscas na medida em que aumentam as concentrações (METCALF *et al.* 1987).

Tabela 1 - Área foliar consumida de folhas de feijão (mm²) por adulto de *Diabrotica speciosa* em teste de dupla escolha pareado, com diferentes concentrações de isca e diferentes extratos de cucurbitacina (Ag, Et, Et+Ag e Et+Ag+Bu) com áreas tratadas (Trat), áreas com apenas água destilada (Test) e índice de preferência (IP). n=10.

Concentrações	Extratos											
	Ag			Et			Et+Ag			Et+Ag+Bu		
	Trat	Test	IP(%)	Trat	Test	IP(%)	Trat	Test	IP(%)	Trat	Test	IP(%)
50%	42.57	3.61	84.3	55.6	2.94	89.9	21.36	4.56	64.8	15.7		27.4
	a	b	7	0a	b	6	a	b	1	1a	8.95b	1
40%	49.16	4.71	82.5	73.9		91.4	44.61	8.32	68.5	36.4	10.21	56.2
	a	b	1	8a	3.3b	6	a	b	6	4a	b	3
30%	43.51	9.27	64.8	58.2	7.85	76.2	34.09		72.2	24.8		46.3
	a	b	7	7a	b	6	a	5.5b	2	2a	9.11b	0
20%	34.87	2.98	84.2	40.0	4.87	78.2	34.09	7.23	65.0	16.6		40.3
	a	b	5	0a	b	9	a	b	0	5a	7.07b	9
10%	23.72	7.55	51.7	29.5	3.46	79.0	24.19	3.61	74.0	17.2	13.82	11.1
	a	b	1	3a	b	2	a	b	3	8a	a	3
0%	20.26	22.6		24.3	16.5	19.2	20.42	14.7	16.0	29.0	23.25	11.1
	a	2a	-5.50	5a	a	5	a	7a	6	6a	a	1

Média seguidas de mesma letra na linha em cada avaliação não diferem entre si pelo teste de Wilcoxon (p<0,05).

Tabela 2 - Área foliar consumida de folhas de feijão (mm²) por adulto de *Diabrotica speciosa* em teste de dupla escolha pareado, com apenas as folhas tratadas, com diferentes concentrações de isca e diferentes solventes extratores de cucurbitacina (Ag, Et, Et+Ag e Et+Ag+Bu). n=10.

Concentrações	Extratos			
	Ag	Et	Et+Ag	Et+Ag+Bu
50%	42,57 (49,375) a A	55,60 (56,7) a AB	21,36 (32,525) b C	15,71 (23,4) b C
40%	49,16 (39,725) b A	73,98 (56,275) a A	44,61 (37,75) b A 34,09 (38,475) b	36,44 (28,25) b A
30%	43,51 (43,2) ab A	58,27 (56,4) a AB	AB 34,09 (44,775) a	24,82 (23,925) c AB
20%	34,87 (43,05) a AB	40,0 (49,95) a BC	AB	16,65 (24,225) b C
10%	23,72 a B	29,53 a C	24,19 a BC	17,28 a BC
0%	20,26 a B	24,35 a C	20,42 a C	29,06 a ABC

Média (Posto médio) seguido de mesma letra minúscula na linha não diferem entre sim pelo teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).

Média (Posto médio) seguido de mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre sim pelo teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).

3.4.2 Mistura Isca + Inseticidas

Como a isca a 40% feita com etanol foi a mais eficiente no teste anterior, esta foi utilizada nestes bioensaios. Verificou-se que o consumo foi maior no tratamento em que se aplicou isca, do que na testemunha.

Nos tratamentos que foram adicionadas extratos, isca+*Tephrosia* sp. e isca+*A. squamosa*, estes também, apresentaram um consumo maior nas áreas tratadas do que nas testemunhas (Tabela 3). O consumo nestes tratamentos não foi maior, porque verificou-se uma mortalidade de 70% e 60%, respectivamente (Tabela 4). O consumo no tratamento isca+carbaril foi semelhante à testemunha devido à alta mortalidade observada neste tratamento (Tabela 4).

Consumo similar das folhas foi observado nos tratamentos nos quais não se aplicou a isca em relação às testemunhas (Tabela 3). Na avaliação de mortalidade valores relativamente baixos de mortalidade foram observados nos tratamentos com extrato de *Tephrosia* sp. e *A. squamosa* (30 e 20%, respectivamente) (Tabela 4). Para o inseticida carbaril, aplicado sozinho, estes valores foram ao redor de 70% (Tabela 4). É notável também, na Figura 4 que as folhas tratadas com isca+extratos botânicos apresentaram uma mortalidade elevada, o que não foi visto, quando se tinha apenas os extratos botânicos na primeira avaliação.

Na segunda avaliação quatro dias após a aplicação (4 DAA), os adultos de *D. speciosa* continuaram apresentando uma maior preferência pelas folhas tratadas com o estimulante alimentar nos tratamentos Is, Is+Te e Is+Ca, consumindo 36.13 mm² (11.5%), 30.47mm² (9.7%) e 28.9 mm² (9.2%), respectivamente (Tabela 3). Porém a mortalidade dos insetos nos tratamentos com inseticidas botânicos foi muito reduzida, com 20% para ambos os tratamentos que estavam com o estímulo alimentar (Tabela 4). Isso mostra que estes inseticidas botânicos têm o seu efeito inseticida degradado com o passar do tempo (Figura 4).

No tratamento com isca mais o inseticida carbaril, como na primeira avaliação, não apresentou diferença estatística para folhas não tratadas, porém a mortalidade se manteve elevada com 70% dos insetos (Tabela 4).

Na última avaliação oito dias após a aplicação (8 DAA), os resultados de consumo foram semelhantes aos da segunda (Tabela 3). (Tabela 4). Novamente foi o tratamento Is+Ca que apresentou um consumo que não difere da estatisticamente da testemunha, como nas avaliações anteriores (Tabela 3) em decorrência da mortalidade elevada dos insetos (90%) (Tabela 4). Os resultados desta avaliação, quando considerados os tratamentos sem adição de isca de curcubitacina foram similares aos da segunda avaliação, porém a mortalidade no tratamento com o apenas o inseticida carbaril foi de 70%, porém é notável que quando se tem a presença da isca, os insetos têm um maior consumo, mas não observou diferença estatística entre os dois tratamentos.

Tabela 3 - Área foliar consumida de folhas de milho (mm²) por adulto de *Diabrotica speciosa* em teste de dupla escolha, com utilização de isca, isca+inseticida, apenas inseticida e testemunha com 0, quatro e oito dias após a aplicação(DAA). Isca de Cucurbitacina (Is); Isca de Cucurbitacina + Extrato de *Tephrosia* sp.(Is+Thr); Isca de Cucurbitacina + Extrato de *Annona squamosa* (Is+An) ; Isca de Cucurbitacina + Carbaril (Is+Ca); Extrato de *Tephrosia* sp.(Thr); Extrato de *A. squamosa* (An); Carbaril (Ca) e Água Destilada (Te). n=10

Tratamentos	Dias Após Aplicação					
	0		4		8	
	Tratado	Não Tratado	Tratado	Não Tratado	Tratado	Não Tratado
Is	62,2 a	3,46 b	36,13 a	4,46 b	32,04 a	5,03 b
Is+Thr	35,5 a	6,91 b	30,47 a	5,03 b	27,96 a	6,6 b
Is+An	39,9 a	6,91 b	28,76 a	6,25 b	24,82 a	5,65 b
Is+Ca	27,65 a	6,6 a	16,34 a	15,05 a	19,79 a	5,03 a
Thr	11,62 a	17,59 a	14,77 a	14,14 a	14,77 a	13,82 a
An	12,57 a	22,93 a	14,14 a	13,51 a	12,25 a	15,39 a
Ca	17,91 a	15,08 a	10,68 a	12,25 a	13,19 a	11,62 a
Te	25,13 a	21,68 a	12,88 a	13,82 a	11,31 a	13,19 a

Média seguidas de mesma letra na linha em cada avaliação não diferem entre si pelo teste de Wilcoxon ($p < 0,05$).

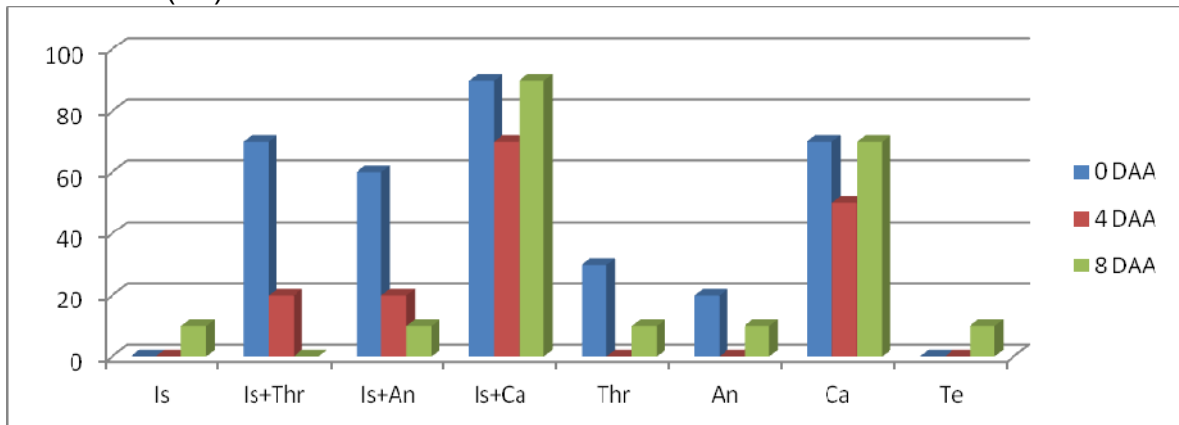
Tabela 4 - Porcentagem de mortalidade de *D. speciosa* submetido a teste de múltipla escolha, com folhas de milho tratadas com apenas isca, isca+inseticida, apenas inseticida e testemunha com 0, quatro e oito dias após a aplicação(DAA). Isca de Cucurbitacina (Is); Isca de Cucurbitacina + Extrato de *Tephrosia* sp.(Is+Thr); Isca de Cucurbitacina + Extrato de *Annona squamosa* (Is+An) ; Isca de Cucurbitacina + Carbaril (Is+Ca); Extrato de *Tephrosia* sp.(Thr); Extrato de *A. squamosa* (An); Carbaril (Ca) e Água Destilada (Te). n=10

Dias após aplicação	Tratamentos							
	Is	Is+Thr	Is+An	Is+Ca	Thr	An	Ca	Te
0	0 b A	70 a A	60 a A	90 a A	30 ab A	20 b A	70 a A	0 b A
4	0 b A	20 b B	20 b B	70 a A	0 b B	0 b A	50 a A	0 b A
8	10 b A	0 b B	10 b B	90 a A	10 b AB	10 b A	70 a A	10 b A

Porcentagem seguida de mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Quiquadrado para várias proporções ($p < 0,05$).

Porcentagem seguida de mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Quiquadrado para várias proporções ($p < 0,05$).

Figura 2 - Mortalidade (%) de insetos adultos de *D. speciosa* em teste de dupla escolha com folhas de milho tratadas com apenas isca, isca+inseticida e testemunha com zero, quatro e oito dias após a aplicação (DAA). Isca de Cucurbitacina (Is); Isca de Cucurbitacina + Extrato de *Tephrosia* sp.(Is+Thr); Isca de Cucurbitacina + Extrato de *Annona squamosa* (Is+An) ; Isca de Cucurbitacina + Carbaril (Is+Ca); Extrato de *Tephrosia* sp.(Thr); Extrato de *A. squamosa* (An); Carbaril (Ca) e Água Destilada (Te).



No experimento de confinamento, a área consumida não pôde ser comparada, pois houve um grande número de insetos mortos nos tratamentos, tanto com os inseticidas botânicos como o carbaril. Assim como observado no teste de preferência, os extratos botânicos e o carbaril provocaram elevados índices de mortalidade no dia da aplicação (0DAA) e nas demais avaliações, tanto nos tratamentos com e sem isca (Tabela 5)

Nos testes de confinamento, observou-se também elevados valores de mortalidade para os extratos botânicos de *Tephrosia* e *A. squamosa* na data de instalação do experimento (0 DAA). Entretanto, como no teste anterior, os valores de mortalidade decresceram significativamente nas avaliações seguintes (4 e 8 DAA) (Tabela 5).

Para o inseticida Carbaril, os resultados também se repetiram, havendo manutenção da mortalidade em todas as avaliações realizadas (Tabela 5).

Tabela 5 - Porcentagem de mortalidade de *D. speciosa* submetido a Teste de Confinamento, com folhas de milho tratadas com apenas isca, isca+inseticida, apenas inseticida e testemunha com zero, quatro e oito dias após a aplicação(DAA). Isca de Cucurbitacina (Is); Isca de Cucurbitacina + Extrato de *Tephrosia* sp.(Is+Thr); Isca de Cucurbitacina + Extrato de *Annona squamosa* (Is+An) ; Isca de Cucurbitacina + Carbaril (Is+Ca); Extrato de *Tephrosia* sp.(Thr); Extrato de *A. squamosa* (An); Carbaril (Ca) e Água Destilada (Te). n=10

Dias após aplicação	Tratamentos							
	Is	Is+Thr	Is+An	Is+Ca	Thr	An	Ca	Te
0	0 b A	80 a A	80 a A	100 a A	80 a A	70 a A	100 a A	0 b A
4	0 b A	20 b AB	30 b AB	90 a A	10 b B	0 b B	70 a A	0 b A
8	0 b A	0 b B	0 b B	90 a A	20 b B	10 b B	80 a A	10 b A

Porcentagem seguida de mesma letra minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Quiquadrado para várias proporções ($p < 0,05$).

Porcentagem seguida de mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Quiquadrado para várias proporções ($p < 0,05$).

É notável que no teste de preferência, os insetos de *D. speciosa* tiveram uma maior preferência pelas folhas em que havia a presença da isca de curcubitacina. Isso aconteceu quando se fez os testes no dia da aplicação, como 4DAA e 8DAA. Mesmo as plantas de milho (*Z. mays*) tratadas recebendo incidência de luz durante o período do experimento, a isca de curcubitacina continuou a proporcionar um estímulo alimentar ao inseto em estudo. Estes mesmos resultados foram obtidos por Mikami e Ventura (2008), quando adultos de *D. speciosa* que consumiram uma maior área foliar de milho quando tratadas com isca amilácea de cucurbitacina após 3, 7, 12, e 14 DAA do que áreas foliares sem tratamento. A alimentação mesmo de substratos menos palatáveis para os diabroticíneos, faz com que na presença de cucurbitacina os insetos alimentam-se compulsivamente desta substância (METCALF; METCALF; RHODES, 1980).

Por induzir os insetos à alimentação, as cucurbitacinas podem aumentar substancialmente a eficiência de armadilhas contendo inseticidas (METCALF *et al.*, 1987; LANCE, 1988). A utilização de carbaril em iscas para *D. speciosa* já foi vista com sucesso, pois algumas características presentes no inseticida, que é a não repelência destes crisomelídeos, pois Metcalf *et al.* (1987), observou captura em maior quantidade em iscas com adição de inseticidas com carbamados, quando comprados aos piretróides e organofosforados. Em estudos de Roel e Zatarim (1989) em que testaram pedaços de frutos de *L. vulgares* tratados com inseticidas (carbaril, paration metílico e permetrina), em cultura de batata. Os autores

observaram maiores capturas até o sétimo dia nos tratamentos carbaril e paration metílico, após o sétimo dia, apenas o carbaril foi eficiente, sendo que a permetrina, pertencente ao grupo dos piretróides, foi repelente, pois nos frutos não foram encontrados insetos mortos ou vivos. Percebeu-se que de maneira geral, os resultados obtidos neste trabalho corroboraram aqueles obtidos por Mikami & Ventura (2008), que observaram incremento da mortalidade quando se adicionou isca ao inseticida carbaril.

Os resultados de mortalidade, tanto no teste de preferência quanto no teste de confinamento, obtidos para os extratos de *Tephrosia* sp. deve-se provavelmente à ação dos rotenóides presente nas plantas de *Tephrosia* spp. Os principais rotenóides são deguelina, rotenona e tefrosina (LAMBERT et al., 1993, KOONA e DORN, 2005). A rotenona age nos insetos interferindo no transporte de elétrons, inibindo o fotossistema I (LING, 2003).

A perda de eficiência dos extratos de *Tephrosia* spp provavelmente seja devida à decomposição. A rotenona, presente em *Tephrosia* spp., é uma substância não persistente, facilmente degradada em condições naturais, devido à sensibilidade da luz, calor e oxigênio (LING, 2003). As plantas utilizadas estavam sob estas condições e este é o fator no qual as mortes dos insetos ocorreram em níveis tão baixos com 4DAA e 8DAA. Neste trabalho não foi possível observar se o extrato de *T. voggeli* possuía algum efeito repelente como relatado por Koona et al., 2007, quando observou ação inseticida e de repelência sobre *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae).

A morte dos insetos no atual estudo ratificou que as anonáceas possuem efeito inseticida. O uso de extratos de sementes de *A. coriaceae*, em lagartas de *Tuta absoluta* (Lepdoptera:Pyralidae) provocaram a mortalidade (SILVA et al., 2007). Quando utilizados extratos etanólicos das folhas e sementes de graviola e fruta-do-conde, foi constatado que o extrato de fruta-do-conde foi mais ativo que o de graviola sobre *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) (LIMA, 2007). Quando Llanos et al. (2008), testando extratos de sementes de graviola (*A. muricata*), extraído com três diferentes solventes, hexano, acetato de etila e etanol, observaram ação inseticida sobre *Sitophilus zeamais* Motschulsky 1885, sendo que a ação inseticida foi atribuída à presença da acetogenina.

Em estudos realizados por Ndob *et al.*, (2009) foram encontradas em frutas-do-conde vinte acetogeninas: annotemoina-1 e -2, bullatencina, corepoxilone, diepomuricaninas A e B, dieporeticenine, dieposabadelina, dotistenina, eritrosolamina, glabrencina B, lepirenina, reticulatainas-1, -2, esquamicenina, solamina, tripoxirollina, uvariamicinas I, II, III. Na literatura a ação das acetogeninas nos insetos é de grande inibição do complexo I nos sistemas de transporte de elétrons da mitocôndria, assim não produzindo ATPs (JOHNSON *et al.*, 2000, ÁLVARES COLOM *et al.*, 2007).

Com os resultados obtidos, assim como a rotenona presente na *Tephrosia*, as acetogeninas podem também apresentar uma degradação estimulada por temperaturas elevadas, oxigênio e luz, mas não foram encontrados na literatura trabalhos que pudessem comprovar essa degradação ocorrida. No entanto, novos trabalhos com *D. speciosa* deverão continuar sendo realizados com estes extratos como potenciais inseticidas tanto em laboratório quanto em campo.

3.4.3 Conclusão

Pode-se concluir que os extratos etanólicos de *L. vulgaris* provocaram efeitos fagoestimulantes dêem adultos de *D. speciosa* principalmente em concentração de 40%. A utilização de iscas juntamente com inseticidas é possível, pois não causou repelência nos insetos. Os extratos de *Tephrosia* sp. e *A. squamosa* têm potencial inseticida para adultos de *D. speciosa*, entretanto, os efeitos não perduraram, sendo diminuídos drasticamente após quatro dias. Efeitos persistentes (até oito dias) foram constatados quando se utilizou o inseticida carbaril.

REFERÊNCIAS

- ALALI, F.Q., LIU, X., MCLAUGHLIN, J. L. Annonaceous Acetogenins: Recent Progress. **Journal of Natural Products** v. 62 p. 504-540, 1999.
- ÁLVARES COLOM, O.; NESKE, A.; POPISH, S; BARDÓN, A. Toxic effects of annonaceous acetogenins from *Annona cherimolia* (Magnoliales: Annonaceae) on *Spodoptera frugiperda* (Lepdoptera: Noctuidae). **Journal of Pest Science**, v. 80, p. 63-67, 2007.
- ÁVILA, C. J. Técnica de Criação e Influencia do Hospedeiro a Temperatura no Desenvolvimento de *Diabrotica Speciosa* (Germar, 1824) (Coleoptera: Chrysomelidade). **Tese de Doutorado. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**, Universidade de São Paulo, Piracicaba – SP. 103p 1999.
- ARRUDA-GATTI, I. C. De; VENTURA, M. U. Iscas contendo cucurbitacinas para o manejo de *Diabrotica* spp. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 24, n. 2, p. 331-336, jul./dez. 2003
- ARRUDA, I. C.; VENTURA, M. U.; SCARMINIO, I. S. Feeding and arrestment responses of *Diabrotica speciosa* to cucurbitacin-content formulations. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, n. 7, p. 639-643, Jul. 2005. AYRES, M., AYRES Jr., M., AYRES, D. L., SANTOS, A. A. **BioEstat, 5.0**. São Paulo: USP, 2007.
- BATISTA FILHO, A., LEITE, L. G., RAGA, A. SATO, E. Efeito da Associação *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. com Óleo Mineral, na Mortalidade de *Cosmopolites sordidus* Germar (Coleoptera: Curculionidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 23, n. 3, p. 379-383, 1994.
- CHAMBLIS, O. L.; JONES, C. M. Cucurbitacins: specific insect attractants in Cucurbitaceae. **Science**, New York, v. 153, p. 1392-1393, 1966.
- CHANDLER, L.D. Comparison of insecticide-bait aerial application methods for management of corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae). **Southwestern Entomologist**, v.23, p.147-159, 1998.
- CHANDLER, L. Corn rootworm areawide management program: United States Department of Agriculture-Agricultural Research Service. **Pest Management Science**, v. 59, n. 6-7, p. 605-608, May 2003.
- CHANDLER, L.D.; SUTTER, G.R. High clearance sprayer methods for application of corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) semiochemical-based baits. **Southwestern Entomologist**, v.22, p.167-178, 1997.
- DAMACENOS, D. C., VOLPATO, G. T., SARTORI, T. C. F., RODRIGUES, P. F., PERIN, E. A., CALDERON, I. M. P., RUDGE, M. V. C. Effects of *Annona squamosa* Extract on Early Pregnancy in Rats. **International Journal Phytotherapy &Phytopharmacology**. v. 9, p. 667, 2002.
- DAYAN, F. E., CANTRELL, C. L., DUKE, S. O. Natural products in crop protection. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v.17, p. 4022-4034, 2009.

ESCOUBAS, P.; LAJIDE, L.; MIZUTANI, J. An improved leaf-disk antifeedant bioassay and its application for the screening of hokkaido plants. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.66, n.1, p.99-107, 1993.

FAUST, R.M.; CHANDLER, L.D. Future program in areawide pest management. **Journal of Agricultural Entomology**, v.15, p.371-376, 1998.

FAZOLIN, M. Avaliação de plantas com potencial inseticida no controle de vaquinha-do-fejoeiro (*Cerotoma tingomarianus* Bechyné). In. FAZOLIN, M., ESTRELA, J. L. V., LIMA, A. P., ARGOLO, V. M. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, n. 37) Rio Branco: **Embrapa Acre**, p. 42, 2002.

FLEISCHER, S. J.; E KIRK, D. Kairomonal baits: effects on acquisition of a feeding indicator by *Diabrotica* vectors in cucurbits. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 23, n. 5, p. 1138-1149, 1994.

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

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

GRAVENA, S.; BENVENGA, S.R. **Manual prático para manejo ecológico de pragas do tomate**. Jaboticabal: Gravena-ManEcol, 144p. 2003.

GUIMARÃES, J.A.; AZEVEDO, F.R. de; BRAGA SOBRINHO, R.; MESQUITA, A.L.M. Recomendações para o Manejo das Principais Pragas do Meloeiro na Região do Semi-Árido Nordeste. (Embrapa Agroindústria Tropical. Circular Técnica, 24). Fortaleza: **Embrapa Agroindústria Tropical**, 11p. 2005.

HOWE, W. L.; SANBORN, J. R.; RHODES, A. M. Western corn rootworm adults and spotted cucumber beetle associations with cucurbita and cucurbitacins. **Environmental Entomology**, Lanham, v.5, n.5, p.1043-1048, 1976.

HOSSAIN, M. B., POEHLING, H. M. Non-target effects of three biorationale insecticides on two endolarval parasitoids of *Liriomyza sativae* (Diptera, Agromyzidae). **Journal of Applied Entomology**, v.130 n. 6-7 p. 360-367, 2006.

ISMAN, M. B. Neen and Other Botanical Insecticides: Barriers to Commercialization. **Phytoparasitica**, v. 25, n. 4. p. 339 – 344, 1997.

JOHNSON, H. A., ORBELIES, N. H., ALALI, F. Q., McLAUGHLIN, J. L. Thwarting resistance: anonaceous acetogeninas as new pesticidal and antitumor agents. In CUTLER, S. J., CUTLER, H. G., ed. **Biological active natural products: pharmaceuticals**. p. 173-184, 2000.

JUTSON, A.R., GORDON, R.F.S. **Insect Pheromones**. In Plant Protection. John Wiley & Sons. Chichester, p. 369, 1989.

- KATHRINA, G. A., ANTONIO, L. O. J. Controle Biológico de Insetos Mediante Extratos Botânicos. In CARBALL, M. GUAHARAY, F. **Controle Biológico de pragas agrícolas**. Managua. p. 137-160, 2004.
- KOONA, P.; DORN, S. Extracts from *Tephrosia vogelii* for the protection of stored legume seeds against damage by three bruchid species. **Annals of Applied Biology**, v. 147, n. 1, p. 43-48, 2005.
- KOONA, P., DOROTHY, M., KOONA, E. S. Hexane extracts from *Tephrosia vogelii* Hook. f. protect stored maize against the weevil *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). **Entomological Science**, v. 10, n. 2, p. 107-111, 2007.
- LAMBERT, N.; TROUSLOT, M.; NEF-CAMPA, C.; CHRESTIN, H. Production of rotenoids by heterotrophic and photomixotrophic cell cultures of *Tephrosia vogelii*. **Phytochemistry**, v. 34, n. 6, p. 1515-1520, 1993.
- LANCE, D. R. Responses of northern and western corn rootworms to semiochemical attractants in corn fields. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 14, p. 1177-1185, 1988.
- LIMA, M. D. Perfil cromatográfico dos extratos brutos das sementes de *Annona muricata* L. e *Annona squamosa* L. através da cromatografia líquida de alta eficiência. Maceió: **Dissertação- UFAL**, Maceió, 84 p, 2007.
- LIMA, A. F. & F. RACCA FILHO. **Manual de Pragas e Praguicidas: Receituário Agrônomo**. Rio de Janeiro, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 818 p. 1996.
- LING, N. Rotenone – a review of its toxicity and use for fisheries management. **Science for Conservation 211**, Wellington, New Zealand, 40 p., 2003. Disponível em: <<http://www.doc.govt.nz/Publications/004~Science-and-Research/Science-for-Conservation/PDF/SFC211.pdf>>, Acesso em: 20 Ago. 2011
- LLANOS, C. A. H.; ARANGO, D. L.; GIRALDO, M. C. Actividad insecticida de extractos de semilla de *Annona muricata*(Anonaceae) sobre *Sitophilus zeamais* (Coleoptera:Curculionidae).**Rev.Colomb. Entomol.** v.34 n.1 Bogotá jan./jun. 2008.
- LUNA, J., XUE, L. Aggregation behavior of western spotted cucumber beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) in vegetable cropping systems. **Environ. Entomol.**, v.38 p. 809-814, 2009.
- MARQUES, G. B. C.; ÁVILA, C. J.; PARRA, J. R. P. Danos causados por larvas de *Diabrotica speciosa* (Coleoptera: Chrysomelidae) em milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.34, n.11, p.1983-1986, 1999.
- MARTINEZ SS. 2003. Controle da Vaquinha com o Inseto Triturado. **Agroecologia Hoje 4**: 22.

MARTINEZ, N. B.; GODOY, F. Épocas de Incidência de *Cosmopolites sordidus* Germar y *Metamosius hemipterus* L. en los Huertos de Musáceas en el Estado Aragua. **Agronomie Tropicale**, Nogent-sur-Marne, v.38, p.107-119, 1988.

MATSUMURA, F. Naturally occurring botanical insecticides. In MATSUMURA, F. **Toxicology of insecticides**. London: Plenum, P. 134-139, 1976.

METCALF, R. L.; FERGUNSON, J. E.; LAMPMAN, R. L.; ANDERSEN, J. F. Dry cucurbitacin-containing baits for controlling diabroticite beetles (Coleoptera: Chrysomelidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 80, p. 870-875, 1987.

METCALF, R. L.; LAMPMAN, R. L. Estrangole analogues as attractants for corn rootworms (Coleoptera: Chrysomelidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 82, n. 1, p. 123-129, Feb. 1989.

METCALF, R. L., METCALF, R. A., RHODES, A. M. Cucurbitacins as kairomones for diabroticite beetles. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, USA**, v. 17 p. 3769–3772, 1980.

METCALF, R. L.; METCALF, R. A. **Plant kairomones in insect ecology and control**. New York: Chapman and Hall, 168 p. 1992.

MIKAMI, A. Y. Mortalidade do Percevejo *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae) provocada por extratos de sementes de *Tephrosia* sp. (Fabaceae) e de anonáceas. **Tese de Doutorado – Universidade Estadual de Londrina**. Londrina, 2011.

MIKAMI, A. Y., VENTURA, M. U. Isca amilácea de cucurbitacina (*Lagenaria vulgaris* L.) promove maior eficiência do inseticida carbaril no controle de *Diabrotica speciosa*, em laboratório. **Ciência Rural**. v. 38, p. 2119-2123, 2008.

MORAES, J. C., COSTA, R. R., FILGUEIRAS, C. C. **Manejo de inseto-praga em cultivo orgânico**. Lavras: Editora UFLA. p. 60, 2007.

MOSS, R. W. The war on cancer. **Towsend Letter for Doctors ans Patients**. (Acessado em 22 de setembro de 2011. www.cancerdecisions.com). v 244, p.34, 2003.

NASCIMENTO, A.S.; CARVALHO, R. da S.; MALAVASI, A. **Monitoramento populacional**. In: MALAVASI, A. ZUCCHI, R.A. (Ed.) **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, p. 327, 2000.

NAUEN, R. BRETSCHNEIDER, T. New odesof action of Insecticides. **Pesticide Outlook**. v. 13, p. 241-245, 2002.

NISHIDA, R., FUKAMI, H. Sequestration of distasteful compounds by some pharmacophagous insects. **Journal of Chemical Ecology**, v. 16, p. 151-164, 1990.

- NDOB, I. B. ba; CHAMPY, P.; GLEYE, C.; LEWIN, G.; AKENDENGUÉ, B. Annonaceous acetogenins: Precursors from the seeds of *Annona squamosa*. **Phytochemistry Letters**, v. 2, p. 72-76, 2009.
- REISSIG, W. H.; FEIN, B. L.; ROELOFS, W. L. Field tests of Synthetic Apple Volatiles as Apple Maggot (Diptera: Tephritidae) attractants. **Environmental Entomology**, Lanham, v.11, p.1294-1298, 1982.
- ROBERTO, S. R.; GENTA, W.; VENTURA, M. U. *Diabrotica speciosa* (Ger.) (Coleoptera: Chrysomelidae): New Pest In Table Grape Orchards. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.30, n.4, p.721-722, 2001.
- ROEL, A. R.; ZATARIM, M. Eficiência de iscas à base de abóbora d'água, *Lagenaria vulgaris* (Cucurbitaceae) tratadas com inseticidas, na atratividade a *Diabrotica speciosa* (Gemar, 1824) (Coleoptera: Chrysomelidae). **Neotropical Entomology**, Vacaria, RS, v.18, n. 2, p. 213-219, 1989.
- SAFIRA: Sistema de Análise de Fibras e Raízes. / Lúcio André de Castro Jorge, Alex Fernando de Oliveira Rodrigues. São Carlos: **Embrapa Instrumentação Agropecuária**, 2008 (Acessado em 15 de setembro de 2010. <http://www.cnpdia.embrapa.br/labimagem/safira.html>)
- SANTOS, L. P., BOAVENTURA, M. A. D., OLIVEIRA, A.B. Crassiflorina, uma acetogenina tetra-hidrofurânica citotóxica de *Annona crassiflora* (Araticum). **Química Nova** v.17 p. 387-39, 1994.
- SALLES, LUIZ A. Efeito do envelhecimento e da decomposição do atrativo na captura de adultos de *Anastrepha fraterculus* (WIED.) (diptera:tephritidae). (Documento, 41).Pelotas. **Embrapa**, p. 16, 1991
- SCHMUTTERER, H. Potencial of azadirachtn-containing pesticides for integrated pest control in developing and industrialized countries. **Journal of Insect Physiology**, v.34, n.7, p.713-719, 1988.
- SEVERIN, H. H. P.; SEVERIN, H. C. A Historical Account on the Use of Kerosene to Trap the Mediterranean Fruit Fly (*Ceratitits capitata* Wied.). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.6, p.347-351, 1913.
- SILVA, A. P. T.; PEREIRA, M. J. B.; BENTO, L. F. Extrato metanólico da semente de araticum (*Annona coriacea*) (Mart.) sobre a mortalidade da traça-do-tomateiro (*Tuta absoluta*). **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 2, n. 2, p. 1150-1153, 2007.
- STEINER, L. F. Methyl Eugenol as an Attractant for the Oriental Fruit Fly. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.45, p.241-248, 1952.
- TALLAMY, D. W.; HALAWEISH, F. T. Effects of age, reproductive activity, sex, and prior exposure on sensitivity to cucurbitacins in Southern Corn Rotworm (Coleoptera: Chrysomelidae). **Environmental Entomology**, Lanham, v. 22, p. 925-932, 1993.
- VIEGAS JÚNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, v. 26, n. 3, p. 390-400, 2003.

VENTURA, M. U.; ITO, M.; MONTALVÁN, R. An attractive trap to capture *Diabrotica speciosa* and *Ceratomyxa arcuata tingomariana* Bechyné. **Neotropical Entomology**, Vacaria, RS, v.25, n. 3, p. 529-535, 1996.

VENTURA, M. U.; MARTINS, M. C.; PASINI, A. Response of *Diabrotica speciosa* and *Ceratomyxa arcuata tingomariana* (Coleoptera: Chrysomelidae) to volatile attractants. **Florida Entomologist**, Flórida, v. 83, n. 4, p. 403-410, Dec. 2000.

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

WIESBROOK, M. L. Natural indeed: Are natural insecticides safer and better than conventional insecticides? **Illinois Pesticide Review**, v. 17 n. 3 p. 1-8, 2004.

VENZON, M., TRAZILBO, J. P. J., PANELLI, A., Controle Alternativo de Pragas e Doenças, Viçosa, **EPAMING**. p. 362, 2006.