



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

VIVIANE DUTRA

**MORTALIDADE DA BROCA-DO-CAFÉ *HYPOTHENEMUS*  
*HAMPEI* (FERRARI, 1867) (COLEOPTERA:  
CURCULIONIDAE) POR EXTRATOS DE SEMENTES DE  
ANONÁCEAS E *TEPHROSIA VOGELII* HOOK (FABACEAE)**

VIVIANE DUTRA

**MORTALIDADE DA BROCA-DO-CAFÉ *HYPOTHENEMUS*  
*HAMPEI* (FERRARI, 1867) (COLEOPTERA:  
CURCULIONIDAE) POR EXTRATOS DE SEMENTES DE  
ANONÁCEAS E *TEPHROSIA VOGELII* HOOK (FABACEAE)**

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)**

D978M Dutra, Viviane. Mortalidade da broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae) por extratos de sementes de Anonáceas e *Tephrosia vogelii* Hook (Fabaceae) / Viviane Dutra. – Londrina, 2012. 45 f. : il.

Orientador: Maurício Ursi Ventura.

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

1. Broca-do-café – Teses. 2. Café –Doenças e pragas – Controle – Teses. 3. Inseticidas vegetais – Teses. 4. Anonacea – Teses. 5. Fabaceae – Teses. 6. Agricultura orgânica – Teses. I. Ventura, Maurício Ursi. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. III. Título.

CDU 632.93:633.73

VIVIANE DUTRA

**MORTALIDADE DA BROCA-DO-CAFÉ *HYPOTHENEMUS HAMPEI*  
(FERRARI, 1867) (COLEOPTERA:  
CURCULIONIDAE) POR EXTRATOS DE SEMENTES DE ANONÁCEAS  
E *TEPHROSIA VOGELII* HOOK (FABACEAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Estadual de Londrina.

**BANCA EXAMINADORA**

---

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

---

Prof. Dr. Gustavo A. de Freitas Fregonezi  
UEL – Londrina - Pr

---

Dra. Ana Maria Meneguim  
IAPAR – Londrina - Pr

---

Prof. Dr. Maurício Ursi Ventura  
Orientador  
UEL – Londrina - Pr

Londrina, 16 de fevereiro de 2012.

*A Deus pela saúde e disposição para superar todos os obstáculos e desafios.*

*À minha mãe Lucilene, que pacientemente me ouviu e aconselhou e aos meus irmãos Rafael e Júlio que, mesmo diante de todas as dificuldades jamais deixaram de acreditar em mim.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por possibilitar um novo aprendizado a cada dia de minha vida. ELE que é fonte de inspiração em todos os momentos.

Aos meus familiares, em especial a minha mãe Lucilene e aos meus irmãos Rafael e Júlio, minha avó Maria, Tio Jorge e Tia Rosa, e também, Tia Alzira e Tio Hermes Fadel (*in memoriam*) por todo apoio, compreensão e por sempre acreditarem no meu potencial.

Ao meu orientador professor Dr. Mauricio Ursi Ventura não só pela orientação neste trabalho, mas, sobretudo pela compreensão, paciência e amizade.

Ao Professor Dr. Gustavo A. de Freitas Fregonezi, pelas sugestões e conselhos durante o curso, pela paciência e amizade.

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

Às minhas amigas de todas as horas Mônica Kuraoka, Rose Bertolucci, Carolina Marcucci, Thais Tutida e Aline Pissinati por inúmeras vezes terem me auxiliado na execução dos experimentos, além da amizade e companheirismo; com certeza a ajuda de vocês foi imprescindível para a conclusão deste trabalho e essencial nas horas de descontração, descanso e alegria.

Aos meus amigos do laboratório de Entomologia que também me auxiliaram diretamente e indiretamente para conclusão desse trabalho e pela companhia nas horas de diversão; em especial, Mateus Gimenez Carvalho, Adriana Mikami e Camila Marques Francovig.

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

Aos amigos Giovani Arieira e Roger Pereira por todo apoio, compreensão e companhia. A todos os amigos que torceram por mim.

Aos funcionários do Departamento e da Pós-graduação de Agronomia. À Universidade Estadual de Londrina, pela minha formação.

“[...] O Conhecimento é assim:  
ri de si mesmo  
e de suas certezas.

É meta de forma  
metamorfose  
movimento  
fluir do tempo  
que tanto cria como arrasa

a nos mostrar que para o vôo  
é preciso tanto o casulo  
Como a asa.”

Aula de Vôo – Mauro Iasi

DUTRA, Viviane. **Mortalidade da broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae) por extratos de sementes de Anonaceas e *Tephrosia vogelli* Hook (FABACEAE).** 2012. 45 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2012

## RESUMO

A broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae), considerada a principal praga na cafeicultura, causa prejuízos quantitativos, como queda dos frutos e danos as sementes e qualitativos, sendo que a redução da qualidade do café e alteração no tipo da bebida são as características que sofrem maior depreciação. O método de controle mais utilizado é o químico, sendo que o inseticida endossulfan é o produtos que apresenta maior eficiência. A agricultura orgânica não permite a utilização de produtos sintéticos, sendo assim a busca por métodos alternativos de controle é essencial para atender as necessidades desses agricultores. Assim, esse trabalho teve por objetivo avaliar a mortalidade em decorrência da aplicação de extratos orgânicos de *Tephrosia vogelli*. (Fabaceae) e das anonáceas: *Annona muricata* L. (graviola), *A. squamosa* L. (fruta-do-conde, pinha) e *A. crassiflora* MART. (araticum) sobre *H. hampei*, em condições de laboratório. Para o preparo dos extratos, sementes foram secas, trituradas e passadas por sistema Soxhlet; primeiro com acetato de etila e posteriormente com o etanol. Para tanto, foram realizados bioensaios, utilizando diferentes concentrações dos extratos vegetais (1,0; 3,0 e 5,0%) avaliando o efeito de mortalidade e repelência dos mesmos. Foram aplicados 30 µL de calda/placa ou tubo, contendo dez insetos adultos, com auxílio de aerógrafo acoplado a um compressor/aspirador. A contagem de insetos mortos foi realiza 24 e 120 horas após a aplicação. De modo geral, todos os extratos apresentaram eficiência na mortalidade dos insetos em condições de laboratório.

**Palavras – chave:** Cafeicultura orgânica. Controle alternativo. Rotenona. Acetogeninas.

DUTRA, Viviane. **Mortality of the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae)** by seed extracts of Annonacea and *Tephrosia vogelli*. 2012. 45 p. (Dissertação de Mestrado) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2012

## ABSTRACT

The coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae), a major pest in coffee, cause quantitative losses as falling fruits and seeds and qualitative damage, and reduced quality of coffee and change in the type of drink features that suffer higher depreciation. The control method is the most widely used chemical, with the insecticide endosulfan is the product that has the highest efficiency. Organic farming does not allow the use of synthetic products, so the search for alternative control methods is essential to meet the needs of farmers. Thus, this study aimed to assess mortality as a result of application of organic extracts of *Tephrosia vogelli* (Fabaceae) and Annonaceae: *Annona muricata* L. (soursop), *A. squamosa* L. (custard apple, sugar apple) and *A. crassiflora* MART. (araticum) on *H. hampei* in laboratory conditions. For the preparation of extracts, seeds were dried, crushed and passed through Soxhlet system, first with ethyl acetate and then with ethanol. To this end, experiments were conducted using different concentrations of plant extracts (1.0, 3.0 and 5.0%) evaluated the effects of mortality and repellency of the same. We applied 30µL of solution / plate or tube, containing ten adult insects, coupled with the aid of an airbrush compressor / vacuum. The count of dead insects was performed 24 and 120 hours after application. In general, all extracts showed efficiency in killing the insects under laboratory conditions.

**Key – words:** Organic coffee. Alternative control. Rotenone. Acetogenins.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	10
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	12
2.1 A BROCA-DO-CAFÉ (HYPOTHENEMUS HAMPEI) .....	12
2.2 INSETICIDAS DE ORIGEM BOTÂNICA .....	15
2.2.1 Neem (Azadirachita Indica) – a Azadirachitina .....	17
2.2.2 Tephrosia SPP .....	18
2.2.3 A Família Anonaceae – a Acetogeninas .....	20
<b>3 ARTIGO – MORTALIDADE DA BROCA-DO-CAFÉ (HYPOTHENEMUS HAMPEI) (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) POR EXTRATOS DE SEMENTES DE ANONÁCEAS E TEPHROSIA VOGELLI HOOK</b> .....	24
3.1 RESUMO.....	25
3.2 ABSTRACT .....	25
3.3 INTRODUÇÃO .....	26
3.4 MATERIAL E MÉTODOS .....	28
3.4.1 Insetos .....	28
3.4.2 Extratos Botânicos.....	28
3.4.3 Bioensaios .....	29
3.4.3.1 Bioensaio 1 .....	29
3.4.3.2 Bioensaio 2.....	29
3.4.3.3 Bioensaio 3.....	30
3.4.3.4 Bioensaio 4.....	30
3.4.4 Delineamento Experimental e Análise Estatística.....	30
3.5 Resultados e Discussão.....	31
3.5.1 Bioensaio 1 .....	31
3.5.2 Bioensaio 2.....	31
3.5.3 Bioensaio 3.....	33
3.5.4 Bioensaio 4.....	34
3.6 CONCLUSÃO .....	38
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	39

## 1 INTRODUÇÃO

O café, segunda commodity mais comercializada no mundo, movimenta bilhões de dólares anualmente, sendo que uma das principais dificuldades encontradas pelos cafeicultores é o controle de pragas, onde a broca-do-café - *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae), é considerada a principal praga. Esta causa prejuízos quantitativos, como perda de peso dos grãos e queda de frutos, e qualitativos, como a redução da qualidade do café, alteração no tipo e, às vezes, da bebida. No Brasil, a forma de controle da broca-do-café mais utilizada é o controle químico, sendo o inseticida endosulfan o principal produto com eficiência no controle do inseto-praga, porém, em vários países produtores seu uso é proibido e no Brasil, o uso do produto passou a sofrer limitações em julho de 2011, sendo que a suspensão de uso é prevista para 2013, segundo a ANVISA (2011).

Faz-se necessário a busca por controles alternativos, tendo em vista a substituição desse inseticida e a utilização para controle do inseto praga em sistemas de cultivo orgânicos e ecológicos, onde a utilização de produtos sintéticos é proibida.

Desse modo, como alternativas aos tais insumos, os inseticidas botânicos voltaram a ser de grande interesse. De acordo com Wiesbrook (2004), os inseticidas botânicos são obtidos de plantas, podendo ser o próprio material vegetal ou seus produtos derivados por extração aquosa ou com solventes orgânicos. Com o uso de extratos de plantas, a expectativa é a de que os agricultores alcancem um maior nível de remuneração de seus investimentos, diminuindo os custos de produção e ainda, ofereçam produtos de boa qualidade para o consumo.

Nos últimos anos, o neem (*Azadirachta indica*), vem sendo preconizado e utilizado em larga escala como alternativa no controle de insetos-praga, devido a ação da azadiractina e seus derivados, podendo ser utilizado na forma de óleo ou extrato. Entretanto, o uso de neem é limitado considerando os custos do produto.

Porém existem outras plantas que tem demonstrado efeitos sobre outros insetos-praga que atacam diversas culturas, mas que ainda não foram avaliadas no controle da broca-do-café. Entre essas plantas, podemos citar o gênero *Tephrosia* sp. que possuem compostos bioativos que são consideradas citotóxicos,

antialimentares e acaricidas. Seus principais compostos ativos são a tephrosina e a rotenona, sendo a segunda, um inseticida de contato que age inibindo a respiração celular, interferindo no transporte de elétrons. A sua utilização como inseticida pode ser na forma de pó de partes de plantas ou extratos, obtidos por processos laboratoriais.

Plantas da família Annonaceae, em estudos recentes, também se apresentam como alternativa no combate de insetos-praga. A partir de sementes, cascas, raízes e folhas são extraídas substâncias como flavonóides, alcalóides e acetogeninas, sendo que a esta última vem sendo atribuída efeito inseticida, apresentando efeito tóxico sobre alguns insetos, assim como ação larvicida e ovicida em determinadas espécies.

Todavia, estudos relacionados aos efeitos dessas plantas são escassos ou até mesmo desconhecidos em se tratando de muitos insetos, incluindo-se a broca-do-café. Nesse contexto, o objetivo do trabalho foi avaliar a mortalidade em decorrência da aplicação de extratos orgânicos de *Tephrosia* sp. (Fabaceae) e das anonáceas: *Annona muricata* L. (graviola), *A. squamosa* L. (fruta-do-conde, pinha) e *A. crassiflora* MART. (araticum) sobre *H. Hampei*, em condições de laboratório.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 A BROCA-DO-CAFÉ (*HYPOTHENEMUS HAMPEI*)

O Café (*Coffea*), gênero da família das Rubiáceas, que possui duas espécies com grande importância econômica: *Coffea arábica* (aproximadamente 70% da produção mundial) e *Coffea canephora* (aproximadamente 30% da produção mundial) (CIO, 1997; CLARKE; MACRAE, 1985; MATIELLO et al., 2002; RENA e MAESTRINI, 1986).

A cadeia do café movimentava mundialmente US\$ 70 bilhões ao ano, representando a segunda commodity mais comercializada no mundo, atrás somente do petróleo (CCCC, 2008), e apresentando grande importância não só a países produtores, mas também a países importadores, processadores e consumidores (CUNHA, 2006; LOUREIRO; LOTADE, 2005).

O Brasil é o maior produtor e exportador mundial de café há 150 anos, com 39,47 milhões de sacas de 60 quilos de café beneficiado na safra de 2009 (CONAB, 2010), sendo que entre maio/2009 e abril/2010 foram exportadas 29 milhões de sacas (ICO, 2010), tendo como maiores compradores Alemanha e Estados Unidos (CECAFÉ, 2010).

A broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae), foi introduzida no Brasil e é considerada praga-chave da cultura do cafeeiro, atacando frutos de café em qualquer estágio de maturação, de verdes até maduros (cerejas) ou secos (SOUZA; REIS, 1993). O dano por adultos dessa praga é caracterizado pela perfuração dos frutos e pelas galerias nas sementes, onde colocam seus ovos. Ao eclodirem, as larvas se alimentam da semente, o que contribui para o aumento dos danos. As perdas quantitativas, ou dano direto na produção, decorrem da queda dos frutos imaturos atacados pela broca-do-café, da destruição das sementes e pelas sementes que se quebram no beneficiamento por estarem brocadas. Por outro lado, as perdas qualitativas, ou dano indireto, decorrem de sementes brocadas que mesmo quando não se quebram no beneficiamento, contribuem para a depreciação na qualidade da bebida (BATISTA, 1986).

Segundo Sousa e Reis (1993), os danos em decorrência do ataque são: perda de peso das sementes, devido à destruição pelas larvas, perda da

qualidade, pela depreciação do café na classificação por tipo, queda de frutos novos perfurados, apodrecimento de sementes em frutos brocados que apresentam maturação forçada, inviabilidade de produção de sementes de café, pois os frutos brocados são descartados e perda de mercado externo, pois os países importadores de café não aceitam rigorosamente nenhum café brocado. A infestação da broca nos frutos não altera diretamente a qualidade da bebida do café, as alterações na qualidade da bebida do café poderão ocorrer devido a penetração de microrganismos nas galerias constituídas pelas fêmeas nos frutos.

Segundo Krug (1941), a presença de grãos vermelhos indica cafés de pior qualidade e esta coloração é devida a infecção dos grãos por *Fusarium*. A presença de *Fusarium* nos grãos está altamente relacionada com o ataque de frutos pela broca, *Hypothenemus hampei*, indicando que esta praga abre uma porta de entrada para o fungo, (CHALFOUN, SOUSA E CARVALHO, 1984). Além de *Fusarium*, outros fungos saprófitas dos gêneros *Penicillium*, *Aspergillus* e *Candida* podem infectar grãos de café com danos de *H. hampei*.

A broca-do-café pode apresentar de sete a oito gerações durante o ano (BERGAMIN, 1943). No entanto, coletas realizadas durante o período de maturação dos frutos do cafeeiro, indicam a ocorrência de não mais que 3-4 gerações (CURE *et al.*, 1998). Um aspecto pouco estudado da biologia da broca-do-café é seu comportamento reprodutivo no período de entressafra, que seria aquele entre colheita até a formação dos frutos novos da safra seguinte. A continuidade e o ritmo da reprodução da broca-do-café nessa fase que vai determinar o tamanho da população infestante da safra seguinte, e as perdas consequentes provocadas na produção.

Há indicações de que a broca conseguiria atravessar o período de entressafra do café abrigada em frutos remanescentes na planta após a colheita ou, ainda, e preferencialmente, nos frutos caídos ao solo, que não são retirados da lavoura quando o produtor não adota a prática do repasse (BAKER; BARRERA; RIVAS, 1992). Suspeita-se que nesse período, a broca-do-café entraria em estado de diapausa reprodutiva (BAKER, 1999).

O controle da broca-do-café tem sido objeto de esforços visando aumentar a eficiência do controle dessa praga por inimigos naturais, notadamente

após a detecção da resistência da broca ao endossulfan, o inseticida mais utilizado no controle químico dessa praga (BRUN *et al.*, 1989).

Porém uma comissão formada pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente (Ibama), Ministério da Agricultura (Mapa) e Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) tomou a decisão de suspender a importação e o registro de novos agrotóxicos à base da substância endossulfan. Segundo a Convenção de Estocolmo, esse inseticida faz parte dos Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs) a serem banidos. Sua proibição definitiva no país será em julho de 2013. As importações do produto foram proibidas a partir de 31 de julho de 2011 (ANVISA, 2011).

Outro inseticida utilizado para controle da broca-do-café é o clorpirifós, porém segundo literatura, este possui menor eficiência no controle do inseto praga, quando comparado ao inseticida endossulfan. Pesquisas vem sendo desenvolvidas com outros inseticidas químicos sintéticos, como por exemplo as substâncias novaluron, thiamethoxam, abamectina e chlorantraniliprole, substância do grupo das diamidas nitrílicas.

O Brasil foi pioneiro na tentativa de controlar biologicamente essa praga, pela introdução, criação massal e liberação do parasitóide conhecido como vespa-de-Uganda, *Prorops nasuta* Waterston, 1923 (Hymenoptera: Bethyridae), entre as décadas de 20 e 40. No entanto, o advento dos inseticidas organoclorados, de menores custos e maior eficiência no controle da broca-do-café, levou ao abandono do controle biológico. Em 1989, outro parasitóide da broca-do-café, *Cephalonomia stephanoderis* Betrem, 1961 (Hymenoptera: Bethyridae) foi introduzido no Brasil, como parte de um programa de controle biológico da broca-do-café no Estado do Espírito Santo (BENASSI, 1989). Foi descrito no Togo, África, um terceiro parasitóide da broca-do-café, *Phymastichus coffea* LaSalle, 1990 (Hymenoptera: Eulophidae) que ataca os adultos da broca, ao contrário dos demais, que atacam os estágios imaturos, sendo que *P. coffea*, é aquele que apresenta maior potencial para exercer controle natural efetivo da broca-do-café (FELDHEDGE, 1992).

A importância econômica do café para o Brasil e o constante crescimento da cafeicultura orgânica, requer maiores esforços e investimentos em pesquisa, para se reduzir a dependência e substituir o uso de agrotóxicos. Além disso, novos conhecimentos que contribuam para a diminuição do emprego e uso

mais racional de produtos químicos no controle da broca-do-café representam uma necessidade dos produtores de café.

## 2.2 INSETICIDAS DE ORIGEM BOTÂNICA

Em decorrência da crescente demanda da produção de alimentos, novas tecnologias na agricultura foram exigidas para o aumento da produtividade (AGUIAR-MENEZES, 2005). Assim, desde a década de 60, com a Revolução Verde, os sistemas de produção caracterizam-se pela monocultura, que demanda alto aporte de insumos externos, especialmente fertilizantes químicos sintéticos e agrotóxicos.

Apesar da utilização de inseticidas químicos sintéticos, terem contribuído significativamente no aumento da produção de alimentos, a falta de conhecimento ou acompanhamento técnico adequado, desencadeou uma série de malefícios ao meio ambiente e ao homem. Desse modo, como alternativas aos tais insumos, os inseticidas botânicos voltaram a ser de grande interesse. Isso vem de encontro à necessidade de buscar métodos alternativos de menor impacto ou risco à saúde humana ou ao meio ambiente, bem como a crescente demanda por produtos alimentícios saudáveis e livres de resíduos de agrotóxicos.

Os inseticidas botânicos são obtidos de plantas que possuem, através de um processo evolutivo, metabólitos secundários sintetizados para a própria defesa da planta contra insetos, podendo ser o próprio material vegetal, sendo este moído até ser reduzido a pó, ou seus produtos derivados por extração aquosa ou com solventes orgânicos (WIESBROOK, 2004). Os princípios ativos provenientes de plantas inseticidas mais utilizados foram a nicotina extraída do fumo *Nicotiana tabacum* L. (Solanaceae), a piretrina obtida do crisântemo *Chrysanthemum cinerariaefolium* VIS (Asteraceae), a rotenona retirada de *Derris* spp. (Fabaceae) e *Lonchocarpus* spp. (Fabaceae), a sabadila e outros alcalóides extraídos de *Schoenocaulon officinale* A. GRAY (Melanthiaceae) e a rianodina extraída de *Ryania speciosa* VAHL. (Flacourtiaceae) (LAGUNES e RODRÍGUEZ, 1992). Sendo que as plantas inseticidas mais promissoras encontram-se nas famílias Meliaceae, Rutaceae, Asteraceae, Annonaceae, Labiatae e Canellaceae

(JACOBSON, 1989; MIANA et al., 1996; ESCALONA et al., 2001; FERNANDES; RIBEIRO; AGUIAR-MENEZES, 2005).

As principais vantagens dos inseticidas botânicos são a rápida degradação e ação, baixa toxicidade aos mamíferos, seletividade e o impacto mínimo às plantas (WIESBROOK, 2004). As desvantagens, segundo o mesmo autor, seriam a própria degradação rápida, que necessita mais frequência de aplicação; a toxicidade de alguns inseticidas (por exemplo, rotenona e nicotina) e o custo elevado e a falta de informações sobre sua correta utilização. Segundo Saito e Lucchini (1998), são características importantes o amplo espectro de atuação, a baixa toxicidade ao homem, ao ambiente e baixo custo aos produtores. As controvérsias encontradas devem-se a generalização, pois muitos fatores deveriam ser considerados, como por exemplo, qual o inseticida botânico em questão.

As características indesejáveis dos inseticidas botânicos podem ser contornadas utilizando-se estratégias adequadas para atenuar efeitos indesejáveis: a aplicação somente na área problema e não em área total; o horário de aplicação no momento de menor atividade de inimigos naturais; formulações que permitam maior persistência e o emprego de adjuvantes. O uso de espalhante adesivo (30 mL/100L da calda) ou de óleo de soja (352 mL/100 L da calda) podem melhorar a eficiência do extrato de neem para o controle de lagartas de *Spodoptera frugiperda* J. E. SMITH (Noctuidae) (VIANA et al., 2006).

Algumas substâncias ou compostos de plantas podem atuar de várias formas sobre o inseto. Estudos tem demonstrado que os metabolitos secundários de plantas com efeitos inseticidas podem agir como inibidores da alimentação de insetos ou de quitina, podendo ser também inibidores de crescimento, desenvolvimento e reprodução, ou mesmo, interferir na diapausa ou no comportamento de insetos. As substâncias de origem botânica podem apresentar diferentes modos de ação sobre os insetos (KATHRINA & ANTONIO, 2004). Podendo ser de ação tóxica, causa morte por intoxicação; repelente, não permitem a aproximação do inseto para alimentação e/ou oviposição; antialimentar, quando não permite que o inseto inicie a alimentação. Podem, também, agir no sistema neuroendócrino (interferindo nos processo de ecdise e/ou metamorfose), sendo denominados de reguladores de crescimento, ou interferir no metabolismo respiratório das células, desordenando a síntese de ATP. Outro modo de ação dos

inseticidas botânicos seria por contato com o tegumento ou quimiorreceptores do inseto, afetando o sistema nervoso central, causando a morte, ou ingestão, penetrando no organismo do inseto via oral, afetam o sistema de digestão, biosíntese dos hormônios da ecdise ou formação da camada de quitina da cutícula do inseto.

### 2.2.1 Neem (*Azadirachta indica*) - A Azadirachtina

O Neem, *Azadirachta indica*, é uma planta natural do sudeste da Ásia e do subcontinente indiano. Pertence à família Meliaceae, a mesma que inclui espécies como o cinamomo, o cedro e o mogno. É uma planta de clima tropical, resistente à seca, de crescimento rápido, copa densa, chegando a alcançar 15 m de altura, podendo ser cultivada em regiões de clima quente e solos bem drenados. O Neem é utilizado há séculos em sua região de origem, na medicina humana e animal. Na agricultura, pode ser utilizado para o controle de insetos-praga. Apresenta ação nematocida, e atua sobre alguns fungos e bactérias. A planta é rica em azadirachtina, um terpeno oxigenado, que possui efeito tóxico a várias espécies de insetos (SCHMUTTERER, 1990).

Nos últimos anos, 25 diferentes ingredientes ativos do neem foram descobertos e pelo menos nove afetam o crescimento ou comportamento dos insetos. Os ingredientes típicos do neem são os triterpenóides, também conhecidos como limonóides, dos quais a azadiractina, nimbina e salanina são as de maior importância, tendo efeitos específicos nas diferentes fases de crescimento dos insetos (MARTINEZ, 2002). A planta apresenta esses compostos em todas as suas partes, porém a composição dos mesmos depende da região da planta, sendo assim, o efeito dos extratos variam de acordo com a matéria prima, geralmente, as concentrações desses três ingredientes é mais alta nas sementes (CIOCIOLA JR.; MARTINEZ, 2002; MARTINEZ, 2002).

A nimbina e a salanina possuem efeito repelente e antialimentar sobre vários insetos das ordens Coleoptera (na fase adulta), Hemiptera (também em fase adulta) e Orthoptera, sendo que a nimbina possui também, forte ação de repelência aos nematóides (MARTINEZ, 2002; NEVES; OLIVEIRA; NOGUEIRA, 2003).

Geralmente, a azadiractina e seus derivados causam inibição do crescimento e alteram a metamorfose de larvas de Lepidoptera, Coleoptera, Hymenoptera e Diptera, sendo que possuem também ação antialimentar em insetos das três primeiras ordens citadas, além de efeito repelente ou deterrente de oviposição e regulador de crescimento em diferentes ordens de insetos (RUSCOE, 1972; REMBOLD et al., 1982; MARTINEZ, 2002).

Os efeitos do óleo e de extratos de neem em outra praga do cafeeiro, *Leucoptera coffeella* (Guérin-Ménéville) (Lepidoptera: Lyonetiidae), foram demonstrados em laboratório por Martinez e Meneguim (2003), que obtiveram repelência de postura e redução da eclosão dos ovos, ocasionando redução de 77% e 89% do número de lagartas eclodidas, quando se utilizaram soluções de óleo emulsionável de neem a 0,125% e 0,25%, respectivamente.

Em estudos de controle da broca-do-café no campo, Sponagel (1994) observou que uma solução aquosa de óleo de neem a 2,5% enriquecida com azadiractina a 0,2% reduziu o número de frutos de café broqueados e causou mortalidade de adultos dentro dos frutos. Também, produtos à base de neem e extratos aquosos de sementes foram associados à redução de infestação da broca do café no campo por Rodríguez-Lagunes *et al* (1998).

Segundo Depiere & Martinez (2010), a pulverização de óleo emulsionável de neem ou extrato aquoso das semente de neem sobre fruto de café apresentou efeito repelente do óleo sobre a broca-do-café (*Hypothenemus hampei*). Ainda segundo os autores, a pulverização do óleo emulsionável de neem e de extratos de folhas e sementes de neem pode levar os insetos à morte por contato e também pela ingestão da parte externa dos frutos contaminados, bem como pode causar repelência, resultando em níveis mais baixos de penetração pela broca nos frutos de café.

### 2.2.2 *Tephrosia* SPP

O gênero *Tephrosia*, pertencente à família Fabaceae, englobando cerca de 400 espécies encontradas na América do Sul, África, Índia e Austrália (SINHA; NATUI; NANAVATI, 1982). São plantas arbustivas, com inflorescência e vagens achatadas, possuindo flavonóides como compostos bioativos principais. As

espécies do gênero *Tephrosia* são, ainda, consideradas citotóxicas, antialimentar, acaricida (MORRIS, 1999) e moluscicida (AFT Database, 2004). A espécie *T. purpurea* mostrou ação antileishmanial em *Leishmania donovani* (SHARMA et al., 2003). Como medicinal pode ser utilizada como abortiva, indutora de vômitos, bactericida, purgativa e na cura de doenças de pele, esquistossomose, micoses e infecções parasíticas; a decocção das folhas pode ser utilizada em tratamento de sarnas e sífilis (AFT Database, 2004). A espécie *T. vogelii* também é utilizada como cobertura vegetal, em virtude da formação de nódulos nas raízes para fixar nitrogênio atmosférico, através da associação com bactérias do gênero *Rizhobium* (AFT Database, 2004).

Segundo Irvine e Freyre (1959), os rotenóides estão presentes nas folhas de *T. vogelii* (0,65-4,25% de matéria seca), ramos (0,4-0,9%), raiz (0,30-0,45%) e sementes (0,9-1,4). Os rotenóides encontrados nessa espécie são: deguelina, rotenona e tefrosina (LAMBERT et al., 1993, KOONA e DORN, 2005).

A rotenona é um inseticida de contato que age inibindo a respiração celular. De acordo com Ling (2003), a rotenona é um pesticida relativamente seguro para agricultura. A agência de proteção ambiental dos Estados Unidos, EPA (Environmental Protection Agency), classifica a rotenona como classe I (extremamente tóxico) ou III (medianamente tóxico), dependendo da formulação do produto. Não há registro de morte de humanos com o uso de rotenona, sendo a sua inalação mais tóxica que a ingestão.

A rotenona é instável a luz, ar e calor e desse modo, não é persistente no ambiente e se degrada rapidamente em condições naturais (LING, 2003). A mistura de material inerte (caulim, argila ou gesso) ao pó de timbó pode retardar a fotodegradação da rotenona (RANGEL, 1946). Segundo este autor, a utilização da rotenona na forma de extrato líquido possui menor eficiência do que a de pó das raízes de timbó, quando aplicado sobre lagartas, pois o mesmo seria mais aderente à cutícula da lagarta. Estudos realizados no campo, em oliveiras, constataram que a meia-vida do resíduo de rotenona foi de apenas de quatro dias (CABRAS et al., 2002), sendo atribuída somente à fotodegradação, excluindo-se os mecanismos de evaporação, termodegradação e co-destilação, que são mecanismos que podem afetar a persistência dos resíduos de inseticidas. Após o processamento dos frutos em azeite, os resíduos de rotenona foram superiores ao

do fruto *in-natura*. Os autores discutiram a hipótese de o inseticida penetrar na cutícula protegendo a rotenona da degradação dos raios solares, pois segundo Riederer e Schreiber (1995) a rotenona aplicada sobre os frutos rapidamente se propaga dentro da cera epicuticular e na cutícula.

O pó de folhas de *T. candida* e de *T. vogelli* repeliram o moleque-dabananeira, *Cosmooilites sordidus* Germar (Coleoptera: Curculionidae) (WALANGULULU; LITUCHA; MUSASA, 1993), sendo que os pós das espécies de *Tephrosia* não exerceram efeito inseticida sobre os coleópteros. Segundo Ogendo et al. (2003), o pó de *T. vogelli* apresentou efeito inseticida e de repelência em adultos de *Sitophilus zeamais* Motschulsky (1885) (Coleoptera: Curculionidae) sobre grãos de milho armazenado. A espécie *T. purpurea* provocou repelência em *Tribolium castaneum* (Herbst., 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae) (PUGAZHVENDAN et al., 2009) e toxicidade em larvas da traça-do-arroz, *Corcyra cephalonica* (St.) (Lepidoptera: Pyralidae) (JADHAV, 2009).

Extratos, usando hexano, acetona e etanol como extratores, de folhas de *T. vogelli* foram testados nos besouros *Acanthoscelides obtectus* (SAY.), *Callosobruschus maculatus* F. e *Callosobruschus chinensis* L. (Coleoptera: Bruchidae). Os extratos de acetona e etanol foram ineficazes para as espécies de *Callosobruschus* 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). Koona, Dorothy e Koona (2007), trabalhando com os mesmos extratos, porém com *S. zeamais*, também observaram melhores efeitos do extrato de hexano. A atividade do extrato hexânico de baixa polaridade é coerente com a apolaridade dos rotenóides.

### 2.2.3 A Família Annonaceae – As Acetogeninas

A família Annonaceae, abrange mais de 130 gêneros e, aproximadamente 2.500 espécies, a distribuição das anonáceas é quase totalmente restrita às regiões tropicais, quase 900 espécies são neotropicais, 450 são afrotropicais e o restante das espécies são indomalayas (MABBERLEY, 1997). Em solo brasileiro, podemos encontrar cerca de 250 espécies distribuídas em 33 gêneros (CRISAFULLI, 2007). Mesmo com tanta variedade, tão somente cinco

gêneros (*Annona*, *Rollinia*, *Uvaria*, *Melodorum* e *Asimina*) são capazes de produzir frutos comestíveis, como: *Annona muricata* L. (graviola), *A. squamosa* L. (fruta-do-conde, pinha) e *A. crassiflora* MART. (araticum), por exemplo. A aparência excêntrica dos frutos faz das anonáceas plantas fáceis de serem reconhecidas.

Das sementes, das cascas, das raízes e das folhas são extraídas algumas substâncias como flavonóides, alcalóides e acetogeninas, para conferir propriedades antibacterianas, vermífugas e antiinflamatórias oftálmicas. Os alcalóides normalmente são empregados na elaboração de inseticidas que são largamente utilizados na agricultura para combater pragas em lavouras (LORENZI e MATOS, 2002).

A literatura relata o uso de várias partes das plantas anonáceas como bioativas e, como constituintes responsáveis, as acetogeninas (RUPPRECHT; HUI; McLAUGHLIN, 1990; LORENZI e MATOS, 2002). As atividades mais relatadas das acetogeninas são: citotoxicidade, antitumoral, antimalarial, antimicrobiana, imunossupressante, antialimentar e pesticida (RUPPRECHT et al., 1990).

As acetogeninas são constituintes naturais isolados de um pequeno número de plantas pertencente aos gêneros da família Annonaceae, como: *Annona*, *Asimina*, *Disepalum*, *Rollinia*, *Xylopia*, *Goniothalamus* e *Uvaria* (RUPPRECHT et al 1990; ALALI; LIU; McLAUGHLIN, 1999; ÁLVARES COLOM et al., 2007). Esses constituintes são metabólitos secundários, obtidos pela via do ácido acético – policetídicos – derivados de ácidos graxos de cadeias longas e possuem estruturas únicas e poderosas propriedades (ALALI; LIU; McLAUGHLIN, 1999). Segundo Fang et al. (1993) as acetogeninas são caracterizadas pela presença de uma cadeia alifática longa com grupos funcionais: hidroxila, acetila e carbonila e um anel  $\gamma$ -lactona terminal, podendo também conter de um a três anéis tetraidrofurânico (THF). Existem também acetogeninas que, no lugar do anel THF, apresentam anel tetraidropirânico (THP) (ALALI et al., 1999).

Com relação às propriedades inseticidas, as acetogeninas são inibidoras do transporte de elétrons mitocondrial, afetando a ação do NADH-ubiquinona oxireductase (NADH-desidrogenase, também conhecido como complexo I) (ÁLVARES COLOM et al., 2007). Esse modo de ação é semelhante ao modo de ação de pericidina e rotenona, clássicos inibidores do complexo I (DEGLI ESPOSTI et al., 1994).

As acetogeninas que apresentam atividade contra os insetos são, segundo RUPPRECHT, Hui e McLaughlin, 1990, a asimicina, bullaticina, anonina IV, anonacina, goniotalamicina e silvaticina. A Anonina (esquamocina) e neoanonina mostraram efeito ovicida e larvicida em *Drosophila melanogaster* MEIGEN (Diptera: Drosophilidae). Ainda, segundo os autores, os coleópteros *Epilachna varivestis* MULSANT (Coleoptera: Coccinelidae), *Acalymma vittatum* (F.) e *Diabrotica undecimpunctata* MANNERHEIM (Coleoptera: Chrysomelidae), o afídeo *Aphis gossypii* GLOVER (Hemiptera: Aphididae), os dípteros *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) e *Calliphora vicina* R.-D. (Diptera: Calliphoridae), o nematóide *Caenorhabditis elegans* e o ácaro *Tetranychus urticae* KOCH (Acari: Tetranychidae) também sofreram efeitos tóxicos de acetogeninas. Asimicina, também, provocou efeito antialimentar aos coleópteros.

Foi observado que o extrato de fruta-do-conde promoveu mortalidade de larvas e pupas de *Culex quinquefasciatus* SAY (Diptera: Culicidae) (MEHRA e HIRADHAR, 2000; GEORGE e VINCENT, 2005). Lima (2007) estudou os extratos etanólico das folhas e de sementes de graviola e fruta-do-conde, constatando que o extrato de sementes de fruta-do-conde foi o mais ativo do que o de graviola sobre *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). As folhas de fruta-do-conde resultaram em baixa atividade, sendo atribuída a provável pobreza de acetogeninas ativas pelo autor. Toxicidade de extrato de fruta-do-conde também foi constatada para larvas da traça-do-arroz *Corcyra cephalonica* (JADHAV, 2009).

Acetogeninas do extrato metanólico de *Annona cherimolia* MILL provocaram mortalidade em lagartas de *Spodoptera frugiperda*. Foram oferecidas 50 µg de acetogenina/g de dieta para lagartas de segundo ínstar, todas as acetogeninas estudadas provocaram mortalidade de pupas e resultaram em adultos mal-formados, levando também e à morte (ALVARES COLOM et al., 2007).

O óleo essencial (sobrenadante) e o destilado, obtidos da combinação de hidrodestilação e destilação a vapor de folhas de *Rollinia silvatica*, aplicados sobre lagartas *Spodoptera frugiperda*, a 10%, maior concentração utilizada no ensaio, obteve 35% de mortalidade e pequena redução no peso das pupas, já o destilado, apresentou 82,5% de mortalidade quando aplicado a 100% (MAIRESSE, 2005). Este autor também observou alta mortalidade da lagarta-da-couve, *Ascia monuste orseis* (LATREILLE) (Lepidoptera: Pieridae), quando se utilizou o mesmo

destilado, porém, em menor concentração e aplicado simultaneamente sobre as lagartas e seu alimento (folha de couve).

Extratos de sementes de *Annona coriaceae* MART provocaram mortalidade de lagartas de *Tuta absoluta* MEYRICK (Lepidoptera: Pyralidae) (SILVA; CORDEIRO; BENTO, 2007). Os autores ofereceram folhas de tomateiro (*Lycopersicon esculentum* MILL) 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.

Extratos etanólico, hexânico e metanólico de sementes de *A. coriaceae* provocaram mortalidade acima de 50% de ninfas do percevejo *Dichelops melacanthus*, na concentração de 1% (SOUZA; CORDEIRO; PEREIRA, 2007). Em ensaio laboratorial, o extrato metanólico de *A. crassiflora* causou efeito antialimentar em adultos de *Euschistos heros* (OLIVEIRA e PEREIRA, 2009).

Llanos, Arango e Giraldo (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* (Coleoptera: Curculionidae), tendo atribuída a ação inseticida à presença da acetogenina.

**3 ARTIGO**

**MORTALIDADE DA BROCA-DO-CAFÉ *HYPOTHENEMUS HAMPEI* (FERRARI, 1867) (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) POR EXTRATOS DE SEMENTES DE ANONNACEAS E *TEPHROSIA VOGELII* HOOK.**

**MORTALIDADE DA BROCA-DO-CAFÉ *HYPOTHENEMUS HAMPEI* (FERRARI, 1867) (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) POR EXTRATOS DE SEMENTES DE ANONNACEAS E *TEPHROSIA VOGELII* HOOK**

**3.1 RESUMO**

A broca-do-café - *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae) é importante praga da cafeicultura, causando danos quantitativos e qualitativos. Em função dos custos e da resistência aos inseticidas sintéticos, além da recente divulgação da proibição no inseticida endossulfan, principal, método de controle utilizado no Brasil, alternativas para o controle da broca-do-café são requeridas. Assim, extratos (acetato de etila) das sementes de fruta-do-conde (*Annona squamosa*), araticum (*Annona* sp.) e graviola (*Annona muricata*), além de extratos (acetato de etila e etanol) de *Tephrosia vogellii* foram testados sobre adultos da broca-do-café (*H. hampei*). Os extratos de acetato de etila foram obtidos através das sementes das plantas, já o extrato etanólico foi obtido da torta resultante do extrato de acetato de etila, pelo sistema Soxhlet. A unidade experimental foi placa de material plástico (5 cm de diâmetro) ou tubos de vidro (8,4 cm de altura x 2,4 cm de largura) vedados com filme plástico, com dez insetos adultos por tratamento. Após a aplicação, foi fornecido um fruto de café descascado e aberto para servir como abrigo e alimento aos insetos. Todos os extratos foram aplicados na concentração de 5,0% diluídos em solução aquosa com 1,0% de detergente neutro para os bioensaios 1 e 2. Para o bioensaio 3, utilizou-se as concentrações de 1,0, 3,0 e 5,0%. O detergente a 1,0% e a água destilada foram utilizados como controles. Os insetos foram pulverizados com auxílio de aerógrafo acoplado a um compressor/aspirador (calda= 30 µL/placa ou tubo). Os extratos das sementes de fruta-do-conde, araticum e graviola, assim como os extratos de acetato de etila e etanol de *T. vogellii* em todas as concentrações testadas mostraram-se eficientes na mortalidade de adultos da broca-do-café, em condições de laboratório. Futuros estudos deverão ser realizados, com o intuito de verificar aplicações práticas em condições de campo.

**Palavras – chave:** Controle alternativo. Acetogeninas. Rotenona. Inseticida botânico.

**3.2 ABSTRACT**

The coffee berry borer – *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae) is an important pest of coffee, causing damage to both quantitative and qualitative. Depending on the cost and resistance to synthetic insecticides, and the recent disclosure of the ban on insecticide endosulfan, main control method is in Brazil, alternative for its control are required. Thus, extracts (ethyl acetate) seeds of sugar apple (*Annona squamosa*), araticum (*Annona* sp.) and soursop (*Annona muricata*) and extracts (ethyl acetate and ethanol) *Tephrosia vogellii* were test on adult coffee berry borer (*H. hampei*). The ethyl acetate extracts were obtained from the seeds of plant, as the ethanolic extract was obtained from the resulting pie extract of ethyl acetate, the system Soxhlet. The experimental unit for adults was plastic plate (5cm diameter) or glass tubes (8,4 cm x 2,4 cm wide) sealed with plastic film, containing ten insects per treatment. After the application was given a coffee

fruit peeled and opened to serve as shelter and food for insects. The extracts were applied at a concentration of 5,0% diluted in 1,0% aqueous solution of neutral detergent for bioassays 1 and 2. For the third bioassay, we used concentrations of 1,0, 3,0 and 5,0%. The 1,0% detergent and distilled water were used as control. The insects were sprayed with the aid airbrush attached to a compressor/vacuum (tail = 30 µL/plate or tube). The extracts of seeds of sugar apple, soursop and araticum, as well as extracts of ethyl acetate and ethanol from *T. vogelli* at all concentrations tested were effective in adult mortality of coffee berry borer in laboratory conditions. Future studies should be performed in order to determine practical applications in field conditions.

**Key – words:** Alternative control. Acetogenins. Rotenone. Botanical insecticide.

### 3.3 INTRODUÇÃO

A cafeicultura movimenta mundialmente, cerca de US\$ 70 bilhões ao ano, sendo a segunda commodity mais comercializada no mundo (CCCC, 2008). Segundo dados da Companhia Nacional de Abastecimento (2010), o Brasil é o maior produtor e exportador mundial de café. A broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae), é considerada praga-chave da cultura do cafeeiro, atacando frutos de café em qualquer estágio de maturação, de verdes até maduros (cerejas) ou secos (SOUZA; REIS, 1993). O dano por adultos dessa praga é caracterizado pela perfuração dos frutos e pelas galerias nas sementes, onde colocam seus ovos. As perdas quantitativas, ou dano direto na produção, decorrem da queda dos frutos imaturos atacados pela broca-do-café, da contribuição para a depreciação na qualidade da bebida (BATISTA, 1986). As alterações na qualidade da bebida do café poderão ocorrer devido à penetração de microrganismos nas galerias abertas nos frutos pelas fêmeas. Fungos saprófitas dos gêneros *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus* e *Candida* podem infectar grãos de café com danos de *H. hampei* (CHALFOUN, SOUSA E CARVALHO, 1984).

O controle da broca-do-café é realizado, quase que em totalidade, com uso de inseticida sintético, o que vem a acarretar danos ambientais, seleção de insetos resistentes, além de causar problemas à saúde do aplicador. O endossulfan, principal inseticida utilizado no controle da broca-do-café, será totalmente banido no Brasil até o ano de 2013 (PORTAL BRASIL, 2011). O Brasil é o terceiro maior consumidor do inseticida, apesar das importações do produto terem sido proibidas em de 31 de julho de 2011 (ANVISA, 2011). Após a detecção da resistência da

broca-do-café ao inseticida endosulfan e a baixa eficiência dos produtos comerciais registrados para controle de *H. hampei*, a busca por alternativas naturais para controle da praga vem aumentando.

O controle biológico, com a criação massal e liberação de inimigos naturais, aplicação do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* e a utilização de armadilhas com ferômonios, além da utilização de extratos vegetais – os inseticidas botânicos são citados como alternativa a utilização de produtos químicos sintéticos, principalmente em cultivos orgânicos, sendo que estes se encontram em constante crescimento.

Os inseticidas botânicos são obtidos de plantas que possuem, através de um processo evolutivo, metabólitos secundários sintetizados para a própria defesa da planta contra insetos (WIESBROOK, 2004). Com relação aos extratos vegetais, o neem, planta rica em azadirachtina, foi associado à redução de infestação da broca do café no campo por Rodríguez-Lagunes *et al* (1998).

O gênero *Tephrosia* sp., também possui efeito inseticida, devido à grande concentração de rotenóides que está possui. Entre os rotenóides encontrados, a rotenona é a mais estudada como inseticida, pois esta age na respiração celular dos insetos.

A família Annonaceae, caracterizada pela aparência excêntrica dos frutos, são plantas ricas em acetogeninas, sendo que esse biocomposto apresenta atividade inseticida, pois são inibidoras do transporte de elétrons mitocondrial, além de apresentarem efeito antialimentar.

Todavia, estudos relacionados aos efeitos dessas plantas são escassos ou até mesmo desconhecidos em se tratando de muitos insetos, incluindo-se a broca-do-café. Nesse contexto, o objetivo do trabalho foi avaliar a mortalidade em decorrência da aplicação de extratos orgânicos de *Tephrosia* sp. (Fabaceae) e das anonáceas: *Annona muricata* L. (graviola), *A. squamosa* L. (fruta-do-conde, pinha) e *A. crassiflora* MART. (araticum) sobre *H. Hampei*, em condições de laboratório.

### 3.4 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.4.1 Insetos

Os insetos adultos utilizados nos bioensaios foram coletados em área de produção de café cultivado sob sistema orgânico, no Distrito de Lerroville, Londrina – Pr (23°23'S e 51°11'W) em Latossolo Vermelho eutroférico.

Foram coletados frutos de café das variedades Catuai Vermelho, Catuai Amarelo e Mundo Novo que apresentavam perfurações na coroa como sintoma de frutos brocados. Os frutos foram levados ao Laboratório de Entomologia, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Agronomia da Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina-PR. Os frutos eram abertos e os insetos adultos retirados. A seguir eram depositados em placas plásticas com pedaços da casca dos frutos de café, utilizadas como abrigo.

Antes dos bioensaios, verificou-se se as brocas estavam ativas. Os insetos eram retirados das placas e colocados sobre folhas de papel branco. O papel era então inclinado, verificando se as brocas caminharam aderidas ao papel.

#### 3.4.2 Extratos Botânicos

A obtenção dos extratos botânicos deu-se segundo metodologia descrita por Mikami (2011). As sementes foram trituradas em moinho e submetidas à extração com aparelho de Soxhlet, utilizando acetato de etila como extrator. A torta resultante da extração com acetato foi submetida à extração com etanol, também em aparelho de Soxhlet. Cada etapa durou aproximadamente 16 horas. Para retirada do solvente, foi utilizado um rotavapor acoplado a uma bomba de vácuo (Quimis®) e o restante foi evaporado com a circulação forçada de ar a temperatura ambiente em capela. Cada extrato foi acondicionado em recipiente de vidro âmbar e armazenado em geladeira até a utilização nos bioensaios.

### 3.4.3 Bioensaios

Nos bioensaios, para a suspensão dos extratos (água + detergente) foi utilizado 1% de detergente neutro (Alpes®). Utilizou-se um aerógrafo (Passehe – 147493) acoplado a um compressor/aspirador Fanem – Diapump® (Modelo: 089 – Cal) regulado para a pressão de 10 BAR para pulverização. Os tubos ou placas foram mantidos em ambiente climatizado ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ,  $70\% \pm 10\%$  UR). Em cada um dos tubos ou placas colocou-se uma tira de papel filtro para absorção da umidade. Os ensaios foram conduzidos durante cinco dias, registrando-se os insetos mortos com um (1DAA), e cinco (5DAA) dias após a aplicação.

Nos ensaios, utilizaram-se dez insetos adultos, tendo placas de material plástico ou tubos de vidro constituindo a unidade experimental.

#### 3.4.3.1 Bioensaio 1

A unidade experimental foi uma placa de material plástico (5cm de diâmetro), contendo 10 insetos adultos. Após a aplicação, foi fornecido um fruto de café descascado e aberto para servir como abrigo e alimento aos insetos.

Os tratamentos utilizados foram os extratos obtidos com o acetato de etila e com etanol das de annonaceae: fruta-do-conde (*A. squamosa*), araticum (*Annona* sp.) e graviola (*A. muricata*) (5,0%); óleo de neem (Azamax®) (2%), branco (água + detergente) e testemunha (água destilada).

#### 3.4.3.2 Bioensaio 2

Utilizaram-se tubos de vidro (8,4cm de altura x 2,4cm de largura) vedados com filme plástico.

Utilizaram-se extratos obtidos com acetato de etila de fruta-do-conde, araticum e graviola e extratos de *T. vogelli* obtidos com acetato de etila e etanol (5,0%), óleo de neem (Azamax®) 2%, branco (água + detergente) e testemunha (água destilada) como tratamentos.

### 3.4.3.3 Bioensaio 3

Assim como no ensaio anterior, utilizou-se tubos de vidro como unidade experimental. Os extratos obtidos com o acetato de etila das de *annonaceas*, e os extratos de *T. vogelli* obtidos com acetato de etila e etanol (1,0; 3,0 e 5,0%), branco (água + detergente) e testemunha (água destilada) foram utilizados como tratamentos.

### 3.4.3.4 Bioensaio 4 – teste de preferência

Para o teste de livre escolha, utilizaram-se extratos com o acetato de etila das anonáceas e os extratos de *T. vogelli* (acetado de etila e etanol), 3,0%, branco (água + detergente) e testemunha (água destilada). Frutos de café maduros foram coletados em plantas de *C.arabica* não-pulverizadas com inseticidas. Os frutos foram mergulhados nas soluções, onde permaneceram por dois minutos. Após a imersão, os frutos foram secados à temperatura ambiente. Para cada tratamento, 10 frutos de café foram colocados em placas de material plástico (5cm de diâmetro). As placas, contendo os frutos, foram colocadas em gerbox de acrílico (11cm x 11cm x 3cm de altura), cada gerbox consistia em uma repetição. Em seguida, 10 brocas adultas foram liberadas no centro de cada caixa. Quatro DAA, os números de insetos nos frutos tratados e não tratados foram registrados.

### 3.4.4 Delineamento Experimental e Análise Estatística

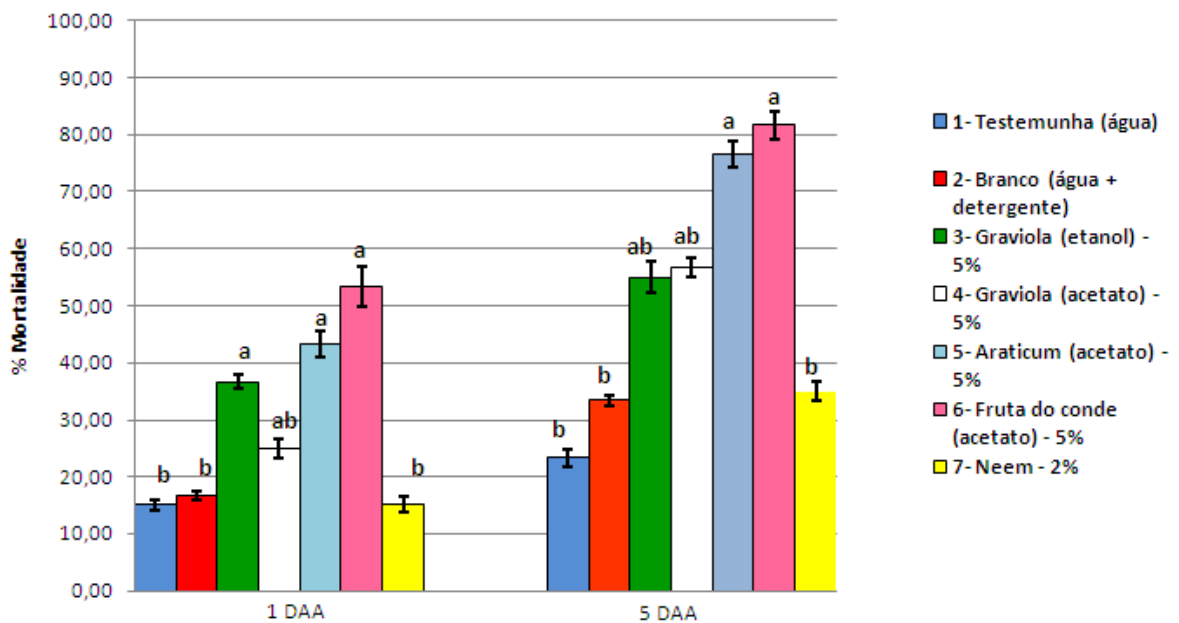
O delineamento experimental nos testes para avaliar ação inseticida (ensaio um dois e três) foi o inteiramente casualizado, com seis repetições para os bioensaios 1, 2 e 4 e cinco repetições para o bioensaio 3. Foram realizados os testes de normalidade e homocedasticidade; e como em algumas das avaliações não houve normalidade e/ou homocedasticidade foi aplicado o teste não-paramétrico. Desse modo, realizou-se análise de variância pelo teste de Kruskal-Wallis e comparação das médias pelo teste de Student-Newman-Keuls, com  $p < 0,05$  para os bioensaios 1, 2 e 3. Já para o bioensaio 4 aplicou-se o Teste de Wilcoxon.

### 3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.5.1 Bioensaio 1

Na primeira avaliação, com um dia após a aplicação (1DAA), em extratos de fruta do conde (acetato), araticum (acetato) e graviola (etanol), verificou-se percentuais de mortalidade superiores aos tratamentos testemunha, banco e neem (Figura 1). Na segunda avaliação, com cinco dias após a aplicação (5DAA), as mortalidades encontradas nos tratamentos araticum (acetato) e fruta do conde (acetato) - 81,67% e 76,67%, respectivamente foram superiores aos tratamentos testemunha, branco e neem.

**Figura 1** – Mortalidade acumulada (%  $\pm$  Erro Padrão) de adultos de *Hypothenemus hampei* após aplicação de extratos de sementes de Anonáceas. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si na avaliação, pelo teste de Student-Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).

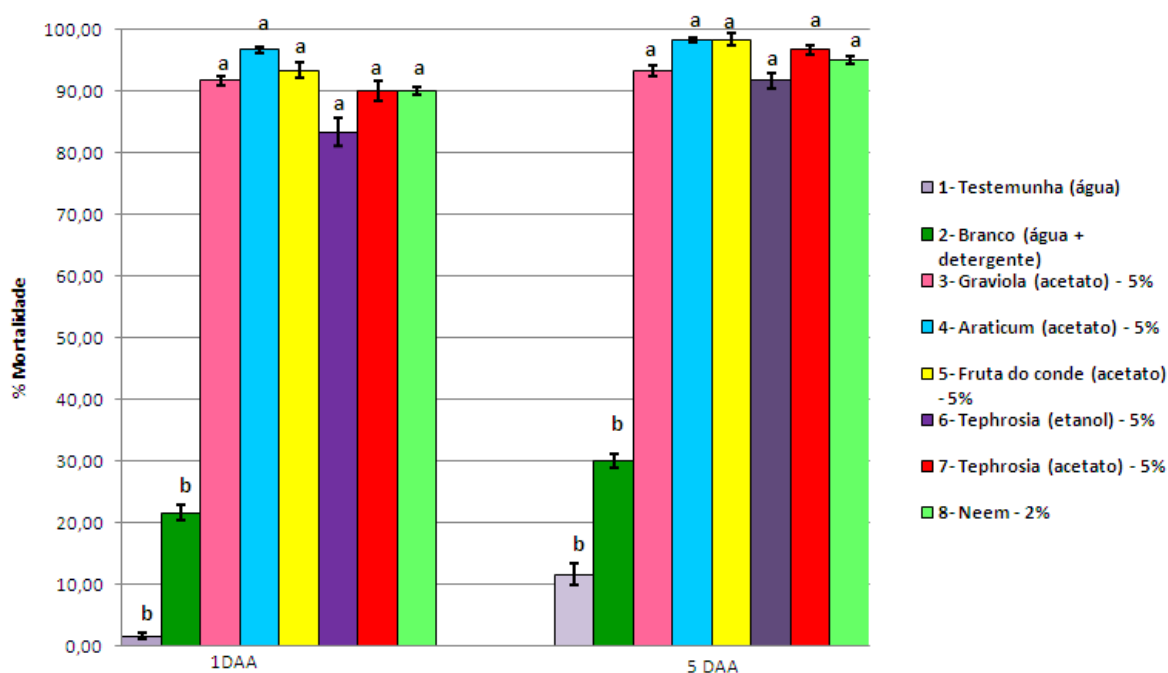


#### 3.5.2 Bioensaio 2

Neste bioensaio, todos os tratamentos provocaram mortalidade da broca do café. Assim como no ensaio anterior, verificou-se rápida ação inseticida atribuída aos extratos utilizados. As percentagens de mortalidade, 1 DAA nos

tratamentos onde se utilizou extrato de araticum (*Annona* sp.) foi de 96,67%, seguido pelos tratamentos com fruta-do-conde (*A. squamosa*) e graviola (*A. muricata*) com mortalidade de 93,33 e 91,67%, respectivamente. O extrato de acetato de etila de *Tephrosia vogelli* apresentou mortalidade de 90% sobre adultos de broca-do-café, sendo que ambos os tratamentos diferiram significativamente do tratamento branco e da testemunha, porém, não houve diferença estatística entre os extratos utilizados (Figura 2).

**Figura 2** – Mortalidade acumulada (% ± Erro Padrão) de adulto de *Hypothenemus hampei* após a aplicação de extratos de sementes de Anonáceas e *Tephrosia vogelli*. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si na avaliação, pelo teste de Student-Newman-Keuls ( $p < 0.05$ ).



Apesar da atividade inseticida das acetogeninas ser maior nas primeiras 24 horas após a aplicação, observou-se que os insetos adultos continuaram a morrer, assim como também ocorreu nos tratamentos onde se utilizou *T. vogelli*. Observou-se que a mortalidade total dos insetos (5 DAA) foi de 98,34% nos tratamentos com araticum (*Annona* sp.) e fruta-do-conde (*A. squamosa*) 93,34% com extrato de graviola (*A. muricata*) e 96,67% com *T. vogelli* em acetato de etila (Figura 2), resultados estes que não apresentaram diferença estatística entre os

extratos, porém, todos os extratos diferiram significativamente do tratamento branco e da testemunha.

### 3.5.3 Bioensaio 3

Também neste bioensaio, todos os tratamentos provocaram mortalidade de *H. Hampei*. No 1º DAA, as concentrações de 5,0, 3,0 e 1,0% dos extratos das três anonáceas provocaram mortalidade superior a testemunha (Tabela 1). As mortalidades dos insetos nessas concentrações foram de 78, 60 e 72%, respectivamente, para fruta-do-conde, de 66, 68 e 58%, para araticum e de 80, 78 e 76% para o extrato de graviola, mostrando-se superiores aos tratamentos testemunha e branco (Tabela 1).

O extrato de *T. vogelli* (acetato de etila), 1DAA, apresentou alta mortalidade de adultos de *H. hampei* a partir da concentração de 1,0% (Tabela 1). A mortalidade mais elevada foi observada na concentração de 1,0% que diferiu do branco e testemunha, apresentando 94% de insetos mortos, porém, o tratamento não diferiu significativamente dos demais extratos. Tanto as concentrações de 3,0 e 5,0% apresentaram alta mortalidade de insetos (72 e 90%, respectivamente), apresentando diferença significativa dos tratamentos branco e testemunha. Desse modo, mesmo a menor concentração testada foi suficiente para causar alta mortalidade. Já o extrato de *T. vogelli* obtido com o solvente etanol, apresentou menores índices de mortalidade que o extrato da mesma planta obtido com acetato de etila, porém não houve diferença significativa entre os mesmos, sendo que ambos diferiram da testemunha e branco (Tabela 1). Os tratamentos com extratos de *T. vogelli* obtidos com etanol nas concentrações de 5,0, 3,0 e 1,0% apresentaram mortalidade de 82, 90 e 68% respectivamente. A mortalidade superior com a utilização do extrato obtido com solvente acetato de etila pode estar ligada a forma e extração, pois este foi utilizado antes que o etanol. Assim, se o extrato etanólico fosse obtido diretamente das sementes trituradas, e não da torta resultante da primeira extração, os resultados poderiam ser diferentes.

**Tabela 1** – Mortalidade acumulada (%  $\pm$  Erro Padrão) de adultos de *Hypothenemus hampei* após a aplicação de extratos de sementes de Anonáceas e *Tephrosia vogelli* nas concentrações de 5,0, 3,0 e 1,0%.

Tratamentos	Mortalidade Acumulada*					
	1 DAA			5 DAA		
Testemunha (água)	6	( $\pm$ 1,3)	c	18	( $\pm$ 0,8)	b
Branco (água + detergente)	14	( $\pm$ 1,1)	bc	30	( $\pm$ 1,0)	b
Graviola (acetato) - 5%	80	( $\pm$ 2,4)	a	94	( $\pm$ 0,9)	a
Graviola (acetato) - 3%	78	( $\pm$ 2,3)	a	88	( $\pm$ 1,8)	a
Graviola (acetato) - 1%	76	( $\pm$ 2,9)	a	96	( $\pm$ 0,9)	a
Araticum (acetato) - 5%	66	( $\pm$ 3,0)	ab	88	( $\pm$ 1,8)	a
Araticum (acetato) - 3%	68	( $\pm$ 2,9)	ab	98	( $\pm$ 0,4)	a
Araticum (acetato) - 1%	58	( $\pm$ 4,1)	abc	90	( $\pm$ 1,4)	a
Fruta do conde (acetato) - 5%	78	( $\pm$ 2,8)	a	96	( $\pm$ 0,5)	a
Fruta do conde (acetato) - 3%	60	( $\pm$ 4,2)	ab	82	( $\pm$ 2,0)	ab
Fruta do conde (acetato) - 1%	72	( $\pm$ 3,7)	a	92	( $\pm$ 1,3)	a
Tephrosia (etanol) - 5%	82	( $\pm$ 2,4)	a	98	( $\pm$ 0,4)	a
Tephrosia (etanol) - 3%	90	( $\pm$ 1,0)	a	100	( $\pm$ 0,0)	a
Tephrosia (etanol) - 1%	68	( $\pm$ 4,1)	a	92	( $\pm$ 1,1)	a
Tephrosia (acetato) - 5%	90	( $\pm$ 1,0)	a	100	( $\pm$ 0,0)	a
Tephrosia (acetato) - 3%	72	( $\pm$ 3,4)	a	90	( $\pm$ 1,7)	a
Tephrosia (acetato) - 1%	94	( $\pm$ 0,9)	a	100	( $\pm$ 0,0)	a

\* Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Student-Newman-Keuls a 5% de probabilidade de erro.

Observou-se que a mortalidade ao final do biensaio nos tratamentos *T. vogelli* (acetato de etila) nas concentrações de 5,0 e 1,0 e *T. vogelli* (etanol) na concentração 3,0% atingiram 100 % de mortalidade dos insetos (Tabela 1). Outros tratamentos - araticum e *T. vogelli* em solvente etanol – apresentaram 98% de mortalidade sendo que os tratamentos acima citados apresentaram mortalidade maior que a testemunha e o tratamento branco. Todos os demais tratamentos, exceto fruta-do-conde (acetato de etila) 3,0%, apresentaram maior mortalidade quanto comparados a testemunha e tratamento branco, diferindo significativamente dos mesmo (Tabela 1).

#### 3.5.4 Bioensaio 4 – Teste de Preferência

Número menor de adultos da broca foi verificado no tratamento branco em relação à testemunha (água destilada) e no tratamento *A. muricata* x

testemunha. No entanto, nas avaliações realizadas nos tratamentos *Annona* sp., *A. squamosa*, *T. vogelli* (etanol) e *T. vogelli* (acetato de etila), não foi verificada diferença estatística entre o tratamento e a testemunha (Tabela 2).

**Tabela 2** – Insetos adultos de *H. hampei* em frutos de café tratados e não tratados com extratos de sementes de anonáceas e *T. vogelli*.

	Branco	<i>A. muricata</i>	<i>Annona</i> sp.	<i>A. squamosa</i>	<i>T. vogelli</i> (etanol)	<i>T. vogelli</i> (acetato)
Tratamento (%)	28,3 a*	25 a	43,3 a	35 a	33,3 a	48,3 a
Testemunha ** (%)	71,6 b	75 b	56,6 a	65 a	66,6 a	51,6 a

\* Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Wilcoxon a 5% de probabilidade de erro, 60 insetos/tratamento. \*\* Testemunha = água destilada

Apesar de não apresentarem diferença significativa entre a testemunha e os tratamentos onde os frutos de café foram tratados com *Annona* sp., *A. squamosa*, *T. vogelli* (etanol e acetato de etila), os insetos nas placas com os frutos tratados com os extratos acima citados, encontravam-se mortos, sendo que os frutos não apresentavam perfuração. Podendo-se atribuir o fato ao efeito inseticida dos extratos testados, provavelmente ao entrar em contato com a superfície do fruto tratado, os biocompostos presentes nos extratos exerceram atividade inseticida nos adultos de *H. hampei*.

A mortalidade observada nos bioensaios onde se utilizou extratos de anonáceas pode ser atribuída ao efeito tóxico que as acetogeninas, biocomposto presente nessas plantas, exercem sobre algumas espécies de insetos, sendo que as acetogeninas exibem seu potencial bioativo através da redução dos níveis de ATP, afetando diretamente o processo de transporte de elétrons na mitocôndria, causando então apoptose no inseto. Em estudo realizado por Ribeiro (2010), extratos de sementes de *Annona mucosa*, obtidos a partir de hexano e de diclorometano, apresentaram efeito inseticida de contato em *Sitophilus zeamais*, via aplicação tópica. O mesmo autor verificou ainda que os extratos de *A. mucosa* apresentaram redução na atividade inseticida quando aplicados para controle da praga de grãos armazenados.

Os resultados obtidos no presente estudo vem a corroborar com Llanos, Arango e Giraldo (2008) que em estudo utilizando extratos etanólicos e de acetato de etila de *A. muricata*, sobre *Sitophilus zeamais* observou que a maior atividade inseticida ocorre nas primeiras 24 horas após a aplicação, ocorrendo então uma diminuição significativa com o passar do tempo. Assim, em ambos os estudos, foi observado que atividade do biocomposto acetogenina é maior nas primeiras 24 horas após a aplicação, assim como ocorre com a rotenona, biocomposto presente na *T. vogelli*, que também é um inseticida de contato que age inibindo a respiração celular. As espécies pertencentes aos gêneros *Derris*, *Lonchocarpus* e *Tephrosia* possuem rotenóides e são citadas na literatura com atividades sobre insetos e peixes. A rotenona, amplamente utilizada para controle de insetos, é instável a luz, ar e calor e desse modo, não é persistente no ambiente e se degrada rapidamente em condições naturais (LING, 2003).

Em termos gerais, os resultados obtidos após 24 horas diferiram muito daqueles observados após 120 horas de exposição, evidenciando a rapidez da ação inseticida dos extratos de anonnaceas e *T. vogelli*. É importante ressaltar que a velocidade com que o extrato provoca mortalidade pode ser de grande relevância, uma vez que, em condições de campo, o contato do inseto com o extrato pode ser relativamente rápido. Resultados semelhantes foram encontrados por Santos et al. (2010), testando atividade inseticida de folhas de *Piper hispidum* sobre a broca-do-café, onde após 24 horas de bioensaio alguns tratamentos promoveram 100% de mortalidade dos insetos, porém após este período os acréscimos nos tratamentos onde os insetos permaneceram vivos após as primeira 24 horas, não foram significativos, corroborando com os resultados observados neste estudo, onde extratos de araticum, fruta-do-conde, graviola e *T. vogelli* apresentaram efeito letal superior a 90% após 24 horas da aplicação.

São poucos os trabalhos realizados em relação ao controle de *H. hampei* com a utilização de extratos de plantas. Assim, na literatura, encontram-se resultados positivos em relação à utilização dos extratos testados no presente trabalho, porém, para controle de outros insetos praga. Seguindo esta premissa, Ohsawa et al. (1990) obtiveram bons resultados com o emprego de extratos de sementes de *A. squamosa*, em éter de petróleo, no controle de *Callosbruchus chinensis* (L.) (Coleoptera: Bruchidae). Rao, Sharma e Sharma (2005), constataram

que extratos em hexano e em acetato de etila de sementes de *A. squamosa* são tóxicos para larvas de terceiro instar de *Trogoderma granarium* Everts (Coleoptera: Dermestidae), além de provocarem alterações no crescimento e desenvolvimento desse inseto.

Ainda em relação ao uso de espécies da família anonnaceae para controle de insetos praga, de acordo com Lin et al. (2009) o óleo prensado de sementes de fruta-do-conde (*A. squamosa*) foi tão eficiente quanto o pesticida recomendado para controle da mosca-branca *Bemisia argentifolii* Bellows & Perring (Homoptera: Aleyrodidae) infestando folhas de tomate em casa-de-vegetação, com a vantagem de não apresentar fitotoxicidade. Sendo eficiente também no controle do pulgão do algodoeiro, *Aphis gossypii* Glover (Homoptera:Aphididae), infestando folhas de melão, e do ácaro de Kanzawa, *Tetranychus kanzawai* Kishida (Acari: Tetranychidae), em folhas de soja. Já Oliveira e Pereira (2009) em ensaio laboratorial, o extrato metanólico de *Annona crassiflora* causou efeito antialimentar em adultos de *Euschistos heros*.

O efeito inseticida dos extratos obtidos das plantas do gênero *Tephrosia* é citado por diversos autores. Segundo Ogendo et al. (2003), o pó de *T. vogelli* apresentou efeito inseticida e de repelência em adultos de *Sitophilus zeamais* Motschulsky (1885) (Coleoptera: Curculionidae) sobre grãos de milho armazenado. Koona, Dorothy e Koona (2007), usando hexano, acetona e etanol como extratores, avaliou extrato de folhas de *T. vogelli* com *S. zeamais* e observaram melhores efeitos do extrato de hexano. Diferentes extratores podem solubilizar diferentes substâncias, e conseqüentemente, promover respostas diferenciadas.

Com relação ao controle da broca-do-café com inseticidas botânicos e extratos de plantas, Queiroz et al. (2007) pesquisando o efeito inseticida de extratos alcoólicos e hexânicos de *Clavija weberbaueri*, *Piper augustum*, *Bauhinia variegata*, *Eugenia* sp. e *Ageratum conyzoides*, concluiu que estes extratos contêm substâncias com ação inseticida ao adulto de *H. hampei*.

Assim, através dos resultados obtidos, a utilização de extratos de sementes de anonáceas e *T. vogelli* vem a ser uma alternativa adicional ao controle da broca-do-café, pois, como observado no presente estudo, os biocompostos presentes nos extratos vegetais possuem efeito tóxico sobre o inseto. No entanto,

novos estudos deverão ser realizados, principalmente em campo, para podermos afirmar o real potencial inseticida das moléculas bioativas.

### 3.6 CONCLUSÃO

Nas condições em que o trabalho foi realizado, os extratos obtidos com acetato de etila das sementes de fruta-do-conde (*A. squamosa*), araticum (*Annona* sp.) e graviola (*A. muricata*) e dos extratos obtidos com os solventes acetato de etila e etanol de *Tephrosia vogelli* provocam alta mortalidade de adultos da broca-do-café (*H. hampei*).

## REFERÊNCIAS

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

AFT DATABASE. **AgroForestryTree Database**: a tree species reference and selection guide. World Agroforestry Centre, 2004. Disponível em: <<http://www.worldagroforestry.org>>. Acesso em: 13 janeiro 2008.

ALALI, F.Q.; LIU, X.-X; MCLAUGHLIN, J. L. Acetogenins: Recent Progress. **Journal of Natural Products**, v.62, n.3, 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.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Agrotóxicos e Toxicologia**. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/portal/anvisa/anvisa/home/agrotoxicotoxicologia>>. Acesso em: 28 set. 2011.

BAKER, P. La Broca del Cafe en Colombia. Chinchiná, Colombia, **Cenicafé**, 154 p. 1999.

BAKER, P. S.; BARRERA, J. F.; RIVAS, A. Life-history studies of the coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*, Scolytidae) on coffee trees in southern Mexico. **Journal of Applied Ecology**, v.29, p.656-662, 1992.

BATISTA, M. **Efeitos de diferentes índices de infestação pela broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Scolytidae) no peso e na classificação do café pelo tipo e pela bebida**. 1986. Dissertação de Mestrado Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras, MG, 1986.

BENASSI, V.L.R.M. **A broca-do-café**. Vitória: EMCAPA, 63 p. (Documentos, 57). 1989.

BERGAMIN, J. Contribuição para o conhecimento da biologia da broca-docafé *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Col. Ipidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v.14, p.31-72, 1943

BRUN, L. O.; MARCILLAUD, C.; GAUDICHON, V.; SUCKLING, D. Endosulfan resistance in *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) in New Caledonia. **Journal of Economic Entomology**, v.82, p.1311-1316, 1989.

CABRAS, P.; CABONI, P.; CABRAS, M.; ANGIONI, A.; RUSSO, M. Rotenone residues on olives and in olive oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p. 2576-2580, 2002.

CHALFOUN, S.M; SOUZA, J.C. de; CARVALHO, V.D. de. Relação entre a incidência da broca, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Scolytidae) e microrganismos em grãos de café. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIRAS, 11, 1984. Londrina. **Resumos...** Rio de Janeiro, IBC, p. 149-150, 1984.

CIOCIOLA Jr, A.T.; MARTINEZ, S.S. **Nim**: alternativa no controle de pragas e doenças. Belo Horizonte: EPAMIG. 2002. 24 p.

CLARKE, R.J.; MACRAE, R. **Coffee Agronomy**. Barking: Elsevier, 334p, 1985.

CÓDIGO COMUM PARA A COMUNIDADE CAFEIRA – CCCC. Disponível em: <[HTTP://www.4ccoffeeassociation.org/download](http://www.4ccoffeeassociation.org/download), 2010.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. **Safra café**. Disponível em: <[HTTP://www.conab.gov.br/politica\\_agricola/safracafe](http://www.conab.gov.br/politica_agricola/safracafe). Acesso em: 08 junho 2011.

CONSELHO DOS EXPORTADORES DE CAFÉ DO BRASIL – CECAFÉ. **Resumo das exportações de Café**. Disponível em <<http://www.cecafe.com.br/>>. Acesso em: 10 janeiro 2012.

CRISAFULLI, R. **Estudo fitoquímico de plantas do Nordeste: *Annona squamosa***. Obtenção de derivados reacionais do Ácido caurenóico. 2007. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.

CUNHA, L.F. Lavoura gourmet. **Globo Rural**, Porto Alegre, v.244, p.54-58, 2006.

CURE, J. R.; SANTOS, R. H. S.; MORAES, J. C.; VILELA, E. F.; GUTIERREZ, A. P. Fenologia e dinâmica populacional da broca do café *Hypothenemus hampei* (Ferr.) relacionadas às fases de desenvolvimento do fruto. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.27, n.3, p.325-335, 1998.

DEPIERI, R. A.; MARTINEZ. S.S . Redução da Sobrevivência da Broca-do-Café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae), e do seu Ataque aos Frutos de Café pela Pulverização com Nim em Laboratório. **Neotropical Entomology**, v.39, n.4, p. 632-637, 2010.

DEGLI ESPOSTI, M. GHELLI, A.; RATTA, M.; CORTES, D.; ESTORNELL, E. Natural substances (acetogenins) from the family Annonaceae are powerful inhibitors of mitochondrial NADH dehydrogenase (Complex I), **Biochemical Journal**, v.301, n.1, p. 161-167, 1994.

ESCALONA, M.H.; FIALLO, V.R.F.; HERNÁNDEZ, M.M.A.; PACHECO, R.A.; AJA, E.T.P. **Plaguicidas naturales de origem botánico**. 2.ed. Habana: INIFAT, 2001.

FELDHEGE, M. R. Rearing techniques and aspects of biology of *Phymastichus coffea* (Hymenoptera: Eulophidae), a recently described endoparasitoid of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). **Café Cacao Thé**, v.36, p. 45-54, 1992.

FERNANDES, M.C.A.; RIBEIRO, R.L.D.; AGUIAR-MENEZES, E.L. Manejo Agroecológico de fitoparasitas. In: AQUINO, A.M de; ASSIS, R.L. (Ed). **Agroecologia: Princípios e técnicas para uma agricultura orgânica sustentável**. Brasília, DF: EMBRAPA Informação Técnica, cap. 13. p.273-322, 2005.

GEORGE, S.; VINCENT, S. Comparative efficacy of *Annona squamosa* Linn. and *Pongamia glabra* Vent. to *Azadirachta indica* A. JUSS against mosquitoes. **Journal of Vector Borne Diseases**, v.42, p. 159–163, 2005.

GU Z.M.; ZHOU, D.; LEWIS, N. J.; WU, J.; SHI, G.; MCLAUGHLIN, J. L. Isolation of new bioactive annonaceous acetogenins from *Rollinia mucosa* guided by liquid chromatography/mass spectrometry. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v.5, p.1911–1916, 1997.

INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION – ICO. **Statistics**. Disponível em: <[HTTP://www.ico.org](http://www.ico.org)>. Acesso em: 28 maio 2010.

IRVINE, J. E.; FREYRE, H. Occurrence of rotenoids in some species of the genus *Tephrosia*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.7, n.2, p. 106-107, 1959.

JACOBSON, M. Botanical pesticides (past, present and future). In: ANARSON, J.T.; PHILOGENE, B.J.R.; MORAND, P. (Ed). **Insecticides of plant origin**. Washington: **Annual of Chemistry Society**, p. 213, 1989.

JADHAV, S. Relative toxicity of certain plant extracts against *Corcyra cephalonica* under laboratory conditions. **Journal of Applied Biosciences**, v.35, n.1, p. 89-90, 2009.

KATRINA, G.A.; ANTONIO, L.O.J. Controle biológico de insetos mediante extractos botânicos. In: CARBALL, M.; GUAHARY, F. (Ed). **Control biológico de plantas agrícolas**. Managua: CATIE 53, 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.

KRUG, A.P. **A origem da variação de bebidas dos nossos cafés**. Sociedade Rural Brasileira. Campinas, p. 371-393. 1941.

LAGUNES T., A.; C. RODRÍGUEZ H. **Los extractos acuosos vegetales con actividad insecticida: el combate de la conchuela del frijol**. Texcoco: USAIDCONACYT- SME-CP, 57p. 1992.

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.

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**. 2007. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2007.

LIN, C.Y.; WU, D. C, YU J.Z.; CHEN, B.H.; WANG, C.H.; KO, W.H. - Control of Silverleaf Whitefly, Cotton Aphid and Kanzawa Spider Mite with Oil and Extracts from Seeds of Sugar Apple. **Neotropical Entomology**, v.38, n.4, p. 531-536, 2009.

LING, N. Rotenone – a review of its toxicity and use for fisheries management. Wellington: Department of Conservation. **Science of Conservation**, n.211. Disponível em: <<http://www.doc.govt.nz/upload/documents/science-and-technical/SFC211.pdf>>. Acesso em: 20 novembro 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).**Revista Colombiana de Entomologia**, v.34 n.1, Bogotá, 2008.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A.; **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 512 p., 2002.

LOUREIRO, L.M.; LOTADE, J. Do fair trade and eco-labels in coffee wake up the consumer conscience? **Ecological Economics**. Amsterdam, v.53, p.129-138, 2005.

MABBERLEY, D.J. **The Plant-Book**. Cambridge University Press, New York. 858 p., 1997.

MAIRESSE, L. A. S. **Avaliação da bioatividade de extratos de espécies vegetais, enquanto excipientes de aleloquímicos**. Santa Maria: Tese de Doutorado, 326 p. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2005.

MARTINEZ, S. S. **O Nim - *Azadirachta indica*: natureza, usos múltiplos, produção**, Londrina: IAPAR, 142 p. 2002.

MARTINEZ, S.S.; MENEGUIM, A. M. Redução da oviposição e da sobrevivência de ovos de *Leucoptera coffeella* causadas pelo óleo emulsionável de nim. **Manejo Integrado Plagas**, v.67, p. 30-34, 2003.

MATIELLO, J.B.; SANTINATO, R.; GARCIA, A.W.R.; ALMEIDA, R.S.; FERNANDES, D.R. **Cultura de Café no Brasil: novo manual de recomendações**. Rio de Janeiro: MAPA/PROCAFÉ, 387 p. 2002.

MEHRA, B. K, HIRADHAR, P. K. Effect of crude acetone extract of seeds of *Annona squamosa* Linn. (Family: Annonaceae) on possible control potential against larvae of *Culex quinquefasciatus* Say. **Journal of the Entomological Research Society**, v.24, p. 141-146, 2000.

MIANA, G.A.; RAHMAN, A.U.; IQBAL, C.M.J.; JILANI, G.; BIBI, H. **Pesticides nature: present and future perspectives**. In: Copping, L.G. (Ed). Crop protection agents from nature: natural products and analogues. Cambridge: RSC, p. 241-253, 1996.

MIKAMI, A.Y. **Mortalidade do percevejo *Euschistus heros* (F.) (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE)** provocada por extratos de sementes de *Tephrosia* sp. (FABACEAE) e de Anonáceas. 2011. Tese de Doutorado. Londrina. Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2011.

MORRIS, J. B. Legume genetic resources with novel “value added” industrial and pharmaceutical use. P. 197-201. In: Janick, J. (ed), **Perspectives on new crops and new uses**. ASHS Press, Alexandria, VA. 1999.

NEVES, B. P.; OLIVEIRA, I. T.; NOGUEIRA, J.C.M. **Cultivo e utilização do nim indiano**. Santo Antonio de Goiás: EMBRAPA/CNPAF, 2003. 12 p. (Circular Técnica 62).

OGENDO, J. O.; BELMAIN, S. R.; DENG, A. L.; WALKER, D. J. Comparison of Toxic and Repellent Effects of *Lantana Camara* L. with *Tephrosia vogelii* Hook and a Synthetic Pesticide Against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae) in Stored Maize Grain. **Insect Science and Its Application**, v.23, n.2, p. 127-135, 2003.

OLIVEIRA, A. C. de; PEREIRA, M. J. B. Efeito antialimentar do extrato metanólico de *Annona crassiflora* Mart. sobre o percevejo marrom *Euschistus heros* (FABR. 1798) (Heteroptera: Pentatomidae). **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.4, n.2, p. 2633-2636, 2009.

OHSAWA, K.; KATO, S.; HONDA, H.; YAMAMOTO, I. Pesticidal active substances in tropical plants-insecticidal substance from the seeds Anonaceae. **Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v.34, p. 253-258, 1990.

PORTAL BRASIL. **Agrotóxico endossulfan será totalmente banido do Brasil até 2013**. (10/05/2011). Disponível em:

<<http://www.brasil.gov.br/noticias/arquivos/2011/05/10/agrotoxico-endossulfan-sera-totalmente-banido-do-brasil-ate-2013>>. Acesso em: 21 dezembro 2011.

PUGAZHVENDAN, S. R.; ELUMALAI, K.; RONALD ROSS, P.; SOUNDARARAJAN, M. Repellent activity of chosen plant species against *Tribolium castaneum*. **World Journal of Zoology**, v.4, n.3, p. 188-190, 2009.

QUEIROZ, R.B; PICANÇO, M.C.; ROSADO, J. F; SILVA, É.M; SILVA, G. A; SILVA, R. A. Efeito Inseticida de Botânicos Sobre a Broca-do-café. Sistema Brasileiro de Informação do Café – SBICafé – In: **Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil**. Águas de Lindóia, 2007.

RANGEL, B. S. **Plantas inseticidas do Brasil**. Boletim do Ministério da Agricultura, 35, 1946, 34 p.

RAO, N.S.; SHARMA, K.; SHARMA, R.K. Antifeedant and growth inhibitory effects of seed extracts of custard apple, *Annona squamosa* against khapra beetle, *Trogoderma granarium*. **Journal of Technology**, New Delhi, v.1, p. 43-54, 2005.

REMBOLD, H.; SHARMA, G.H.; CZOPPELT, C.H.; SCHUMUTTERER, H. Azadirachtin: a potent insect growth regulator of plant origin. **Zoological Angew Entomology**, Humburg, v.93. p.12-17. 1982.

RENA, A.B.; MAESTRINI, M. Fisiologia do cafeeiro. In: RENA, A.B.; MALAVOLTA, E.; YAMADA, T. (Ed.) **Cultura do cafeeiro**. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa de Potassa e do Fosfato, p.13-85, 1986.

RIBEIRO, L.P. **Bioprospecção de extratos vegetais e sua interação com protetores de grãos no controle de *Sitophilus zeamais* Motz (Coleoptera: Curculionidae)**. 2010. Dissertação de Mestrado. 155 p. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2010.

RIEDERER M.; SCHREIBER L. Waxes: the transport barriers of plant cuticles. In: Hamilton RJ, ed. *Waxes: chemistry, molecular biology and functions*. West Ferry, Dundee, Scotland: **The Oily Press**, 1995, p.130–156.

RODRÍGUES-LAGUNES, D. A.; LAGUNES-TEJEDA, A.; Riestro-Díaz, D.; RODRÍGUEZ-MACIEL, C.; VELÁSQUEZ-MENDOZA, J.; BECERRIL ROMAN, E.; PACHECO-VELASCO, E. Extractos acuosos de nim para el combate de la broca de café. **Manejo Integrado Plagas**, v.49, p. 73-77, 1998.

RUPPRECHT, J. K.; HUI, Y.; MCLAUGHLIN, J. L. Annonaceous acetogenins: a review. **Journal of Natural Products**, v.53, n.2, p. 237-278, 1990.

RUSCOE, G.N.E. Growth disruptin effects of an insect antifeedant. **Nature New Biology**. New York, v.236. p.159-160. 1972.

SAITO, M. L.; LUCCHINI, F. **Substâncias obtidas de plantas e a procura por praguicidas eficientes e seguros**. Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, 1998. 46 p. (Embrapa-CNPMA, Série Documentos, 12).

SCHMUTTERER, H. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadiracta indica*. **Annual Review Entomology**, v.35, p. 271-297, 1990.

SHARMA, P.; RASTOGI, S.; BHATNAGAR, S. SRIVASTAVA, J. K.; DUBE, A.; GURU, P. Y.; KULSHRESTHA, D. K.; MEHROTRA, B. N.; DHAWAN, B. H. Antileishmanial action of *Tephrosia purpurea* Linn, extract and its fractions against experimental visceral leishmaniasis. **Drug Development Research**, v.60, n.4, p.285-293, 2003.

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.

SINHA, B.; NATU, A. A.; NANAVATI, D. D.; **Phytochemistry**, 1982.

SOUZA, J.C. de; REIS, P.R. **Broca-do-café - Histórico, Reconhecimento, Biologia, Prejuízos, Monitoramento e Controle**. EPAMIG, Belo Horizonte, Boletim Técnico 40. 31 p. 1993.

SOUZA, E. M. de; CORDEIRO, J. R.; PEREIRA, M. J. B. Avaliação da atividade inseticida dos diferentes extratos das sementes de *Annona coriacea* sobre *Dichelops melacanthus* (Dallas, 1851). **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.2, p. 1107-1110, 2007.

SPONAGEL, K. W. Eficacia del aceite de nim, extractos AZT y acetona de nim en el control de la broca del café *Hypothenemus hampei* en comparación con medidas químicas y biológicas. In: **Brechelt A, Hellpap C (eds) Memorias del 1er. Congreso Latinoamericano y del Caribe sobre Nim y otros Insecticidas Vegetales**. Santo Domingo, GTZ, p.255-266, 1994.

VIANA, P. A.; PRATES, H. T.; RIBEIRO, P. E. A. Uso do extrato aquoso de extrato de folhas de nim para o controle de *Spodoptera frugiperda* na cultura do milho. **Circular Técnica, 88**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 5 p. 2006.

WALANGULULU, M; LITUCHA, B. M.; MUSASA, M. Potential for the control of the banana weevil *Cosmopolites sordidus* Germar with plants reputed to have an insecticidal effect. **Infomusa**, v.2, n.1, p. 9, 1993.

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