

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**TOXICIDADE E EFEITOS SUBLETAIS DE PRODUTOS
QUÍMICO, BIOLÓGICO E BOTÂNICO PARA *Plutella*
xylostella (L.) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) E
OTIMIZAÇÃO NA TÉCNICA DE CRIAÇÃO EM CONDIÇÕES
DE LABORATÓRIO**

**Natalia Fernanda Vieira
Bióloga**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**TOXICIDADE E EFEITOS SUBLETAIS DE PRODUTOS
QUÍMICO, BIOLÓGICO E BOTÂNICO PARA *Plutella*
xylostella (L.) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) E
OTIMIZAÇÃO NA TÉCNICA DE CRIAÇÃO EM CONDIÇÕES
DE LABORATÓRIO**

Discente: Natalia Fernanda Vieira

Orientador: Prof. Dr. Sergio Antonio De Bortoli

**Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias – Unesp, Campus de
Jaboticabal, como parte das exigências para
a obtenção do título de Doutor em
Agronomia (Entomologia Agrícola)**

2022

V658t Vieira, Natalia Fernanda
Toxicidade e efeitos subletais de produtos químico, biológico e botânico para *Putella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) e otimização na técnica de criação em condições de laboratório / Natalia Fernanda Vieira. -- Jaboticabal, 2022
127 p. : il., tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientador: Sergio Antonio De Bortoli

1. Traça-das-crucíferas. 2. Inseticidas. 3. Extratos vegetais. 4. Fitotoxicidade. 5. Criação de insetos. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: TOXICIDADE E EFEITOS SUBLETAIS DE PRODUTOS QUÍMICO, BIOLÓGICO E BOTÂNICO PARA *Plutella xylostella* (L.) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) E OTIMIZAÇÃO NA TÉCNICA DE CRIAÇÃO EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO

AUTORA: NATALIA FERNANDA VIEIRA

ORIENTADOR: SERGIO ANTONIO DE BORTOLI

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em AGRONOMIA (ENTOMOLOGIA AGRÍCOLA), pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. SERGIO ANTONIO DE BORTOLI (Participação Virtual)
Departamento de Ciências da Produção Agrícola / FCAV / UNESP
/Jaboticabal/SP



Dra. VALÉRIA LUCAS DE LAURENTIS (Participação Virtual)
Empresa "PROMIP Manejo Integrado de Pragas" /
Engenheiro Coelho/SP



Prof. Dr. ARLINDO LEAL BOIÇA JUNIOR (Participação Virtual)
Departamento de Ciências da Produção Agrícola / FCAV / UNESP
Jaboticabal/SP



Dra. DAGMARA GOMES RAMALHO (Participação Virtual)
Empresa "PROMIP Manejo Integrado de Pragas" /
Engenheiro Coelho/SP



Prof. Dr. RICARDO ANTÔNIO POLANCZYK (Participação Virtual)
Departamento de Ciências da Produção Agrícola / FCAV / UNESP
Jaboticabal/SP

Jaboticabal, 04 de janeiro de 2022.

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

NATALIA FERNANDA VIEIRA, natural de Araraquara, SP, nascida em 25 de setembro de 1990. Graduada pela Universidade de Araraquara, UNIARA, SP, em Ciências Biológicas, com título obtido em 02 de janeiro de 2013. O trabalho de conclusão de curso de graduação teve como título: “Custo de produção de inimigos naturais criados com *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae)”, com a orientação do Prof. Dr. Sergio Antonio De Bortoli. No decorrer da graduação realizou estágio no Laboratório de Biologia e Criação de Insetos do então Departamento de Fitossanidade da FCAV–UNESP, sendo bolsista de iniciação científica pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPq. Foi bolsista Fapesp na categoria “Nível Técnico Superior” no período de março de 2013 a março de 2014. Em março de 2014 ingressou no curso de Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Entomologia Agrícola) na FCAV–UNESP, com a orientação do Prof. Dr. Sergio Antonio De Bortoli. O trabalho de conclusão de curso de mestrado foi intitulado: “Metodologia de criação, aspectos biológicos e custo de produção de *Xylocoris afer* predando ovos de *Corcyra cephalonica* e *Plutella xylostella*”. Em março de 2017 iniciou o curso de doutorado em Agronomia (Entomologia Agrícola), na FCAV-UNESP, também sob a orientação do Prof. Dr. Sergio Antonio De Bortoli.

“Depois de um tempo você aprende que realmente pode suportar,
que realmente é forte, e que pode ir muito mais longe depois de
pensar que não se pode mais”.

(William Shakespeare)

DEDICO

Ao meu amado filho, Théo Vieira Truzi, com seu primeiro ano de vida coincidindo com um momento muito estranho no mundo, e você, meu filho, com tanta pureza salvou a gente um “pouquinho”! Preenchendo nossos corações com muito amor e alegria. Você me fez a mulher mais forte do mundo! EU TE AMO!

Aos meus pais, José Carlos Vieira e Benedita Aparecida de Mendonça Vieira, pelo amor, incentivo e dedicação durante toda a minha jornada. Todos os momentos que já passamos, sejam eles bons ou ruins, serviram para nos mostrar o verdadeiro sentido da vida, além de me fazer ter a certeza o quanto vocês são importantes para mim e de como AMO VOCÊS!

Às minhas primas Manuela Navarro Mendonça e Maybi Navarro Mendonça, pela alegria proporcionada. Como é bom estar com vocês, uma vez que com serenidade e simplicidade sempre me transmitem paz.

Afinal, nossa família é nossa base e a verdadeira felicidade.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela minha existência, pela proteção, pela benção, pelas minhas conquistas, até mesmo pelos meus tropeços, e por sempre iluminar os meus caminhos.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – FCAV/UNESP, ao Departamento de Ciências da Produção Agrícola (Fitossanidade) e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Entomologia Agrícola), pela oportunidade da realização do curso de Doutorado.

Ao Prof. Dr. Sergio Antonio De Bortoli, pela orientação, atenção, compreensão, oportunidades e conhecimentos indispensáveis para a realização deste trabalho. Obrigada por toda a confiança! Agradeço também a sua esposa Mariângela De Bortoli pelo afeto.

Ao Prof. Dr. Márcio Luis Andrade e Silva, da Universidade de Franca - UNIFRAN, pela disponibilização do extrato utilizado neste trabalho.

À Alessandra Marieli Vacari, da Universidade de Franca - UNIFRAN, pelos ensinamentos e pela colaboração na minha formação profissional.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Entomologia Agrícola) pela convivência e ensinamentos transmitidos no decorrer do curso.

A toda minha família, por todos os momentos felizes e de amparo compartilhados.

Aos membros e ex-membros do Laboratório de Biologia e Criação de Insetos (LBCI), Gilmar da Silva Nunes, Caio Cesar Truzi, Camila Pires Cardoso, Aimée Regali Selegim, Iwlianny Luiza Pereira dos Santos, Marcelle Bezerra Silva, Matheus Moreira Dantas Pinto, Paula Sayuri Taguti, Lauany Cavalcante dos Santos, Caroline Placidi De Bortoli e Dagmara Gomes Ramalho pela companhia; em especial a Caio Cesar Truzi, Joice Mendonça Souza, Gilmar da Silva Nunes e Beatriz Ferracini, obrigada pela amizade e pela disposição em ajudar um ao outro, por serem parceiros fieis e dedicados durante a realização dos ensaios.

Ao meu companheiro de vida Doutor Caio Cesar Truzi, pelos conselhos, apoio, carinho, amor, compreensão, ajuda e alegrias compartilhadas desde o início

do trabalho, durante o mestrado e doutorado, até mesmo nas madrugadas no LBCI. Por sempre estar me incentivando em momentos de fraqueza; com você me sinto uma pessoa melhor e mais segura.

A todos os funcionários do Departamento de Ciências da Produção Agrícola (Fitossanidade) da FCAV/UNESP.

A todos meus colegas de pós-graduação, em especial: Thamiris Porto Sipriano Nascimento, Ana Letícia Zéro dos Santos, Amanda Aparecida Fernandes Lemes, Camila Pires Cardoso, Gilmar da Silva Nunes, Caio Cesar Truzzi e Jaqueline Franciosi Della Vechia pelos bons momentos que passamos juntos, pelos momentos de descontração, pelo apoio e pelos conhecimentos compartilhados, além da amizade durante todos esses anos. Muito obrigada pelo carinho e afeto!

À Mariana Torres de Souza amiga de colégio, que em tempos de isolamento se reaproximou, e se fez presente mesmo morando em outra cidade, tornando os dias mais leves. Obrigada pelas conversas, risos e por sempre vibrar pelas minhas conquistas!

E a todos que, de alguma forma, colaboraram para a realização deste trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, à qual agradeço pela concessão da bolsa de estudos.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	iv
ABSTRACT.....	vi
CAPÍTULO 1 – Considerações gerais.....	1
1. Introdução	1
2. Revisão de literatura	4
2.1. Brassicaceae: aspectos gerais.....	4
2.2. <i>Plutella xylostella</i>	5
2.2.1. Ocorrência e distribuição	5
2.2.2. Aspectos morfológicos e biológicos.....	6
2.2.3. Importância econômica e controle.....	7
2.3. Considerações gerais sobre inseticidas botânicos	8
2.3.1. A família Piperaceae	10
2.3.2. O gênero <i>Piper</i>	10
2.3.3. A espécie <i>Piper cubeba</i>	12
2.4. Controle biológico com <i>Bacillus thuringiensis</i>	12
2.5. Controle químico com ciantraniliprole.....	15
2.6. Efeitos subletais em insetos como ferramenta para o MIP.....	17
3. Referências	18
CAPÍTULO 2 – Diferentes substratos de oviposição visando otimização da criação de <i>Plutella xylostella</i> (L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) em laboratório	34
RESUMO.....	34
ABSTRACT	35
1. Introdução	36
2. Material e métodos.....	38
2.1. Insetos e plantas	38
2.2. Avaliação dos substratos para oviposição.....	40
3. Resultados e discussão.....	42
4. Conclusão	47

5. Referências	47
CAPÍTULO 3 – Extrato de <i>Piper cubeba</i> (Piperales: Piperaceae): toxicidade residual em <i>Plutella xylostella</i> (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) e fitotoxicidade em couve	52
RESUMO.....	52
ABSTRACT	53
1. Introdução	54
2. Material e métodos.....	57
2.1. Obtenção do extrato	57
2.2. Criação de <i>Plutella xylostella</i>	57
2.3. Bioensaio de fitotoxicidade	59
2.3.1. Em folhas destacadas de mudas de couve	59
2.3.2. Em mudas couve em vaso	60
2.4. Toxicidade via ingestão	62
2.5. Análise estatística.....	63
3. Resultados	64
3.1. Fitotoxicidade do extrato hexânico de <i>Piper cubeba</i>	64
3.2. Toxicidade de extrato via ingestão	66
4. Discussão.....	67
5. Conclusões.....	70
6. Referências	71
CAPÍTULO 4 – Ação de inseticidas químico, biológico e extrato de <i>Piper cubeba</i> em ovos e na oviposição de <i>Plutella xylostella</i>, em condições de laboratório.....	76
RESUMO.....	76
ABSTRACT	77
1. Introdução	78
2. Material e métodos.....	81
2.1. Criação de <i>Plutella xylostella</i>	81
2.2. Ação dos produtos aplicados nos ovos	82
2.3. Efeitos dos produtos na oviposição	82
2.4. Análise estatística.....	83

3. Resultados	83
4. Discussão.....	86
5. Conclusão	90
6. Referências	91
CAPÍTULO 5 – Efeitos de concentrações subletais de inseticidas químico, biológico e extrato de <i>Piper cubeba</i> em <i>Plutella xylostella</i> mantida em laboratório.....	99
RESUMO.....	99
ABSTRACT	100
1. Introdução	101
2. Material e métodos.....	103
2.1. Criação de <i>Plutella xylostella</i>	103
2.2. Obtenção dos produtos	104
2.3. Bioensaios com <i>Plutella xylostella</i>	104
2.3.1. Características biológicas de <i>P. xylostella</i>	104
2.3.2. Testes para a estimativa da Concentração Letal (CL ₅₀)	105
2.3.3. Efeitos subletais	106
2.4. Análise estatística.....	107
3. Resultados	108
4. Discussão.....	112
5. Conclusões.....	116
6. Referências	116
CAPÍTULO 6 – Considerações finais	125
Referências	127

TOXICIDADE E EFEITOS SUBLETAIS DE PRODUTOS QUÍMICO, BIOLÓGICO E BOTÂNICO PARA *Plutella xylostella* (L.) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) E OTIMIZAÇÃO NA TÉCNICA DE CRIAÇÃO EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO

RESUMO – *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae), a traça das crucíferas, é um dos principais insetos-praga de crucíferas no mundo todo, cujos danos podem comprometer gravemente a produção dessas hortaliças. O método mais empregado para o controle dessa traça ainda é a utilização de produtos químicos, onde os inseticidas sintéticos são os mais aplicados, devido a fácil disponibilidade no mercado e rápido efeito sobre as lagartas. Porém, frequentes aplicações de inseticidas para controle da praga, combinado com fatores biológicos de *P. xylostella*, podem contribuir com a seleção de indivíduos resistentes. Uma das alternativas ao controle químico é a utilização de bioinseticidas no controle de lepidópteros-praga, como aqueles à base da bactéria entomopatogênica *Bacillus thuringiensis* Berliner. Outra opção para programas de Manejo Integrado de Pragas como ferramenta promissora no controle de pragas é a utilização de substâncias de origem vegetal com propriedades inseticidas, principalmente na agricultura familiar e em sistemas orgânicos de cultivo. São produtos considerados de baixo impacto ambiental, uma vez que são rapidamente degradados sob a ação de luz, umidade, chuva e outros fatores abióticos. É de extrema importância estudos relacionados à métodos alternativos para o combate a esta praga que se ajustem ao seu manejo integrado. Trabalhos que avaliem a eficiência dos inseticidas em ovos, uma das fases de grande vulnerabilidade da praga, são importantes também para orientar a rotação de produtos em programas de manejo. Visando fornecer informações ao manejo desse lepidóptero-praga, foi utilizado o inseticida químico ciantraniliprole (Benevia®), o biológico *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* (Dipel®) e o extrato hexânico de *Piper cubeba* Linnaeus, 1753 (Piperales: Piperaceae). Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi investigar qual o melhor substrato para manutenção da criação dessa espécie em laboratório, a ação dos inseticidas em ovos e na oviposição de *P. xylostella*, bem como o efeito agudo das concentrações letais e os efeitos subletais de inseticidas químico, biológico e extrato da planta *P. cubeba*, além das toxicidades residuais, assim como avaliar a fitotoxicidade do extrato em mudas de couve em casa de vegetação e folhas de couve destacadas das plantas em laboratório. Com esse estudo foi possível verificar que a concentração adequada do extrato de *P. cubeba* que mata a praga em couve sem que haja fitotoxicidade em folhas e mudas é de 1%. Ao avaliar os parâmetros biológicos sob influência das concentrações subletais (CL₂₅ e CL₁₀), verificou-se que os inseticidas causaram alterações no período larval e pupal, no peso de pupas e na fecundidade, além de influenciar o crescimento populacional. Para a ação dos inseticidas em ovos e na oviposição, o presente estudo mostrou que o extrato de *P. cubeba* apresenta maior ação tóxica em ovos e influencia negativamente na oviposição de *P. xylostella*. Em relação aos substratos, disco de folha de couve e disco de folha de couve sobre papel filtro umedecido com água deionizada mostraram ser os melhores substratos para oviposição de *P. xylostella*, sem perda na qualidade dos insetos. Diante dessas questões, espera-se que os resultados obtidos nesta tese forneçam subsídios para

auxiliar a obtenção de insetos de qualidade para pesquisas, além de implementar alternativas visando ao controle da traça-das-crucíferas.

Palavras-chave: traça-das-crucíferas, inseticidas, extratos vegetais, fitotoxicidade, criação de insetos.

**TOXICITY AND SUBLETHAL EFFECTS OF CHEMICAL, BIOLOGICAL, AND
BOTANICAL PRODUCTS FOR *Plutella xylostella* (L.) (LEPIDOPTERA:
PLUTELLIDAE) AND OPTIMIZATION IN THE REARING TECHNIQUE UNDER
LABORATORY CONDITIONS**

ABSTRACT – *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae), diamondback moth, is one of the main insect pest of crucifers worldwide, whose damage can seriously compromise the production of these vegetables. The most used method for its control is still the use of chemical products, in which synthetic insecticides are the most applied, due to their easy availability in the market and quick effect on larvae. However, the continuous insecticide applications for pest control, combined with *P. xylostella* biological factors, can contribute to the selection of resistant individuals. One of the alternatives to avoid or minimize chemical control is the use of bioinsecticides to control lepidopteran pests, such as those based on the entomopathogenic bacteria *Bacillus thuringiensis* Berliner. Another suitable option for Integrated Pest Management programs as a promising tool in pest control is the use of substances of plant origin with insecticidal properties, mainly in family farming and in organic farming systems. They are products considered to have a low environmental impact, as they are quickly degraded under the action of light, humidity, rain, and other abiotic factors. Therefore, studies related to alternative methods to suppress this pest that fit the integrated pest management it is extremely important. Studies that assess the efficiency of insecticides on eggs, one of the pest's life stages with high vulnerability, are also fundamental to guide product rotation in management programs. To provide information on the management of this lepidopteran pest, the chemical insecticide cyantraniliprole (Benevia®), the biological *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* (Dipel®) and the hexane extract of *Piper cubeba* Linnaeus, 1753 (Piperales: Piperaceae). In this sense, we aimed to investigate a suitable substrate to maintain the rearing of this species in the laboratory, the action of insecticides on eggs and oviposition of *P. xylostella*, as well as the acute effect of lethal concentrations and the sublethal effects of chemical and biological insecticides and of *P. cubeba* plant extract. In addition to residual toxicity, as well as evaluating the phytotoxicity of the extract on collard green seedlings in a greenhouse and detached cabbage leaves kept in the laboratory. With this study, it was possible to verify that the adequate concentration of the extract of *P. cubeba*, which kills the pest in collard green without phytotoxicity in the leaves and seedlings of the plant, is 1%. By evaluating the biological parameters under the influence of sublethal concentrations (CL₂₅ and CL₁₀), it was found that insecticides caused changes in the larval and pupal period, pupae weight, and fecundity, in addition to changes in population growth. As for the action of insecticides on eggs and oviposition, the present study showed that the extract of *P. cubeba* presents higher toxic action on eggs and negatively influences the oviposition of *P. xylostella*. Regarding substrates, collard green leaf discs and collard green leaf discs on filter paper moistened with deionized water (control) showed to be the best substrates for *P. xylostella* oviposition, without loss in insect quality. Given these issues, it is expected that the results obtained in this thesis provide subsidies to help obtain quality insects for

research, in addition to implementing alternatives aimed at controlling the diamondback moth.

Keywords: diamondback moth, plant extracts, insecticides, plant extract, phytotoxicity, insect rearing.

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais

1. Introdução

A traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae), é a praga mais destrutiva das brássicas em praticamente todas as áreas de cultivo do mundo, com as lagartas causando danos pela desfolha, levando a perdas de rendimento que podem chegar a 100% (Marchioro e Foerster, 2011; Santos et al., 2011), com os prejuízos causados associados ao consumo da área foliar, deixando as mesmas com aspecto rendilhado (Vacari, 2009). Para se tentar minimizar o problema, os horticultores lançam mão de medidas de controle que apresentam certas dificuldades de eficácia devido ao rápido ciclo de vida e a alta variabilidade genética das populações da praga, o que invariavelmente promove o uso indiscriminado de inseticidas químicos, gerando gastos anuais estimados que superam U\$ 5 bilhões (Zalucki et al., 2012; Li et al., 2016).

Dentre as chamadas “ferramentas” do Manejo Integrado de Pragas (MIP), os inseticidas químicos sintéticos ainda são os mais utilizados para o combate à traça-das-crucíferas, nas diferentes regiões do mundo onde há o cultivo de brassicáceas, existindo no mercado uma variedade de produtos registrados, sendo normalmente assumido pelo produtor que esses produtos apresentam resultados rápidos e práticos (Castelo Branco et al., 2003; Dias et al., 2004). Esses agrotóxicos, normalmente pertencentes aos grupos dos organofosforados, carbamatos, ciclodienos e piretroides (Mccaffery, 1998), com o uso intensivo passou a contaminar o ambiente por persistirem como resíduos tóxicos muito além do tempo e da quantidade desejados (Ndumu, 1999; Valicente, 2015). Por outro lado, normalmente são caros e em alguns casos ineficazes e perigosos se usados de forma intensiva e incorreta. O emprego contínuo desses agroquímicos ocasiona grande pressão de seleção para as pragas, induzindo a casos de resistência, situação já relatada em diversos locais do mundo (Castelo Branco e Gatehouse, 1997; Cameron e Walker, 1998; Baker e Kovaliski, 1999).

No contexto do controle biológico, a bactéria *Bacillus thuringiensis* Berliner, 1915 (Bacillales: Bacillaceae) (Bt) tem sido o entomopatógeno mais empregado no

manejo de pragas (Bravo et al., 2011). É uma bactéria capaz de produzir cristais contendo as toxinas Cry ou δ -endotoxinas, responsáveis por grande parte da sua atividade inseticida (Angus, 1956; Glare e O'Callaghan, 2000; Chattopadhyay e Banerjee, 2018). Além das δ -endotoxinas, também apresentam células vegetativas (VIPs), importantes na virulência da bactéria (Bravo, 2007). Misturas de esporos e cristais, na forma de bioinseticidas, têm sido utilizadas com sucesso no controle de pragas agrícolas, especialmente da ordem Lepidoptera, estando incluída neste grupo a traça-das-crucíferas (Sanahuja et al., 2011; Arthurs e Dara, 2019; Fernández-Chapa et al., 2019).

Plutella xylostella foi o inseto pioneiro em demonstrar resistência a toxinas Cry de *B. thuringiensis*, de modo específico ao produto formulado Dipel®, que contém mais de uma toxina (Cry1Aa, Cry1Ab, Cry1Ac e Cry2Aa), toxinas essas que funcionam como diferentes princípios ativos do produto (Tabashnik et al., 1990; Fu et al., 2008).

Outra opção viável e que pode contribuir para a diminuição do controle químico é a utilização de compostos oriundos do metabolismo secundário de plantas e, mesmo que não estejam disponíveis para comercialização, podem indicar caminhos para a síntese de novos inseticidas (Villa Lobos, 1996; Duke et al., 2000; Medeiros et al., 2005). Durante o processo co-evolutivo, algumas espécies de plantas desenvolveram defesas físicas e químicas com o objetivo de se protegerem de uma grande variedade de insetos e fitopatógenos, defesas realizadas por meio de substâncias químicas produzidas pelas plantas, os chamados “metabólitos secundários” (fenóis, polifenóis, terpenoides e alcaloides) (Kim et al., 2003). As substâncias com atividades inseticidas podem derivar de toda a planta ou partes dela, podendo ser extraídas de diferentes formas, desde a simples maceração de partes da planta em água, a extração usando solventes orgânicos, bem como por vários tipos de destilação (Menezes, 2005). Seus efeitos sobre os insetos são os mais variados, com a possibilidade de serem tóxicas, repelentes, causarem esterilidade, modificarem o comportamento e o desenvolvimento ou até mesmo promoverem redução na ingestão de alimento (Arnason et al., 1990; Bell et al., 1990).

Desse modo, a comunidade científica vem buscando métodos alternativos para a substituição dos agrotóxicos, já que eles afetam de maneira bastante negativa o meio ambiente e a saúde humana pela exposição direta e indireta a esses compostos (Friedrich et al., 2018). Estudos comprovam que inseticidas à base de compostos naturais extraídos de plantas podem apresentar eficácia similar ou superior aos compostos químicos, sendo possível obter até 100% da mortalidade no caso de *P. xylostella* (Thuler et al., 2007; Dequech et al., 2009). Porém, um dos efeitos negativos que esses extratos podem proporcionar é a fitotoxicidade (Ismail et al., 2012), sendo de suma importância estudos com a finalidade de verificar a viabilidade de aplicação destes produtos (Truzzi, 2020).

O gênero *Piper* contém aproximadamente 2.000 espécies de plantas com distribuição pantropical (Quijano-Abril et al., 2006), encontrando-se no Brasil cerca de 290 espécies (Guimarães et al., 2015), onde várias delas são consideradas de importância econômica por serem utilizadas como especiarias, plantas ornamentais, medicamentos tradicionais, alucinógenos e também como inseticidas (Almeda et al., 2015; Han et al., 2016). Espécies desse gênero produzem grande variedade de “metabólitos secundários”, com cerca de 700 já isolados e, apesar da grande variedade desses compostos produzidos por espécies da família Piperaceae, são as amidas que representam o maior percentual de compostos identificados com atividade inseticida, sendo a piperina a primeira a ser isolada, e com potencial inseticida, inclusive contra lepidópteros (Estrela et al., 2003; Batista-Pereira et al., 2006).

Apesar das várias técnicas de controle disponíveis para serem incorporadas ao MIP, o uso de inseticidas permanece como o método mais utilizado para o controle de insetos-praga, com as doses letais representando informações importantes para se avaliar a eficiência dos inseticidas, bem como o desenvolvimento de populações de pragas resistentes aos inseticidas (Han et al., 2012). Já, as doses subletais normalmente são trabalhadas para se estimar os efeitos colaterais desses produtos nos insetos (pragas, inimigos naturais e polinizadores), como alterações fisiológicas e comportamentais, sendo a avaliação desses efeitos importante para se compreender o que ocorre com os insetos sobreviventes após as aplicações dos inseticidas (Robertson e Worner, 1990;

Desneux et al., 2007). Na fase adulta o efeito subletal pode provocar alteração na longevidade, redução na capacidade de oviposição e da massa corpórea do inseto (Liu et al., 2020).

Devido a preocupação crescente com os severos danos provocados por *P. xylostella*, em cultivos de brássicas, medidas de controle focadas no MIP são indispensáveis e, nesse sentido, a criação e a multiplicação de insetos em laboratório têm grande importância para estudos dos aspectos biológicos da praga e de seus métodos de controle. Nesse sentido, o estabelecimento de uma metodologia eficiente e econômica para a criação da praga em laboratório ainda é um dos grandes desafios para pesquisadores. A produção massal de insetos em biofábricas possibilita a realização de pesquisas nas diferentes áreas da Entomologia, facilitando ações em relação às diferentes medidas de controle, sendo fundamental para isso obter-se êxito na adequação da metodologia de criação (Parra, 2009; De Bortoli et al., 2018).

Dentro deste contexto, os objetivos do trabalho foram: (1) gerar informações que favoreçam a melhoria da eficiência da criação de *P. xylostella* em laboratório, avaliando-se alguns substratos para a oviposição, procurando-se também tornar o processo menos dependente do hospedeiro natural e de menor custo; (2) avaliar o efeito de ciantraniliprole (inseticida químico), de *Btk* HD-1 (inseticida biológico) e do extrato de *P. cubeba* em ovos e na oviposição de *P. xylostella*, em condições de laboratório; (3) determinar o nível de fitotoxicidade do extrato de *P. cubeba* para couve; e (4) determinar as CLs 10 e 25 de modo a permitir estudos sobre os efeitos subletais desses produtos.

2. Revisão de literatura

2.1. Brassicaceae: aspectos gerais

A família Brassicaceae (Cruciferae) apresenta elevada importância econômica, com cerca de 340 gêneros distribuídos em todo o mundo. Pelo padrão de distribuição das espécies, estudos sugerem que seu centro de origem seja no

Mediterrâneo oriental e regiões adjacentes, o mesmo local onde há a maior concentração de espécies (Özüdogru et al., 2015)

As brassicás apresentam grande diversidade de espécies, sendo as mais comumente cultivadas couve, brócolis, couve-flor, repolho (*Brassica oleracea* L.), rabanete (*Raphanus sativus* L.) e mostarda (*Sinapis alba* L.), como também algumas espécies de couve e repolho ornamentais (Al-Shehbaz, 2012; Nikolov et al., 2019; Samec e Salopek-Sondi, 2019).

No Brasil, o repolho se destaca por ser uma das hortaliças mais produzidas e consumidas, com seu cultivo abrangendo todo território nacional, com maior escala nas regiões Sudeste e Sul, sendo que no Estado de São Paulo a produção de 2020 foi superior a 8.500 toneladas (IEA, 2021).

A qualidade e o rendimento das colheitas das brassicáceas podem ser afetados por insetos-praga que causam injúrias e danos nos diferentes estágios de desenvolvimento das plantas, desde a fase de muda até a colheita. Dentre as várias pragas que atacam essa cultura, a traça-das-crucíferas, *P. xylostella*, é considerada praga-chave praticamente em todo o mundo (Talekar e Shelton, 1993; Furlong et al., 2013).

2.2. *Plutella xylostella*

2.2.1. Ocorrência e distribuição

A traça-das-crucíferas tem como centro de origem a região do Mediterrâneo, atualmente com presença em praticamente todos os locais onde ocorre seus hospedeiros, sendo considerada uma espécie cosmopolita (Frost, 1949; Talekar e Shelton, 1993; Cheng et al., 2008).

Em regiões de clima com temperaturas mais elevadas, as gerações dessa praga são contínuas, enquanto nas regiões com temperaturas mais baixas sua ocorrência é sazonal (Zalucki e Furlong, 2011; Castelo Branco e França, 2015). Além disso, também é necessário se considerar o alcance de sua migração devido à capacidade migratória dos adultos, que podem se deslocar a grandes distâncias, enquanto nos estágios imaturos pode ser dispersado em material vegetal, também

infestando outras regiões (Chapman et al., 2002; Furlong et al., 2013; Capinera, 2015).

2.2.2. Aspectos morfológicos e biológicos

Plutella xylostella apresenta ciclo de desenvolvimento relativamente curto e “populações” com alta variabilidade genética, particularmente em relação à resistência a produtos químicos e biológicos utilizados no seu combate, o que acarreta grande dificuldade de controle (Budhi et al., 2017).

O ciclo de vida desse inseto varia de acordo com as variáveis climáticas, especialmente temperatura, umidade relativa (UR) e intensidade da precipitação pluviométrica, que podem favorecer ou prejudicar seu desenvolvimento biológico (Harcourt, 1983; Guo e Qin, 2011; Farias et al., 2020), o que, segundo Otuka et al. (2011), podem prolongar o seu ciclo de vida em até 50 dias, particularmente quando as larvas são expostas a temperaturas mais baixas. Nas regiões com médias de temperatura mais elevadas pode-se ter até 30 gerações do inseto por ano (Marchioro e Foerster, 2011; Li et al., 2016; Ngowi et al., 2017).

Os seus ovos são pequenos, ovais, com menos de um milímetro em seu maior diâmetro, e com coloração amarelo brilhante, tornando-se marrom pouco antes da eclosão das larvas (Medeiros et al., 2003). As lagartas recém-eclodidas apresentam hábito minador, alimentam-se do parênquima entre as duas lâminas foliares. Do segundo ínstar até ao final do desenvolvimento larval, as lagartas vivem expostas alimentando-se da epiderme das folhas (Imenes et al., 2002), tendo elas coloração que varia de acordo com o substrato alimentar, sendo normalmente verde pálido no início de desenvolvimento, passando a verde mais escuro em idades mais avançadas. No primeiro e no segundo ínstaes a cabeça das lagartas é de coloração preta, sendo nos demais marrom esverdeado. O período larval médio é de 10 dias (Medeiros et al., 2003), variando com as condições climáticas e com o substrato alimentar (De Bortoli et al., 2011; Otuka et al., 2011; De Bortoli et al., 2014; Ramalho, 2018).

A mariposa é de porte pequeno (~9mm) e de coloração parda, com as asas formando ligeira curvatura quando em repouso e apresentando em sua face dorsal

uma mancha alongada de coloração prateada e em forma de diamante (Hardy, 1938; Justus e Mitchell, 1999), o que lhe deu o nome popular na língua inglesa de “diamondback moth”. A oviposição é feita preferencialmente na parte abaxial das folhas, com ovos isolados ou em grupos de três a cinco, em um total médio de aproximadamente 350 ovos por fêmea (Talekar e Shelton, 1993; Silva e Furlong, 2012; Farias et al., 2020).

2.2.3. Importância econômica e controle

A traça-das-crucíferas é a praga mais destrutiva das brássicas em todo o mundo (Furlong et al., 2013), com as larvas causando danos pela desfolha imposta às plantas, levando a perdas de rendimento da ordem de 25% em couve-flor (Subramanian et al., 2010) e de 91% em repolho (Ayalew, 2006). Além disso, produtos perfurados ou com a presença de larvas normalmente têm sua qualidade muito prejudicada, o que muitas vezes é causa de rejeição pelo mercado consumidor (Vail et al., 1989; Capinera, 2015).

Como já mencionado, o controle da traça-das-crucíferas apresenta dificuldades devido ao rápido ciclo de vida e a alta variabilidade genética das populações, o que invariavelmente promove o uso indiscriminado de inseticidas químicos, gerando gasto anual estimado em cerca de US \$ 4-5 bilhões (Furlong et al., 2013). Muitos estudos indicam táticas alternativas ao controle químico para o combate a *P. xylostella*, sendo elas o uso de variedades resistentes (Boiça Júnior et al., 2011), feromônio sexual (Michereff et al., 2000), culturas armadilhas (Charleston e Kfir, 2000), plantas inseticidas (Torres et al., 2001), uso de extratos naturais de plantas (Neves e Nogueira, 1996), bem como o controle biológico, com o emprego de predadores, parasitoides e microrganismos entomopatogênicos (Dias et al., 2004).

Além do alto custo monetário com as tentativas de controle, as exposições prolongadas a inseticidas e mal supervisionadas resultaram na seleção de indivíduos resistentes de *P. xylostella* a um grande número dos ingredientes ativos empregados (Zago et al., 2010), bem como a certos bioinseticidas, particularmente a alguns que têm como base *B. thuringiensis* (De Bortoli, 2018; APRD, 2021).

Apesar dos danos da praga estimularem o emprego de agrotóxicos, o uso intensivo dessas substâncias causa graves prejuízos, como o desequilíbrio ecológico, a presença de resíduos nos alimentos, destruição dos inimigos naturais, problemas toxicológicos e, principalmente, a resistência de insetos aos produtos químicos (De Bortoli et al., 2013). Assim, a resistência a produtos químicos e a alguns agentes de controle biológico tem resultado na busca por novas medidas de controle e, como alternativa, têm-se os inseticidas botânicos (extratos de plantas). Esses extratos também se apresentam como boas opções para o desenvolvimento de novos inseticidas, uma vez que normalmente são biodegradáveis e manifestam baixa toxicidade aos animais não alvo. Desse modo, pesquisas com substâncias de origem botânica são extremamente importantes para a formulação de novos produtos ecologicamente mais seguros para o manejo de insetos-praga (Kim et al., 2003; Krinski et al., 2014).

2.3. Considerações gerais sobre inseticidas botânicos

Algumas espécies de plantas desenvolveram defesas físicas e químicas contra uma grande variedade de insetos herbívoros. As substâncias químicas produzidas pelas plantas, os chamados “metabólitos secundários” (fenóis, polifenóis, terpenoides e alcaloides), podem ser extraídas de diferentes formas, desde a simples maceração da planta em água e a extração usando solventes orgânicos, bem como por vários tipos de destilação (Dubey, 2011). O uso desses compostos do metabolismo secundário, que são sintetizados como parte da autodefesa natural das plantas contra patógenos e pragas, fazem delas alternativas promissoras e fontes praticamente inesgotáveis de produtos inseticidas (Miresmailli e Isman, 2014).

O controle de insetos por meio de produtos naturais extraídos de plantas é realizado há mais de 3.000 anos, com os primeiros casos registrados de inseticidas botânicos relacionados a óleos repelentes (Dubey, 2011). Posteriormente, algumas plantas passaram a ser utilizadas contra insetos-praga na agricultura, sendo que o primeiro inseticida botânico efetivamente empregado contra insetos fitófagos foi produzido no século 17, utilizando-se a nicotina como princípio ativo existente em folhas de tabaco (Pavela, 2016).

Os inseticidas botânicos podem ser divididos em dois grandes grupos, de acordo com o local de produção e finalidade (comercial ou não). No primeiro grupo colocam-se os produtos que são produzidos na propriedade agrícola, sendo denominados “on farm products”, de manufatura artesanal e de acordo com receitas tradicionais familiares, normalmente passadas de geração para geração, não tendo, portanto, finalidade comercial. No segundo grupo são incluídos os produtos que apresentam finalidade comercial, sendo eles normalmente produzidos por pequenas companhias, muitas vezes de importância regional. Pode-se dizer que numerosos produtos atualmente estão no mercado, sendo eles, porém, baseados em um pequeno número de espécies vegetais, como por exemplo *Azadirachta indica* Juss. (Meliaceae) e *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trevir.) Vis. (Asteraceae) (Pavela, 2016).

No mercado mundial, como principal inseticida botânico, tem-se o óleo de “Neem” que tem como base as sementes de *A. indica*. Além dessa espécie, as plantas mais promissoras para serem utilizadas como fontes de inseticidas botânicos pertencem às famílias Rutaceae, Asteraceae, Annonaceae, Lamiaceae, Canellaceae (Jacobson, 1989; Pavela, 2016), destacando-se também Piperaceae (Parmar et al., 1997; Lucena, 2015).

Os produtos à base de extratos vegetais podem ter ação inseticida aguda ou crônica e, além disso, nas misturas pode-se observar ação sinérgica, particularmente pelo fato das substâncias isoladamente exibirem diferentes mecanismos de ação, fato que normalmente concorre para o não desenvolvimento de populações de pragas resistentes (Shapiro et al., 1994; Isman, 2006; Miresmailli e Isman, 2014).

Um dos aspectos positivos do uso de inseticidas botânicos é a segurança ambiental, uma vez que podem ser degradados fácil e rapidamente por meio de mecanismos naturais, como a fotodegradação e a volatilização (Fernandez-Perez et al., 2014; Krinski et al., 2014; Flores-Cespedes et al., 2015; Pavela, 2016). Porém, a utilização de produtos à base de extratos botânicos podem provocar efeitos negativos como a fitotoxicidade (Ismail et al., 2012), sendo, assim, é de extrema importância pesquisas com a finalidade de observar os resultados da aplicação destes extratos (Truzzi, 2020).

2.3.1. A família Piperaceae

Espécies da família Piperaceae são encontradas nos trópicos de ambos os hemisférios, porém apresentam grande concentração na América Latina e na Malásia. Embora a família não tenha tantas espécies como outras, ainda assim pode ser considerada grande, uma vez que conta com cinco gêneros e cerca de 3000 espécies descritas (Yuncker, 1958; Tebbs, 1993).

Normalmente o porte das Piperaceae varia de árvores ou arbustos a trepadeiras e ervas terrestres, apresentando em sua composição voláteis e células oleosas. As folhas são extremamente polimórficas, variando em tamanho, disposição e forma (Tebbs, 1989 e 1990).

As células foliares de Piperaceae apresentam óleos essenciais, os quais contêm monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanos em proporções mais ou menos semelhantes, e com esses compostos fazendo parte da composição de diversos medicamentos e de especiarias de qualidade alimentar, as quais foram utilizadas por diversas civilizações passadas, continuando em uso nos dias atuais (Tripathi et al., 1996; Parmar et al., 1997).

2.3.2. O gênero *Piper*

O gênero *Piper* contém aproximadamente 1.000 espécies, sendo várias delas consideradas de importância econômica por serem utilizadas como especiarias, medicamentos tradicionais e como inseticidas (Simpson e Ogorzaly, 1995; Chaveerach et al., 2006; Dos Santos et al., 2017).

A pimenta preta, *Piper nigrum* L. (Piperales: Piperaceae), é uma das espécies mais famosas por ser condimento muito apreciado, sendo utilizada como tempero praticamente no mundo todo há muitos séculos, representando uma cultura comercial importante para vários países, entre eles o Brasil (Simpson e Ogorzaly, 1995; Chaveerach et al., 2006). Em relação a parte medicinal, *Piper guineense* Schum e Thonn é popularmente utilizada na África como antitussígeno, sendo suas sementes também empregadas no tratamento de cólicas estomacais (Iwu, 1993; Scott et al., 2007).

No gênero *Piper* já foi encontrado uma grande variedade de metabólitos secundários, com cerca de 700 já isolados (Dyer e Palmer, 2004) e, apesar da grande variedade de compostos secundários produzidos por espécies de Piperaceae, são as amidas que apresentam o maior porcentual de compostos identificados com atividade inseticida (Parmar et al., 1997; Reigada, 2009).

Algumas dessas amidas apresentam atividade inseticida já relatada contra *Anticarsia gemmatilis* (Hübner, 1818) (Lepidoptera: Erebidæ), *Alabama argillacea* (Hübner, 1818) (Lepidoptera: Erebidæ) e *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidæ), além de outros lepidópteros (Miranda et al., 2002; Navickiene et al., 2007; Truzzi, 2020). A primeira amida de Piperaceae a ser isolada, a piperina, apresenta alto potencial inseticida, porém, outras amidas também já isoladas apresentam essa característica contra lepidópteros, com relatos de elevada toxicidade da piperina para *P. xylostella* (Park et al., 2002; Park, 2012).

A grande variedade de compostos secundários presentes nas espécies do gênero *Piper* despertou grande interesse quanto às suas bioatividades, particularmente em relação ao potencial repelente e inseticida, incluindo toxicidade por contato, sinergismo com outros compostos e ação anti-alimentar, tanto a insetos, como para nematoides e alguns fungos (Lee et al., 2001; Scott et al., 2007; Chaubey, 2011).

Os primeiros registros de atividade inseticida de óleos essenciais do gênero *Piper* foram para o gorgulho *Callosobruchus chinensis* (Linnaeus, 1758) (Coleoptera: Bruchidæ) (Miyakado et al., 1979 e 1980), havendo também estudos sobre a ação inseticida em hemípteros e lepidópteros de importância agrícola, entre eles *P. xylostella*, *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1808) (Lepidoptera: Noctuidæ), *S. frugiperda* e *A. gemmatilis* (Agra et al., 2007; Navickiene et al., 2007; De Castro et al., 2008; Kraikrathok et al., 2013; Dos Santos et al., 2017; Truzzi, 2020), além de outros lepidópteros (Miranda et al., 2002; Navickiene et al., 2007; Truzzi, 2020). A primeira amida de Piperaceae a ser isolada, a piperina, apresenta alto potencial inseticida, porém, outras amidas também já isoladas apresentam essa característica contra lepidópteros, com relatos de elevada toxicidade para *P. xylostella* (Park et al., 2002; Park, 2012).

2.3.3. A espécie *Piper cubeba*

A pimenta cubeba, *Piper cubeba* L., é uma trepadeira comumente cultivada para produção dos frutos e de óleo essencial. Os frutos são colhidos quando já estão totalmente desenvolvidos, porém ainda verdes, sendo normalmente secos ao sol até ficarem pretos e enrugados (Pradeep, 2021).

É uma planta nativa da Indonésia, sendo amplamente distribuída em regiões tropicais da Ásia, África Central e Ocidental, América do Sul e Central e ilhas do Oceano Pacífico (Parmar et al., 1997). Essa espécie caracteriza-se pela presença de metabólitos secundários como taninos, saponinas, flavonoides, alcaloides e compostos fenólicos, o que a destaca para área farmacêutica, por ter ação antimicrobiana, anti-inflamatória e antibacteriana (Pradeep, 2021). Diante das espécies pertencentes a esse gênero, *P. cubeba* tem sido avaliada devido suas propriedades biológicas, particularmente de suas lignanas com atividades tripanocida, esquistossomicida, anti-inflamatória e citotoxicidade contra linhagens de câncer (Pissurno e Laurentiz, 2017; Lima e Laurentiz, 2018).

Porém, na literatura existem poucos relatos sobre o efeito inseticida de compostos retirados dessa espécie, seja na forma de metabólitos secundários isolados ou de extratos (Harmatha e Nawrot, 2002; Murthy e Rani, 2009). Pesquisas realizadas com pragas de grãos-armazenados, elaboradas por Harmatha e Nawrot (2002), indicaram a atividade inseticida dos metabólitos de *P. cubeba*. Esses autores estudaram a ação anti-alimentar das lignanas yateína, hinoquinina e cubebina em *Sitophilus granarius* (Linnaeus, 1875) (Coleoptera: Curculionidae) e *Tribolium confusum* Jacquelin du Val, 1863 (Coleoptera: Tenebrionidae), constatando alto potencial anti-alimentar dessas lignanas.

2.4. Controle biológico com *Bacillus thuringiensis*

A introdução de inseticidas químicos ocorreu no final da década de 1940, com o uso excessivo desses produtos tendo como justificativa a ação rápida e a fácil aplicação. Porém, isso causou muitos efeitos indesejáveis, como a contaminação do meio ambiente e a intoxicação do homem e de outros animais. Os problemas

causados pelo uso excessivo de inseticidas químicos resultaram na busca por novas moléculas inseticidas menos perigosas e mais seletivas, além da implementação do Manejo Integrado de Pragas (MIP), com a adoção de programas de controle biológico como novas táticas de combate às pragas agrícolas (Furlong et al., 2008; Grzywacz et al., 2010).

No contexto do controle biológico, a bactéria *B. thuringiensis* (Bt) tem sido o entomopatógeno mais utilizado para o combate de pragas agrícolas, especialmente pelo seu alto potencial inseticida e especificidade aos organismos alvos (Lacey et al., 2015; Fiuza et al., 2017). O Bt é uma bactéria em forma de bastonete, Gram-positiva, esporulante e que sintetiza grandes quantidades de proteínas cristalinas parasporais (cristais) durante a esporulação, sendo as δ -endotoxinas (toxinas Cry e Cyt) as mais importantes para o controle de espécies de Coleoptera, Diptera, Hemiptera e Lepidoptera (Praça et al., 2007; Rabinovitch et al., 2017). Além das δ -endotoxinas, também apresentam células vegetativas (VIPs), importantes na virulência da bactéria (Zhang et al., 1995; Guo et al., 2008; De Bortoli e Jurat-Fuentes, 2019).

A ação inseticida de Bt ocorre a partir da ingestão das toxinas que são dissolvidas no ambiente alcalino do intestino, com a solubilização das protoxinas. As proteínas tóxicas se ligam a receptores no revestimento intestinal, causando lise de células epiteliais, o que ocasiona a paralização da alimentação do inseto e, na sequência, a morte do mesmo por septicemia (Bravo et al., 2007; Adang et al., 2014; De Bortoli e Jurat-Fuentes, 2019) (Figura 1).

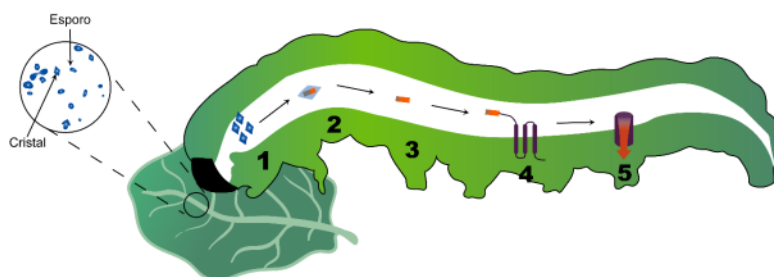


Figura 1. Esquema do modo de ação das toxinas Cry de *Bacillus thuringiensis*, de acordo com Peralta e Palma (2017). 1) Ingestão do cristal, solubilização e liberação da protoxina no intestino; 2) Ativação da protoxina a partir da proteólise; 3) Liberação da toxina ativada no intestino; 4) Ligação da toxina nos receptores das células; e 5) Formação do poro, desequilíbrio osmótico e lise celular. Imagem de Nunes (2020).

Apesar do Bt ser uma alternativa aos inseticidas químicos, várias espécies de lepidópteros-praga já selecionaram populações resistentes às suas toxinas. O primeiro relato de resistência ao Bt foi na década de 80 e desde então vários estudos têm reportado outras ocorrências (McGaughey, 1985; Ferré e van Rie, 2002). Diferentes trabalhos discutem os possíveis mecanismos de resistência apresentados pelos organismos alvos, com Ferré e van Rie (2002) relatando três possíveis causas: (i) processamento proteolítico da protoxinas; (ii) reparo mais rápido das células do intestino; e (iii) modificação do sítio de ligação da proteína Cry. Dentre essas opções, a (iii) parece ser a mais aceita.

As proteínas tóxicas de *B. thuringiensis* são utilizadas em plantas geneticamente modificadas ou em produtos formulados, sendo estes aplicados normalmente via pulverização (Sanahuja et al., 2011). Nas formulações são utilizadas misturas de toxinas Cry, geralmente de duas subespécies, *B. thuringiensis* var. *kurstaki* e *B. thuringiensis* var. *aizawai* (Paul et al., 2017; Raymond e Federici, 2017).

O mercado global de bioinseticidas está em contínua expansão, estimando-se estar próximo de US \$ 7,7 bilhões, com taxa de crescimento anual de cerca de 14,0%, podendo esse mercado representar 3% do mercado total de inseticidas (Glare et al., 2012; Ruiu, 2018). Atualmente, existem mais de 40 produtos baseados em Bt para controle de insetos em várias culturas, o que representa 1% do mercado global de inseticidas, correspondendo a um volume anual de aproximadamente US \$ 210 milhões (Sharma et al., 2021). No Brasil existem 32 produtos registrados no MAPA que utilizam Bt como agente de controle (Agrofit, 2022).

Além da utilização de bioinseticidas à base de Bt via pulverizações, também existe a alternativa de plantas transgênicas com capacidade de síntese das toxinas para o controle de insetos-praga (Habib e Andrade, 1998). Variedades de brassicáceas como de canola, repolho e couve-flor geneticamente modificados expressando genes de toxinas Bt foram testadas contra traça-das-crucíferas em ensaios de campo e de casas de vegetação. Apesar dos testes terem tido sucesso quanto ao controle, os estudos foram interrompidos devido a questões regulatórias e de liberação (Furlong et al., 2013). Assim, a forma mais utilizada para o controle de *P. xylostella* relacionada ao Bt ainda são os bioinseticidas (Zago et al., 2014;

Legwaila et al., 2015), sendo uma das espécies que apresenta o maior número de bioinseticidas à base de Bt registrados para seu controle (Santos et al., 2019).

Não obstante a grande quantidade de bioinseticidas registrados, o uso intensivo desses produtos pode também selecionar resistência da praga, sendo já relatados vários casos de resistência, tanto com bioinseticidas como com plantas Bt (Tabashnik et al., 1990; Vanlaldiki et al., 2013; Zago et al., 2014). Mas, uma das suas principais vantagens em relação aos inseticidas químicos de amplo espectro, é a seletividade aos organismos benéficos não alvo (inimigos naturais) (Glare et al., 2012; Lacey et al., 2015; Rao e Jurat Fuentes, 2020).

2.5. Controle químico com ciantraniliprole

Dentre as chamadas ferramentas do MIP, os inseticidas químicos sintéticos ainda são os mais utilizados no manejo da traça-das-crucíferas nas diferentes regiões do mundo. Alguns desses produtos frequentemente utilizados para o controle de *P. xylostella* são ciantraniliprole, indoxacarbe, metomil, clorantraniliprole, acefato, deltametrina e permetrina (AGROFIT, 2021).

A grande quantidade de aplicações, aliado à alta fecundidade, plasticidade genética e tempo de geração bastante rápido da praga levaram à seleção de resistência em populações de campo de *P. xylostella* a mais de 100 produtos, não se conseguindo mais controlar de maneira eficiente as populações da praga com suas aplicações (APRD, 2021).

Vários estudos documentaram diferentes níveis de resistência em *P. xylostella* a piretroides (Tamilselvan et al., 2020), organofosforados (Ramya et al., 2016) e diamidas (Kishore et al., 2014; Shanmugapriya et al., 2019). A evolução da resistência pode ser retardada com algumas ações como: o rodízio de inseticidas com diferentes mecanismos de ação; monitoramento e controle da praga apenas quando a infestação atingir o nível de controle; utilização de mais de um método de controle (MIP); e o emprego de inseticidas seletivos para a preservação de inimigos naturais na área (Tamilselvan et al., 2020).

No caso do ciantraniliprole, inseticida considerado seletivo, de recente introdução no mercado (Selby et al., 2016), que pertence à classe química das

diamidas antranílicas (IRAC - grupo 28), com ação sistêmica, de ingestão e de contato, atuando nos moduladores de receptores da rianodina. O modo de ação deste inseticida está ligado ao glutamato, um tipo de neurotransmissor envolvido no processo de excitação e contração muscular dos insetos, o qual ocorre através de canais de cálcio intracelulares, os receptores de rianodina. Estes receptores estão presentes em grande número na membrana do retículo sarcoplasmático das células musculares, atuando como mediadores da liberação de cálcio. As diamidas são capazes de ativar os receptores de rianodina, induzindo uma liberação descontrolada de estoques de íons de cálcio nas células musculares, causando contração ininterrupta que rapidamente leva o inseto a morte (Selby et al., 2013; Pozebon e Arnemann, 2021).

A empresa Dupont, com o co-desenvolvimento da Syngenta, criou o produto comercial Benevia®, que pertence ao grupo químico ciantraniliprole. Esse inseticida apresenta alta eficiência e amplo espectro de atividade para lepidópteros e outras pragas, com aplicações em baixas concentrações, sendo praticamente não tóxico aos vertebrados e inimigos naturais, quando utilizados de acordo com as recomendações do fabricante, fazendo do produto um inseticida indicado para programas de MIP (Selby et al., 2013; Pozebon e Arnemann, 2021).

Pelo cálculo do coeficiente de partição (expresso como logP) é possível estimar a capacidade hidrofílica de uma molécula, sendo que quanto menor o valor de logP mais solúvel em água é o produto, tornando-o mais adequado para aplicações sistêmicas, pois assim o produto terá a capacidade de translocação no sistema vascular das plantas, agindo nos insetos que atacam a parte aérea (Liu e Sparks Jr., 2001).

Até o momento várias espécies de insetos desenvolveram resistência a diferentes grupos de inseticidas devido às pulverizações intensas para o seu controle e, apesar das diamidas serem eficientes para controle de *P. xylostella*, o grande potencial desta praga em selecionar populações resistentes acarretou problema também com esse novo produto em algumas regiões do mundo, incluindo o Brasil (Ribeiro et al., 2014), China (Qi et al., 2014) e Japão (Jouraku et al., 2020). Além disso, também há relatos de resistência cruzada da traça-das-crucíferas com outros compostos químicos como a espinosina (Lima Neto et al., 2016).

Os insetos desenvolvem resistência a vários produtos químicos por meio de resistência do local alvo, resistência comportamental, resistência à penetração e resistência metabólica. A resistência metabólica está ligada à transformação bioquímica de uma toxina, em que o composto tóxico é modificado em um componente menos tóxico (Mamidala et al., 2011). Esse modo de resistência para as moléculas de diamidas em insetos ainda não está bem elucidado (Richardson et al., 2020), sendo, porém, constatada a ocorrência de uma mutação nos receptores de rianodina em *P. xylostella*, responsável pela resistência do inseto (Trocza et al., 2012; Trocza et al., 2017; Jouraku et al., 2020).

2.6. Efeitos subletais em insetos como ferramenta para o MIP

Apesar dos vários novos métodos de controle disponíveis para serem incorporados ao MIP, o uso de agrotóxicos permanece como o método mais utilizado para o combate a insetos-praga, com esses produtos podendo agir de forma aguda (efeito letal) ou crônica (efeito subletal). As doses letais representam informações importantes para se avaliar a eficiência dos inseticidas e o desenvolvimento de populações de pragas resistentes, enquanto as doses subletais são normalmente utilizadas para se estimar os efeitos colaterais dos produtos, como alterações fisiológicas e comportamentais em insetos-praga e inimigos naturais, bem como nos polinizadores. A avaliação desses efeitos também é importante para se compreender o que ocorre com os insetos sobreviventes após a aplicação dos inseticidas (Desneux et al., 2007; França et al., 2017).

Apesar de no campo os insetos tenderem a ser expostos a doses recomendadas dos produtos pelos fabricantes, fatores abióticos como chuva, temperatura e raios ultravioleta podem diminuir a ação desses produtos. Desse modo, os insetos estão sempre expostos a doses subletais em condições de campo (Stark et al., 1995). As doses subletais podem influenciar parâmetros biológicos, fisiológicos, demográficos ou comportamentais dos indivíduos ou populações que sobrevivem à exposição aos produtos aplicados. Reduções nas expectativas de vida, na alimentação, na fertilidade, no tempo de desenvolvimento, na fecundidade,

nos parâmetros de tabela de vida e na razão sexual são alguns dos parâmetros utilizados para se mensurar esses efeitos subletais (Lee, 2000; França et al., 2017).

Doses subletais de alguns inseticidas neurotóxicos provocam significativos impactos na fecundidade e na fertilidade dos insetos, podendo essas ações estarem relacionadas a mudanças comportamentais, com especial destaque durante a fase reprodutiva. Em relação à *P. xylostella*, o inseticida ciantraniliprole diminuiu o período de oviposição, fecundidade, fertilidade e emergência de adultos (Shanmugapriya et al., 2018), sendo que a interferência na fecundidade também ocorreu em *Helicoverpa assulta* Guenée, 1852 (Lepidoptera: Noctuidae) (Dong et al., 2016).

Alguns óleos essenciais e seus compostos, quando em doses subletais, também podem interferir em parâmetros da biologia dos insetos. Esses produtos presentes na erva-de-santa-maria, *Chenopodium (Dysphania) ambrosioides* L. (Caryophyllales: Amaranthaceae), demonstraram atividade em *P. xylostella* diminuindo o consumo foliar pelas lagartas, reduzindo o peso e o desenvolvimento pupal (Wei et al., 2015). Em *S. frugiperda*, óleos essenciais de *Piper hispidinervum* (C. DC.) reduziram a sobrevivência, provocaram alterações no peso e diminuíram a longevidade dos adultos, além de reduzir a fecundidade e fertilidade da praga (Cruz et al., 2014).

A avaliação dos efeitos subletais dos inseticidas nos insetos é de grande importância para os programas de manejo integrado de pragas, pois doses que não causam a morte do inseto, mas que interferem negativamente nas características biológicas, podem reduzir as populações nas gerações seguintes, concorrendo para a diminuição no potencial de prejuízos dos cultivos subsequentes (França et al., 2017).

3. Referências

- Adang MJ, Crickmore N, Jurat-Fuentes JL (2014) Diversity of *Bacillus thuringiensis* crystal toxins and mechanism of action. In.: Dhadialla TS, Gill SS (Eds.) **Advances in Insect Physiology**. New York: Elsevier, p. 39-70
- Agra MF, Freitas PF, Barbosa-Filho JM (2007) Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia** 17:114-140. doi:10.1590/S0102-695X200700010002

AGROFIT (2021) Sistema de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: <https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 27 mai. 2021.

AGROFIT (2022) Sistema de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: <https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 27 jan. 2022.

Almeda F, Astorga I, Orellana A, Sampuel L, Sierra P, Gaitán I, Cáceres A (2015) *Piper* genus: source of natural products with anti-tyrosinase activity favored in phytocosmetics. **International Journal of Phytocosmetics and Natural Ingredients** 2(1):6. doi:10.15171/ijpni

Al-Shehbaz IA (2012) A generic and tribal synopsis of the Brassicaceae (Cruciferae). **Taxon** 61:931–954.

Angus TA (1956) Association of toxicity with protein-crystalline inclusions of *Bacillus sotto* Ishiwata. **Canadian Journal of Microbiology** 2:122-131.

APRD-Arthropod pesticide resistance database (2021) Disponível em:<<http://www.pesticideresistance.org/>>. Acesso em: 20 mai. 2021.

Arnason JT, Philogène BJR, Morand P (1990) **Insecticide of plant origin**. Washington: American Chemical Society, 214 p.

Arthurs S, Dara SK (2019) Microbial biopesticides for invertebrate pests and their markets in the United States. **Journal of Invertebrate Pathology** 165:13-21.

Ayalew G (2006) Comparison of yield loss on cabbage from Diamondback moth, *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) using two insecticides. **Crop Protection** 25:915–919.

Baker GJ, Kovaliski J (1999) Detection of insecticide resistance in *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) populations in South Australian crucifer crops. **Australian Journal of Entomology** 38:132-134.

Batista-Pereira LG, Castral TC, Silva MTM, Amaral BR, Fernandes JB, Vieira PC, Silva MFGF, Corrêa AG (2006) Insecticidal activity of synthetic amides on *Spodoptera frugiperda*. **Zeitschrift für Naturforschung C** 61:196-202.

Bell A, Fellows LE, Simmonds MSJ (1990) Natural products from plants for the control of insect pests. In: Hodgson E, Kuhr RJ (Eds.) **Safer insecticide development and use**. New York: Marcel Dekker, p. 337-383.

Boiça Júnior AL, Tagliari SRA, Pitta RM, Jesus FGD, Braz LT (2011) Influence of cabbage genotypes (*Brassica oleracea* L. var. *acephala* DC.) on the biology of *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae). **Ciência e Agrotecnologia**, 35(4):710-717.

Bravo A, Gill SS, Soberón M (2007) Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. **Toxicon** 49(4):423-435.

Bravo A, Likitvivatanavong S, Gill SS, Soberón M (2011) *Bacillus thuringiensis*: a story of a successful bioinsecticide. **Insect Biochemistry and Molecular Biology** 41:423-431.

Budhi R, Sharma KC, Chandel VGS, Devi N (2017) Variations in developmental biology and morphometrics of diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae) collected from different geographic areas of North Indian. **Environment & Ecology** 35:829-833.

Cameron P, Walker G, Warning DB (1998) Moth resistant to pesticide. **Comercial Grower** 53(2):12-13.

Capinera JL (2015) **Diamondback moth, *Plutella xylostella* (Linnaeus) (Insecta: Lepidoptera: Plutellidae).** University of Florida. Disponível em: <<https://edis.ifas.ufl.edu/pdf/files/IN/IN27600.pdf>>. Acesso em: 20 mai. 2021.

Castelo Branco M, França FH (2015) Traça das crucíferas, *Plutella xylostella* (L). In.: Vilela EF, Zucchi RA (Eds.) **Pragas introduzidas no Brasil: insetos e ácaros.** Piracicaba: FEALQ, p. 516-528.

Castelo Branco M, Gatehouse AG (1997) Insecticide resistance in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae) in the Federal District, Brazil. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil** 26:75-79.

Castelo Branco M, França FH, Pontes LA, Amaral PST (2003) Avaliação da suscetibilidade a inseticidas em populações de traça-das-crucíferas de algumas áreas do Brasil. **Horticultura Brasileira** 21(3):549-552.

Charleston DS, Kfir R (2000) The possibility of using Indian mustard, *Brassica juncea*, as a trap crop for the diamondback moth, *Plutella xylostella*, in South Africa. **Crop Protection** 19:455-460.

Chattopadhyay P, Banerjee G (2018) Recent advancement on chemical arsenal of Bt toxin and its application in pest management system in agricultural field. **3 Biotech** 8(4):201. doi:10.1007/s13205-018-1223-1.

Chapman JW, Reynolds DR, Smith AD, Riley JR, Pedgley DE, Woivod IP (2002) High altitude migration of the diamondback moth *Plutella xylostella* to the UK: a study using radar, aerial netting, and ground trapping. **Ecological Entomology** 27(7):641-650.

Chaubey MK (2011) Insecticidal properties of *Zingiber officinale* and *Piper cubeba* essential oils against *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae). **Journal of Biologically Active Products from Nature** 1(5-6):306-313. doi:10.1080/22311866.2011.10719098

Chaveerach A, Mookamul P, Sudmoon R, Tanee T (2006) Ethnobotany of the genus *Piper* (Piperaceae) in Thailand. **Ethnobotany Research & Applications** 4:223-231. doi:10.17348/era.4.0.223-231

Cheng L, Yu G, Chen Z, Li Z (2008) Insensitive acetylcholine receptor conferring resistance of *Plutella xylostella* to nereistoxin insecticides. **Agricultural Sciences in China** 7(7):847-852.

Cruz GS, Wanderley-Teixeira V, Oliveira JV, Correia AA, Breda MO, Alves TJS, Cunha FM, Teixeira AAC, Dutra KA, Navarro DMAF (2014) Bioactivity of *Piper hispidinervum* (Piperales: Piperaceae) and *Syzygium aromaticum* (Myrtales: Myrtaceae) oils, with or without formulated Bt on the biology and immunology of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economic Entomology** 107:144–153. doi:10.1603/EC13351

De Bortoli SA, Vacari AM, Goulart RM, Santos RF, Volpe HXL, Ferraudo AS (2011) Capacidade reprodutiva e preferência da traça-das-crucíferas para diferentes brassicáceas. **Horticultura Brasileira** 29(2):187-192.

De Bortoli SA, Polanczyk RA, Vacari AM; De Bortoli CP, Duarte RT (2013) *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae): tactics for integrated pest management in Brassicaceae. In: SOLONESKI, S.; LARRAMENDY, M. (Eds.) **Weed and pest control** - conventional and new challenges. Rijeka: IntechOpen, p. 31-51.

De Bortoli SA; Carvalho JS, Vacari AM, Goulart RM (2014) Consumo foliar da traça-das-crucíferas em couve e brócolis tratados com sinigrina. **Arquivos do Instituto Biológico** 81:264-271.

De Bortoli CP (2018) **The investigation of factors potentially involved in resistance to *Bacillus thuringiensis* in native *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) populations.** 127 p. Tese (Doutorado em Entomologia Agrícola), Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

De Bortoli CP, Jurat-Fuentes JL (2019) Mechanisms of resistance to commercially relevant entomopathogenic bacteria. **Current Opinion in Insect Science** 1:1-23.

De Bortoli SA, Truzzi CC, Nunes GS, Magalhães GO, Vieira NF, Santos NA, Cardoso CP (2018) Criação de insetos para pesquisa e alimentação. In.: Castilho RC, Truzzi CC, Pinto CPG (Eds.) **Tópicos em entomologia agrícola - XI**. Jaboticabal: Gráfica Multipress Ltda., p. 13-40.

De Castro MJP, Da Silva PHS, Pádua LEM (2008) Atividade de *Piper tuberculatum* Jacq. (Piperaceae) sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). **Revista Ciência Agronômica** 39:437-442.

Dequech STB, Egewarth R, Sausen CD, Sturza VS, Ribeiro LP (2009) Ação de extratos de plantas na oviposição e na mortalidade da traça-das-crucíferas. **Ciência Rural** 39(2):551-554.

Desneux N, Decourtye A, Delpuech JM (2007) The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. **Annual Review of Entomology** 52:81-106.

Dias DGS, Soares CMS, Monnerat RG (2004) Avaliação de larvicidas de origem microbiana no controle da traça-das-crucíferas em brócolis-flor. **Horticultura Brasileira** 22(3):553-556.

Dong J, Wang K, Li Y, Wang S (2016) Lethal and sublethal effects of cyantraniliprole on *Helicoverpa assulta* (Lepidoptera: Noctuidae). **Pesticide Biochemistry and Physiology** 136:56-68. doi:10.1016/j.pestbp.2016.08.003

Dos Santos TLB, Turchen LM, Dall'Oglio EL, Butnariu AR, Pereira MJB (2017) Phytochemical of *Piper* essential oil and acute toxicity against *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias** 12:484-489. doi: 10.5039/agraria.v12i4a5482

Dubey NK (2011) **Natural products in pest management**. London: CAB International, 293 p.

Duke SO, Dayan FE, Rimando AM (2000) Natural products and herbicide discovery. In: Cobb AH, Kirkwood RC (Eds.) **Herbicides and their mechanisms of action**. Sheffield: Sheffield Academic Press, p. 105-133.

Dyer LA, Palmer AM (2004) **Piper**: a model genus for studies of evolution, chemical ecology and trophic interactions. New York: Kluwer Academic Publishers, 228 p.

Estrela JLV, Guedes RNC, Maltha CRA, Fazolin M (2003) Toxicidade de amidas análogas à piperina a larvas de *Ascia monuste orseis* Godart (Lepidoptera: Pieridae) e *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology** 32:343-346.

Farias ES, Santos AA, Ribeiro AV, Carmo DG, Paes JS, Picanço MC (2020) Climate and host plants mediating seasonal dynamics and within-plant distribution of the diamondback moth (*Plutella xylostella*). **Crop Protection** 134:105172. doi: 10.1016/j.cropro.2020.105172

Fernández-Chapa D, Ramírez-Villalobos J, Galán-Wong L (2019) Toxic potential of *Bacillus thuringiensis*: An overview. In: Jia Y (Ed.) **Protecting rice grains in the postgenomic era**. Rijeka: IntechOpen. p. 1-22.

Fernandez-Perez M, Flores-Cespedes F, Daza-Fernandez I, Vidal-Pena F, Villafranca-Sanchez M (2014) Lignin and lignosulfonate-based formulations to protect pyrethrins against photodegradation and volatilization. **Industrial and Engineering Chemistry Research** 53:13557–13564

Ferré J, van Rie J (2002) Biochemistry and genetics of insect resistance to *Bacillus thuringiensis*. **Annual Review of Entomology** 47:501-533.

Fiuza LM, Polanczyk RA, Crickmore N (2017) ***Bacillus thuringiensis* and *Lysinibacillus sphaericus***: characterization and use in the field of biocontrol. Cham: Springer, 288 p.

Flores-Cespedes F, Martinez-Dominguez GP, Villafranca-Sanchez M, Fernandez-Perez M (2015) Preparation and characterization of Azadirachtin alginate-biosorbent based formulations: water release kinetics and photodegradation study. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 63:8391–8398.

França SM, Breda MO, Barbosa DRS, Araujo AMN, Guedes CA (2017) The sublethal effects of insecticides in insects. In.: Shields VDC (Ed.) **Biological control of pest and vector insect**. London: IntechOpen, p. 163-200.

Friedrich K, Almeida VES, Augusto LGS, Gurgel AM, Souza MMO, Alexandre VP, Carneiro FF (2018) Agrotóxicos: mais venenos em tempos de retrocessos de direitos. **Revista OKARA: Geografia em debate** 12(2):326-347. doi: 10.22478/ufpb.1982-3878.2018v12n2.41320

Frost SW (1949) The diamondback moth in Pennsylvania. **Journal of Economic Entomology** 42(4):681-682.

Fu Z, Sun Y, Xia L, Ding X, Mo X, Li X, Huang K, Zhang Y (2008) Assessment of protoxin composition of *Bacillus thuringiensis* strains by use of polyacrylamide gel block and mass spectrometry. **Applied Microbiology and Biotechnology** 79:875-878.

Furlong MJ, Ju KH, Su PW, Chol JK, Il RC, Zalucki MP (2008) Integration of endemic natural enemies and *Bacillus thuringiensis* to manage insect pests of *Brassica* crops in North Korea. **Agriculture, Ecosystems & Environment** 125:223–238.

Furlong MJ, Wright DJ, Dosdall LM (2013) Diamondback moth ecology and management: problems, progress, and prospects **Annual Review of Entomology** 58:517–541.

Glare T, Caradus J, Gelernter W, Jackson T, Keyhani N, Köhl J, Marrone P, Morin L, Stewart A (2012) Have biopesticides come of age? **Trends in Biotechnology** 30(5):250–258.

Glare TR, O'Callaghan M (2000) ***Bacillus thuringiensis***: biology, ecology and safety. Chichester: John Wiley & Sons. 350 p.

Grzywacz D, Rossbachb A, Rauf A, Russel DA, Srinivasane R, Shelton AM (2010) Current control methods for diamondback moth and other brassica insect pests and the prospects for improved management with lepidopteran-resistant Bt vegetable brassicas in Asia and Africa. **Crop Protection** 29(1):68-79.

Guimarães EF, Carvalho-Silva M, Monteiro D, Medeiros ES, Queiroz GA. 2015. **Piperaceae**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro: Rio de Janeiro. Disponível em:<<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB190>>. Acesso em: 25 out. 2021.

Guo G, Zhang L, Zhou Z, Ma Q, Liu JP, Zhu C, Zhu L, Yu ZN, Sun M (2008) A new group of parasporal inclusions encoded by the S-layer gene of *Bacillus thuringiensis*. **FEMS Microbiology Letters** 282(1):1-7.

Guo S, Qin Y (2011) Effects of temperature and humidity on emergence dynamics of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). **Journal of Economic Entomology** 103(6):2028–2033.

Habib MEM, Andrade CFS (1998) Bactérias entomopatogênicas. In.: Alves, SB (Ed.) **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ, p. 383-446.

Han LC, Stanley PA, Wood PJ, Sharma P, Kuruppu AI, Bradshaw TD, Moses JE (2016) Horner-Wadsworth-Emmons approach to piperlongumine analogues with potent anti-cancer activity. **Organic and Biomolecular Chemistry** 14(31):7585–7593.

Han W, Zhang S, SHEN F, Liu M, Ren C, Gao X (2012) Residual toxicity and sublethal effects of chlorantraniliprole on *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). **Pest Management Science** 68(8):1184-1190.

Harcourt DG (1983) Major mortality factors in the population dynamics of the diamondback moth, *Plutella maculipennis* (Curt.) (Lepidoptera: Plutellidae). **Memoirs of the Entomological Society of Canada** 95(S32):55–66.

Hardy JE (1938) *Plutella maculipennis* Curt., its natural and biological control in England. **Bulletin of Entomological Research** 29:343–372.

Harmatha J, Nawrot J (2002) Insect feeding deterrent activity of lignans and related phenylpropanoids with a methylenedioxyphenyl (piperonyl) structure moiety. **Entomologia Experimentalis et Applicata** 104:51-60.

IEA. Instituto de Economia Agrícola (2021) Anuários: banco de dados. Disponível em:<<http://www.iea.sp.gov.br/ftp/iea/AIA/AIA-13-2021.pdf>>. Acesso em: 28 mai. 2021.

Imenes SDL, Campos TB, Rodrigues Netto SM, Bergmann EC (2002) Avaliação da atratividade de feromônio sexual sintético da traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), em cultivo orgânico de repolho. **Arquivos do Instituto Biológico** 69(1):81-84.

Ismail T, Sestili P, Akhtar S (2012) Pomegranate peel and fruit extracts: a review of potential anti-inflammatory and anti-infective effects. **Journal of Ethnopharmacology** 143:397-405.

Isman MB (2006) Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology** 51:46–66.

Iwu MM (1993) **Handbook of African medicinal plants**. Boca Raton: CRC Press, 435 p.

Jacobson M (1989) Botanical pesticides: past, present and future. In.: Arnason JT, Philogene BJR, Morand P (Eds.) **Insecticides of plant origin**. Washington: American Chemical Society, p. 1-10.

Jouraku A, Kuwazaki S, Miyamoto K, Uchiyama M, Kurokawa T, Mori E, Mori MX, Mori Y, Sonoda S (2020) Ryanodine receptor mutations (G4946E and I4790K) differentially responsible for diamide insecticide resistance in diamondback moth, *Plutella xylostella* L. **Insect Biochemistry and Molecular Biology** 118:103308.

Justus KA, Mitchell BK (1999) Reproductive morphology, copulation, and interpopulational variation in the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). **International Journal of Insect Morphology and Embryology** 28:233-246.

Kim SI, Roh JY, Kim DH, Lee HS, Ahn YJ (2003) Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. **Journal of Stored Products Research** 39:293-303.

Kishore MN, Krishnamoorthy SV, Kuttalam S (2014) Baseline susceptibility of diamondback moth *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) to chlorantraniliprole 18.5 SC in Tamil Nadu. **Madras Agricultural Journal** 101:261-265.

Kraikrathok C, Ngamsaeng S, Bullangpoti V, Pluempanupat W, Koul O (2013) Bio efficacy of some Piperaceae plant extracts against *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae). **Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences** 78(2):305–309.

Krinski D, Massaroli A, Machado M (2014) Potencial inseticida de plantas da família Annonaceae. **Revista Brasileira de Fruticultura** 36:225-242.

Lacey LA, Grzywacz D, Shapiro-Ilan DI, Frutos R, Brownbridge M, Goettel MS (2015) Insect pathogens as biological control agents: back to the future. **Journal of Invertebrate Pathology** 132:1-41.

Lee CY (2000) Sublethal effects of insecticide on longevity, fecundity, and behaviour of insect pests: a review. **Bioscience Journal** 11:107–112.

Lee S-E, Park B-S, Kim M-K, Choi W-S, Kim H-T, Cho K-Y, Lee S-G, Lee H-S (2001) Fungicidal activity of pipernonaline, a piperidine alkaloid derived from long pepper, *Piper longum* L., against phytopathogenic fungi. **Crop Protection** 20:523–528

Legwaila MM, Munthali DC, Kwerepe BC, Obopile M (2015) Efficacy of *Bacillus thuringiensis* (var. kurstaki) against diamondback moth (*Plutella xylostella* L.) eggs and larvae on cabbage under semi-controlled greenhouse conditions. **International Journal of Insect Science** 7:39-45.

Li Z, Feng X, Liu SS, You M, Furlong MJ (2016) Biology, ecology, and management of the diamondback moth in China. **Annual Review of Entomology** 61:277-296.

Lima Neto JE, Amaral MHP, Siqueira HAA, Barros R, Silva PAF (2016) Resistance monitoring of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) to risk-reduced insecticides and cross resistance to spinetoram. **Phytoparasitica** 44(5):631-640.

Lima RG, Barros MT, Laurentiz RS (2018) Medicinal attributes of lignans extracted from Piper Cubeba: current developments. **Chemistry Open** 7:180-191.

Liu TX, Sparks Jr AN (2001) **Aphids on cruciferous crops identification and management**. Disponível em: <<https://agrifecdn.tamu.edu/texaslocalproduce-2/files/2018/07/Aphids-on-Cruciferous-Crops-Identification-and-Management.pdf>>. Acesso em: 20 jun. 2021.

Liu J-F, Zhang Z-Q, Beggs JR, Paderes E, Zou X, Wei X-Y (2020) Lethal and sublethal effects of entomopathogenic fungi on tomato/potato psyllid, *Bactericera cockerelli* (Šulc) (Hemiptera: Trioizidae) in capsicum, **Crop Protection** 129:105023. doi:10.1016/j.cropro.2019.105023.

Lucena DR (2015) **Atividade biológica de extratos de Piper aduncum e Piper hispidinervum sobre Anticarsia gemmatilis e Spodoptera frugiperda**. 64 p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul.

McCaffery AR (1998) Resistance to insecticides in Heliothine Lepidoptera: a global view. **Philosophical Transactions of the Royal Society B** 353:1735-1750.

Mamidala P, Jones SC, Mittapalli O (2011) Metabolic resistance in bed bugs. **Insects** 2:36-48.

Marchioro CA, Foerster LA (2011) Development and survival of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae), as a function of temperature: effect on the number of generations in tropical and subtropical regions. **Neotropical Entomology** 40(5):533-541.

Mcgaughey WH (1985) Insect resistance to the biological insecticide *Bacillus thuringiensis*. **Science** 229:193-195.

Medeiros CAM, Boiça Júnior AL, Torres AL (2005) Efeito de extratos aquosos de plantas na oviposição da traca-das-crucíferas, em couve. **Bragantia** 64:227-232.

Medeiros PT, Dias JMCS, Monnerat RG, Souza NR (2003) Instalação e manutenção de criação massal da traça-das-crucíferas (*Plutella xylostella*). Brasília: EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia, 4 p. (Circular técnica, 29).

Menezes ELA (2005) Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. Seropédica, Rio de Janeiro: EMBRAPA, 58 p.

Miranda JE, Oliveira JEM, Rocha KCG, De Bortoli SA, Navickiene HMD, Kato MJ, Furlan M (2002) Potencial inseticida do extrato de *Piper tuberculatum* (Piperaceae) sobre *Alabama argillacea* (Huebner, 1818) (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista de Oleaginosas e Fibrosas** 6(2):557-563.

Michereff MFF, Vilela EF, Michereff Filho M, Mafra Neto A (2000) Uso do feromônio sexual sintético para captura de machos da traça-das-crucíferas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 35(10):1919-1926.

Miresmailli S, Isman MB (2014) Botanical insecticides inspired by plant-herbivore chemical interactions. **Trends in Plant Science** 19:29–35.

Miyakado M, Nakayama I, Yoshioka H (1980) Insecticidal joint action of pipericide and co-occurring compounds isolated from *Piper nigrum* L. **Agricultural and Biological Chemistry** 44:1701-1703.

Miyakado M, Nakayama I, Yoshioka H, Nakatani N (1979) The Piperaceae amides I: structure of pipericide, a new insecticidal amide from *Piper nigrum* L. **Agricultural and Biological Chemistry** 43:1609-1611.

Murthy JM, Rani PU (2009) Biological activity of certain botanical extracts as larvicides against the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti* L. **Journal of Biopesticides** 2(1):72-76.

Navickiene HMD, Miranda JE, De Bortoli SA, Kato MJ, Bolzani VS, Furlan M (2007) Toxicity of extracts and isobutyl amides from *Piper tuberculatum*: potent compound with potential for the control of velvetbean caterpillar, *Anticarsia gemmatilis*. **Pest Management Science** 63:399-403. doi:10.1002/ps.1340

Ndumu PA (1999) Toxicity of Neem Seed Oil (*Azadiracta indica*) against the Larvae of *Amblyomma variegatum* a Three-host tick in Cattle. **Phytotherapy Research** 13:532-534. doi: 10.1002/(SICI)1099-1573(199909)13:6<532::AID-PTR492>3.0.CO;2-C

Neves BP, Nogueira JCM (1996) Cultivo e utilização do nim indiano (*Azadirachta indica* A. Juss.). Goiânia: EMBRAPA. **Circular Técnica** 32. 28p.

Ngowi BV, Tonnang HE, Mwangi EM, Johansson T, Ambale J, Ndegwa PN, Subramanian S (2017) Temperature-dependent phenology of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae): simulation and visualization of current and future distributions along the Eastern Afrotropical. **PLoS One** 12:e0173590

Nikolov LA, Shushkov P, Nevado B, Gan X, Al-Shehbaz IA, Filatov D, Bailey CD, Tsiantis M (2019) Resolving the backbone of the Brassicaceae phylogeny for investigating trait diversity. **New Phytologist** 1:1-14.

Nunes GS (2020) **Relações tróficas entre *Euborellia annulipes* (Lucas) (Dermaptera: Anisolabididae) e *Bacillus thuringiensis* no manejo de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae).** 82 p. Tese (Doutorado em Entomologia Agrícola) – Unesp, Jaboticabal.

Otuka AK, De Bortoli SA, Vacari AM, Vieira NF, Alencar JRCC, Viana MA (2011) Armazenamento de lagartas de *Plutella xylostella* sob diferentes temperaturas e períodos de exposição. **Horticultura Brasileira** 29:619-626.

Özüdogru B, Akaydin G, Erik S, Al-Shehbaz IA, Mummenhoff K (2015) Phylogeny, diversification and biogeographic implications of the eastern Mediterranean endemic genus *Ricotia* (Brassicaceae). **Taxon** 64:727–740.

Park B-S, Lee S-E, Choi W-S, Jeong C-Y, Song C, Cho K-Y (2002) Insecticidal and acaricidal activity of pipernonaline and piperocetadecalinone derived from dried fruits of *Piper longum* L. **Crop Protection** 21(3):249-251.

Park I-K (2012) Larvicidal activity of constituents identified in *Piper nigrum* L. fruit against the diamondback moth, *Plutella xylostella*. **Korean Journal of Applied Entomology** 51(2):149-152.

Parmar VS, Jain SC, Bisht KS, Jain R, Taneja P, Jha A, Tyagi OD, Prasad AK, Wengel J, Olsen CE (1997) Phytochemistry of the genus *Piper*. **Phytochemistry** 46:597-673.

Parra JRP (2009) A evolução das dietas artificiais e suas interações em ciência e tecnologia. In.: Panizzi AR, Parra JRP (Eds.) **Bioecologia e nutrição de insetos: base para o manejo integrado de pragas.** Brasília: EMBRAPA, p. 91-174.

Paul S, Paul B, Khan MA, Aggarwal C, Rath MS, Tyagi SP (2017) Characterization and evaluation of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* based formulation for field persistence and insect biocontrol. **Indian Journal of Agricultural Sciences** 87:473-478.

Pavela R (2016) History, presence and perspective of using plant extracts as commercial botanical insecticides and farm products for protection against insects – a review. **Plant Protection Science** 52(4):229–241. doi:10.17221/31/2016-PPS

Peralta C, Palma L (2017) Is the insect world overcoming the efficacy of *Bacillus thuringiensis*? **Toxins** 9(1):39. doi:10.3390/toxins9010039

Pissurno APR, Laurentiz RS (2017) Cubebina: uma pequena molécula com grande potencial. **Revista Virtual de Química** 9(2):656-671.

Pozebon H, Arnemann JA (2021) Como funcionam as diamidas? Disponível em: <<https://maissoja.com.br/como-funcionam-as-diamidas/#:~:text=As%20diamidas%20s%C3%A3o%20capazes%20de,introduzido%20pela%20DuPont%20em%202008>>. Acesso em: 20 mai. 2021.

Praça LB, Martins ÉS, Melatti VM, Monnerat RG (2007) *Bacillus thuringiensis* Berliner (Eubacteriales: Bacillaceae): aspectos gerais, modo de ação e utilização. Brasília: EMBRAPA, 40 p. (Documentos, 239).

Pradeep K (2021) A review on medicinal plant *Piper cubeba* L. and its pharmaceutical properties. **International Journal of the Science of Food and Agriculture** 5(1):174-179. doi:10.26855/ijfsa.2021.03.022

Qi SZ, Lummen P, Nauen R, Casida JE (2014) Diamide insecticide target site specificity in the *Heliothis* and *Musca* ryanodine receptors relative to toxicity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 62:4077-4082.

Quijano-Abril MA, Callejas-Posada R, Miranda-Esquivel DR (2006) Areas of endemism and distribution patterns for Neotropical *Piper* species (Piperaceae). **Journal of Biogeography** 33:1266-1278.

Rabinovitch L, Vivoni AM, Machado V, Knaak N, Berlitz DL, Polanczyk RA, Fiuza LM (2017) *Bacillus thuringiensis* characterization: morphology, physiology, biochemistry, pathotype, cellular, and molecular aspects. In: Fiuza LM, Polanczyk RA, Crickmore N (Eds.) ***Bacillus thuringiensis* and *Lysinibacillus sphaericus***: characterization and use in the field of biocontrol. Basel: Springer, p. 1-18.

Ramalho DG (2018) **Efeito do estresse hídrico na composição química de brássicas e sua influência em *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lep.: Plutellidae) e *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hym.: Trichogrammatidae)**. 146 p. Tese (Doutorado em Entomologia), Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, USP, Ribeirão Preto.

Ramya SL, Venkatesan T, Murthy KS, Jalali SK, Abraham V (2016) Field-evolved insecticide resistance and biochemical validation of enzyme activities in diamondback moth, *Plutella xylostella*. **Indian Journal of Plant Protection** 44(1):9-15.

Rao T, Jurat-Fuentes J (2020) Advances in the use of entomopathogenic bacteria/microbial control agents (MCAs) as biopesticides in suppressing crop insect pests. In: Birch N, Glare T (Orgs.) **Biopesticides for sustainable agriculture**. Cambridge: Burleigh Dodds Science Publishing. p. 1-37.

Raymond B, Federici BA (2017) In defense of *Bacillus thuringiensis*, the safest and most successful microbial insecticide available to humanity – a response to EFSA. **FEMS Microbiology Ecology** 93(7):fix084. doi:10.1093/femsec/fix08

- Reigada JB (2009) **Bioprospecção em espécies de Piperaceae**. 133 p. Dissertação (Mestrado em Química), Instituto de Química, USP, São Paulo.
- Ribeiro LMS, Wanderley-Teixeira V, Ferreira HN, Teixeira AAC, Siqueira HAA (2014) Fitness costs associated with field-evolved resistance to chlorantraniliprole in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). **Bulletin of Entomological Research** 104(1):88–96.
- Richardson EB, Troczka BJ, Gutbrod O, Davies TGE, Nauen R (2020) Diamide resistance: 10 years of lessons from lepidopteran pests. **Journal of Pest Science** 93(1):911-928.
- Robertson JL, Worner SP (1990) Population toxicology: suggestions for laboratory bioassays to predict pesticide efficacy. **Journal of Economic Entomology** 83(1):8-12.
- Ruiu L (2018) Microbial biopesticides in agroecosystems. **Agronomy** 8(11):235. doi:10.3390/agronomy8110235
- Samec D, Salopek-Sondi B (2019) Cruciferous (Brassicaceae) vegetables. In.: Nabavi SM, Silva AS (Eds.) **Nonvitamin and nonmineral nutritional supplements**. Gurgaon: Elsevier, p. 195–202.
- Sanahuja G, Banakar R, Twyman RM, Capell T, Christou P (2011) *Bacillus thuringiensis*: a century of research, development and commercial applications. **Plant Biotechnology Journal** 9:283-300.
- Santos MS, Dias NP, Costa LL, De Bortoli CP, Souza EH, Santos ACF, De Bortoli SA, Polanczyk RA (2019) Interactions of *Bacillus thuringiensis* strains for *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) susceptibility. **Journal of Invertebrate Pathology** 168:107255. doi:10.1016/j.jip.2019.107255
- Santos VC, De Siqueira HAA, Da Silva JE, De Farias MJDC (2011) Insecticide resistance in populations of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), from the state of Pernambuco, Brazil. **Neotropical Entomology** 40(2):264-270.
- Scott IM, Jensen HR, Philogène BJR, Arnason JT (2007) A review of *Piper* spp. (Piperaceae) phytochemistry, insecticidal activity and mode of action. **Phytochemistry Reviews** 7(1):65–75. doi:10.1007/s11101-006-9058-5
- Selby TP, Laham GP, Stevenson TM, Hughes KA, Cordova D, Annan IB, Barry JD, Benner EA, Currie MJ, Pahutski TF (2013) Discovery of cyantraniliprole a potent and selective anthranilic diamide ryanodine receptor activator with cross-spectrum insecticidal activity. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters** 23(23):6341–6345. doi:10.1016/j.bmcl.2013.09.076

Selby TP, Lahm GP, Stevenson TM (2016) A retrospective look at anthranilic diamide insecticides: discovery and lead optimization to chlorantraniliprole and cyantraniliprole. **Pest Management Science** 73(4):658-665. doi:10.1002/ps.4308.

Shanmugapriya V, Edward JTYS, Kannan M, Kumar SM, Ramanathan A (2018) Toxicity and sub lethal effects of diamide insecticide (Cyantraniliprole 10.26 OD) on the biology of Diamondback moth, *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae). **Pest Management in Horticultural Ecosystems** 24(2):109-114.

Shanmugapriya V, Edward YSJT, Kannan M, Mohan S (2019) Baseline toxicity of diamide group of insecticides against diamondback moth, *Plutella xylostella* L. **International Journal of Chemical Studies** 7(3):3524-3527.

Shapiro M, Robertson JL, Webb RE (1994) Effect of neem seed extract upon the gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae) and its nuclear polyhedrosis virus. **Journal of Economic Entomology** 87(1):356-360.

Sharma L, Bohra N, Rajput VD, Quiroz-Figueroa FR, Singh RK, Marques G (2021) Advances in entomopathogen isolation: a case of bacteria and fungi. **Microorganisms** 9(1):16. doi:10.3390/microorganisms9010016

Silva R, Furlong MJ (2012) Diamondback moth oviposition: effects of host plant and herbivory. **Entomologia Experimentalis et Applicata** 143:218-230.

Simpson BB, Ogorzaly MO (1995) **Plants in our world: economic botany**. New York: McGraw-Hill Inc., 742 p.

Stark JD, Jepson PC, Mayer D (1995) Limitations to the use of topical toxicity data for predictions of pesticide side effects in the field. **Journal of Economic Entomology** 88(5):1081–1088. doi:10.1093/jee/88.5.1081

Subramanian S, Rabindra RJ, Sathiah N (2010) Economic threshold for the management of *Plutella xylostella* with granulovirus in cauliflower ecosystem. **Phytoparasitica** 38:5–17.

Tabashnik B, Cushing NL, Finson N, Johnson MW (1990) Field development of resistance to *Bacillus thuringiensis* in diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). **Journal of Economic Entomology** 83(5):1671-1676.

Talekar NS, Shelton AM (1993) Biology, ecology, and management of the diamondback moth. **Annual Review of Entomology** 38:275–301.

Tamilselvan R, Kennedy JS, Suganthi A (2020) Monitoring the resistance and baseline susceptibility of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) against spinetoram in Tamil Nadu, India. **Crop Protection** 142:105491. doi:10.1016/j.cropro.2020.105491

Tebbs MC (1993) Piperaceae. In.: Kubitzki K, Rohwer JG, Bittrich V (Eds.) **The families and genera of vascular plants**. Berlin: Springer, p. 516-520. doi:10.1007/978-3-662-02899-5_60

Tebbs MC (1989) Revision of *Piper* (Piperaceae) in the New World 1. Review of characters and taxonomy of *Piper* section Macrostachys. **Bulletin of the Natural History Museum (Botany series)** 19:117-158.

Tebbs MC (1990) Revision of *Piper* (Piperaceae) in the New World 1. The taxonomy of *Piper* section Churumayu. **Bulletin of the Natural History Museum (Botany series)** 20:193-236.

Thuler RT, De Bortoli SA, Barbosa JC (2007) Eficácia de inseticidas químicos e produtos vegetais ao controle de *Plutella xylostella*. **Científica** 35(2):166-174.

Torres AL, Barros R, Oliveira, JV de (2001) Efeito de extratos aquosos de plantas no desenvolvimento de *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae). **Neotropical Entomology** 30(1):151-156.

Tripathi AK, Jain DC, Kumar S (1996) Secondary metabolites and their biological and medicinal activities of *Piper* species plants. **Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences** 18:302–321.

Trocza B, Zimmer CT, Elias J, Scorn C, Bass C, Davies TGE, Field LM, Williamson MS, Slater R, Nauen R (2012) Resistance to diamide insecticides in diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) is associated with a mutation in the membrane-spanning domain of the ryanodine receptor. **Insect Biochemistry and Molecular Biology** 42(11):873–880.

Trocza BJ, Williamson MS, Field LM, Davies TGE (2017) Rapid selection for resistance to diamide insecticides in *Plutella xylostella* via specific amino acid polymorphisms in the ryanodine receptor. **Neurotoxicology** 60:224–233. doi: 10.1016/j.neuro.2016.05.012

Truzzi CC (2020) ***Helicoverpa armigera* e *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae): dieta artificial, produtos para controle e efeitos em polinizadores**. 156 p. Tese (Doutorado em Agronomia/Entomologia Agrícola), Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

Vacari AM (2009) **Caracterização biológico-comportamental de *Podisus nigrispinus* (Dallas, 1851) predando *Plutella xylostella* (L, 1758)**. 102 p. Tese (Doutorado em Entomologia Agrícola), Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

Vail KM, Kok LT, Lentner M (1989) Broccoli yield response to selected levels of cabbage looper (Lepidoptera: Noctuidae) larvae in Southwestern Virginia. **Journal of Economic Entomology** 82:1437–1443.

Valicente FH (2015) **Manejo integrado de pragas na cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 13 p. (Circular Técnica, 208).

Vanlaldiki H, Singh MP, Sarkar PK (2013) Efficacy of eco-friendly insecticides on the management of diamondback moth (*Plutella xylostella*) on cabbage. Imphal: Central Agriculture University, 35 p.

Villa Lobos MJP (1996) **Plaguicidas naturales de origen vegetal**: estado actual de la investigacion. Madrid: Ministerio de Agricultura, Pesca Y Alimentacion, 35 p.

Wei H, Liu J, Li B, Zhan Z, Chen Y, Tian H, Shuo L, Gu X (2015) The toxicity and physiological effect of essential oil from *Chenopodium ambrosioides* against the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). **Crop Protection** 76:68-74. doi:10.1016 / j.cropro.2015.06.013

Yuncker TG (1958) The Piperaceae - a family profile. **Brittonia** 10(1):1-7. doi:10.2307/2804687

Zago HB, Barros R, Torres JB, Pratisoli D (2010) Distribuição de ovos de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) e o parasitismo por *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Neotropical Entomology** 39:241–247.

Zago HB, Siqueira HAA, Pereira EJG, Picanço MC, Barros R (2014) Resistance and behavioural response of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) populations to *Bacillus thuringiensis* formulations. **Pest Management Science** 70(3):488-405.

Zalucki MP, Furlong MJ (2011) Predicting outbreaks of a migratory pest: an analysis of DBM distribution and abundance revisited. In.: INTERNATIONAL WORKSHOP ON MANAGEMENT OF THE DIAMONDBACK MOTH AND OTHER CRUCIFER INSECT PESTS. Conference Paper... Nakhon Pathom, Thailand: AVRDC: The World Vegetable Centre, p. 8-14.

Zalucki MP, Shabbir A, Silva R, Adamson D, Shu-Sheng L, Furlong MJ (2012) Estimating the economic cost of one of the world's major insect pests, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae): just how long is a piece of string? **Journal of Economic Entomology** 105(4):1115–1129.

Zhang MY, Lovgren A, Lauden R (1995) Adhesion and cytotoxicity of *Bacillus thuringiensis* to cultured *Spodoptera* and *Drosophila* cells. **Journal of Invertebrate Pathology** 66(1):46-51.

CAPÍTULO 2 – Diferentes substratos de oviposição visando otimização da criação de *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) em laboratório

RESUMO – *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) é um dos insetos-praga mais estudados no mundo. Com o objetivo de melhorar a eficiência de criação desse inseto em laboratório, avaliou-se diferentes substratos para a oviposição. O bioensaio foi realizado em gaiolas semelhantes às aquelas normalmente utilizadas na criação de *P. xylostella*, visando se obter um substrato mais viável e econômico para oviposição. Foram usados disco de folha de couve sobre papel filtro umedecido com água deionizada (testemunha), disco de papel filtro umedecido com água deionizada, disco de papel filtro umedecido com extrato de folha de couve, disco de couve, disco de papel alumínio, disco de papel alumínio sobre papel filtro umedecido com água deionizada e disco de papel alumínio umedecido com extrato de folha de couve sobre papel filtro umedecido com água deionizada. Todos os substratos eram circulares e com 8 cm de diâmetro, sendo liberados cinco casais de adultos de *P. xylostella* por gaiola. Para os tratamentos com discos de folha de couve ou com extrato de folha de couve foi utilizado *Brassica oleracea* var. *acephala* – variedade ‘Manteiga da Geórgia’, normalmente empregada na criação do laboratório. Os ovos obtidos foram contabilizados 24 horas após liberação dos adultos e transferidos para cartelas quadriculadas com 100 divisões de 1 cm² cada, dispostas no interior de placas de Petri assentadas em papel filtro umedecido. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, sendo avaliados o número total de ovos por fêmea, a viabilidade dos ovos e o período embrionário. Disco de couve + papel filtro umedecido foi o melhor substrato para oviposição de *P. xylostella*.

Palavras-chave: couve, criação de insetos, traça-das-crucíferas, oviposição.

CHAPTER 2 – Different oviposition substrates aiming optimization of *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) rearing under laboratory conditions

ABSTRACT – *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) is one of the most studied insect pests in the world. In order to improve the efficiency of rearing this insect in the laboratory, different substrates for oviposition were evaluated. The bioassay was carried out in cages similar to those normally used for rearing *P. xylostella*, aiming to obtain a more suitable substrate for oviposition. We used collard green leaf disc on filter paper moistened with deionized water (control); filter paper disc moistened with deionized water; filter paper disc moistened with collard green leaf extract; collard green disc; aluminum sheet disc; aluminum sheet disc on filter paper moistened with deionized water; and aluminum sheet disc moistened with collard green leaf extract on filter paper moistened with deionized water. All substrates have had 8 cm in diameter. In each cage, five couples of *P. xylostella* adults were released. For treatments with collard green leaf discs or collard green leaf extract, the cultivar *Brassica oleracea* var. *acephala* – variety 'Manteiga da Georgia', normally used in the rearing. The eggs obtained were counted 24 hours after the release of the insects and adhered to a checkered card with 100 divisions placed inside a Petri dish seated on moistened filter paper. The experimental design was completely randomized, being evaluated the total number of eggs per female, egg viability and the embryonic period. Collard green disc + moistened filter paper is the best substrate for *P. xylostella* oviposition.

Keywords: collard green, insects rearing, diamondback moth, oviposition.

1. Introdução

A traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae), é uma espécie cosmopolita que pode ser encontrada nas diversas regiões do mundo produtoras de brassicáceas, em condições climáticas bastante variáveis (Dias et al., 2004; Mau e Kessing, 2007; Cheng et al., 2008). Este inseto apresenta um ciclo de vida curto, produzindo de 5 a 10 gerações por ano, podendo provocar significativos danos aos cultivos, especialmente de brássicas, em função da desfolha e da necessidade de controle, chegando a causar perdas de 20% em repolho e de até 95% em couve (Dias et al., 2004; Czepak et al., 2005; Vacari et al., 2008). Em certas situações, com os cultivos sujeitos à populações elevadas da praga, pode-se ter até perda total da produção (Medeiros et al., 2003).

No Brasil, *P. xylostella* é praga-chave nas principais áreas produtoras de brassicáceas, com a diversidade e a abundância de plantas hospedeiras sendo a principal razão para os altos níveis populacionais e de dano (Telekar e Shelton, 1993).

Na tentativa de minimizar os prejuízos, a grande maioria dos produtores têm dado preferência ao controle químico, que muitas vezes é realizado em número excessivo de aplicações (Chen et al., 2008; Wang et al., 2010). Nesse contexto, essa prática tem se mostrado ineficiente e, muitas vezes, tem dificultado o manejo da praga, além de concorrer para a seleção de indivíduos resistentes, como citado por Chen et al. (1996), Dias et al. (2004) e Wang et al. (2010).

Devido a preocupação crescente com os severos danos provocados por *P. xylostella*, medidas de controle focadas no Manejo Integrado de Pragas (MIP) são indispensáveis e, nesse sentido, a criação e a multiplicação de insetos em laboratório têm grande importância para estudos da biologia da praga e de seus métodos de controle, com o estabelecimento de uma metodologia eficiente e econômica para a sua criação e manutenção em laboratório sendo, ainda, um dos grandes desafios para os pesquisadores dessa área (Oliveira et al., 2010).

A produção massal de insetos em biofábricas possibilita a realização de pesquisas nas diferentes áreas da Entomologia, facilitando ações em relação ao controle químico, controle biológico, resistência de plantas, produção de feromônios,

entre outras (Montezano, 2014), concorrendo para a melhoria do MIP. Para que isso ocorra com sucesso, a adequação de metodologia de criação é fundamental, uma vez que influi diretamente na quantidade, qualidade e eficiência biológica dos indivíduos produzidos (Sorensen et al., 2012).

Para que se tenha uma biofábrica eficiente, alguns fatores devem ser considerados no processo de produção dos insetos, podendo-se citar: o tamanho da população inicial (fundadora); o tipo de alimento utilizado, particularmente sua qualidade; os recipientes de criação; a assepsia e as condições ambientais em que o processo de criação acontece, particularmente quanto à temperatura, umidade e fotoperíodo; e o controle de qualidade dos indivíduos produzidos (Cohen, 2015).

Nos sistemas de criação em laboratório, os insetos estão expostos à condições ambientais que, num primeiro momento normalmente devem se assemelhar àquelas de seu ambiente natural, visando garantir os requisitos necessários para o seu desenvolvimento e a continuidade de suas gerações (Cohen, 2018). A sobrevivência da fase imatura dos insetos (larvas e ninfas), em especial de lepidópteros que possuem pouca mobilidade, normalmente é influenciada pela escolha do substrato (planta hospedeira) onde os ovos são depositados (Renwick e Chew, 1994). Assim, a escolha da planta e do local para oviposição é condicionada à qualidade hospedeira (física e química), com a busca para o melhor desenvolvimento da prole (Leal e Zucoloto, 2008).

As características biológicas de *P. xylostella* podem variar significativamente de acordo com a planta em que as larvas se alimentam (Viana et al., 2008; De Bortoli et al., 2013), com o substrato também interferindo no comportamento de oviposição do inseto (De Bortoli et al., 2011) e até mesmo no desenvolvimento embrionário. Dessa maneira, o ciclo de desenvolvimento de *P. xylostella* pode influenciar diretamente na obtenção de populações desses insetos, especialmente em laboratório, o que pode facilitar ou dificultar a busca por novas estratégias de controle (Scriber e Slansky Jr., 1981), devendo ser salientado que uma espécie que se reproduz em mais de um hospedeiro, como é o caso de *P. xylostella*, normalmente apresenta melhor desenvolvimento no hospedeiro em que se encontra mais adaptada (Noriyuki, 2015).

Deste modo, o objetivo deste trabalho foi gerar informações que favoreçam a melhoria da eficiência da criação de *P. xylostella* em laboratório, avaliando-se alguns substratos para a oviposição, bem como tornar o processo menos dependente do hospedeiro original (folhas de couve) e de menor custo.

2. Material e métodos

Os bioensaios foram realizados no Laboratório de Biologia e Criação de Insetos (LBCI) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da FCAV/UNESP, em sala climatizada a 25 ± 1 °C, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase diária de 12 horas.

2.1. Insetos e plantas

Os insetos utilizados nos bioensaios foram de população de *P. xylostella* mantida no LBCI, sendo que os insetos (lagartas) que a originaram foram coletados em maio de 2008 em plantas de repolho de uma área de cultivo convencional no município de Alegre, Espírito Santo, Brasil. No laboratório, a criação está sendo mantida em *Brassica oleracea* var. *acephala*, variedade 'Manteiga Híbrida HS-20', tanto como alimento para as larvas, quanto como substrato para oviposição.

Para manutenção da criação de *P. xylostella*, pupas foram obtidas daquela criação, com os adultos emergidos liberados em gaiolas cilíndricas de plástico transparente (15 cm x 13 cm) contendo um disco de folha de couve colocado sobre um disco de papel filtro do mesmo tamanho (8 cm de diâmetro), levemente umedecido. Este papel, com o disco foliar, foi disposto sobre um copo plástico transparente com a abertura voltada para baixo, ficando a folha de couve elevada no interior da gaiola, onde ocorreu a oviposição. No ápice do recipiente (gaiola) foi feita uma abertura circular de 2,3 cm, utilizada para fixação de um pedaço de espuma embebida em solução aquosa de mel a 10% (alimentação dos adultos), sendo ela presa nessa abertura como uma pequena "trouxa" feita com tecido tipo "voile". Em cada gaiola foi feita também uma abertura lateral quadrada (10 cm x 10 cm), coberta com tecido tipo "voile", utilizada para o manuseio interno. Os discos de folha de

couve contendo os ovos foram retirados diariamente e transferidos para placas de Petri (10 cm de diâmetro) forradas com papel filtro mantido umedecido, onde permaneceram até a eclosão das lagartas. Na sequência as larvas foram transferidas para caixas plásticas retangulares (30 cm × 15 cm x 10 cm) contendo folhas de couve, as quais eram repostas de acordo com a necessidade, com as larvas aí permanecendo até a formação das pupas, sendo elas coletadas com o auxílio de pincel ou pinça e transferidas para tubos de ensaio de fundo chato (8 cm x 2 cm), os quais foram vedados com filme plástico (PVC) contendo pequenos orifícios feitos com o auxílio de um estilete, objetivando melhorar a aeração interna (Thuler, 2009) (Figura 1).

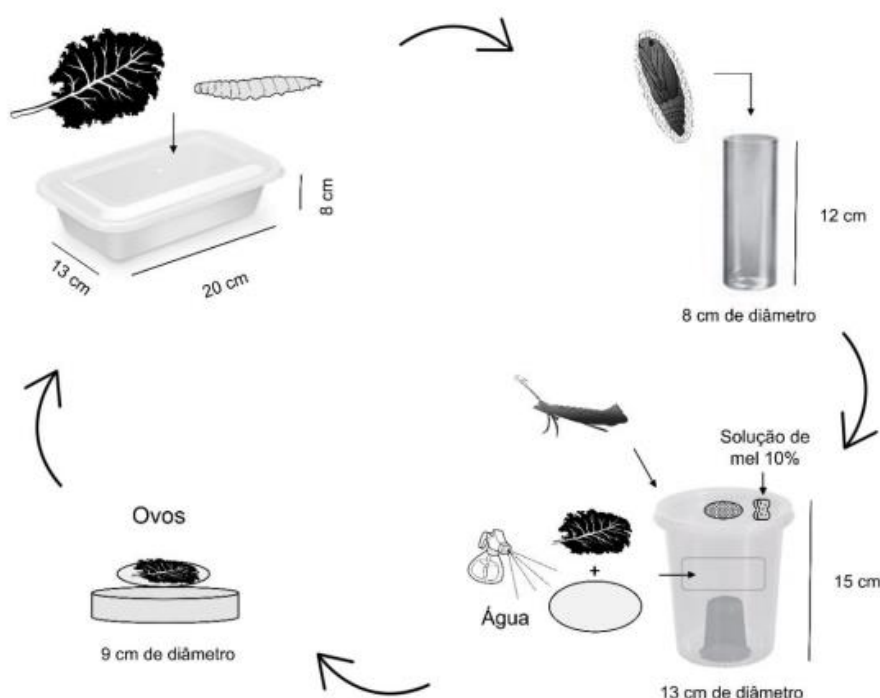


Figura 1. Esquema da metodologia para criação de *Plutella xylostella*. Imagem de Nunes (2020).

Como feito para a manutenção da população de *P. xylostella* no LBCI, para a alimentação das lagartas e como substrato de oviposição foi utilizada a cultivar 'Manteiga Híbrida HS-20'. As plantas foram cultivadas em área experimental da FCAV/Unesp e em casas-de-vegetação, sendo oriundas de mudas produzidas em casa-de-vegetação com substrato para hortaliças Plantmax® hortaliças HT. No

plantio de campo, de acordo com Filgueira (2008), foram seguidas as recomendações agronômicas para a cultura, realizando-se os tratos culturais convencionais e irrigação por gotejamento.

Para plantas mantidas em casas-de-vegetação seguiu-se o seguinte procedimento: mudas com 20 dias de germinadas foram transplantadas em vasos plásticos pretos com capacidade para 5 L, sendo eles preenchidos com substrato padrão composto por 195 L de terra de barranco peneirada (latossolo vermelho), 65 L de areia de rio grossa peneirada, 65 L de esterco de curral (bovino) curtido e peneirado, 30 L de casca de arroz e 5 L de Plantmax® hortaliças HT. Ao longo do ciclo vegetativo, as plantas receberam adubações complementares de NPK, sendo mantidas isentas de pragas, doenças e plantas invasoras normalmente por catação e capinas manuais. A irrigação na casa-de-vegetação foi feita por aspersão.

A cada 30 dias novas mudas foram transplantadas para vasos objetivando manter a disponibilidade de folhas viáveis para a criação. As folhas utilizadas para manutenção da criação do inseto no laboratório foram retiradas das plantas pelo período de 50 a 110 dias após o transplântio.

Para os bioensaios de oviposição foi utilizada a variedade 'Manteiga da Geórgia' de couve, considerada por Thuler et al. (2007) padrão de suscetibilidade, produzida da mesma maneira que a descrita para a var. 'Manteiga Híbrida HS-20'.

2.2. Avaliação dos substratos para oviposição

Os substratos para oviposição analisados compuseram os seguintes tratamentos: 1) Disco de folha de couve sobre papel filtro umedecido com água deionizada (testemunha); 2) Disco de papel filtro umedecido com água deionizada; 3) Disco de papel filtro umedecido com extrato de folha de couve; 4) Disco de folha de couve; 5) Disco de papel alumínio; 6) Disco de papel alumínio sobre papel filtro; 7) Disco de papel alumínio sobre papel filtro umedecido com extrato de folha de couve.

Para a obtenção dos extratos utilizados nos tratamentos 3 e 7 foi preparada uma mistura contendo 40 mL de água destilada e 13 g de folha de couve da variedade 'Manteiga da Geórgia' macerada em cadinho, com posterior coagem com

tecido de algodão de malha fina, sendo os respectivos substratos de oviposição tratados por imersão e secos a temperatura ambiente.

Para a montagem dos bioensaios, pupas de *P. xylostella* foram coletadas e colocadas em tubos de ensaio de fundo chato (2 cm de diâmetro x 8 cm de altura), fechados com filme plástico transparente PVC contendo pequenos orifícios para melhoria da aeração interna. Após a emergência, os adultos foram coletados com auxílio de um sugador, sexados e separados cinco casais para cada repetição (gaiola de oviposição), variando-se somente o substrato de oviposição. Esses discos foram substituídos diariamente, durante três dias consecutivos, conduzindo-se quatro repetições por tratamento. Cada substrato de oviposição foi examinado em microscópio estereoscópico, anotando-se o número de ovos depositados, determinando-se o número médio diário e o total de ovos por fêmea. Das posturas nos diferentes substratos foram retirados aleatoriamente 100 ovos e colocados em cartelas quadriculadas com 100 divisões de 1 cm² e acondicionadas em placas de Petri (15 cm de diâmetro) forradas com papel filtro levemente umedecido com água deionizada. Através de observações diárias desses ovos foram determinados o período de incubação e a viabilidade dos mesmos.

O delineamento experimental empregado foi o inteiramente casualizado, com 7 tratamentos e 5 repetições. Os dados obtidos foram submetidos aos testes de Shapiro-Wilk e Bartlett para verificação de normalidade e homocedasticidade, requisitos exigidos pela análise de variância (ANOVA). Os resultados de fecundidade das fêmeas foram transformados em raiz de $x + 0,5$ para atender aos requisitos da análise de variância ANOVA, e as médias comparadas pelo teste de Student Newman Keuls. Os resultados relativos à fertilidade dos ovos atenderam aos requisitos da análise de variância (ANOVA), sendo as médias comparadas pelo teste de Student Newman Keuls ($P = 0,05$), enquanto aqueles do período de incubação, como não atenderam aos requisitos da ANOVA, foram comparados pelo teste de Kruskal-Wallis (PROC NPAR1WAY). Toda análise foi realizada utilizando-se o programa SAS Institute (2002).

3. Resultados e discussão

Os resultados relativos ao número de ovos colocados por fêmea nos diferentes substratos encontram-se na Tabela 1, podendo-se verificar que a oviposição foi influenciada pelos mesmos. Bons índices de posturas foram obtidos com os discos de folha de couve, com a maior oviposição ocorrendo quando eles foram assentados em papel filtro umedecido com água deionizada (265,1 ovos/fêmea), substrato rotineiramente já utilizado na criação de laboratório. Os menores índices de ovos por fêmea foram obtidos em discos de papel filtro umedecido com água destilada (8,6 ovos/fêmea) e em discos de papel alumínio (8,2 ovos/fêmea). Com discos de couve isoladamente, obteve-se um valor intermediário de ovos por fêmea (126,6).

Em relação as características da fase de ovo, a viabilidade variou de 50,3%, em disco de papel alumínio sobre papel filtro umedecido com extrato de folha de couve, a 96,0%, em disco de papel filtro também com extrato de folha de couve. Já, o período de incubação apresentou um intervalo de variação bastante estreito (2,7 a 3,0 dias), com ambos os parâmetros biológicos não apresentando diferenças significativas entre os diferentes substratos utilizados (Tabela 2).

Um dos grandes desafios na pesquisa científica que envolve produção de insetos em ambientes controlados é estabelecer e ajustar uma metodologia de criação massal em laboratório, principalmente devido à enorme diversidade e particularidades das espécies (Cohen, 2015). Muitas vezes o substrato de oviposição é um dos fatores que dificulta a produção em larga escala de insetos em laboratório, sendo que para *P. xylostella* o material utilizado para coleta de ovos é comumente folha de brassicáceas, particularmente as de couve. Visando melhorar a eficiência da criação de *P. xylostella* no laboratório foram utilizados diferentes substratos para a oviposição, com as fêmeas colocando seus ovos nos diferentes substratos de oviposição testados, muito embora tenha sido observado maior número em alguns deles, especialmente nos discos de folhas de couve, principalmente quando assentados em papel filtro umedecido com água deionizada, evidenciando assim que o desempenho reprodutivo das fêmeas é bastante afetado pelo local de oviposição (Tabela 1).

Tabela 1. Número de ovos por fêmea de *Plutella xylostella* nos diferentes substratos de oviposição.

Substratos	Ovos/fêmea ¹
Disco de folha de couve sobre papel filtro umedecido com água deionizada (Testemunha)	265,1 ± 30,50 a
Disco de papel filtro umedecido com água deionizada	8,6 ± 2,99 e
Disco de Papel filtro umedecido com extrato de folha de couve	59,4 ± 18,89 cd
Disco de folha de couve	126,6 ± 17,07 b
Disco de papel alumínio	8,2 ± 1,85 e
Disco de papel alumínio sobre papel filtro	34,0 ± 15,54 ed
Disco de papel alumínio sobre papel filtro umedecido com extrato de folha de couve	89,8 ± 9,75 bc

¹Médias ± erro padrão seguidas de mesma letra na coluna não diferem (P > 0,05).

As características qualitativas da planta hospedeira são as principais determinantes da fecundidade de insetos herbívoros, podendo afetar as estratégias reprodutivas, influenciando no tamanho dos ovos, na qualidade nutricional do vitelo, na escolha de locais para oviposição e na possibilidade de reabsorção de embriões. Dessa forma, a qualidade nutricional da planta hospedeira para o crescimento larval e desenvolvimento geral do herbívoro é a chave determinante de boa fecundidade e fertilidade de adultos (Awmack e Leather, 2002).

Ao pousar em uma planta, o inseto adulto tem a percepção de suas características físicas e químicas que são de grande importância para a efetivação ou não da oviposição. Nesse sentido, a oviposição de *P. xylostella* ocorre condicionada às características físicas das plantas, bem como a estímulos olfativos e gustativos por elas emitidos (Ang et al., 2016). Esses estímulos normalmente são “guiados” por quimiorreceptores de contato existentes nos oviposidores, nos tarsos e no aparelho bucal (Feng et al., 2017), o que justificaria a melhor performance de oviposição verificada neste trabalho nos substratos contendo discos de folha de couve.

De acordo com Richards e Schmidt (1996), os fatores que mais influenciam o aceite de um substrato para oviposição em condições de laboratório são: a aceitação pelas fêmeas, a sobrevivência e o desenvolvimento dos embriões e das larvas/ninfas, como parâmetros relativos ao inseto, além do custo e da possibilidade de incorporação desse substrato num programa de criação em larga escala.

Assim, como a oviposição dos lepidópteros é geralmente mediada por mecanismos sensoriais, mecano e quimio-receptores, ela pode ser inibida ou estimulada dependendo das características físicas e químicas do substrato utilizado para a deposição dos ovos (Mordue e Blackwell, 1993). Em relação à estrutura física dos diferentes materiais testados, a couve tem uma superfície que difere substancialmente quanto a textura do papel filtro que se trata de um material poroso e absorvente (Gardner, 1937), e do papel alumínio, com características plana, lisa, refletiva e impermeável, o que pode corroborar a hipótese de que a preferência por couve reflete um comportamento geral de *P. xylostella* que preferiria colocar seus ovos em superfícies menos uniformes, mais “ásperas”, “estriadas” ou “enrugadas”, com presença de tricomas e cera epicuticular. Outro ponto a ser destacado é que, além do efeito contra patógenos, a presença de cera nas folhas de couve exerce papel de proteção contra absorção de produtos químicos, perda de água por transpiração, como também efeitos da radiação solar (Ferreira et al., 2005; Lichston e Godoy, 2006).

Esses fatores relatados possivelmente estão envolvidos na escolha das fêmeas pelo local de deposição dos ovos, como citado por (Gupta e Thorsteinson, 1960), mostrando que a estrutura física da superfície da planta pode afetar bastante a oviposição, além de estimular a herbivoria pelas lagartas, assim como na atração ou repelência de predadores e/ou parasitoides (Reddy et al., 2004; Ibrahim et al., 2005; Silva e Furlong, 2012). Nesse sentido, de acordo com observações de Justus et al. (2000), a estrutura física da superfície das folhas de canola, *Brassica napus* L., afeta diretamente a oviposição de *P. xylostella*, com a praga preferindo folhas que não contêm cera em sua constituição.

Mordue e Blackwell (1993) mencionam que a seleção do substrato para oviposição em lepidópteros é condicionada por estímulos sensitivos químicos, sendo os principais quimiorreceptores normalmente localizados nos tarsos e a probóscide

dos insetos, e que a redução no número de ovos colocados por *P. xylostella* nas superfícies dos substratos constituídos por disco de papel alumínio e de papel filtro pode ter ocorrido devido ao contato obrigatório com essas superfícies por ocasião da oviposição em condição de confinamento, sendo esses substratos desprovidos daqueles estímulos.

O maior número de ovos encontrado em folhas de couve pode ser explicado pelo fato das folhas de brássicas apresentarem também compostos químicos voláteis que atraem os adultos de *P. xylostella* (Robin et al., 2017; Wu et al., 2021), com a presença de umidade no papel filtro abaixo das folhas podendo ter favorecido a emissão desses voláteis atrativos ao processo de oviposição. Uma das características no comportamento de oviposição de *P. xylostella* é realizar preferencialmente as posturas na região abaxial e próximo à nervura central das folhas, com ovos isolados ou agrupados de três a cinco (Talekar e Shelton, 1993; Silva e Furlong, 2012; Farias et al., 2020). Deve ser também salientado que para os insetos especialistas de brássicas, como *P. xylostella*, metabólitos secundários como glucosinolatos entre outros, são descritos como incitantes à alimentação e estimulantes de oviposição (Spencer et al., 1999). Nesse sentido, Ratzka et al. (2002) relatam a capacidade das larvas de *P. xylostella* de se adaptarem especificamente a espécies do gênero *Brassica*, transpondo, inclusive, suas defesas químicas e utilizando compostos como a enzima glucosinolato-sulfatase como fonte de atratividade. Ainda, sabe-se que essas mariposas usam alguns glucosinolatos e seus produtos de degradação como fonte de identificação do hospedeiro e como estimulantes da oviposição (Ratzka et al., 2002; Sarfraz et al., 2006; Müller et al., 2010).

Outra característica das folhas de couve que também é relatada estar envolvida na possível atração para oviposição é a cor (Badenes-Perez et al., 2004), que é bem diferente dos demais substratos avaliados neste trabalho. Ainda, em relação à possibilidade de as folhas de couve serem mais atrativas para a oviposição do que os demais substratos estar condicionada à presença de compostos secundários (como a sinigrina), Carvalho et al. (2010) testaram o efeito desse composto em aplicações tópicas realizadas em folhas de couve e de brócolis, verificando que na couve tratada do 0,2 mg mL⁻¹ de sinigrina *P. xylostella* apresentou

maior potencial reprodutivo. Porém, Thuler et al. (2007) relataram a não presença de sinigrina na variedade de couve utilizada no presente trabalho. Também, Bodnaryk (1997) cita que cultivares de brássicas com baixo teor de glucosinolatos, como a sinigrina e a sinalbina, não promoveram alterações na suscetibilidade à *P. xylostella* e *Phyllotreta cruciferae* (Goeze, 1777) (Coleoptera: Chrysomelidae), pragas específicas desse grupo de plantas.

Em relação à viabilidade de ovos e ao período de incubação não foram detectadas diferenças significativas entre os diferentes substratos de oviposição testados, indicando que as diferenças físicas, químicas e morfológicas existentes não afetaram esses parâmetros biológicos de *P. xylostella* (Tabela 2), influenciando apenas na quantidade de ovos que as fêmeas neles depositaram.

Tabela 2. Viabilidade e período de incubação dos ovos de *Plutella xylostella* nos diferentes substratos de oviposição.

Substratos de oviposição	Viabilidade (%) ¹	Período de incubação (dias) ¹
Disco de folha de couve sobre papel filtro umedecido com água deionizada (Testemunha)	82,3 ± 11,78 a	2,7 ± 0,33 a
Disco de papel filtro umedecido com água deionizada	88,2 ± 7,25 a	3,0 ± 0,00 a
Disco de papel filtro umedecido com extrato de folha de couve	96,0 ± 4,00 a	2,7 ± 0,33 a
Disco de folha de couve	89,7 ± 6,06 a	3,0 ± 0,00 a
Disco de papel alumínio	75,6 ± 3,43 a	2,7 ± 0,33 a
Disco de papel alumínio sobre papel filtro	88,2 ± 11,76 a	2,7 ± 0,33 a
Disco de papel alumínio sobre papel filtro umedecido com extrato de folha de couve	50,3 ± 16,05 a	3,0 ± 0,00 a

¹Médias ± erro padrão seguidas de mesma letra na coluna não diferem (P > 0,05).

4. Conclusão

Disco de folha de couve sobre papel filtro umedecido com água deionizada (testemunha) mostrou ser o melhor substrato para oviposição de *P. xylostella*, sem perda na qualidade dos insetos.

5. Referências

Ang GCK, Zalucki MP, Furlong M (2016) Temporal changes in olfactory and oviposition responses of the diamondback moth to herbivore-induced host plants. **Entomologia Experimentalis et Applicata** 160:28-39.

Awmack CS, Leather SR (2002) Host plant quality and fecundity in herbivorous insects. **Annual Review of Entomology** 47:817-844.

Badenes-Perez FR, Shelton AM, Nault BA (2004) Evaluating trap crops for diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). **Journal of Economic Entomology** 97:1365-1372.

Bodnaryk RP (1997) Will low glucosinolate cultivars of the mustards *Brassica juncea* and *Sinapis alba* be vulnerable to insect pests? **Canadian Journal of Plant Science** 77:283-287.

Carvalho JS, De Bortoli SA, Thuler RT, Goulart RM, Volpe HXL (2010) Efeito de sinigrina aplicado em folhas de brássicas sobre características biológicas de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). **Acta Scientiarum** 32:15-20.

Chen C, Chang S, Cheng L, Hou RF (1996) Deterrent effect of the chinaberry extract on oviposition of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lep. Plutellidae). **Journal of Applied Entomology** 120:165-169.

Chen RX, Zhang F, Huangfu WG, Yao HY, Zhou JB, Kuhlmann U (2008) Reproductive attributes of the eulophid *Oomyzus sokolowskii*, a biological control agent of diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). **Biocontrol Science and Technology** 18:753-765.

Cheng L, Yu G, Chen Z, Li Z (2008) Insensitive acetylcholine receptor conferring resistance of *Plutella xylostella* to nereistoxin insecticides. **Agricultural Sciences in China** 7:847-852.

Cohen AC (2018) Ecology of insect rearing systems: a mini-review of insect rearing papers from 1906-2017. **Advances in Entomology** 6(2):86-115. doi:10.4236/ae.2018.62008

Cohen AC (2015) **Insect diets: science and technology**. Boca Raton: CRC Press, 474 p.

Czepak C, Fernandes PM, Santana HG, Takatsuka FS, Lelis-Rocha C (2005). Eficiência de inseticidas para o controle de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) na cultura do repolho (*Brassica oleracea* var. *capitata*). **Pesquisa Agropecuária Tropical** 35(2):129-131.

De Bortoli SA, Vacari AM, Goulart RM, Santos RF, Volpe HXL, Ferraudo AS (2011) Capacidade reprodutiva e preferência da traça-das-crucíferas para diferentes brassicáceas. **Horticultura Brasileira** 29:187-192.

De Bortoli SA, Polanczyk RA, Vacari AM, De Bortoli CP, Duarte RT (2013) *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae): tactics for integrated pest management in Brassicaceae. In.: Soloneski S, Larramendy M (Eds.) **Weed and pest control** - conventional and new challenges. Rijeka: IntechOpen, p. 31-51.

Dias DGS, Soares CMS, Monnerat RG (2004) Avaliação de larvicidas de origem microbiana no controle da traça-das-crucíferas em couve-flor. **Horticultura Brasileira** 22:553-556.

Feng B, Qian K, Du YJ (2017) Floral volatiles from *Vigna unguiculata* are olfactory and gustatory stimulants for oviposition by the bean pod borer moth *Maruca vitrata*. **Insects** 8(2):60. doi:10.3390/insects8020060

Ferreira EA, Desmuner AJ, Silva AA, Santos JB, Ventrella MC, Marques AE, Procópio SO (2005) Composição química da cera epicuticular e caracterização da superfície foliar em genótipos de cana-de-açúcar. **Planta Daninha** 23(4):611-619.

Filgueira FAR (2008) **Novo manual de olericultura**: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. Viçosa: UFV, 421 p.

Gupta PD, Thorsteinson AJ (1960) Food plant relationships of the diamondback moth {*Plutella maculipennis* (Curt.)} - II. Sensory relationships of oviposition of the adult female. **Entomologia Experimentalis et Applicata** 3(4):305–314.

Ibrahim MA, Nissinen A, Holopainen JK (2005) Response of *Plutella xylostella* and its parasitoid *Cotesia plutellae* to volatile compounds. **Journal of Chemical Ecology** 31:1969-1984.

Justus K, Dosdall LM, Mitchell BK (2000) Oviposition by *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) and effects of phylloplane waxiness. **Journal of Economic Entomology** 93:1152–1159.

Leal TABS, Zucoloto FS (2008) Selection of artificial hosts for oviposition by wild *Anastrepha obliqua* (Macquart) (Diptera, Tephritidae): influence of adult food and effect of experience. **Revista Brasileira de Entomologia** 52:467-471.

Lichston JE, Godoy SAP (2006) Morfologia e teor de cera de folhas de café após aplicação de fungicida. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 41(6):919-926.

Mau RFL, Kessing JLM (2007) *Plutella xylostella* (Linnaeus). Crop Knowledge Master. Disponível em: <<http://www.extento.hawaii.edu/kbase/crop/Type/plutella.htm>>. Acesso em: 12 jun. 2021.

Medeiros PT, Dias JMCS, Monnerat RG, Souza NR (2003) Instalação e manutenção de criação massal da traça-das-crucíferas (*Plutella xylostella*). Brasília: EMBRAPA, 4 p. (Circular Técnica).

Montezano DG (2014) **Padronização de metodologia de criação de *Spodoptera eridania* (Stoll) e *Spodoptera albula* (Walker) visando detalhar parâmetros biológicos**. 146 p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia), Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul.

Mordue A, Blackwell A (1993) Azadirachtin: an update. **Journal of Insect Physiology** 39:903-924. doi:10.1016/0022-1910(93)90001-8

Müller R, de Vos M, Sun J, Sønderby IE, Halkier BA, Wittstock U, Jander G (2010) Differential effects of indole and aliphatic glucosinolates on lepidopteran herbivores. **Journal of Chemical Ecology** 36:905–913. doi:10.1007/s10886-010-9825-z

Noriyuki S (2015) Host selection in insects: reproductive interference shapes behavior of ovipositing females. **Population Ecology** 57(2):293–305. doi:10.1007/s10144-015-0491-4

Nunes GS (2020) **Relações tróficas entre *Euborellia annulipes* (Lucas) (Dermaptera: Anisolabididae) e *Bacillus thuringiensis* no manejo de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae)**. 82 p. Tese (Doutorado em Entomologia Agrícola), Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

Oliveira JEM, De Bortoli SA, Santos RF, Moreira AN (2010) Desenvolvimento de metodologia de criação e multiplicação de *Aphis gossypi*: avanços e sucessos. **Comunicata Scientiae** 1:65-68.

Ratzka A, Vogel H, Kliebenstein DJ, Mitchell-Olds T, Kroymann J (2002) Disarming the mustard oil bomb. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 99:11223–11228. doi:10.1073/pnas.172112899

Reddy GVP, Tabone E, Smith MT (2004) Mediation of host selection and oviposition behavior in the diamondback moth *Plutella xylostella* and its predator *Chrysoperla carnea* by chemical cues from cole crops. **Biological Control** 29:270-277.

Renwick JAA, Chew FS (1994) Oviposition behavior in lepidoptera. **Annual Review of Entomology** 39:377-400.

Richards PC, Schmidt JM (1996) The suitability of some natural and artificial substrates as ovipositional sites for the insidious flower bug, *Orius insidiosus*. **Entomologia Experimentalis et Applicata** 80:325–333.

Robin AHK, Hossain MR, Park JI, Kim HR, Nou IS (2017) Glucosinolate profiles in cabbage genotypes influence the preferential feeding of diamondback moth (*Plutella xylostella*). **Frontiers in Plant Science** 8:1244.

Sarfraz M, Dosdall LM, Keddie BA (2006) Diamondback moth–host plant interactions: implications for pest management. **Crop Protection** 25:625–639. doi:10.1016/j.cropro.2005.09.011

SAS Institute (2002) SAS/STAT User's Guide, Version 9.0 TS level 2MO. SAS Institute Inc., Cary, NC.

Scriber JM, Slansky Jr F (1981) The nutritional ecology of immature insects. **Annual Review of Entomology** 26:183–211.

Silva R, Furlong MJ (2012) Diamondback moth oviposition: effects of host plant and herbivory. **Entomologia Experimentalis et Applicata** 143:218-230.

Sorensen JG, Addison MF, Terblanche JS (2012) Mass-rearing of insects for pest management: challenges, synergies and advances from evolutionary physiology. **Crop Protection** 38:87–94.

Spencer JL, Pillai S, Bernays EA (1999) Synergism in the oviposition behavior of *Plutella xylostella*: sinigrina and wax compounds. **Journal of Insect Behavior** 12:483-500.

Talekar NS, Shelton AM (1993) Biology, ecology, and management of the diamondback moth. **Annual Review of Entomology** 38:275-301.

Thuler RT (2009) Criação de *Plutella xylostella*. In.: De Bortoli SA (Ed.) **Criação de insetos: da base à biofábrica**. Jaboticabal: Edição própria, p. 58-68.

Thuler RT, De Bortoli SA, Hoffmann-Campo CB (2007) Classificação de cultivares de brássicas com relação à resistência à traça-das-crucíferas e à presença de glucosinolatos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 42:467-474.

Vacari AM, Thuler RT, Volpe HXL, Goulart RM, Viana CLTP, De Bortoli SA, Ferraud AS (2008) Análise multivariada aplicada aos parâmetros reprodutivos de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae), em diferentes cultivares de brássicas. **Horticultura Brasileira** 26:S3274-S3278.

Viana CLTP, Thuler RT, Goulart RM, Volpe HXL, Vacari AM, De Bortoli SA (2008) Classificação de cultivares de brássicas com base no aumento populacional da traça-das-crucíferas. In.: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 48, 2008, Maringá. Resumos... Maringá, p. 3836-3842. Disponível em: <<http://www.abhorticultura.com.br>>. Acesso em: 27 mai. 2021.

Wang X, Li X, Shen A, Wu Y (2010) Baseline susceptibility of the diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) to chlorantraniliprole in China. **Journal of Economic Entomology** 103:843-848.

Wu X, Huang H, Childs H, Wu Y, Yu L, Pehrsson PR (2021) Glucosinolates in *Brassica* vegetables: Characterization and factors that influence distribution, content, and intake. **Annual Review of Food Science and Technology** 12:485-511.

CAPÍTULO 3 – Extrato de *Piper cubeba* (Piperales: Piperaceae): toxicidade residual em *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) e fitotoxicidade em couve

RESUMO – A traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), é considerada a principal praga da couve, repolho e outras brássicas, destacando-se pela alta taxa de alimentação durante o período larval, o que causa grandes prejuízos aos cultivos, chegando a atingir até 100% de perdas na produção. Pouco se sabe sobre o efeito do extrato de *Piper cubeba* (Piperales: Piperaceae) em *P. xylostella* e, sendo assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar a atividade tóxica ao inseto e sua possível ação fitotóxica em folhas e mudas de couve, nas concentrações de 7%, 5%, 3%, 1%, 0,5%, 0,14% e 0,26%, pulverizados com diluição em Dimetilsulfóxido (DMSO 0,5%). Nos tratamentos controles, as folhas foram pulverizadas com água deionizada + DMSO 0,5% e apenas com água deionizada, com as folhas de couve acondicionadas em caixas plásticas contendo papel filtro levemente umedecido com água destilada. O experimento foi conduzido em blocos casualizados com 9 tratamentos × 4 repetições, com as mudas mantidas em casa de vegetação. Para os bioensaios de fitotoxicidade utilizou-se escala de notas adotada por Scroonhoven e Pastor-Corrales (1987). Nos bioensaios de toxicidade, discos de folhas tratadas com o extrato de *P. cubeba* foram distribuídas em placas de Petri com 10 lagartas de primeiro ínstar. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com os dados comparados pelo teste de Kruskal-Wallis. A fitotoxicidade de *P. cubeba* em folhas e mudas de couve foi maior nas maiores concentrações do extrato de 3,0; 5,0 e 7,0%. A aplicação do extrato nas folhas resultou em 90 a 100% de mortalidade larval em *P. xylostella* nas concentrações de 1,0 a 7,0%. A concentração do extrato de *P. cubeba* que causa significativa mortalidade de larvas sem que haja fitotoxicidade em folhas e plantas é de 1%.

Palavras-chave: brássicas, extrato botânico, planta inseticida, traça-das-crucíferas.

CHAPTER 3 – *Piper cubeba* (Piperales: Piperaceae) extract: residual toxicity on *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) and phytotoxicity on collard green

ABSTRACT – The diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), is considered the main pest of collard green, cabbage and other brassics. It stands out for the high feeding rate during the larval period, which causes great damage to the crop reaching up to 100% of production losses. No reports were found in the literature on the effect of the *Piper cubeba* extract (Piperales: Piperaceae) to control of *P. xylostella*. In this way, the present research aimed to evaluate the toxicity of the extract in the insect-pest under laboratory conditions, as well as its possible phytotoxic action on leaves and plants of collard green. The insecticidal and phytotoxicity effects of the *P. cubeba* extracts were evaluated on the concentrations of 7%, 5%, 3%, 1%, 0,5%, 0,14%, and 0,26%, on leaves and plants of collard green, sprayed with the extract diluted in Dimethylsulfoxide (DMSO 0.5%). In the control treatments the leaves were sprayed with deionized water + 0.5% DMSO and only deionized water. The collard green leaves were packed in plastic boxes containing filter paper slightly moistened with distilled water. The bioassays were conducted in a randomized block with 9 treatments × 4 replicates, and the collard green plants were conditioned in a greenhouse with controlled conditions. The Scroonhoven and Pastor-Corrales (1987) scale was used for the phytotoxicity bioassays. The extract toxicity bioassay with treated leaf discs were placed in Petri dishes and used 10 third instar larvae per plate. The experimental design was completely randomized, with the data of the ingestion toxicity compared by the Kruskal-Wallis test. The phytotoxicity of *P. cubeba* in plants was higher at higher concentrations (3.0, 5.0, and 7.0%). The leaf treatment with the extract resulted in 90 to 100% larval mortality with the concentrations of 7% to 1%. The concentration of *P. cubeba* extract that causes significant larval mortality without phytotoxicity in leaves and plants is 1%.

Keywords: brassics, botanical extract, insecticidal plant, diamondback moth.

1. Introdução

Faz parte das chamadas hortaliças plantas que apresentam como características: textura não lenhosa e tenra; ciclo biológico curto; necessidade de cuidados com os tratos culturais, quando equiparado com às grandes culturas; e o plantio realizado em regiões e áreas menores. As hortaliças possuem diversas propriedades importantes, entre elas o auxílio no processo digestivo, favorecendo o funcionamento de diversos órgãos do corpo humano e de outros animais, e a presença de substâncias essenciais à nutrição como vitaminas, sais minerais e fibras (Filgueira, 2008).

As espécies de Brassicaceae compõem a família mais numerosa dentre as olerícolas cultivadas no Brasil, abrangendo cerca de 350 gêneros e aproximadamente 3.200 espécies, destacando-se o repolho, a couve manteiga, a couve-flor e o brócolis (Filgueira, 2008; Bevilacqua, 2011; Martins, 2011). A couve-manteiga, *Brassica oleracea* var. *acephala* cv. Manteiga, é de múltipla utilização na culinária, fazendo parte de saladas, refogados, gratinados, e até mesmo suco, possuindo propriedades medicinais, o que auxilia em tratamentos de várias doenças e/ou disfunções orgânicas, como por exemplo a anemia (Trani et al., 2014), e na prevenção de alguns tipos de câncer (Samec e Salopek-Sondi, 2019). Isso torna o consumo dessas plantas bastante significativo no Brasil e, em consequência, uma importante fonte de renda para os produtores (Novo et al., 2010).

Durante o cultivo das brássicáceas, alguns fatores podem causar perdas significativas, sendo que um dos principais é o ataque de insetos-praga que afetam negativamente, tanto a quantidade do produto colhido, como a sua qualidade (Khattab, 2007; Carvalho et al., 2008). Dentre os prejuízos estão a redução na área foliar, muitas das vezes a parte a ser comercializada e consumida, assim como a possível presença dos insetos nos seus diferentes estágios de desenvolvimento, o que torna o produto impróprio para o consumidor (Souza-Silva et al., 2008). Desse modo, o ataque nas folhas causa perdas quantitativas e depreciação comercial do produto (perdas qualitativas), levando a prejuízos que podem chegar até a 90% da produção (Castelo Branco et al., 2001).

O “microlepidóptero” *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758), da família Plutellidae, é um dos principais insetos-praga de Brassicaceae (Cruciferae) no Brasil, atacando repolho, couve, brócolis, canola, entre outros, e em todo o mundo (Talekar e Shelton, 1993; Sarfraz et al., 2006). A primeira citação da ocorrência de *P. xylostella* no Brasil foi na Bahia, enquanto na América do Norte foi no Estado de Illinois, EUA, em 1854. O nível de infestação dessa praga varia de ano para ano, bem como de um local para outro, dependendo principalmente de fatores ambientais, existência de hospedeiros, presença de inimigos naturais e diapausa, além da ocorrência de suas migrações (Medeiros et al., 2003; Mau e Kessing, 2007).

Vários inseticidas são usados de forma intensiva em todo o ciclo da cultura, e esse uso, invariavelmente excessivo, além de causar problemas à saúde do agricultor, consumidor e ao meio ambiente, exerce pressão seletiva favorecendo o surgimento de populações de pragas resistentes a esses compostos químicos (Castelo Branco, 1999). O excesso de inseticidas químicos resulta na crescente necessidade por alimentos mais saudáveis, porém a exigência por produtos isentos de resíduos de agrotóxicos provoca a necessidade do desenvolvimento de produtos mais seletivos, menos agressivos ao meio ambiente e ao homem. Neste contexto, o interesse por produtos de origem botânica para utilização no controle de insetos tem aumentado (Kim et al., 2003; Menezes, 2005).

O potencial inseticida de certas espécies de plantas depende da presença de substâncias bioativas, normalmente do metabolismo secundário, eficazes no controle de determinadas espécies de insetos, com esses produtos apresentando-se muitas vezes como biodegradáveis e apresentando baixa toxicidade a mamíferos, às vezes até mesmo serem atóxicos a esse grupo de animais. Com isso, estudos com produtos botânicos se apresentam como de extrema importância para o desenvolvimento de compostos ambientalmente mais seguros para o controle de insetos-praga (Kim et al., 2003).

Diante desta realidade, a utilização de substâncias de origem vegetal com propriedades inseticidas no Manejo Integrado de Pragas (MIP) se apresenta como uma “ferramenta” bastante promissora (Vendramim, 1997), uma vez que além de controlar a praga apresentam menor risco de desenvolvimento de resistência pelos insetos, seletividade, tornando-os menos prejudiciais aos inimigos naturais,

normalmente baixa fitotoxicidade, de fácil disponibilidade e baixo custo, quando preparados utilizando-se plantas presentes ou até mesmo cultivadas nas propriedades rurais (Santos et al., 1998).

Estudos com espécies botânicas que apresentam propriedades inseticidas são realizados com o intuito de se encontrar novas moléculas que tenham um efeito de controle nos insetos-praga, possibilitando assim, a síntese de novos produtos, sendo que a descoberta e produção de novos agrotóxicos derivados de compostos botânicos são também importantes social, cultural e ecologicamente (Vendramim, 2000).

Diversas espécies plantas possuem atividade inseticida relatada, porém muitas ainda precisam ser estudadas para posteriormente serem utilizadas nos cultivos agrícolas (Menezes, 2005). Diversos trabalhos já demonstraram a atividade inseticida de derivados de plantas, muitos deles com boa eficiência e, dentre essas plantas, destacam-se algumas espécies da família Piperaceae, com o gênero *Piper* tendo relevância pelo fato de suas espécies apresentarem “metabólitos secundários” em suas constituições, sendo eles com elevada bioatividade, inclusive com propriedades inseticida, como certas amidas, lignanas, flavonoides, alcaloides, arilpropanoides e ésteres graxos (Trindade e Silva, 2008; Castro et al., 2010).

Associado à bioatividade desses produtos de origem botânica, Karlsson (2005) cita a capacidade deles poderem causar algum tipo de dano, temporário ou permanente, a uma planta, o que é genericamente tratado por fitotoxicidade. No caso do emprego de extratos botânicos visando ao controle de pragas, normalmente as folhas são as mais afetadas, podendo apresentar sintomas de descoloração (amarelecimento) e seca, necrose, “encarquilhamento” e redução de tamanho, com efeitos diretos na capacidade fotossintética e, conseqüentemente, na produção. Devido a crescente preocupação com a sustentabilidade dos sistemas de produção, vem ocorrendo incentivo às pesquisas relacionadas a novas técnicas de manejo da praga, principalmente com a utilização de produtos naturais menos agressivos, como os extratos botânicos com ação inseticida (Gonçalves-Gervário, 2003).

Como pouco se sabe sobre o efeito do extrato de *Piper cubeba* L. (Piperales: Piperaceae) em *P. xylostella*, o objetivo deste trabalho foi avaliar a sua toxicidade para essa praga, em condições de laboratório, bem como sua possível

ação fitotóxica em folhas e mudas de couve, em condições de laboratório e de casa-de-vegetação.

2. Material e métodos

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Biologia e Criação de Insetos (LBCI) e em estufas do Departamento de Ciências da Produção Agrícola da FCAV/UNESP, Jaboticabal, São Paulo. Os bioensaios foram mantidos em sala climatizada com temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 12h de luz/12h de escuro e umidade relativa de $70 \pm 10\%$.

2.1. Obtenção do extrato

O extrato hexânico de *P. cubeba* foi cedido pelo Professor Dr. Márcio L. A. e Silva do Laboratório de Química de Produtos Naturais da UNIFRAN, Franca, SP. O material vegetal, sementes já secas de *P. cubeba*, foi importado da Índia, da cidade de Nova Dehli, sendo que o processo de obtenção do extrato ocorreu conforme relatado por Truzzi (2020), podendo assim ser resumido: (1) 1005 g de sementes de *P. cubeba* foram secas em estufa com circulação de ar a 100°C por 4 horas, durante dois dias; (2) posteriormente as sementes foram maceradas com 2 litros de etanol em um moinho de facas, resultando no extrato etanólico bruto; (3) na sequência o extrato passou pelo processo de extração exaustiva, com agitação e posterior filtragem, sendo esse processo realizado por 3 vezes para obtenção de um extrato mais claro; (4) a próxima etapa foi a partição do extrato em um funil de separação, com adição de 500 mL de solução hidrometanólica, na proporção 9:1 (MeOH:Água) e, em seguida, 150 mL de hexano por 6 vezes; (5) a solução foi então agitada e mantida em repouso para separação da fração hexânica e hidrometanólica.

2.2. Criação de *Plutella xylostella*

Para a condução dos bioensaios foi utilizada uma população resistente a toxinas de *B. thuringiensis* HD-1, população essa denominada Bt e originária de uma

outra suscetível e selecionada a cada geração com a linhagem *B. thuringiensis* var. *kurstaki* HD-1 (Cry1Ac, Cry1Aa, Cry1Ab, Cry2A, Cry2B) (Masson et al., 1990; Tabashnik et al., 1994) (Lepidoptera-específicos) por De Bortoli (2018), estando na 155ª geração em setembro de 2019.

A metodologia utilizada para realização da criação dos insetos foi descrita por Thuler (2009), adaptada por De Bortoli et al. (2017). O substrato para alimentação e oviposição de *P. xylostella* foi folhas de couve (*Brassica oleracea* var. *acephala*, cv. Manteiga), cultivada em área experimental da FCAV-UNESP (campo e casa de vegetação).

Adultos recém-emergidos foram transferidos para gaiolas plásticas cilíndricas transparentes (13,0 cm de diâmetro x 15,0 cm de altura), com duas aberturas, uma lateral retangular de 10,0 cm x 5,0 cm, coberta por tecido tipo “voile” cujo objetivo é melhor aeração interna, e outra também retangular de 10, 0 cm x 2,0 cm, fechada com filme plástico PVC, para permitir o manuseio interno. Na parte superior do recipiente foi feita uma abertura circular de 2,3 cm de diâmetro, utilizada para a fixação de um pedaço de espuma plástica, envolta por tecido tipo “voile”, embebida em solução aquosa de mel a 10% para alimentação dos adultos.

No interior das gaiolas foram colocados discos de folha de couve de 8 cm de diâmetro, como substrato para a oviposição, assentados sobre discos de papel filtro de 9 cm de diâmetro umedecidos com água destilada; como suporte para os discos foi utilizado um copo plástico transparente em posição invertida. Os discos (couve e papel) foram trocados diariamente, sendo os de couve contendo as posturas acondicionados em placas de Petri de 9,0 cm de diâmetro, até a eclosão das lagartas. Após a eclosão, os discos com as lagartas foram transferidos para recipientes plásticos retangulares (27,0 cm de comprimento x 17,0 cm de largura x 8,0 cm de altura) contendo folhas de couve, o substrato alimentar das lagartas. A troca das folhas do recipiente foi feita diariamente até que os insetos atingissem a fase pupal.

As pupas foram coletadas com o auxílio de pinça e transferidas para tubos de ensaio de fundo chato (8,5 cm x 2,0 cm) vedados com filme plástico de PVC contendo pequenos orifícios para melhor aeração interna, sendo acondicionadas aproximadamente 30 pupas por tubo.

2.3. Bioensaio de fitotoxicidade

2.3.1. Em folhas destacadas de mudas de couve

O bioensaio de fitotoxicidade (análise visual) foi realizado com folhas de couve (*Brassica oleracea* var. *acephala* cv. Manteiga) retiradas de mudas provenientes do Setor de Horticultura da FCAV-Unesp, Jaboticabal, SP, mantidas em vasos e em casa-de-vegetação.

As folhas utilizadas nos bioensaios foram destacadas das mudas após 30 dias do transplântio com o auxílio de uma tesoura esterilizada, prevenindo possíveis contaminações, e levadas ao laboratório onde foram lavadas e tratadas por 10 minutos com solução de hipoclorito a 10%, sendo então lavadas novamente com água corrente e secas com papel toalha. Uma das vantagens da técnica da folha destacada é o aproveitamento de espaço, baixo risco de contaminação, possibilitando a manipulação do ambiente, permitindo assim, obter resultados similares ao do campo (Twizeyimana et al., 2007). Portanto, o uso desta técnica para testes rápidos em laboratório para observar o efeito de herbicidas é uma opção simples e prática.

Na sequência foram pulverizadas até ponto de escorrimento, com um pulverizador manual com capacidade para 200 mL, com soluções do extrato de *P. cubeba* nas seguintes concentrações: 7%, 5%, 3%, 1%, 0,5%, 0,26% e 0,14%, com diluição em Dimetilsulfóxido (DMSO) a 0,5%, e deixadas para secar por uma hora aproximadamente sobre papel toalha (temperatura ambiente). Nos tratamentos controle, as folhas foram pulverizadas apenas com água deionizada + DMSO 0,5% e com água deionizada. Deste modo, foram avaliados 9 tratamentos e 4 folhas (repetições) por tratamento. Após secagem, as folhas foram acondicionadas em caixas plásticas (30 cm de comprimento × 15 cm de largura × 7,5 cm de altura) contendo papel filtro levemente umedecido com água destilada visando preservar o vigor da folha, com a avaliação visual de fitotoxicidade realizada 24h, 48h, 72h, 96h e 128h após as pulverizações, utilizando-se a escala de notas (adaptada) proposta pelo Comitê de Métodos de Conselho Europeu de Pesquisa sobre Plantas Daninhas (EWRC, 1964), onde: 1 – Nulo; 2 – Muito leve; 3 – Leve; 4 –

Baixa; 5 – Média; 6 – Quase forte; 7 – Forte; 8 – Muito forte e 9 – Total/Destruição completa.

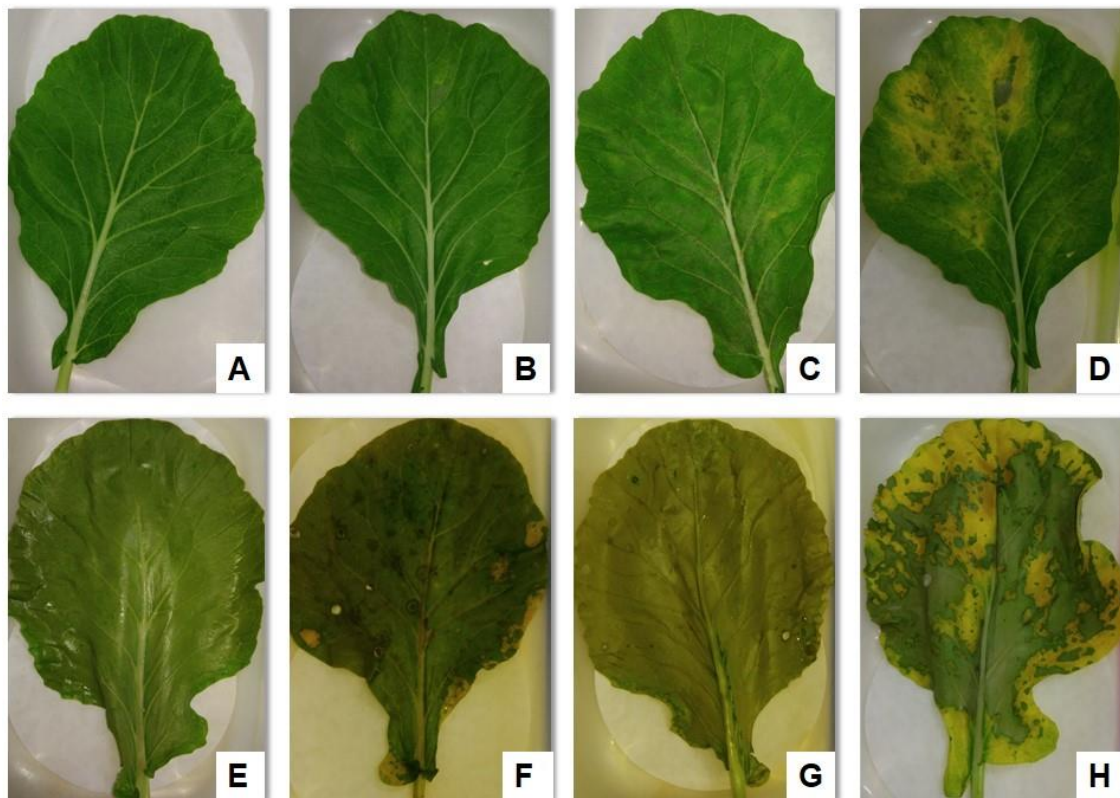


Figura 2. Sintomas de fitotoxidade do extrato de *Piper cubeba* em folhas de couve, de acordo com as notas da escala proposta pelo Comitê de Métodos de Conselho Europeu de Pesquisa sobre Plantas Daninhas (EWRC, 1964), onde: A: 1 Nulo; B: 2 Muito leve; C: 3 Leve; D: 4 Baixa; 5 Média; 6 Quase forte; 7 Forte; E: 8 Muito forte.

2.3.2. Em mudas de couve em vaso

O ensaio com mudas de couve (*Brassica Oleracea* var. *acephala* cv. Manteiga), com o transplântio sendo efetuado aos 15 dias de idade e, depois de 30 dias, as plantas foram transplantadas aos vasos. Foram marcadas duas folhas por planta e pulverizadas até o escorrimento com pulverizador manual (200mL), com as soluções dos diferentes tratamentos. Os experimentos foram conduzidos em blocos casualizados com 9 tratamentos x 4 repetições, sendo a fitotoxicidade visual do extrato de *P. cubeba* avaliada 24h, 48h, 72h, 96h e 128h após as pulverizações,

adotando-se escala de notas citada por Scroonhoven e Pastor-Corrales (1987), onde: 1 - corresponde às plantas sem sintomas perceptíveis; 3 - atribuída às plantas com poucas folhas murchas, representando não mais que 10% da folhagem, e com pequenas lesões no hypocótilo; 5 - atribuída às plantas com aproximadamente 25% das folhas com sintomas de murcha e clorose; 7- cerca de 50% das folhas exibindo sintomas de murcha, clorose e necroses limitadas; 9 - plantas com sintomas de necrose com desfolhação precoce, clorose e murcha em 75% das folhas ou mais, plantas severamente atrofiadas e mortas.

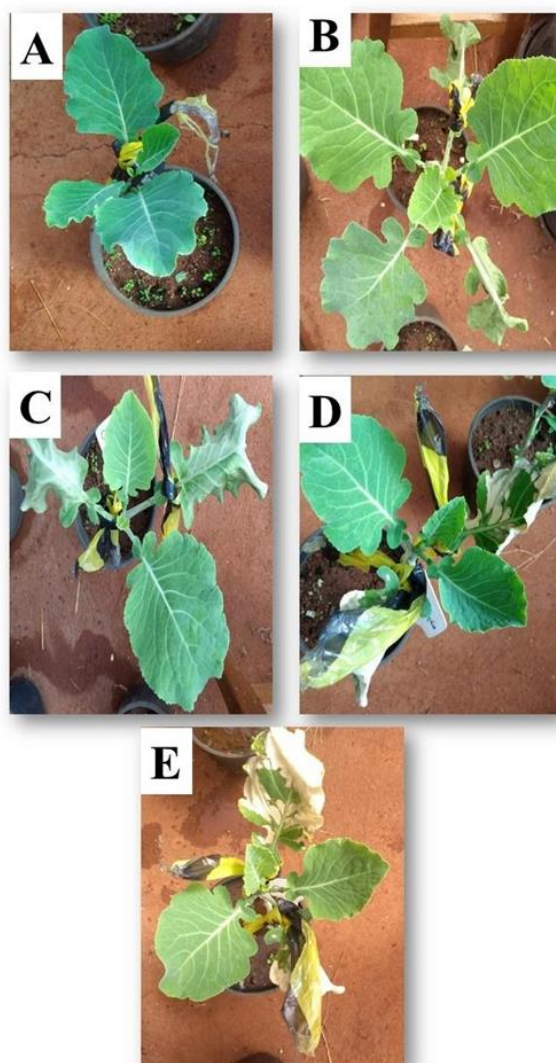


Figura 1. Sintomas de fitotoxidade do extrato de *Piper cubeba* em plantas de couve, com as notas seguindo a escala citada por Scroonhoven e Pastor-Corrales (1987). A. Nota 1 - Planta sem sintomas perceptíveis; B. Nota 3 - Planta com poucas folhas murchas, representando não mais que 10% da folhagem, e com pequenas lesões no hipocótilo; C. Nota 5 - Planta com aproximadamente 25% das folhas com sintomas de murcha e clorose; D. Nota 7 - Planta com cerca de 50% das folhas exibindo sintomas de murcha, clorose e necrose; E. Nota 9 - Plantas com sintomas de necrose, com desfolha precoce, clorose e murcha em 75% das folhas ou mais.

2.4. Toxicidade via ingestão

Para o teste via ingestão (toxicidade oral), discos foliares de couve (*Brassica oleracea* var. *acephala* cv. Manteiga) de 9 cm de diâmetro foram pulverizados

individualmente com as soluções do extrato de *P. cubeba*, nas concentrações de 7%, 5%, 3%, 1%, 0,5%, 0,26% e 0,14%, com diluição em água deionizada com Dimetilsulfóxido (DMSO 0,5%). Nos tratamentos controles, as folhas foram pulverizadas apenas com água deionizada + Dimetilsulfóxido (DMSO 0,5%) e água deionizada. Cada disco foliar foi pulverizado com as soluções até o escoamento e deixados secar em temperatura ambiente. Os discos de couve foram então colocados individualmente em placas de Petri (9,5 cm de diâmetro × 2,0 cm de altura), sobre papel filtro umedecido com água deionizada. Em cada placa foram colocadas 10 lagartas de terceiro ínstar de *P. xylostella*. Quando houve necessidade foi feita a reposição dos discos nas placas. O experimento foi conduzido em blocos inteiramente casualizados com 9 tratamentos x 10 repetições, utilizando-se 100 lagartas por tratamento. As primeiras duas avaliações da mortalidade foram realizadas 12 horas e 24 horas após o início do bioensaio, e as demais a cada 24 horas até a morte de todos os insetos. As lagartas foram registradas como mortas quando não se moviam ao serem tocadas com um pincel de cerdas macias.

2.5. Análise estatística

Os dados de toxicidade e fitotoxicidade do extrato de *P. cubeba* em folhas de couve foram submetidos aos testes Bartlett e Kolmogorov para constatação de normalidade e homogeneidade da variância, visando verificar se atendiam aos requisitos da análise de variância (ANOVA). Como os pressupostos não foram atendidos, as médias foram comparadas pelo teste de Kruskal-Wallis ($P < 0,05$) (PROC NPAR1WAY). Para a condução de todas as análises foi utilizado o software SAS (SAS Institute, 2015).

3. Resultados

3.1. Fitotoxicidade do extrato hexânico de *Piper cubeba*

As Figuras 1 e 2 ilustram os sintomas de fitotoxicidade das diferentes concentrações de extrato de *P. cubeba*, respectivamente em folhas destacadas e mudas de couve em vasos.

Nos testes para analisar a fitotoxicidade, tanto as folhas de couve destacadas mantidas em recipientes plásticos, quanto as mudas em vasos, demonstraram alguns sintomas resultantes da aplicação do extrato. Nas plantas em vaso, os tratamentos com as maiores concentrações (7,0%, 5,0% e 3,0%) apresentaram sintomas de fitotoxicidade nota 3 no dia seguinte a aplicação. Além disso, a severidade dos sintomas nesses tratamentos aumentou com o decorrer dos dias alcançando a nota 9 no 5º dia de avaliação. A partir da concentração 1,0% e no tratamento com água deionizada + DMSO 0,5%, as plantas não apresentaram nenhum sintoma perceptível de fitotoxicidade, apresentando nota 1 durante todo o período de avaliação, não diferindo da testemunha (Tabela 1). Portanto, foi estabelecido que a concentração máxima do extrato a ser utilizada em couve é de 1,0%.

Tabela 1. Notas atribuídas às mudas de couve expostas aos diferentes extratos de *Piper cubeba* e aos controles, de acordo com escala de Scroonhoven e Pastor-Corrales (1987).

Tratamentos	1° dia	2° dia	3° dia	4° dia	5° dia
1- extrato 7,0%	3	5	9	9	9
2- extrato 5,0%	3	5	9	9	9
3- extrato 3,0%	3	5	7	7	9
4- extrato 1,0%	1	1	1	1	1
5- extrato 0,5%	1	1	1	1	1
6- extrato 0,26%	1	1	1	1	1
7- extrato 0,14%	1	1	1	1	1
8- água + dmsa	1	1	1	1	1
9- água	1	1	1	1	1

No ensaio com folhas de couve destacadas e dispostas em recipientes plásticos, nas maiores concentrações do extrato as folhas apresentaram textura úmida a partir do segundo dia de avaliação. As concentrações de 7,0%, 5,0% e 3,0% apresentaram sintomas de fitotoxicidade no 2º dia após a aplicação do extrato, tornando-se mais severos nos dias subsequentes. A maior concentração (7,0%) provocou sintomas de fitotoxicidade variando de quase forte a muito forte e durante todo o período de avaliação (Tabela 2). O tratamento apenas com DMSO 0,5% não apresentou sintomas de fitotoxicidade, sendo semelhante a testemunha.

Tabela 2. Notas atribuídas às folhas destacadas de couve expostas aos diferentes extratos de *Piper cubeba* e aos controles, de acordo com a escala adaptada pelo Comitê de Métodos de Conselho Europeu de Pesquisas sobre Plantas Daninhas (EWRC, 1964).

Tratamentos	1° dia	2° dia	3° dia	4° dia	5° dia
1- extrato 7,0%	1,0 ± 0,00 a ¹	6,3 ± 0,96 a	6,3 ± 0,96 a	8,0 ± 0,00 a	8,0 ± 0,00 a
2- extrato 5,0%	1,0 ± 0,00 a	6,5 ± 1,00 a	6,5 ± 1,00 a	8,0 ± 0,00 a	8,0 ± 0,00 a
3- extrato 3,0%	1,0 ± 0,00 a	2,5 ± 1,29 b	2,5 ± 1,29 b	4,0 ± 1,41 b	4,0 ± 1,41 b
4- extrato 1,0%	1,0 ± 0,00 a	1,0 ± 0,00 b	1,0 ± 0,00 b	1,5 ± 0,58 c	1,5 ± 0,58 c
5- extrato 0,5%	1,0 ± 0,00 a	1,3 ± 0,50 b	1,3 ± 0,50 b	2,3 ± 1,26 bc	2,3 ± 1,26 bc
6- extrato 0,26%	1,0 ± 0,00 a	1,0 ± 0,00 b	1,0 ± 0,00 b	3,5 ± 1,29 bc	3,5 ± 1,29 bc
7- extrato 0,14%	1,0 ± 0,00 a	1,0 ± 0,00 b	1,0 ± 0,00 b	3,3 ± 1,50 bc	3,3 ± 1,50 bc

¹Médias ± erro padrão seguidas de mesma letra na linha não diferem pelo teste de Kruskal-Wallis (P > 0,05).

3.2. Toxicidade de extrato via ingestão

No bioensaio de toxicidade do extrato de *P. cubeba* via ingestão, a concentração 7,0% causou a mortalidade de 90,0% das lagartas de *P. xylostella* após 24 horas de exposição e com mortalidade total após 48 horas. As concentrações de 5,0%, 3,0% e 1,0% também resultaram em elevada mortalidade de lagartas (> 90,0%) durante o período de avaliação. Todos os tratamentos descritos anteriormente apresentaram maior toxicidade em relação ao tratamento com 0,5% do extrato que causou mortalidade de 64,0%. A redução na concentração também resultou em menor mortalidade de lagartas, sendo de 26,0% e 12,0% nas concentrações de 0,26% e 0,14%, respectivamente. O tratamento com DMSO 0,5% apresentou 20,0% de mortalidade, enquanto na testemunha com água deionizada foi de 10,0% (Tabela 3).

Tabela 3. Mortalidade acumulada (%) de lagartas de *Plutella xylostella* alimentadas com couve tratada com diferentes concentrações do extrato de *Piper cubeba* e nos controles.

Tratamentos	Mortalidade acumulada (%)						
	24 horas	48 horas	72 horas	96 horas	120 horas	144 horas	168 horas
7,00%	90,0 ±	100,0 ±	100,0 ±	100,0 ±	100,0 ±	100,0 ±	100,0 ±
	8,16 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a
5,00%	67,0 ±	89,0 ±	93,0 ±	93,0 ±	93,0 ±	93,0 ±	93,0 ±
	12,52 b	13,70 b	10,59 a	10,59 a	10,59 a	10,59 a	10,59 a
3,00%	81,0 ±	100,0 ±	100,0 ±	100,0 ±	100,0 ±	100,0 ±	100,0 ±
	22,34 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a
1,00%	24,0 ±	86,0 ±	90,0 ±	90,0 ±	90,0 ±	90,0 ±	90,0 ±
	15,78 c	17,76 b	12,47 a	12,47 a	12,47 a	12,47 a	12,47 a
0,50%	13,0 ±	18,0 ±	26,0 ±	47,0 ±	57,0 ±	63,0 ±	64,0 ±
	14,18 d	13,98 c	17,76 b	14,29 b	21,11 b	20,58 b	21,19 b
0,26%	1,0 ±	2,0 ±	5,0 ±	17,0 ±	22,0 ±	26,0 ±	26,0 ±
	3,16 d	4,22 d	7,07 c	9,49 c	9,19 c	9,66 c	9,66 c
0,14%	0,0 ±	3,0 ±	7,0 ±	10,0 ±	10,0 ±	12,0 ±	12,0 ±
	0,00 d	4,83 d	8,23 c	10,54 c	10,54 c	10,33 d	10,33 d
Água + DMSO	4,0 ±	7,0 ±	8,0 ±	15,0 ±	16,0 ±	20,0 ±	20,0 ±
	5,16 d	8,23 d	9,19 c	12,69 c	12,65 c	14,14 cd	14,14 cd
Água	1,0 ±	3,0 ±	7,0 ±	9,0 ±	10,0 ±	10,0 ±	10,0 ±
	3,16 d	6,75 d	13,37 c	12,86 c	12,47 d	12,47 d	12,47 d

¹Médias ± erro padrão seguidas de mesma letra na linha não diferem pelo teste de Kruskal-Wallis (P > 0,05).

4. Discussão

Quando plantas apresentam substâncias inseticidas deve-se inicialmente fazer testes a fim de se conhecer o poder fitotóxico dos seus metabólitos, sejam oriundos de seus extratos ou de óleos essenciais presentes em sua composição, por exemplo. Em seguida, deve ser feita a avaliação de seus efeitos na praga alvo. No presente estudo, o extrato de *P. cubeba* apresentou potencial fitotóxico na espécie de planta hospedeira da praga avaliada (couve).

A fitotoxicidade pode ser definida como um impacto negativo no crescimento ou na aptidão da planta, relacionado às disfunções celulares que afetam o seu sistema fotossintético, por exemplo (Werrie et al., 2020). Diversos produtos fitoquímicos influenciam vários processos fisiológicos de crescimento e no processo de divisão celular da planta, como, por exemplo, no alongamento do sistema

radicular. Neste estudo foi avaliado o efeito visual em folhas de couve, os quais foram bem significativos em concentrações de 3 a 7% do extrato de *P. cubeba* (Figura 2), o que inviabiliza o uso do extrato nessas concentrações. Apesar do registro das concentrações que causam essa atividade nas plantas, a família Piperaceae é composta por mais de 600 substâncias químicas (Stöhr et al., 2001), dificultando assim, o reconhecimento de quais seriam responsáveis pelas ações fitotóxica e inseticida. Segundo Carneiro (2003), os efeitos de fitotoxicidade dependem da espécie botânica utilizada onde o extrato será aplicado, sua fase desenvolvimento e idade, como também a concentração a ser usada.

A folha é a parte da planta mais vulnerável ao ataque de herbívoros, como também é o órgão vegetal com maior atividade metabólica, portanto, é esperado que elas apresentem maior diversidade de aleloquímicos com diferentes níveis de bioatividade (Jacobi e Ferreira, 1991; Borella e Pastorini, 2010). Nas folhas destacadas de couve, o extrato de *P. cubeba* funcionou como uma espécie de cera impermeabilizante, tornando a superfície foliar uma área de pouca perda de água, reduzindo a transpiração. Diferentemente, as folhas nas mudas mantidas em vasos permaneceram secas durante todo o período de avaliação, devendo, em função deste fato, ter ocorrido a pequena diferença entre as notas verificadas nos diferentes dias analisados, com as folhas destacadas a partir do tratamento 3 não apresentando sintomas visíveis de fitotoxicidade. Nas mudas isso só começou a acontecer no tratamento 4, sendo esses efeitos semelhantes aos registrados por Truzzi (2020) trabalhando com o extrato etanólico de *P. cubeba* em folhas de milho e soja.

Barrêto et al. (2005) avaliaram a aplicação de caldas com diferentes diluições do extrato fresco de *Agave sisalana* Perinne (Agavaceae) em plantas de algodoeiro colorido e observaram que as caldas nas proporções de 19%, 38% e 57% provocaram efeitos de fitotoxicidade de nulo a muito leves. De acordo com estes mesmos autores, a intensidade dos sintomas de fitotoxicidade aumentou com as maiores proporções do extrato na calda de aplicação, mostrando tendência semelhante aos resultados dessa pesquisa, onde com a elevação das concentrações ocorreu aumento no grau de severidade na fitotoxicidade.

Os sintomas de fitotoxicidade que as folhas destacadas de couve e as folhas das mudas em vasos apresentaram foram deformações nas suas estruturas e alteração na coloração, respectivamente. Extratos de algumas espécies de *Piper* são usados como herbicidas devido sua ação fitotóxica (Hong et al., 2002; Pucklai e Kato-Noguchi, 2011). Porém, nessa pesquisa, observou-se que baixa concentração do extrato de *P. cubeba* não apresenta fitotoxicidade em couve.

Segundo Graña et al. (2012), α -, β -pineno; p-quimeno, eugenol, limoneno e linalol têm efeitos fitotóxicos na germinação e no crescimento de várias espécies de plantas, sendo tais elementos encontrados em espécies de Piperaceae (Jamarillo-Colorado et al., 2019). Deve também ser destacado que o efeito alelopático de extratos de plantas pode ocorrer quando entram em contato com outras partes da planta, como as raízes (Colpas et al., 2003), sendo que os sintomas observados ocorreram nas folhas de couve, a parte da planta que teve contato direto com o extrato, não sendo avaliado possível ação alelopático nas raízes.

Constatou-se nessa pesquisa um grande potencial tóxico do extrato de *P. cubeba* em lagartas de *P. xylostella*, existindo na literatura relatos de que plantas do gênero *Piper* possuem ação inseticida em insetos-praga. Nesse sentido, a espécie *P. cubeba*, na forma de extrato hexânico ou óleo essencial, pode ser empregada para combate de pragas de grãos armazenados e outros insetos, especialmente da ordem Lepidoptera, conforme citado por Risco et al. (2012), Chaubey (2013) e Truzzi et al. (2019).

Torrecillas e Vendramim (2001) relatam que extratos de plantas podem provocar mortalidade significativa em insetos, como com o extrato aquoso de *Trichilia pallida* (Meliaceae) a 1% que causou mortalidade de 100% em lagartas de *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) antes de completarem 10 dias de idade. Ao avaliarem o potencial inseticida do extrato cetônico de folhas de *P. aduncum* nas concentrações de 8% e 4% em ninfas do percevejo marrom *Euschistus heros* (Fabricius, 1798) (Hemiptera: Pentatomidae), Piton et al. (2014) obtiveram mortalidades de 72% e 52%, além de redução na taxa reprodutiva do inseto e na sobrevivência dos adultos.

A eficiência de produtos de origem botânica, como dos extratos de *Piper* utilizados como inseticidas, tem sido associada com a concentração de piperina

(Scott et al., 2005), sendo que Murata et al. (2000) constataram que o extrato de sementes de *P. tuberculatum* causou toxicidade aguda na lagarta-da-soja, *Anticarsia gemmatilis* Hübner, 1818 (Lepidoptera: Noctuidae) nas doses entre 40 e 140 mg por inseto, com taxas de mortalidade de até 82%. Também, estudando o efeito de extrato acetônico das folhas de *Piper hispidum* em *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Scolytidae), Santos et al. (2010) observaram mortalidade de até 100%. De acordo com Badgujar et al. (2017), o eugenol, composto também encontrado em *Piper* spp. causa toxicidade por contato em *P. xylostella*. O extrato hidroalcoólico de *Lippia sidoides* (Verbenaceae), que também contém eugenol e outros compostos inseticidas efetivos contra *P. xylostella*, apresentou ação inseticida em lagartas dessa praga nas concentrações de 2,5%, 1,7% e 2,0%, causando mortalidade semelhante entre as concentrações testadas, variando entre 96 e 100% (Truzzi et al., 2016; Monteiro et al., 2021).

Ainda, os óleos essenciais de *Piper* podem apresentar substâncias com potencial antialimentar (Andrés et al., 2017; Jamarillo-Colorado et al., 2019), o que pode ter acontecido com o extrato de *P. cubeba* e ter levado à morte das lagartas por inanição.

Os inseticidas a base de plantas devem apresentar eficiência de controle maior que 80% para a utilização no Manejo Integrado de Pragas (MIP) (MAPA, 2015), portanto, o extrato hexânico de *P. cubeba* poderia ser utilizado para controle de *P. xylostella*. Nesse sentido, o presente trabalho pode mostrar que o extrato hexânico de *P. cubeba* apresenta-se como uma alternativa promissora para o controle de *P. xylostella*. Entretanto, estudos com suas substâncias ativas isoladas devem ser realizados para avaliação de onde vem atividade inseticida, visando com isso a possibilidade de síntese de novas moléculas para elaboração de inseticidas em escala comercial a ser utilizado no manejo integrado de *P. xylostella*.

5. Conclusões

O extrato de *P. cubeba* apresenta fitotoxicidade em couve nas concentrações de 3,0; 5,0 e 7,0%;

O extrato de *P. cubeba* nas concentrações utilizadas apresenta ação inseticida para lagartas de *P. xylostella*;

A concentração adequada do extrato de *P. cubeba* que produz bons índices de mortalidade em lagartas de *P. xylostella*, sem causar fitotoxicidade em folhas e mudas, é de 1%.

6. Referências

Andrés MF, Rossa GE, Cassel E, Vargas RMF, Santana O, Díaz CE, González-Coloma A (2017) Biocidal effects of *Piper hispidinervum* (Piperaceae) essential oil and synergism among its main components. **Food and Chemical Toxicology** 109:1086-1092.

Badgujar RH, Mendki OS, Kotkar HM (2017). Management of *Plutella xylostella* using *Cinnamomum zeylanicum* and *Syzygium aromaticum* extracts and their major secondary metabolites. **Biopestic International Journal** 13:1-14.

Barrêto AF, Souza JR, Araújo Filho AD, Dias RS, Lacerda NP, Medeiros IF, Japiassú A, Dias PS, Zógob LEL, Ramalho FK (2005) Efeitos da aplicação de suco fertiprotetor de agave (*Agave sisalana*) fresco, sobre plantas de algodoeiro colorido BRS 200 – marrom. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ALGODÃO. **Anais...** Salvador. 5 p.

Bevilacqua HECR (2011) Classificação das hortaliças. In: Bevilacqua HECR (Ed.) **Cultivo de hortaliças**. São Paulo: Prefeitura de São Paulo, p. 1-6.

Borella J, Pastorini LH (2010) Efeito alelopático de frutos de umbu (*Phytolacca dioica* L.) sobre a germinação e crescimento inicial de alface e picão-preto. **Ciência e Agrotecnologia** 34(5):1129-1135.

Carneiro SMTPG (2003) Efeito de extratos de folhas e do óleo de nim sobre o oídio do tomateiro. **Summa Phytopathologica** 29(3):262-265.

Carvalho GA, Santos NM, Pedroso EC, Torres AF (2008) Eficiência do óleo de nim (*Azadirachta indica* A. Juss) no controle de *Brevicoryne brassicae* (Linnaeus, 1758) e *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) (Hemiptera: Aphididae) em couve-manteiga *Brassicae oleracea* Linnaeus var. *acephala*. **Arquivos do Instituto Biológico** 75(2):181-186.

Castelo Branco M, França FH, Medeiros MA, Leal JGT (2001) Uso de inseticidas para o controle da traça-do-tomateiro e traça-das-crucíferas: um estudo de caso. **Horticultura Brasileira** 19(1):60-63.

Castelo Branco M (1999) Avaliação da eficiência de formulações de *Bacillus thuringiensis* para o controle de traça-das-crucíferas em repolho no Distrito Federal. **Horticultura Brasileira** 17:237-240.

Castro MJP de, Silva PHS da, Pádua LEM (2010) Potencial de extratos de frutos frescos e desidratados de *Piper tuberculatum* Jacq. (Piperaceae) no desenvolvimento da lagarta-do-cartucho do milho. **Magistra** 22(2):88-95.

Chaubey MK (2013) Biological activities of *Zingiber officinale* (Zingiberaceae) and *Piper cubeba* (Piperaceae) essential oils against pulse beetle, *Callosobruchus chinensis* (Coleoptera: Bruchidae). **Pakistan Journal of Biological Sciences** 16:517-523. doi: 10.3923/pjbs.2013.517.523

Colpas FT, Ono EO, Rodrigues JD, Passos JR (2003) Effects of some phenolic compounds on soybean seed germination and on seed-borne fungi. **Brazilian Archives of Biology and Technology** 46(2):155-161.

De Bortoli CP (2018) **The investigation of factors potentially involved in resistance to *Bacillus thuringiensis* in native *Plutella xylostella* (L) (Lepidoptera: Plutellidae) populations** 127 p. Tese (Doutorado em Entomologia Agrícola), Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

De Bortoli SA, Vacari AM, Polanczyk RA, Veiga ACP, Goulart RM (2017). In: Fiuza LM, Polanczyk, RA, Crickmore, N (Eds.). Effect of *Bacillus thuringiensis* on parasitoids and predators. New York: Springer, p. 67-77.

EUROPEAN WEED RESEARCH COUNCIL (1964) Respost of three third and fourth Medetings of European Weed Research Council Committee on Methods. **Weed Research** 4:88.

Filgueira FAR (2008) **Novo manual de olericultura**: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. Viçosa: UFV, 421 p.

Gonçalves-Gervásio RCR (2003) **Efeitos de extratos de *Trichilia pallida* Swartz e *Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae) sobre *Tuta absoluta* (Meyrick) e seu parasitóide *Trichogramma pretiosum* Riley.** 88 p. Tese (Doutorado), Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba.

Graña E, Díaz-Tielas C, Sanchez-Moreiras AM, Reigosa MJ (2012) Mode of action of monoterpenes in plant-plant interactions. **Current Bioactive Compounds** 8:80-89.

Hong NH, Xuan TD, Eiji T, Matsuo M, Yuichi O (2002) Evaluation of the allelopathic potential of Kava (*Piper methysticum* L.) for weed control in rice. **Weed Biology and Management** 2:143-147.

Jacobi US, Ferreira AG (1991) Efeitos alelopáticos de *Mimosa bimicronata* (DC) sobre espécies cultivadas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 26:935-943.

Jaramillo-Colorado B, Pino-Benitez N, González-Coloma A (2019) Volatile composition and biocidal (antifeedant and phytotoxic) activity of the essential oils of four Piperaceae species from Choco-Colombia. **Industrial Crops and Products** 138:111463.

Karlsson MF (2005) **Control de mosca branca *Aleurotrachelus socialis* Bondar (Hemiptera: Alelyrodidae)**. 74 f. Tese (Minor Field Studies), Universidad Sueca de Agricultura, Swedish.

Khattab H (2007) The deffence mechanism of cabbage plant against phloem-stucking aphid (*Brevicoryne brassicae* L.). **Australian Journal of Basic and Applied Sciences** 1(1):56-62.

Kim SI, Roh JY, Kim DH, Lee HS, Ahn YJ (2003) Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. **Journal of Stored Products Research** 39:293-303.

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (2015) **Memória da 2 a reunião técnica nacional sobre pesquisa com agrotóxicos**. Curitiba: SFA-PR, 6 p.

Martins ALC (2011) Colheita das hortaliças. In: Bevilacqua HECR (Ed.) **Cultivo de hortaliças**. São Paulo: Prefeitura de São Paulo, p. 77-78.

Masson L, Prefontaine G, Peloquin L, Lau PCK, Brousseau R (1990) Comparative analysis of the individual protoxin components in P1 crystals of *Bacillus thuringiensis* subsp *kurstaki* isolates NRD-12 and HD-1. **Biochemical Journal** 269(2):507-512.

Mau RFL, Kessing JLM (2007) *Plutella xylostella* (Linnaeus). Crop Knowledge Master. Disponível em:<<http://www.extento.hawaii.edu/kbase/crop/Type/plutella.htm>>. Acesso em: 12 mai. 2021.

Medeiros PT, Dias JMCS, Monnerat RG, Souza NR (2003) Instalação e manutenção de criação massal da traça-das-crucíferas (*Plutella xylostella*). Brasília: EMBRAPA, 4 p. (Circular Técnica, 29).

Menezes ELA (2005) **Inseticidas botânicos**: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. Seropédica: EMBRAPA, 58 p.

Monteiro PC, Majolo C, Chaves FCM, Bizzo HR, Almeida O'Sullivan FL, Chagas EC (2021) Antimicrobial activity of essential oils from *Lippia sidoides*, *Ocimum gratissimum* and *Zingiber officinale* against *Aeromonas* spp. **Journal of Essential Oil Research** 33:152-161.

Murata AT, Navickiene HMD, Miranda JE, Bolzani VS, Furlan M, Kato MJ, Paredes GED, De Bortoli SA (2000) Susceptibility tests of 4,5- dihidropiperlonguminina isolated from *Piper tuberculatum* seeds on velvetbean caterpillar. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF ENTOMOLOGY, 21., 2000, Foz do Iguaçu. **Abstracts...** Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 178 p.

Novo MCSS, Prael-Pantano A, Trani PE, Blat SF (2010) Desenvolvimento e produção de genótipos de couve manteiga. **Horticultura Brasileira** 28(3):321-325.

Piton LP, Turchen LM, Butnariu AR, Pereira MJB (2014) Natural insecticide based-leaves extract of *Piper aduncum* (Piperaceae) in the control of stink bug brown soybean. **Ciência Rural** 44(11):1915-1920.

Pukclai P, Kato-Noguchi H (2011) Allelopathic activity of *Piper sarmentosum* Roxb. **Asian Journal of Plant Sciences** 10:147-152.

Risco GVS, Idrogo CR, Kato MJ, Díaz JS, Armando-Jr J, Paredes GED (2012) Larvicidal activity of *Piper tuberculatum* on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) under laboratory conditions. **Revista Colombiana de Entomología** 38:35-41.

Šamec D, Salopek-Sondi B (2019) Cruciferous (Brassicaceae) vegetables In.: Nabavi SM, Silva AS (Eds.) **Nonvitamin and nonmineral nutritional supplements**. Cambridge: Academic Press, p. 195–202.

Santos JHR dos, Gadêlha JWR, Carvalho ML, Pimentel JVF, Júlio PVMR (1998) **Controle alternativo de pragas e doenças**. Fortaleza: UFC, 216 p.

Santos MRA, Silva AG, Lima RA, Lima DKS, Teixeira CAD, Polli AR, Facundo VA (2010) Atividade inseticida do extrato das folhas de *Piper hispidum* (Piperaceae) sobre a broca-do-café (*Hypothenemus hampei*). **Brazilian Journal of Botany** 33:319-324.

Sarfraz M, Dosdall LM, Keddle BA (2006) Diamondback moth-host plant interactions: implications for pest management. **Crop Protection** 25:625-639.

SAS Institute (2015) SAS/IML® 14.1 User's guide. Cary: SAS Institute Inc.

Scott IM, Puniani E, Jensen H, Livesey JF, Poveda L, Sánchez-Vindas P, Durst T, Arnason JT (2005) Analysis of Piperaceae germplasm by HPLC and LCMS: A method for isolating and identifying unsaturated amides from *Piper* spp. extracts. **Journal of Agriculture and Food Chemistry** 53:1907-1913. DOI: 10.1021/jf048305a

Schoonhoven AAS, Pastor-Corrales MA (1987) **Standard system for the evaluation of bean germplasm**. Cali: CIAT, 54 p.

Souza-Silva CR, Ilharco FA (2008) Afídeos (Hemiptera: Aphididae) das couves. **Revista de Agricultura** 83(2):87-91.

Stöhr JC, Xiao PG, Bauer R (2001) Constituents of Chinese *Piper* species and their inhibitory activity on prostaglandin and leukotriene biosynthesis in vitro. **Journal of Ethnopharmacology** 75:133-139. doi:10.1016/S0378-8741(00)00397-4

Tabashnik BE, Finson N, Groeters FR, Moar WJ, Johnson MW, Luo K, Adang MJ (1994) Reversal of resistance to *Bacillus thuringiensis* in *Plutella xylostella*. **PNAS** 91:4120-4124.

Talekar NS, Shelton AM (1993) Biology, ecology and management of the diamondback moth. **Annual Review of Entomology** 38:275-301.

Thuler RT (2009) Criação de *Plutella xylostella*. In.: De Bortoli SA (Ed.) **Criação de insetos**: da base a biofábrica. Jaboticabal: Edição própria, p. 58-68.

Torrecilas SM, Vendramim JD (2001) Extrato aquoso de ramos de *Trichilia pallida* e o desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* em genótipos de milho. **Scientia Agrícola** 58(1):27-31.

Trani PE, Tivelli SW, Blat SF, Pantano AP (2014) **Couve de folha**: do plantio à pós-colheita. Campinas: **Instituto Agrônômico**, 36 p.

Trindade FTT, Silva AA (2008) Avaliação da atividade larvica dos extratos de *Piper tuberculatum* Jacq. e *Piperaba tabaccum* Trel & Yuncker sobre as larvas de *Anopheles darlingi* (Diptera:Culicidae). **Anais...** Porto Velho: Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica.

Truzzi CC, Vieira NF, Vacari AM, De Bortoli SA (2016) Ação inseticida do extrato de *Lippia sidoides* Cham. para *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae). In: INTERNATIONAL PLANT PRODUCTION SYMPOSIUM. Jaboticabal, 2016. Proceedings.

Truzzi CC, Vieira NF, Ferracini B, Souza JM, De Bortoli SA (2019) Extrato hexânico de *Piper cubeba* apresenta atividade inseticida sobre *Spodoptera frugiperda* e *Helicoverpa armigera*?. In: 16° SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, **Anais...** Londrina, p. 473.

Truzzi CC (2020) ***Helicoverpa armigera* e *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae): dieta artificial, produtos para controle e efeitos em polinizadores.** 156 p. Tese (Doutorado em Agronomia/Entomologia Agrícola), Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

Twizeyimana M., Ojiambo PS, Ikotun T, Paul C, Hartman GL, Bandyopadhyay R. (2007) Comparison of field, greenhouse, and detached-leaf evaluations of soybean germplasm for resistance to *Phakopsora pachyrhizi*. **Plant Disease** 91(9):1161-1169. <https://doi.org/10.1094/PDIS-91-9-1161>.

Vendramim JD (1997) Uso de plantas inseticidas no controle de pragas. **Anais...** São Paulo: Ciclo de Palestras Sobre Agricultura Orgânica.

Vendramim JD (2000) Plantas inseticidas e controle de pragas. **Informativo da Sociedade Entomológica do Brasil** 25:1-5.

Werrie PY, Durenne B, Delaplace P, Fauconnier ML (2020) Phytotoxicity of essential oils: opportunities and constraints for the development of biopesticides. A Review. **Foods** 9:1291.

CAPÍTULO 4 – Ação de inseticidas químico, biológico e extrato de *Piper cubeba* em ovos e na oviposição de *Plutella xylostella*, em condições de laboratório

RESUMO – *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) é um inseto-praga de brassicáceas, com as medidas para seu combate podendo gerar elevados custos anuais. O método mais utilizado para seu controle tem sido o químico, muito embora o emprego excessivo, além de selecionar resistência em suas populações, provoca efeitos negativos ao ambiente e à saúde humana. A utilização de bioinseticidas e de extratos de plantas com propriedades inseticidas representam alternativas ao controle químico, sendo os mesmos sustentáveis ambientalmente. Embora pesquisas tenham descrito a ação do *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* nas fases larvais de *P. xylostella*, pouco se sabe sobre seu efeito em ovos deste e de outros lepidópteros. Este estudo teve como objetivo avaliar e compreender a ação do inseticida biológico *B. thuringiensis* var. *kurstaki*, do químico ciantraniliprole e do extrato de *Piper cubeba* L. na oviposição e em ovos de uma população de *P. xylostella*. Os ovos recém colocados (0 h), com 24 e 48 horas de idade foram avaliados por 4 dias após ao tratamento com as soluções dos respectivos produtos, determinando-se o número de lagartas eclodidas e o período de desenvolvimento embrionário. Nos testes de oviposição, discos de folhas de couve tratados com as soluções em teste foram dispostos em gaiolas plásticas contendo um casal de *P. xylostella*, sendo esses discos diariamente trocados para a contagem do número de ovos neles depositados. Ovos com 24 e 48 h de idade tratados com extrato de *P. cubeba* e ovos recém colocados tratados com ciantraniliprole apresentaram as menores taxas de eclosão de larvas. Os discos de couve tratados com extrato de *P. cubeba* diminuíram a longevidade dos adultos, assim como a oviposição de *P. xylostella*. O tratamento com ciantraniliprole reduziu a longevidade das fêmeas, o número e a viabilidade dos ovos em relação aos discos tratados com *B. thuringiensis* e água destilada (controle). Este estudo mostrou que o extrato de *P. cubeba* apresenta maior ação tóxica em ovos e influencia negativamente na oviposição de *P. xylostella*.

Palavras-chave: ação embrionocida, *Bacillus thuringiensis*, ciantraniliprole, extrato botânico, traça-das-crucíferas.

CHAPTER 4 – Action of chemical and biological insecticides and *Piper cubeba* extract on eggs and oviposition of *Plutella xylostella* under laboratory conditions

ABSTRACT – *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) is the main insect pest of Brassicaceae, and measures to combat it can generate high annual costs. The most used method for its control has been the chemical one, although excessive use, in addition to selecting resistance in their populations, causes negative effects to the environment and human health. The use of bioinsecticides and plant extracts with insecticidal properties represent alternatives to chemical control, which are environmentally sustainable. Although research has described the action of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* in the larval stages of *P. xylostella*, little is known about its effect on eggs of this and other lepidopterans. This study aimed to evaluate and understand the action of the biological insecticide *B. thuringiensis* var. *kurstaki*, the chemical cyantraniliprole and the extract of *Piper cubeba* L. on oviposition and eggs of a population of *P. xylostella*. Freshly laid eggs (0 h) aging 24 and 48 hours were evaluated during 4 days after treatment with the solutions of the respective products, determining the number of hatched larvae and the embryo development period. In the oviposition tests, collard green leaf discs treated with the test solutions were placed in plastic cages containing a pair of *P. xylostella*, and these discs were changed daily to count the number of eggs deposited. Eggs aged 24 and 48 h treated with *P. cubeba* extract and freshly laid eggs treated with cyantraniliprole had the lowest larval hatching rates. Collard green leaf discs treated with *P. cubeba* extract decreased adult longevity, as well as *P. xylostella* oviposition. The treatment with cyantraniliprole reduced female longevity, egg number and viability compared to discs treated with *B. thuringiensis* and distilled water (control). This study showed that *P. cubeba* extract has greater toxic action on eggs and negatively influences *P. xylostella* oviposition.

Keywords: embryonic action, *Bacillus thuringiensis*, cyantraniliprole, botanical extract, diamondback moth.

1. Introdução

Na olericultura, de um modo geral, tem grande destaque a produção de brassicáceas, devido ao seu elevado volume de produção e retorno financeiro ao horticultor, principalmente, para os produtores familiares, destacando-se sua ampla utilização em função de suas propriedades nutricionais e medicinais. Esse grupo de plantas se destaca, entre outras hortaliças cultivadas, particularmente folhosas, pelo seu alto valor em carboidratos, proteínas, iodo, fibras, cálcio, ferro e vitaminas A e C (Trani et al., 2015).

A traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae), é um microlepidóptero amplamente distribuído nas áreas de cultivo de brassicáceas, no Brasil e no mundo, causando enormes perdas em função das desfolhas generalizadas que as lagartas podem causar (Furlong et al., 2013). Associado a isso, estima-se que os custos anuais para o controle desta praga estejam em torno de U\$ 2,3 bilhões, avolumando-se significativamente quando a eles são somados os danos causados, podendo então ultrapassar U\$ 5 bilhões anuais na economia mundial (Zalucki et al., 2012; Li et al., 2016).

Dentre os fatores que contribuem para o sucesso de *P. xylostella* como inseto-praga destacam-se a alta capacidade reprodutiva e o ciclo de vida curto (média de 12 dias) (Liu et al., 2002; Machezano et al., 2017; CABI, 2019). Esse inseto sobrevive em um amplo gradiente de temperatura, alimentando-se de diversas espécies de brassicáceas (Talekar e Shelton, 1993; Zhao et al., 2002; Shelton e Nault, 2004; Vickers et al., 2004), com a literatura pertinente relatando também a sua alta capacidade de seleção para resistência a inseticidas químicos (Whalon et al., 2016).

O controle químico é o método mais empregado em todo o mundo para o manejo de *P. xylostella* (Grzywacz et al., 2009; De Bortoli et al., 2013). Muito embora este método possa ser eficaz no controle da praga, existem vários problemas decorrentes do seu uso, principalmente aqueles relacionados à saúde humana (Benedetti et al., 2013; Sabarwal et al., 2018), ao meio ambiente (Carriger et al., 2006; Brühl e Zaller, 2019) e à seleção de populações resistentes (Steinbach et al., 2017; Troczka et al., 2017). Dentre as estratégias de manejo utilizadas para evitar ou

retardar o aparecimento de populações resistentes, podem ser citadas a aplicação adequada de inseticidas, quando o nível de controle for atingido; a utilização de produtos de diferentes grupos químicos e modos de ação; a aplicação de inseticidas seletivos aos inimigos naturais; e o emprego de mais de uma estratégia de controle (Desneux et al., 2007; Gentz et al., 2010; Fathipour e Sedaratian, 2013).

Como alternativa ao controle químico, os bioinseticidas à base da bactéria entomopatogênica *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) Berliner podem ser empregados nos sistemas de produção (Gong et al., 2010; Nian et al., 2015). De acordo com Mohan e Gujar (2002), *B. thuringiensis* var. *kurstaki* (*Btk*) (HD-1) é o componente principal de um dos bioinseticidas mais eficazes no controle de *P. xylostella*, o Dipel®. Essa bactéria produz as proteínas inseticidas Cry1Aa, Cry1Ab, Cry1Ac, Cry2Aa, utilizadas como ingredientes ativos de produtos comerciais (Höfte et al., 1988; Abbott Laboratories, 1992; Fu et al., 2008).

As toxinas produzidas por essas bactérias são mais efetivas aos lepidópteros-praga (Roh et al., 2007), tendo rápida degradação no ambiente, o que diminui os riscos do impacto ambiental negativo (Brewer e Goodell, 2012). Entretanto, casos de resistência de *P. xylostella* às toxinas de *Bt* também já estão devidamente relatados na literatura (Kirsch e Schmutterer, 1988; Tabashnik et al., 1990; Baragamaarachchi et al., 2019). A utilização de *Bt* em ovos de insetos pode ocasionar à mortalidade, sendo que este fato ainda não foi estudado com a profundidade necessária, com a estratégia de se aplicar *Bt* visando atingir os ovos, além de larvas, pode ser bastante útil para se obter um controle efetivo para populações de *P. xylostella*.

Outra opção a ser considerada como alternativa para o Manejo Integrado de Pragas (MIP) é a utilização de substâncias bioativas de origem vegetal com propriedades inseticidas (Isman, 2006), que podem auxiliar no controle de pragas (Pereira, 2019). Extratos de plantas são facilmente degradados por fatores abióticos, sendo assim menos agressivos ao meio ambiente (Saito e Luchini, 1998)

O uso desses compostos, representando uma medida de controle para muitas pragas, já é adotado em diversos países, ressaltando-se a vantagem do baixo risco ao meio ambiente e à saúde humana (Saito e Luchini, 1998; Isman, 2020). Entretanto, a despeito de se ter diversas substâncias de origem vegetal com propriedades inseticidas, poucos são os produtos disponíveis no mercado (Moraes e

Marinho-Prado, 2016). Desse modo, estudos são necessários para se identificar substâncias extraídas de plantas com potencial de uso no controle de insetos-praga, bem como para o desenvolvimento de produtos que sejam eficazes, juntamente com outros métodos de controle, para serem incorporados aos programas de MIP.

Atualmente, muitas espécies de plantas são conhecidas por apresentarem compostos químicos com potencial de inibir a oviposição, a alimentação, prejudicar o crescimento larval e causar a mortalidade de insetos-praga (Gallo et al., 2002; Menezes, 2005; Isman, 2006; Krinski et al., 2014). Dentre essas espécies, plantas da família Piperaceae vêm sendo estudadas devido a presença de moléculas bioativas que possuem potencial inseticida (Park et al., 2002 e 2003). Informações da literatura mostram que compostos extraídos de *Piper cubeba* Lf. (Piperales: Piperaceae) possuem atividade contra insetos, como mosquitos, moscas (Miyakado et al., 1989), besouros (Chaubey, 2013) e lagartas (Truzzi, 2020), não existindo, entretanto, relatos sobre o seu efeito na oviposição e em ovos de *P. xylostella*. Dessa maneira, os extratos oriundos de plantas da família Piperaceae podem ser utilizados para o controle de pragas, assim como suas substâncias ativas também podem ser empregadas na síntese de novos princípios ativos de inseticidas (Saito, 2004).

Devido às perdas significativas provocadas por *P. xylostella* nos cultivos e os diversos problemas ocasionados pelo uso intensivo de inseticidas químicos, a busca por outros métodos de controle para serem usados em programas de MIP é de fundamental importância. Assim, trabalhos que analisem a eficiência dos inseticidas em ovos, fase bastante vulnerável das pragas, bem como na oviposição, são de grande importância também para orientar o uso e a rotação de produtos no MIP.

Nesse sentido, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito de ciantraniliprole (inseticida químico), *Btk* HD-1 (inseticida biológico) e extrato de *P. cubeba* em ovos e na oviposição de *P. xylostella*, em condições de laboratório, visando melhorar a compreensão sobre suas ações no desenvolvimento embrionário e capacidade de oviposição dessa praga.

2. Material e métodos

Os bioensaios foram realizados no Laboratório de Biologia e Criação de Insetos (LBCI) do Departamento de Ciências da Produção Agrícola da FCAV/UNESP, Jaboticabal, São Paulo. Os insetos e os experimentos foram mantidos em sala climatizada com temperatura de 25 ± 1 °C, fotoperíodo de 12 h de luz e 12 h de escuro e umidade relativa de $70 \pm 10\%$. Os insetos utilizados foram da população denominada Bt mantida no LBCI, resistente a *P. xylostella*, originária de indivíduos coletados em 2008 em repolho, de uma área de cultivo convencional na cidade de Alegre, Espírito Santo, Brasil, e selecionada para resistência com a linhagem *Btk* HD-1, em condições de laboratório. Esse isolado contém os genes *cry1Aa*, *cry1Ab* e *cry1Ac* (Viana, 2007), tendo sido o mesmo obtido no Banco de Germoplasma de *Bacillus* entomopatogênicos pertencente à coleção do Laboratório de Genética de Bactérias e Biotecnologia Aplicada (LGBBA) da FCAV/Unesp.

2.1. Criação de *Plutella xylostella*

Adultos de *P. xylostella*, oriundos da criação estoque do LBCI, foram liberados em gaiolas plásticas transparentes (15,0 cm de diâmetro × 14,5 cm de altura) contendo discos de folhas de couve (substrato para oviposição) com 8,0 cm de diâmetro, assentados sobre discos de papel filtro do mesmo diâmetro e levemente umedecidos. Esses discos foram dispostos sobre copos plásticos transparentes com a abertura voltada para baixo, ficando o substrato para oviposição elevado no interior da gaiola. Na parte superior da gaiola foi feito uma abertura circular de 2,5 cm de diâmetro, para a fixação de uma espuma plástica embebida em solução aquosa de mel a 10 % (fonte de alimento dos adultos). Em cada gaiola foi feita uma abertura lateral quadrada (10,0 cm × 10,0 cm), coberta com tecido tipo “voile”, com a finalidade de melhorar a aeração interna. Os discos de folhas de couve com as posturas foram retirados diariamente e transferidos para placas de Petri (12,0 cm de diâmetro), onde ficaram até a eclosão das lagartas. Na sequência, as lagartas eram transferidas para caixas plásticas retangulares (30,0 cm de comprimento × 15,0 cm de largura × 7,5 cm de altura) contendo folhas de couve. Essas caixas foram

vistoriadas diariamente, fazendo-se a higienização e reposição do alimento até as lagartas atingirem a fase pupal. As pupas foram coletadas com o auxílio de uma pinça e acondicionadas em tubos de ensaio de fundo chato (8,0 cm de altura × 2,0 cm de diâmetro), vedados com filme plástico (PVC) com pequenos orifícios feitos com a utilização de um estilete, visando melhorar a aeração interna do recipiente. Após a emergência, os adultos foram acondicionados nas gaiolas descritas anteriormente, recomeçando o ciclo biológico do inseto, sendo essa metodologia baseada na de Barros (1998), adaptada por De Bortoli et al. (2012).

2.2. Ação dos produtos aplicados nos ovos

Folhas de couve contendo ovos recém colocados (0 h), com 24 e com 48 horas pós-postura foram imersas por 5 segundos nas soluções do extrato hexânico de *P. cubeba* (9,5 mL/L), preparado na Universidade de Franca (UNIFRAN), Franca, São Paulo, Brasil, conforme descrito por Truzzi (2020). Para os demais tratamentos foram preparadas soluções de *Btk* (0,6 g/L) (Dipel®), de ciantraniliprole (0,125 mL/L) (Benevia®) (segundo Agrofite, 2021) e água destilada (controle). Os ovos tratados foram transferidos para cartelas de cartolina (4 cm × 1,5 cm), totalizando 30 ovos por repetição, sendo conduzidas 5 repetições por tratamento. As cartelas com os ovos tratados foram acondicionadas em placas de Petri (9,5 cm de diâmetro × 2,0 cm de altura) contendo discos de papel filtro umedecidos em seu interior e vedadas com filme plástico (PVC), com o objetivo de se evitar o ressecamento dos mesmos. Na sequência dos tratamentos, durante 4 dias, foram realizadas observações com o auxílio de microscópio estereoscópico, determinando-se a viabilidade dos ovos (números de lagartas eclodidas). As lagartas eclodidas foram retiradas do recipiente com o auxílio de um pincel de cerdas macias, evitando-se danificar os ovos remanescentes.

2.3. Efeitos dos produtos na oviposição

Discos de folhas de couve com 5,0 cm de diâmetro foram imersos, por 5 segundos, nas soluções do extrato de *P. cubeba* (9,5 mL/L), de *Btk* (0,6 g/L)

(Dipel®), de ciantraniliprole (0,125 mL/L) (Benevia®) e em água destilada (controle). Os testes foram realizados em gaiolas semelhantes àsquelas da criação de *P. xylostella*. Foi utilizado um casal recém-emergido por gaiola (repetição), sendo conduzidas 5 repetições por tratamento. Os discos contendo posturas foram substituídos diariamente, com a avaliação do número e da viabilidade dos ovos a cada 24 horas, até a morte das fêmeas. As longevidades dos machos e das fêmeas também foram registradas. As posturas obtidas em discos de couve com os tratamentos citados, durante 4 dias, foram separadas em placas de Petri (9 cm de diâmetro) forradas com papel filtro levemente umedecido com água destilada. Assim, foram sendo observados até a eclosão das larvas, determinando-se o período de incubação desses ovos.

2.4. Análise estatística

No bioensaio sobre o efeito dos produtos em ovos, o delineamento experimental foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 4 (tratamentos + controle) $\times$ 3 (idade dos ovos), empregando-se 5 repetições com 30 ovos cada. No bioensaio de oviposição, o delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com 5 repetições (um casal por repetição). Todos os parâmetros foram submetidos a análise de variância (ANOVA), sendo a comparação entre as médias dos tratamentos nos testes do efeito dos produtos em ovos realizada pelo teste de Tukey ($P < 0,05$), visto que os dados atenderam aos requisitos da ANOVA. Para o bioensaio de oviposição (viabilidade e período de incubação) foi utilizado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis ($P < 0,05$), pois os dados não atenderam aos requisitos da ANOVA. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software SAS (SAS Institute, 2015).

3. Resultados

Para os dados de viabilidade dos ovos de *P. xylostella* foi verificada a interação entre os tratamentos e a idade dos ovos ($F_{11, 48} = 15,10$; $P < 0,0001$). As menores viabilidades para ovos de 0 h foram observadas no tratamento com

ciantraniliprole (33,3 %), enquanto para ovos de 24 e 48 h o extrato de *P. cubeba* promoveu os menores valores para esse parâmetro biológico (23,3 e 2,66 %, respectivamente). Os ovos tratados com água destilada (controle), como esperado, apresentaram as maiores viabilidades nas três idades do desenvolvimento embrionário. Os ovos tratados com *Btk* apresentaram viabilidades semelhantes em todas as idades de desenvolvimento do embrião, aproximadamente 67%, enquanto os ovos que foram tratados com ciantraniliprole apresentaram menor viabilidade (33,3%) quando receberam a aplicação em idade mais precoce (ovos recém colocados, 0h). Em relação aos ovos tratados com o extrato de *P. cubeba*, a viabilidade foi ainda menor (2,7%) quando aplicado em ovos com 48 horas pós oviposição (Tabela 1).

Tabela 1. Efeito dos inseticidas químico, biológico e extrato de *Piper cubeba* na viabilidade de ovos (%) de *Plutella xylostella*, em diferentes idades do desenvolvimento embrionário.

Tratamentos	Idade dos ovos		
	Postura recente	Com 24h	Com 48h
Controle	76,7 ± 5,77 aB ¹	74,7 ± 7,72 aB	98,7 ± 0,80 aA
<i>Bacillus thuringiensis</i>	64,0 ± 6,85 aA	69,3 ± 2,67 aA	66,7 ± 2,35 bA
Ciantraniliprole	33,3 ± 7,82 bB	63,3 ± 5,27 aA	53,3 ± 8,23 bA
<i>Piper cubeba</i>	66,7 ± 6,05 aA	23,3 ± 6,24 bB	2,7 ± 1,25 cC

¹Médias ± erro padrão seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

O extrato de *P. cubeba*, quando aplicado no substrato de oviposição, ocasionou a morte dos adultos em aproximadamente 24 horas (machos - $F_{3, 16} = 6,13$; $P = 0,0056$; fêmeas - $F_{3, 16} = 17,57$; $P = < 0,0001$), portanto não foram obtidos ovos nesse tratamento. Em relação aos demais produtos, valores menores para oviposição ($F_{2, 12} = 6,20$; $P = 0,0142$) e viabilidade dos ovos ($\chi^2 = 8,9049$; G.L. = 2; $P = 0,0117$) foram verificados no tratamento com ciantraniliprole, sendo 67 ovos/fêmea e 56,9%, respectivamente. Nas gaiolas com o substrato tratado com ciantraniliprole, as fêmeas tiveram longevidade média de 4 dias, diferindo dos tratamentos controle (8 dias) e *Btk* (10 dias). No substrato com *Btk* (10,0 dias) não ocorreu diferença em

relação ao tratamento controle (8,0 dias), resultando em maior longevidade de fêmeas quando comparado aos demais tratamentos, assim como maior número de posturas, com mais de 180 ovos/fêmea (Tabela 2).

Tabela 2. Longevidade de machos e de fêmeas (dias) e fecundidade (ovos/fêmea) de *Plutella xylostella*, exposta ao substrato de oviposição tratado com inseticidas químico, biológico e extrato de *Piper cubeba*.

Tratamentos	Longevidade de machos	Longevidade de fêmeas	Fecundidade (ovos/fêmea)
Controle	8,6 ± 1,78 a ¹	8,0 ± 1,41 a	146,0 ± 22,49 a
<i>Bacillus thuringiensis</i>	9,4 ± 1,86 a	10,0 ± 1,00 a	183,0 ± 24,70 a
Ciantraniliprole	6,0 ± 1,30 a	4,0 ± 0,84 b	67,0 ± 24,14 b
<i>Piper cubeba</i>	1,4 ± 0,40 b	1,0 ± 0,00 c	-

¹Médias ± erro padrão seguidas de mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

A viabilidade dos ovos de *P. xylostella* foi superior a 96,0% nos tratamentos controle e *B. thuringiensis*, sendo nos ovos expostos a ciantraniliprole menor (56,9%) em relação a esses tratamentos. Em relação ao período de incubação, não houve efeito dos tratamentos, com a eclosão das larvas ocorrendo após 3 dias, em média ($\chi^2 = 11,2781$; G.L. = 2; $P = 0,4694$) (Tabela 3).

Tabela 3. Período de incubação (dias) e viabilidade de ovos (%) de *Plutella xylostella*, expostas ao substrato de oviposição tratado com inseticidas químico e biológico.

Tratamentos	Período de incubação	Viabilidade de ovos
Controle	3,59 ± 0,24 a	97,2 ± 1,75 a ¹
<i>Bacillus thuringiensis</i>	3,33 ± 0,11 a	96,4 ± 1,08 a
Ciantraniliprole	3,30 ± 0,15 a	56,9 ± 11,94 b

¹Médias ± erro padrão seguidas de mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Kruskal-Wallis ($P > 0,05$).

4. Discussão

Ao se comparar a oviposição e a ação dos diferentes produtos em *P. xylostella* foram observadas diferenças, com o maior número de posturas e longevidade superior dos adultos nos substratos de oviposição (disco foliar de couve) tratados com *Btk*, o que pode ter ocorrido devido à característica de resistência da população utilizada no estudo. Os resultados dessa pesquisa mostram que o extrato de *P. cubeba* pode ser eficaz no controle da praga, pois apresenta ação ovicida, influenciando também negativamente na oviposição de *P. xylostella*. A rotação de produtos com diferentes toxinas é importante para o manejo da resistência e isso pode ser reforçado quando outros produtos, tais como os naturais, estejam também associados ao manejo (Tabashnik et al., 1990; Grzywacz et al., 2010; Amoabeng et al., 2014).

A ação ovicida pode ocorrer de forma física e/ou química, sendo diretamente proporcional a concentração da solução, na maior parte dos casos. A ação física normalmente se dá pelo contato com a superfície do ovo, impedindo as trocas gasosas entre o embrião e o ambiente externo, enquanto a química ocorre quando os produtos exibem diferentes padrões de toxicidade, resultando em mortalidade do embrião (Krinski et al., 2018).

Nos parâmetros biológicos avaliados, o tratamento com *Btk* não diferiu do controle, mostrando que produtos à base dessa bactéria na concentração de 0,6 g/L não possuem ação ovicida e não influenciam na longevidade dos adultos e na oviposição de *P. xylostella* (população resistente à *Btk* HD-1). Diferentemente desse estudo, Legwaila et al. (2015) observaram eficácia de *Bt* no controle de *P. xylostella* (avaliando ovos), porém em concentrações maiores, de 2,0 a 10,0 g/L. Além disso, para infectar o hospedeiro a bactéria necessita ser ingerida, uma vez que as toxinas atuam no intestino médio do inseto (Zhang et al., 2016), com a bactéria não podendo matar o embrião de *P. xylostella*, mas, devido ao comportamento da lagarta durante o processo de eclosão, quando rompe córion do ovo por mastigação, poderá haver a ingestão do produto. Logo, é possível começar uma aplicação de produtos à base de *Bt* quando há a detecção de ovos na área de cultivo, pois assim será possível ocorrer a ingestão das toxinas inseticidas pela lagarta não resistente durante a

eclosão, conseqüentemente não havendo danos iniciais à cultura (Hong et al., 2018).

O inseticida ciantraniliprole, pertencente ao grupo químico das diamidas antranílicas (classe rianoide), que compreende um dos grupos de inseticidas mais recentes presentes no mercado, atua por ingestão e contato, e tem sido utilizado com frequência para o controle da fase larval de *P. xylostella*, ocorrendo, no entanto, relatos de resistência ao produto (Trocza et al., 2017; Qin et al., 2018).

A grande maioria dos inseticidas químicos podem afetar os insetos polinizadores, bem como os inimigos naturais que atuam como agentes de controle biológico natural (Magalhães et al., 2014; Rundlöf et al., 2015). Porém, a utilização de produtos seletivos, como ciantraniliprole, é importante, uma vez que esses produtos são menos prejudiciais aos agentes polinizadores.

Os ovos, nas três idades trabalhadas, tratados com ciantraniliprole tiveram menor viabilidade em relação aos ovos tratados com *B. thuringiensis* e o controle, com destaque para aqueles de posturas recentes (0 h de idade), com menor porcentagem de eclosão de larvas. Saliente-se também que este inseticida possui um período residual longo (Ebbinghaus-Kintscher et al., 2006), diferindo de produtos à base de *Bt* (Silva e Sabino, 2017). Nesse estudo, a aplicação de ciantraniliprole em folhas de couve não influenciou no período de incubação, mas afetou significativamente os adultos, a oviposição e a viabilidade de ovos. Essas diferenças podem ser induzidas pela concentrações dos produtos e idade dos ovos, com aqueles mais jovens possuindo maior potencial de reter as substâncias tóxicas, proteínas na superfície, como também permitir a entrada de toxinas pelo córion (Legwaila et al., 2015).

Outros grupos de inseticidas químicos apresentaram ação ovicida em *P. xylostella*, como descrevem Mahmoudvand et al. (2011) e Sun et al. (2017), sendo que esses produtos podem ter ação ovicida ao penetrar pelas estruturas especializadas presente nos ovos, como as micrópilas, ou aeropilas. A ação também pode se dar pelo poder residual, afetando as larvas durante o processo de eclosão (Campbell et al., 2016), com muitas lagartas recém-eclodidas morrendo próximas aos ovos, como ocorreu neste estudo, sugerindo contato e ingestão durante o processo da eclosão. A longevidade dos adultos também diminuiu devido ao contato

com ciantraniliprole no disco foliar, consequentemente a taxa de oviposição e viabilidade dos ovos também foram mais baixas que nos tratamentos com *B. thuringiensis* e controle.

Efeitos subletais semelhantes com ciantraniliprole em *Agrotis ipsilon* (Hufnagel, 1766) (Lepidoptera: Noctuidae) foi verificado, com a diminuição em 4 dias na longevidade das fêmeas e a redução no número médio de ovos por fêmea em mais de 60%, com o inseto submetido à CL₄₀ (Xu et al., 2016). Efeitos subletais desse inseticida também foram constatados em fêmeas de *P. xylostella*, onde a CL₂₅ reduziu o número total de ovos em cerca de 200, além de afetar em 23,0% a taxa de eclosão (Han et al., 2012).

Os resultados do presente estudo demonstraram que o extrato de *P. cubeba* ocasionou alta mortalidade embrionária de *P. xylostella*, sendo a porcentagem de lagartas eclodidas quando submetidas a esse produto significativamente menor em comparação aos outros tratamentos. Nesse sentido, a ação ovicida de extratos e óleos essenciais de plantas em *P. xylostella* também foi observada por Matharu e Mehta (2017) e Sangha et al. (2017), bem como em outros trabalhos que também demonstraram a ação ovicida em outros insetos-praga, como o de Boff e Almeida (1996) com extratos metanólicos e acetônicos de *Piper nigrum* L. (pimenta-do-reino) em ovos de *Sitotroga cerealella* (Oliver, 1789).

Também, Cavalcante et al. (2006) verificaram que extratos de folhas de *Prosopis juliflora* (Sw.) DC. (Fabaceae) e *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit (Fabaceae) possuem ação tóxica para ovos de *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889) (Hemiptera: Aleyrodidae), o mesmo ocorrendo com Ribeiro et al. (2016) com extratos de folhas e ramos de *Nicotiana tabacum* L. (Solanaceae), *Eucalyptus tereticornis* Sm. (Myrtaceae) e *Ateleia glazioviana* Baill. (Fabaceae) com ovos de *Ascia monuste orseis* (Linnaeus, 1764) (Lepidoptera: Pieridae). Santiago et al. (2008) também relatam a redução na viabilidade dos ovos e na oviposição de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) sob a ação do extrato de folhas de *Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae), com Guedes et al. (2020) mencionando danos ao embrião de *S. frugiperda* quando os ovos foram expostos ao óleo de *P. marginatum*.

Segundo Tagliari et al. (2010), o efeito das plantas inseticidas na sobrevivência dos insetos é mais eficiente na fase larval, pois é nessa fase que o inseto ingere as substâncias químicas presentes no alimento tratado com o extrato. Isso corrobora o resultado observado nessa pesquisa quando o extrato de *P. cubeba* foi aplicado em ovos com 48 h após a oviposição, tempo em que a lagarta já está formada no ovo, diminuindo consideravelmente a viabilidade.

No presente estudo também foi observado que a longevidade dos adultos diminuiu drasticamente em relação ao controle e praticamente não apresentou postura, sugerindo que o extrato de *P. cubeba* pode ter apresentado atividade de repelência, em sendo assim, seria eficaz no controle dos adultos de *P. xylostella*.

Em relação à toxicidade, as piperamidas das Piperaceae são conhecidas por atuarem como neurotoxinas em insetos (McFerren et al., 2002; Scott et al., 2008) e por isso podem ter concorrido para a mortalidade de adultos. O “pó-vegetal” oriundo da pimenta-do-reino (*P. nigrum*) também demonstrou efeito inseticida em adultos de *Zabrotes subfasciatus* (Boheman, 1833) (Coleoptera: Chrysomelidae), promovendo 100% de mortalidade no quinto dia pós aplicação, conforme citação de Girão Filho et al. (2014), semelhante ao que ocorreu no presente trabalho.

Os compostos voláteis emitidos pelo extrato podem, além da repelência, ter causado a mortalidade dos adultos de *P. xylostella*, como citam Hematpoor et al. (2017) com adultos em pragas de grãos armazenados. O extrato botânico de pimenta-do-reino também demonstrou ser altamente tóxico para o bicudo-do-algodoeiro, *Anthonomus grandis* Boheman, 1843 (Coleoptera: Curculionidae), ao caruncho-do-arroz, *Sitophilus oryzae* (L., 1763) (Coleoptera: Curculionidae), e ao caruncho-do-feijão, *Acanthoscelides obtectus* (Say, 1831) (Coleoptera: Bruchidae) (Su, 1977; Scott e McKibben, 1978), apresentando também atividade inseticida em lagartas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), com mortalidade de 90,0%, e ação de repelência, como relatado, tanto para lagartas de *S. frugiperda* como de *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1808) (Lepidoptera: Noctuidae), por Truzzi (2020).

As larvas recém-eclodidas de *P. xylostella*, quando expostas ao óleo de *Piper marginatum* Jacq. mostraram-se sensíveis, apresentando mortalidade acima de 80% na maior concentração testada (4 ppm) (Bandeira, 2009). De acordo Peres et al.

(2017), ocorreram reduções na viabilidade larval, no período pupal, na fecundidade e no desenvolvimento embrionário de *P. xylostella* quando o inseto foi exposto ao extrato de *Alibertia intermedia* (Mart.) (Rubiaceae).

Por serem menos invasivos ao ambiente e com substâncias menos persistentes, os produtos do metabolismo secundário das plantas podem ser alternativas viáveis para a substituição dos produtos químicos sintéticos no manejo integrado de pragas (Moraes e Marinho-Prado, 2016). Deve aqui também ser salientado que na literatura pertinente não existe relatos de casos de resistência de insetos-praga a extratos de plantas, com as diversas substâncias extraídas dos vegetais atuando normalmente de forma sinérgica e possuindo um amplo espectro de ação, o que dificulta a seleção da resistência (Lee, 2002). De modo geral, extratos de plantas são mais seguros para insetos benéficos (inimigos naturais e polinizadores) se comparados a inseticidas químicos, mesmo existindo relatos de efeitos negativos nas populações de alguns desses insetos (Copping e Menn, 2000; Duke et al., 2000; Truzzi, 2020).

O produto mais eficiente em relação à mortalidade de adultos de *P. xylostella*, dentre os avaliados foi o extrato de *P. cubeba*, mostrando efeito positivo quando aplicado no substrato de postura, conseguindo reduzir a oviposição e interferindo na viabilidade dos ovos, além de também promover diminuição no número de indivíduos que completam o ciclo de desenvolvimento, consequentemente concorrendo para a redução dos danos causados pela praga. A inclusão desse método de controle no MIP pode diminuir o número de aplicações de inseticidas sintéticos de amplo espectro (Zera e Harshman, 2001; Santos et al., 2012), sendo, no entanto, necessário ainda muitos estudos sobre o efeito desses inseticidas botânicos em parasitoides, predadores e polinizadores.

5. Conclusão

O extrato de *P. cubeba* e o inseticida ciantraniliprole têm ação em ovos e na oviposição de *P. xylostella*, como também em adultos, sendo que a utilização desses produtos pode ser interessante em programas de MIP em brassicáceas.

6. Referências

Abbott Laboratories (1992) **B.t. products manual**. North Chicago: Abbott. 135 p.

Agrofit (2021) Sistema de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: <https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 27 mai. 2021.

Amoabeng BW, Gurr GM, Gitau CW, Stevenson PC (2014) Cost: benefit analysis of botanical insecticide use in cabbage: implications for smallholder farmers in developing countries. **Crop Protection** 57:71-76.

Bandeira GN (2009) **Efeito de extratos vegetais e óleos essenciais no desenvolvimento de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae)**. 57 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia Agrícola), Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

Baragamaarachchi RY, Samarasekera JKRR, Weerasena OVDSJ, Lamour K, Jurat-Fuentes JL (2019) Identification of a native *Bacillus thuringiensis* strain from Sri Lanka active against Dipel-resistant *Plutella xylostella*. **PeerJ** 7:e7535. doi:10.7717/peerj.7535.

Barros R (1998) **Efeito de cultivares de repolho *Brassica oleracea* var. capitata (L.) na biologia da traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L., 1758) e do parasitoide *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879**. 98 p. Tese (Doutorado em Entomologia), Universidade de São Paulo, Piracicaba.

Benedetti D, Nunesa E, Sarmento M, Porto C, Santos CEI, Dias JF, Silva J (2013) Genetic damage in soybean workers exposed to pesticides: Evaluation with the comet and buccal micronucleus cytome assays. **Mutation Research** 752:28–33.

Boff MLC, Almeida AA (1996) Ação tóxica de extratos de pimenta-do-reino, *Piper nigrum*, em ovos de *Sitotroga cerealella* (Oliv.) (Lepidoptera: Gelechiidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil** 25:423-429.

Brewer MJ, Goodell PB (2012) Approaches and incentives to implement integrated pest management that addresses regional and environmental issues. **Annual Review of Entomology** 57:41–59.

Brühl CA, Zaller JG (2019) Biodiversity decline as a consequence of an inappropriate environmental risk assessment of pesticides. **Frontiers in Environmental Sciences** 7:177. doi:10.3389/fenvs.2019.00177.

CABI (2019) Invasive species compendium. Disponível em:<<https://www.cabi.org/isc/>>. Acesso em: 17 nov. 2019.

Campbell BE, Pereira RM, Koehler PG (2016) Complications with controlling insect eggs. Insecticide resistance. In.: Trdan S (Ed.) **Insecticides resistance**. Rijeka: IntechOpen, p. 83-96. doi:10.5772/60478.

Carriger JF, Rand GM, Gardinali PR, Perry WB, Tompkins MS, Fernandez AM (2006) Pesticides of potential ecological concern in sediment from South Florida canals: an ecological risk prioritization for aquatic arthropods. **Soil and Sediment Contamination** 15:21-45.

Cavalcante GM, Moreira AFB, Vasconcelos SD (2006) Potencialidade inseticida de extratos aquosos de essências florestais sobre mosca-branca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 41:9-14.

Chaubey MK (2013) Insecticidal properties of *Zingiber officinale* and *Piper cubeba* essential oils against *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae). **Journal of Biologically Active Products from Nature** 1:306-313.

Copping LG, Menn JJ (2000) Biopesticides: a review of their action, applications and efficacy. **Pest Management Science** 56:651-676.

De Bortoli SA, Vacari AM, Magalhães GO, Dibelli W, De Bortoli CP, Alves MP (2012) Subdosagens de *Bacillus thuringiensis* em *Plutella xylostella* Lepidoptera: Plutellidae) e *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Revista Caatinga** 25(2):50-57.

De Bortoli SA, Polanczyk RA, Vacari AM, De Bortoli CP, Duarte RT (2013) *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae): tactics for integrated pest management in Brassicaceae. In.: Soloneski S, Larramendy M (Eds.) **Weed and pest control** - conventional and new challenges. Rijeka: IntechOpen, p. 31-51.

Desneux N, Decourtye A, Delpuech J (2007) The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. **Annual Review of Entomology** 52:81-106.

Duke SO, Dayan FE, Rimando AM (2000) Natural products and herbicide discovery. In.: Cobb AH, Kirkwood RC (Eds.) **Herbicides and their mechanisms of action**. Sheffield: Sheffield Academic Press, p. 105-133.

Ebbinghaus-Kintscher U, Luemmen P, Lobitz N, Schulte T, Funke C, Fischer R, Masaki T, Yasokawa N, Tohnishi M (2006) Phthalic acid diamides activate ryanodine sensitive Ca^{2+} release channels in insects. **Cell Calcium** 39:21-33.

Fathipour Y, Sedaratian A (2013) Integrated management of *Helicoverpa armigera* in soybean cropping systems. In.: El-Shemy HA (Ed.) **Soybean – Pest resistance**. London: IntechOpen, p. 231-280.

Fu Z, Sun Y, Xia L, Ding X, Mo X, Li X, Huang K, Zhang Y (2008) Assessment of protoxin composition of *Bacillus thuringiensis* strains by use of polyacrylamide gel block and mass spectrometry. **Applied Microbiology and Biotechnology** 79:875-878.

Furlong MJ, Wright DJ, Dosdall LM (2013) Diamondback moth ecology and management: problems, progress, and prospects. **Annual Review of Entomology** 58:517–541.

Gallo D, Nakano O, Silveira Neto S, Carvalho RPL, Batista GC, Berti Filho E, Parra JRP, Zucchi RA, Alves SB, Vendramin JD, Marchini LC, Lopes JRS, Omoto C (2002) **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 469 p.

Gentz MC, Murdoch G, King GF (2010) Tandem use of selective insecticides and natural enemies for effective, reduced-risk pest management. **Biological Control** 52:208-215.

Girão Filho JE, Alcântara Neto F, Pádua LEM, Pessoa EF (2014) Repelência e atividade inseticida de pós vegetais sobre *Zabrotes subfasciatus* Boheman em feijão-fava armazenado. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais** 16(3):499-504.

Gong Y, Wang C, Yang Y, Wu S, Wu Y (2010) Characterization of resistance to *Bacillus thuringiensis* toxin Cry1Ac in *Plutella xylostella* from China. **Journal of Invertebrate Pathology** 104:90–96.

Grzywacz D, Cherry A, Gwynn R (2009) Biological pesticides for Africa: why has so little of the research undertaken to date resulted in new products to help Africa's poor? **Outlooks in Pest Management** 20:77–81.

Grzywacz D, Rossbach A, Rauf A, Russel DA, Srinivasan R, Shelton AM (2010) Current control methods for diamondback moth and other brassica insect pests and the prospects for improved management with lepidopteran-resistant Bt vegetable brassicas in Asia and Africa. **Crop Protection** 29:68-79.

Guedes CA, Teixeira VW, Dutra KA, Navarro DM, Cruz GS, Lapa Neto CJ, Correia AA, Sandes JM, Brayner FA, Alves LC, Teixeira AAC (2020) Evaluation of *Piper marginatum* (Piperales: Piperaceae) oil and geraniol on the embryonic development of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in comparison to formulated products. **Journal of Economic Entomology** 113:239-248.

Han W, Zhang S, Shen F, Liu M, Ren C, Gao X (2012) Residual toxicity and sublethal effects of chlorantraniliprole on *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). **Pest Management Science** 68:1184–1190.

Hematpoor A, Liew SY, Azirun MS, Awang K (2017) Insecticidal activity and the mechanism of action of three phenylpropanoids isolated from the roots of *Piper sarmentosum* Roxb. **Scientific reports** 7:1-13.

Höfte H, van Rie J, Jansens S, van Houtven A, Vanderbruggen H, Vaeck M (1988) Monoclonal antibody analysis and insecticidal spectrum of three types of lepidopteran-specific insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. **Applied Environmental Microbiology** 54:2010–2017.

Hong TK, Perumalsamy H, Jang KH, Na ES, Ahn YJ (2018) Ovicidal and larvicidal activity and possible mode of action of phenylpropanoids and ketone identified in *Syzygium aromaticum* bud against *Bradysia procera*. **Pesticide Biochemistry and Physiology** 145:29-38.

Isman MB (2006) Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology** 51:45–66.

Isman MB (2020) Botanical insecticides in the twenty-first century-fulfilling their promise? **Annual Review of Entomology** 65:233-249.

Kirsch K, Schmutterer H (1988) Low efficacy of a *Bacillus thuringiensis* (Berl.) formulation in controlling the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.), in the Philippines. **Journal of Applied Entomology** 105:249-255.

Krinski D, Massaroli A, Machado M (2014) Potencial inseticida de plantas da família Annonaceae. **Revista Brasileira de Fruticultura** 36:225-242.

Krinski D, Foerster LA, Deschamps C (2018) Ovicidal effects of the essential oils from 18 species: controlling *Anticarsia gemmatilis* (Lepidoptera: Erebidiae) at the initial stage of development. **Acta Scientiarum Agronomy** 40:1-10.

Lee SE (2002) Biochemical mechanisms conferring cross-resistance to fumigant toxicities of essential oils in a chlorpyrifos-methyl resistant strain of *Oryzaephilus surinamensis* L. (Coleoptera: Silvanidae). **Journal of Storage Products Research** 38:157-163.

Legwaila MM, Munthali DC, Kwerepe BC, Obopile M (2015) Efficacy of *Bacillus thuringiensis* (var. kurstaki) against diamondback moth (*Plutella xylostella* L.) eggs and larvae on cabbage under semi-controlled greenhouse conditions. **International Journal of Insect Science** 7:39–45.

Li Z, Feng X, Liu S-S, You M, Furlong MJ (2016) Biology, ecology, and management of the diamondback moth in China. **Annual Review of Entomology** 61:277–296.

Liu SS, Chen F-Z, Zalucki MP (2002) Development and survival of the diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) at constant and alternating temperatures. **Environmental Entomology** 31:221–231.

Machekano H, Mvumi BM, Nyamukondiwa C (2017) Diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) in Southern Africa: research trends, challenges and insights on sustainable management options. **Sustainability** 9:91. doi:10.3390/su9020091.

Magalhães GO, Vacari AM, Laurentis VL, De Bortoli SA, Polanczyk RA (2014) Interactions of *Bacillus thuringiensis* bioinsecticides and the predatory stink bug *Podisus nigrispinus* to control *Plutella xylostella*. **Journal of Applied Entomology** 139:123-133.

Mahmoudvand M, Garjan AS, Abbasipour H (2011) Ovicidal effect of some insecticides on the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae). **Chilean Journal of Agricultural Research** 71:226-230.

Matharu KS, Mehta PK (2017) Ovicidal activity of crude extracts of indigenous plant species against *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). **Environment and Ecology** 35:285-289.

McFerren MA, Cardova D, Rodriguez E, Rauh JJ (2002) In vitro neuropharmacological evaluation of piperovatine, an isobutylamide from *Piper piscatorum* (Piperaceae). **Journal of Ethnopharmacology** 83:201-207.

Menezes ELA (2005) Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. Seropédica: EMBRAPA, 58 p. (Documentos 205).

Miyakado M, Nakayama MI, Ohno N (1989) Insecticidal unsaturated isobutylamides: from natural products to agrochemical leads. In.: Arnason JT, Philogène BJR, Morand P (Eds.) **Insecticides of Plant Origin**. Washington: American Chemical Society Symposium Series, p. 173-187.

Morand P (Eds.) **Insecticides of plant origin**. New York: American Chemical Society, p. 183–187.

Mohan M, Gujar G (2002) Geographical variation in larval susceptibility of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) to *Bacillus thuringiensis* spore–crystal mixtures and purified crystal proteins and associated resistance development in India. **Bulletin of Entomological Research** 92:489–498.

Morais LAS, Marinho-Prado JS (2016) Plantas com atividade inseticida. In.: Halfed-Vieira B, Marinho-Prado JS, Nechet KL, Morandi MAB, Bettiol W (Eds.) **Defensivos agrícolas naturais: usos e perspectivas**. Brasília: EMBRAPA, p. 542- 593.

Nian XG, He YR, Lu LH, Zhao R (2015) Evaluation of the time–concentration–mortality responses of *Plutella xylostella* larvae to the interaction of *Isaria fumosorosea* with the insecticides beta-cypermethrin and *Bacillus thuringiensis*. **Pest Management Science** 71:216–224.

Park BS, Choi WS, Lee SE (2003) Antifungal activity of piperoctadecalidine, a piperidine alkaloid derived from long pepper, *Piper longum* L., against phytopathogenic fungi. **Agricultural Chemistry and Biotechnology** 46:73-75.

Park BS, Lee SE, Choi WS, Jeong CY, Song C, Cho KY (2002) Insecticidal and acaricidal activity of pipernonaline and piperotadecalidine derived from dried fruits of *Piper longum* L. **Crop Protection** 21:249-251.

Pereira CH (2019) **Avaliação de agentes biológicos e nim sobre *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) em couve**. 65 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco.

Peres LLS, Sobreiro AI, Couto IFS, Silva RM, Pereira FF, Heredia-Vieira SC, Cardoso CAL, Mauad M, Scalón SPQ, Verza SS, Mussury RM (2017) Chemical compounds and bioactivity of aqueous extracts of *Alibertia* spp. in the control of *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae). **Insects** 8:1-13.

Qin C, Wang C-H, Wang Y-Y, Sun S-Q, Wang H-H, Xue C-B (2018) Resistance to diamide insecticides in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae): Comparison between lab-selected strains and field-collected populations. **Journal of Economic Entomology** 111:853–859.

Ribeiro LP, Biermann ACS, Dorneles MP, Vendramim JD (2016) Ação de inseticidas botânicos sobre o curuquerê-da-couve. **Agropecuária Catarinense** 29:84-89.

Roh JY, Choi JY, Li MS, Jin BR, Je YH (2007) *Bacillus thuringiensis* as a specific, safe and effective tool for insect pest control. **Journal of Microbiology and Biotechnology** 17:547-559.

Rundlöf M, Andersson GKS, Bommarco R, Fries I, Hederström V, Herbertsson L, Jonsson O, Klatt BK, Pedersen TR, Yourstone J, Smith HG (2015) Seed coating with a neonicotinoid insecticide negatively affects wild bees. **Nature** 521:77–80.

Sabarwal A, Kumar K, Singh RP (2018) Hazardous effects of chemical pesticides on human health-cancer and other associates disorders. **Environmental Toxicology and Pharmacology** 63:103-114.

Saito ML (2004) **As plantas praguicidas**: alternativa para o controle de pragas da agricultura. Jaguariúna: EMBRAPA, 4 p.

Saito ML, Luchini F (1998) Substâncias obtidas de plantas e a procura por praguicidas eficientes e seguros ao meio ambiente. Jaguariúna: EMBRAPA. 46 p. (Séries Documentos, 12).

Sangha JS, Astatkie T, Cutler GC (2017) Ovicidal, larvicidal, and behavioural effects of some plant essential oils on diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). **Canadian Entomologist** 149:639-648.

Santiago GP, Pádua LEM, Silva PRR, Carvalho SEM, Maia CB (2008) Efeitos de extratos de plantas na biologia de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) mantida em dieta artificial. **Ciência Agrotécnica** 32:792-796.

Santos OO, Melo EASF, Rocha RB, Oliveira RA, Bittencourt MA (2012) Atividade inseticida de produtos de origem vegetal sobre moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) e broca-rajada (Coleoptera: Curculionidae). **Magistra** 24:26-31.

SAS Institute (2015) SAS/IML 14.1 User's Guide. Cary, NC: SAS Institute Inc.

Scott IM, Jensen HR, Philogène BJR, Amason JT (2008) A review of *Piper* spp. (Piperaceae) phytochemistry, insecticidal activity and mode of action. **Phytochemistry Review** 7:65-75.

Scott WP, McKibben GH (1978) Toxicity of black pepper extract to bollweevils. **Journal of Economic Entomology** 71:343-344.

Shelton A, Nault B (2004) Dead-end trap cropping: a technique to improve management of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). **Crop Protection** 23:497-503.

Silva PS, Sabino JS (2017) Eficiência de *Bacillus thuringiensis* no controle de *Helicoverpa* spp. (Lepidoptera: Noctuidae). **Intellecto** 2:105-111.

Steinbach D, Moritz G, Nauen R (2017) Fitness costs and life table parameters of highly insecticide-resistant strains of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) at different temperatures. **Pest Management Science** 73:1789-1797.

Su CHF (1977) Insecticidal properties of black pepper to rice and cowpea weevils. **Journal of Economic Entomology** 70:18-21.

Sun GS, Xu X, Jin SH, Lin L, Zhang JJ (2017) Ovicidal and insecticidal activities of pyriproxyfen derivatives with an oxime ester group. **Molecules** 22(6):958.

Tabashnik BE, Cushing NL, Finson N, Johnson MW (1990) Field development of resistance to *Bacillus thuringiensis* in diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). **Journal of Economic Entomology** 83:1671-1676.

Tagliari MS, Knaak N, Fiuza LM (2020) Efeito de extratos de plantas na mortalidade de lagartas de *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Arquivos do Instituto Biológico** 77:259-264.

Talekar N, Shelton A (1993) Biology, ecology, and management of the diamondback moth. **Annual Review of Entomology** 38:275-301.

Trani E, Tivelli SW, Blat SF, Praela-Pantano A, Teixeira EP, Araújo HS, Feltran JC, Passos FA, Figueiredo GJB, Novo MCSS (2015) Couve de folha: do plantio à pós-colheita. Campinas: IAC. 46 p. (Boletim técnico IAC, 214).

Trocza BJ, Williamson MS, Field LM, Davies TE (2017) Rapid selection for resistance to diamide insecticides in *Plutella xylostella* via specific amino acid polymorphisms in the ryanodine receptor. **Neurotoxicology** 60:224-233.

Truzzi CC (2020) *Helicoverpa armigera* e *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae): Dieta artificial, produtos para controle e efeitos em polinizadores. 156 p. Tese (Doutorado em Agronomia/Entomologia Agrícola), Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

Viana CLTP (2007) **Seleção de isolados de *Bacillus thuringiensis* Berliner efetivos em lagartas de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae)**. 90 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia-Entomologia Agrícola), Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

Vickers RA, Furlong MJ, White A, Pell JK (2004) Initiation of fungal epizootics in diamondback moth populations within a large field cage: proof of concept of auto-dissemination. **Entomologia Experimentalis et Applicata** 111:7-17.

Whalon ME, Mota-Sanchez D, Hollingworth RM (2016) Arthropod pesticide resistance database. Disponível em:<<http://www.pesticideresistance.org/>>. Acesso em: 03 mar 2021.

Xu C, Zhang Z, Cui K, Zhao Y, Han J, Liu F, Mu W (2016) Effects of sublethal concentrations of Cyantraniliprole on the development, fecundity and nutritional physiology of the black cutworm *Agrotis ipsilon* (Lepidoptera: Noctuidae). **PLoS One** 11(6):e0156555. doi: 10.1371/journal.pone.0156555.

Zalucki MP, Shabbir A, Silva R, Adamson D, Shu-sheng L, Furlong MJ (2012) Estimating the economic cost of one of the world's major insect pests, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae): just how long is a piece of string? **Journal of Economic Entomology** 105:1115–1129.

Zera AJ, Harshman LG (2001) The physiology of life history trade-offs in animals. **Annual Review of Ecology and Systematics** 32:95-126.

Zhang Q, Hua G, Adang MJ (2016) Effects and mechanisms of *Bacillus thuringiensis* crystal toxins for mosquito larvae. **Insect Science** 24:714-729.

Zhao J, Li Y, Collins H, Mau R, Thompson G, Shelton A (2002) Monitoring and characterization of Diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) resistance to spinosad. **Journal of Economic Entomology** 95:430-436.

CAPÍTULO 5 – Efeitos de concentrações subletais de inseticidas químico, biológico e extrato de *Piper cubeba* em *Plutella xylostella* mantida em laboratório

RESUMO – *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae), a traça-das-crucíferas, é considerada a principal praga das brássicas, sendo que aplicações de inseticidas sintéticos e biológicos é a ação mais adotada pelos produtores. O emprego de extratos botânicos de *Piper* spp. tem se destacado no controle de insetos-praga, mais ainda é pouco enfatizado para a traça-das-crucíferas. Estudos sobre os efeitos subletais em insetos-praga é importante para detectar impactos no comportamento dos insetos no ambiente agrícola. Neste sentido, o objetivo deste estudo foi estimar as concentrações letais e determinar os efeitos subletais de inseticida químico, bioinseticida e extrato botânico em parâmetros biológicos em *P. xylostella*. Foram utilizadas lagartas de segundo ínstar, o inseticida químico ciantraniliprole, o bioinseticida a base de *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*, além do extrato hexânico de *Piper cubeba*. Os parâmetros biológicos foram avaliados após exposições das lagartas às CL₂₅ e CL₁₀ dos produtos. Foi avaliada a duração dos estágios embrionário, larval e pupal, bem como a longevidade de adultos, fecundidade e parâmetros da tabela de vida de fertilidade. Avaliou-se também a sobrevivência da praga após exposição a cada concentração subletal testada. A duração larval de *P. xylostella* aumentou na CL₂₅ de *B. thuringiensis* e as CLs de ciantraniliprole reduziram a sobrevivência larval. A CL₁₀ de *B. thuringiensis* causou aumento da fecundidade de *P. xylostella*. O uso de baixas concentrações de ciantraniliprole e, principalmente, do extrato de *P. cubeba* inibiu o desenvolvimento de *P. xylostella*. A aplicação desses inseticidas nas lavouras poderia auxiliar no controle da praga de maneira muito eficaz, matando o inseto e/ou reduzindo seu crescimento populacional, possivelmente de forma mais eficiente do que outros inseticidas comumente utilizados.

Palavras-chave: *Bacillus thuringiensis*, ciantraniliprole, manejo de resistência, traça-das-crucíferas.

CHAPTER 5 – Effects of sublethal concentrations of insecticide, bioinsecticide and *Piper cubeba* extract on *Plutella xylostella* in laboratory conditions

ABSTRACT – *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae), diamondback moth, is considered the main pest of brassics, and the use of both synthetic and biological insecticides is the most adopted action by producers to control this pest. The use of botanical extracts of *Piper* spp. has been used in insect pest control, even less so for the diamondback moth. Studies on sublethal effects on insect pests are important to detect impacts on insect behavior in the agricultural environment. In this sense, the aim of this study was to estimate lethal concentrations and determine the sublethal effects of chemical insecticide, biopesticide and botanical extract on biological parameters in *P. xylostella*. We used second instar larvae, the chemical insecticide cyantraniliprole, the bioinsecticide based on *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*, and the hexane extract of *Piper cubeba*. Biological parameters were evaluated after exposures of the larvae to LC₂₅ and LC₁₀ of the products. We evaluated the duration of each developmental stage of the diamondback moth, as well as longevity of adults, fecundity, and fertility life table parameters. Also, we evaluated the survival of the pest after exposure to each tested sublethal concentration. The period of the larval stage of *P. xylostella* increased in the LC₂₅ of *B. thuringiensis* and the LCs of cyantraniliprole reduced larval survival. LC₁₀ from *B. thuringiensis* caused an increase in the fecundity of *P. xylostella*. The use of low concentrations of cyantraniliprole and of *P. cubeba* extract inhibited the development of *P. xylostella*. The use of these insecticides in crop management could help the control of diamondback moth, killing the insect and/or reducing its population growth, possibly more efficiently than other commonly used insecticides.

Keywords: *Bacillus thuringiensis*, diamondback moth, cyantraniliprole, resistance management.

1. Introdução

A família Brassicaceae abrange várias hortaliças e espécies de plantas invasoras de importância econômica (Reis e Boiteux, 2008). Essa família é uma das mais numerosas e ocupa lugar proeminente na olericultura do centro-sul do Brasil (Filgueira, 2008), compreendendo espécies como repolho, couve-flor, couve e brócolis (Filgueira, 2008; Cartea et al., 2011).

Entre os insetos-praga que atacam os cultivos das brassicáceas destaca-se a traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae), de origem na Europa Mediterrânea, sendo que hoje em dia encontra-se presente em todos os continentes (Frost, 1949; Talekar e Shelton, 1993; Chapman et al., 2002). O seu dano econômico ocorre pela ação das lagartas, que raspam o tecido foliar deixando a epiderme superior transparente, onde, posteriormente, surgem pequenos furos na superfície foliar (Cardoso et al., 2010; Capinera, 2018), o que causa sérios danos à cultura, depreciando o produto, interferindo no crescimento da planta e podendo, inclusive, provocar sua morte ou a perda total da produção (Castelo Branco e Gatehouse, 2001; Monnerat et al., 2004).

As dificuldades para o controle desta praga ocorrem devido às áreas de cultivo serem ocupadas durante todo o ano e as plantas apresentarem idades fenológicas diferentes, proporcionando ao inseto suprimento abundante e contínuo de alimento (Imenes et al., 2002). O método de controle mais utilizado é o químico, uma vez que se assume apresentar resultados de forma rápida e prática (Castelo Branco et al., 2003; Dias et al., 2004; Castelo Branco e França, 2015). Uma grande variedade de inseticidas, dos mais diversos grupos químicos, é utilizada no controle de *P. xylostella* (Castelo Branco e França, 2015; Agrofite, 2017), sendo que seu emprego contínuo ocasiona grande pressão de seleção na população da praga, induzindo a casos de resistência a diversos inseticidas, inclusive biológicos, o que já foi constatado em diversos locais do mundo (Castelo Branco e Gatehouse, 1997; Cameron e Walker, 1998; Baker e Kovaliski, 1999).

O uso de técnicas alternativas para o controle de pragas, em especial de lepidópteros, é adotada em diversas culturas (Simmons et al., 2010), com o controle biológico por meio de microrganismos entomopatogênicos sendo um dos que mais

se destaca, especialmente com a bactéria entomopatogênia *Bacillus thuringiensis* Berliner (Pardo-Lopez et al., 2012; Yu et al., 2013; Tabashnik e Carrière, 2017), com a utilização de extratos botânicos ganhando destaque nos últimos tempos (Regnault-Roger et al., 2012), sendo que o gênero *Piper*, por exemplo, que compreende diversas espécies com potencial inseticida (Scott et al., 2008; Brito et al., 2015), porém poucos estudos são voltados ao controle de pragas, particularmente com *P. xylostella*.

A resistência à inseticidas está relacionada aos aspectos genéticos, biológicos e ecológicos da população, sendo que essas características dos insetos resistentes podem resultar em desvantagens quando comparado aos suscetíveis, em condições em que não há pressão de seleção no ambiente (Georghiou e Taylor, 1977a; Coustau et al., 2000). Portanto, para a elaboração de um plano de Manejo de Resistência de Insetos (MRI) aos inseticidas é essencial o conhecimento dos aspectos biológicos da praga (Georghiou e Taylor, 1977b).

Neste sentido, outros fatores importantes a serem estudados em bioensaios são as respostas de uma população de insetos às doses subletais dos inseticidas, para poder dimensionar os possíveis prejuízos que os indivíduos sobreviventes aos produtos aplicados para controle irão causar às culturas (Robertson e Worner, 1990; Stark e Banks, 2003).

A fim de avaliar o valor total do agrotóxico na gestão das populações de *P. xylostella*, é necessário investigar a toxicidade e a atividade residual de forma subletal sobre as larvas. As respostas populacionais de doses subletais de inseticidas devem ser examinadas em bioensaios de laboratório para caracterizar estes efeitos sobre os insetos (Han et al., 2012). Nos dias de hoje os levantamentos dos efeitos subletais dos agentes de controle passou a ser estimado e apresenta grande importância para fins de avaliação da dinâmica e das interações entre nichos e populações (Gonçalves, 2020). Assim, com os efeitos observados na presente pesquisa (letais e subletais), aliados a outras ferramentas como as tabelas de vida, poderão auxiliar na determinação dos efeitos desses produtos e em um planejamento adequado para o MIP, como citado por Han et al. (2012).

Sendo assim, este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos subletais dos inseticidas: ciantraniliprole, *Btk* HD-1 e extrato de *Piper cubeba* Linnaeus, 1753 (Piperales: Piperaceae) sobre *P. xylostella*, em condições de laboratório.

2. Material e métodos

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Biologia e Criação de Insetos (LBCI) do Departamento de Ciências da Produção Agrícola (Fitossanidade) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Jaboticabal. Os insetos foram mantidos em sala climatizada com temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 12h de luz/12h de escuro e umidade relativa de $70 \pm 10\%$.

2.1. Criação de *Plutella xylostella*

Para manutenção da criação de *P. xylostella*, pupas foram obtidas a partir da criação estoque do LBCI e, após a emergência dos adultos eles foram liberados em gaiolas contendo um disco de 8 cm de diâmetro de folha de couve colocado sobre um disco de papel filtro do mesmo tamanho, levemente umedecido. Esse papel, com o disco foliar, foi disposto sobre um copo plástico transparente com a abertura voltada para baixo, ficando a folha de couve elevada no interior da gaiola, sendo este o substrato para oviposição. Na parte superior do recipiente foi feita uma abertura circular de 2,3 cm de diâmetro, utilizada para fixação de um pedaço de “espuma plástica” embebida em solução aquosa de mel a 10%, alimento para os adultos. Cada gaiola também tinha uma abertura lateral quadrada (10 cm × 10 cm), coberta com tecido tipo “voile”, objetivando melhorar a aeração interior.

Os discos de folha de couve com as posturas eram retirados das gaiolas e transferidos para placas de Petri onde permaneciam até a eclosão das lagartas, sendo na sequência transferidas para caixas plásticas (30 cm × 15 cm) contendo folhas de couve, diariamente higienizadas e com reposição do alimento, até as larvas atingirem a fase pupal. As pupas foram coletadas com o auxílio de pinça e acondicionadas em tubos de ensaio de fundo chato (8 cm × 2 cm), vedados com filme plástico (PVC), sendo feitos pequenos orifícios com o auxílio de um estilete,

para melhorar a aeração interna. Após a emergência dos adultos, os insetos foram acondicionados em gaiolas plásticas transparentes (15 cm de diâmetro × 14,5 cm de altura) para a cópula e oviposição, reiniciando o ciclo de desenvolvimento.

2.2. Obtenção dos produtos

O extrato vegetal de *Piper cubeba* foi obtido junto ao Laboratório de Química da Universidade de Franca, Franca, SP. Os produtos formulados Dipel® (*B. thuringiensis* var. *kurstaki*) e Benevia® (cyantraniliprole) foram adquiridos em revendedores de produtos fitossanitários.

2.3. Bioensaios com *Plutella xylostella*

2.3.1. Características biológicas de *P. xylostella*

Para a determinação das características biológicas de *P. xylostella* foram utilizadas 10 placas de Petri (9 cm de diâmetro), com um disco de folha de 8 cm de diâmetro, sobre papel filtro levemente umedecido com água destilada. Sobre os discos foliares, com auxílio de um pincel de cerdas macias, foram colocadas 10 lagartas de *P. xylostella* de segundo estágio, sendo as placas fechadas com plástico filme PVC, para manter a umidade e evitar a fuga. Cada placa de Petri foi considerada uma repetição. As avaliações da viabilidade e duração larval foram iniciadas 24 horas após a montagem dos bioensaios. As lagartas foram mantidas nas placas até atingirem a fase pupal.

As pupas foram transferidas para placas de plástico com poços (tipo Elisa®), sendo observadas até a emergência dos adultos. Esse procedimento serviu para a obtenção da duração pupal, a viabilidade e a razão sexual dos insetos. Os adultos emergidos foram separados por sexo e transferidos para gaiolas de postura, com dez repetições por tratamento, sendo colocado um casal por gaiola. Nessa fase foi observada a fecundidade das fêmeas (número de ovos por fêmea) e a longevidade dos adultos.

Os dados das características biológicas de *P. xylostella* foram utilizados para construção de tabelas de vida de fertilidade, de acordo com o procedimento descrito por Maia et al. (2000), utilizando o software SAS (SAS Institute, 2002), que se baseia no método de Jackknife para estimar os intervalos de confiança e permitir a comparação entre os tratamentos.

2.3.2. Testes para a estimativa da Concentração Letal (CL₅₀)

Para os testes da amplitude das concentrações testadas, foram conduzidos ensaios preliminares até a obtenção das concentrações-teste. Para a condução dos bioensaios, discos foliares de couve (*Brassica oleracea* var. *acephala* cv. Manteiga) de 9 cm de diâmetro foram mergulhados em 50 mL das concentrações dos inseticidas: extrato de *P. cubeba* (0,521 mg L⁻¹), Ciantraniliprole (0,252 mg L⁻¹) e *B. thuringiensis* (5,675 mg L⁻¹), diluídos em água deionizada autoclavada por 10 segundos. No tratamento controle foi utilizada apenas a água deionizada autoclavada. Após secagem, em condição ambiente por 30 minutos, os discos foram alocados individualmente em placas de Petri (9,0 cm de diâmetro × 2,0 cm de altura) sobre papel filtro umedecido com água deionizada. Foram colocadas sobre cada disco foliar 10 lagartas de segundo ínstar, sendo cada disco considerado uma repetição, trabalhando-se com 10 repetições por tratamento, totalizando 100 insetos por concentração. As placas foram envolvidas com filme plástico de PVC e mantidas em sala climatizada ajustada a temperatura de 25 ± 1°C, umidade relativa de 70 ± 10% e fotoperíodo de 12h luz: 12h escuro. A mortalidade das lagartas foi avaliada 24 horas após a instalação do bioensaio, sendo considerada morta a lagarta com total imobilidade quando tocada com um pincel de cerdas macias. Foi determinada a concentração letal média que causa mortalidade de 50% dos indivíduos das populações (CL₅₀). Os valores de CL₁₀ e CL₂₅ foram então determinados a partir a curva dose-resposta e utilizados como concentrações subletais para os bioensaios posteriores envolvendo os efeitos subletais.

2.3.3. Efeitos subletais

Para a condução dos estudos sobre os efeitos subletais foram utilizadas as concentrações CL₁₀ e CL₂₅ e como tratamento controle foi empregada água deionizada autoclavada, sendo os bioensaios conduzidos de acordo com a descrição do item 2.3.2.

As lagartas foram observadas diariamente e os discos foliares trocados por novos de acordo com o consumo das lagartas e qualidade das folhas. Nesse período foram avaliadas a duração larval e a sobrevivência desde o segundo ínstar até pupa. Após a formação das pupas, elas foram individualizadas e mantidas em placas tipo Elisa®, sendo acondicionada uma pupa em cada poço, onde permaneceram até a emergência dos adultos. Nesse período foram registrados: peso de pupas, duração pupal, sobrevivência de pupas e razão sexual. Os adultos emergidos foram separados por sexo e acondicionados em recipiente plástico transparente de 1.800 mL (15 cm de diâmetro × 14,5 cm de altura) para cópula e oviposição, sendo um casal por recipiente. Foi oferecido diariamente um disco de couve de 9 cm de diâmetro, disposto sobre um copo plástico transparente com a abertura voltada para baixo, para realização das posturas, além de solução de mel a 10% para alimentação dos adultos. As posturas coletadas nos discos foliares foram contabilizadas até o término do período de oviposição. Nessa fase foi registrado o número de ovos por fêmea e longevidade de machos e de fêmeas. Cada recipiente foi considerado uma repetição, observando-se 10 repetições por tratamento.

Para analisar a viabilidade dos ovos, a quantidade diária de ovos depositada pela fêmea de cada tratamento foi contabilizada, durante os três primeiros dias de oviposição. As avaliações dos efeitos subletais foram realizadas até a morte dos adultos.

Para a construção de tabelas de vida de fertilidade foram utilizadas as durações dos períodos de ovo, de larva, de pupa e da fase adulta, bem como a sobrevivência em cada fase de desenvolvimento, além da razão sexual em cada um dos tratamentos. Os parâmetros de crescimento calculados foram: R_0 = taxa líquida de reprodução (taxa de aumento populacional a cada geração) ($\sum (m_x.l_x)$); T = duração média de uma geração ($(\sum m_x.l_x.x) / (\sum m_x.l_x)$); r_m = taxa intrínseca de

crescimento ($\ln.R_0/T$); e λ = taxa finita de crescimento ($e r_m$), definida pelo número de vezes que a população se multiplica por unidade de tempo. Em adição a esses parâmetros, D_t , o tempo necessário para a população dobrar em número de indivíduos ($\ln(2)/r_m$), também foi determinado, de acordo com o método proposto por Krebs (1994). Os parâmetros foram calculados de acordo com metodologia citada por Silveira Neto et al. (1976), sendo: x = ponto médio de cada idade das fêmeas parentais ou valores de intervalos de idade, idade esta considerada desde a fase de ovo; l_x = a expectativa de vida para idade x ; m_x = fertilidade específica ou número de descendentes por fêmea produzidos na idade x .

2.4. Análise estatística

Os resultados de concentração-mortalidade foram submetidos à análise de Probit (PROC PROBIT) (Finney, 1971) (SAS Institute, 2015), enquanto aqueles obtidos para os parâmetros biológicos de *P. xylostella* foram submetidos aos testes de Kolmogorov e Bartlett para determinar a normalidade e a homogeneidade da variância. Os resultados de fecundidade de fêmeas e de longevidade de machos atenderam aos requisitos da análise de variância (ANOVA). Os dados de longevidade de fêmeas foram transformados em $\log(x+1)$ e depois analisados utilizando o PROC ANOVA. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os resultados referentes ao período larval, sobrevivência larval, peso de pupas, razão sexual, período pupal e sobrevivência pupal foram comparados pelo teste de Student Newman Keuls ($P < 0,05$), sendo as análises conduzidas utilizando-se o software SAS (SAS Institute, 2015). Os parâmetros para a construção das tabelas de vida de fertilidade foram estimados de acordo com o método Jackknife, estimando-se os intervalos de confiança dos parâmetros para permitir a comparação entre os tratamentos, conforme descrito por Maia et al. (2000). As estimativas foram calculadas por meio do software SAS (SAS Institute, 2015).

3. Resultados

Foram observadas diferenças entre as CL₅₀ e CL₂₅ de cada inseticida usado, sendo os maiores valores para *B. thuringiensis* (5,675 mg L⁻¹ e 0,729 mg L⁻¹, respectivamente). Não houve diferença para CL₁₀ entre os produtos (Tabela 1).

Tabela 1. Resultado da Análise de Probit da resposta de concentração-mortalidade dos produtos às lagartas de segundo ínstar de *Plutella xylostella*.

Produtos	n ¹	CL ₅₀ (95% I.C.)	CL ₂₅ (95% I.C.)	CL ₁₀ (95% I.C.)	Coef. Angular ± EP ⁴	χ ²	G.L.	P
Extrato de <i>P. cubeba</i> ²	100	0,521 (0,403 – 0,646)	0,258 (0,167 – 0,343)	0,138 (0,072 – 0,203)	2,22 ± 0,23	11,03	5	0,0508
Ciantraniliprole ³	100	0,252 (0,219 – 0,289)	0,122 (0,102 – 0,143)	0,064 (0,050 – 0,078)	2,15 ± 0,12	7,11	7	0,4171
<i>B. thuringiensis</i> ³	100	5,675 (4,217 – 7,903)	0,7285 (0,421 – 1,084)	0,115 (0,043 – 0,223)	0,75 ± 0,08	7,15	5	0,2099

¹n=número de lagartas observadas por concentração.

²Concentração letal expressa em %.

³Concentração letal expressa em µg i.a./mL.

⁴Coeficiente angular ± erro padrão.

95% I.C. = Intervalo de confiança 95%

As larvas de *P. xylostella* apresentaram maior período larval (~9 dias) quando submetidas ao tratamento com *B. thuringiensis* na CL₂₅, sendo os menores valores observados nos tratamentos com extrato de *P. cubeba*, tanto na CL₁₀, quando na CL₂₅ (~7 dias). A sobrevivência das larvas foi menor quando houve aplicação de ciantraniliprole em ambas as concentrações subletais (Tabela 2).

Tabela 2. Período e sobrevivência da fase larval de *Plutella xylostella* submetida a concentrações subletais (CL₁₀ e 25) dos produtos.

Produtos	CLs	Período (dias)	Sobrevivência (%)
Extrato de <i>P. cubeba</i>	CL ₁₀	6,7 ± 0,08 d ¹	90,0 ± 3,02 a
	CL ₂₅	6,9 ± 0,08 d	71,0 ± 4,56 bc
Ciantraniliprole	CL ₁₀	7,6 ± 0,12 c	57,0 ± 4,98 c
	CL ₂₅	7,9 ± 0,12 b	60,0 ± 4,92 c
<i>B. thuringiensis</i>	CL ₁₀	7,8 ± 0,08 bc	84,0 ± 3,68 ab
	CL ₂₅	8,8 ± 0,12 a	71,0 ± 4,56 bc
Testemunha	Água	7,5 ± 0,09 c	87,8 ± 3,47 a

¹Médias ± EP seguidas da mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Student Newman Keuls (P > 0,05).

A duração do período pupal de *P. xylostella* foi menor quando o inseto foi submetido aos tratamentos controle e ciantraniliprole na CL₂₅, sendo maior com *B. thuringiensis* (6 dias), onde a viabilidade pupal foi afetada pela CL₂₅ (70%). No geral, a viabilidade pupal foi superior a 70% em todos os tratamentos e CLs. O peso das pupas foi maior com *B. thuringiensis* em ambas as concentrações subletais, com o menor observado na CL₂₅ de ciantraniliprole (Tabela 3).

Tabela 3. Parâmetros da fase pupal de *Plutella xylostella* submetida a concentrações subletais dos produtos.

Produtos	CLs	Período (dias)	Viabilidade (%)	Peso (mg)	Razão sexual	Deformação (%)
Extrato de <i>P. cubeba</i>	CL ₁₀	4,2 ± 0,14 b ¹	80,0 ± 4,24 ab	5,7 ± 0,12 ab	0,45 ± 0,08 a	23,3 ± 4,48 ab
	CL ₂₅	4,5 ± 0,09 b	84,5 ± 4,32 ab	5,5 ± 0,12 b	0,40 ± 0,07 a	15,5 ± 4,32 b
Ciantraniliprole	CL ₁₀	2,9 ± 0,11 d	81,0 ± 5,19 ab	5,7 ± 0,16 ab	0,39 ± 0,05 a	0,0 ± 0,00 c
	CL ₂₅	3,9 ± 0,09 c	83,3 ± 4,85 ab	4,7 ± 0,12 c	0,49 ± 0,09 a	0,0 ± 0,00 c
<i>B. thuringiensis</i>	CL ₁₀	5,8 ± 0,06 a	94,0 ± 2,59 a	6,0 ± 0,09 a	0,39 ± 0,03 a	0,0 ± 0,00 c
	CL ₂₅	5,6 ± 0,12 a	70,4 ± 5,45 b	6,1 ± 0,13 a	0,50 ± 0,10 a	28,2 ± 5,38 a
Testemunha	Água	3,0 ± 0,09 d	86,1 ± 3,92 ab	5,4 ± 0,09 b	0,50 ± 0,10 a	0,0 ± 0,00 c

¹Médias ± EP seguidas da mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Student Newman Keuls (P > 0,05).

A razão sexual não foi afetada pelos tratamentos, não sendo constatadas deformações em adultos no controle, com ciantraniliprole e *B. thuringiensis* na CL₁₀. Todavia, na CL₂₅ houve maior percentual de deformações causadas pela exposição ao *Bt* (28%) (Tabela 3).

A longevidade dos machos foi maior nos tratamentos controle e ciantraniliprole na CL₁₀ e a das fêmeas maior apenas com ciantraniliprole na CL₁₀, sendo menor com o extrato de *P. cubeba*. A fecundidade do inseto foi maior no tratamento com *B. thuringiensis* na CL₁₀ (306 ovos por fêmea aproximadamente) e menor com extrato de *P. cubeba* na CL₁₀ (146 ovos por fêmea) (Tabela 4). O período de incubação foi mais longo com ciantraniliprole na CL₁₀ (3 dias), com a viabilidade dos ovos não sendo afetada pelas concentrações subletais dos produtos, variando de 83 a 90% (Tabela 5).

Tabela 4. Longevidade e fecundidade de *Plutella xylostella* submetida às concentrações subletais (CLs) dos produtos.

Produtos	CLs	Longevidade de machos (dias)	Longevidade de fêmeas (dias)	Fecundidade (ovos/fêmea)
Extrato de <i>P. cubeba</i>	CL ₁₀	11,1 ± 0,28 b ¹	9,4 ± 0,58 b	146,1 ± 16,34 d
	CL ₂₅	10,0 ± 0,45 b	9,5 ± 0,91 b	191,8 ± 13,42 bcd
Ciantraniliprole	CL ₁₀	15,9 ± 0,48 a	14,0 ± 0,39 a	218,4 ± 22,58 bc
	CL ₂₅	12,2 ± 1,53 b	11,8 ± 1,62 ab	186,4 ± 12,27 cd
<i>B. thuringiensis</i>	CL ₁₀	11,0 ± 1,04 b	11,4 ± 0,45 ab	305,5 ± 19,69 a
	CL ₂₅	9,0 ± 1,22 b	10,6 ± 0,65 ab	250,2 ± 14,49 b
Testemunha	Água	15,4 ± 1,40 a	12,4 ± 0,81 ab	205,8 ± 6,09 bc

¹Médias ± EP seguidas da mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Student Newman Keuls (P > 0,05).

A CL₁₀ de *B. thuringiensis* afetou a taxa de reprodução líquida (R₀) de *P. xylostella*, sendo maior comparada aos demais produtos (117,2). As taxas intrínsecas de crescimento (r_m) e finitas de crescimento (λ) foram maiores na CL₁₀ para o extrato de *P. cubeba*, sendo a duração média de uma geração (T) menor nos tratamentos com o extrato, indicando que o uso do extrato pode diminuir o número de gerações da praga no ano. Porém, não foi observada diferença estatística entre

os tratamentos para o tempo necessário para a população dobrar em número de indivíduos (Dt) (Tabela 6).

Tabela 5. Período de incubação e viabilidade de ovos de *Plutella xylostella* submetida a concentrações subletais dos produtos.

Produtos	CLs	Período de incubação (dias)	Viabilidade (%)
Extrato de <i>P. cubeba</i>	CL ₁₀	3,03 ± 0,03 b ¹	89,7 ± 3,47 a
	CL ₂₅	3,00 ± 0,00 b	85,8 ± 2,40 a
Ciantraniliprole	CL ₁₀	3,32 ± 0,09 a	82,6 ± 4,72 a
	CL ₂₅	3,11 ± 0,06 b	83,7 ± 4,57 a
<i>B. thuringiensis</i>	CL ₁₀	3,04 ± 0,09 b	85,5 ± 5,37 a
	CL ₂₅	2,96 ± 0,04 b	82,4 ± 5,28 a
Testemunha	Água	3,00 ± 0,00 b	84,6 ± 5,01 a

¹Médias ± EP seguidas da mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Student Newman Keuls (P > 0,05).

Tabela 6. Parâmetros da tabela de vida de fertilidade de *Plutella xylostella* submetida a concentrações subletais dos produtos.

Produtos	CLs	R ₀	r _m	λ	T	Dt
Extrato de <i>P. cubeba</i>	CL ₁₀	77,6 ab ¹ (45,65 – 109,58)	0,421 a (0,3715 – 0,4707)	1,523 a (1,4499 – 1,5958)	10,5 e (10,09 – 10,83)	1,6 a (1,40 – 1,86)
	CL ₂₅	43,8 b (30,02 – 57,65)	0,340 b (0,3090 – 0,3712)	1,405 b (1,3621 – 1,4471)	11,2 d (10,97 – 11,51)	2,0 a (1,80 – 2,24)
Ciantraniliprole	CL ₁₀	41,8 b (18,21 – 65,30)	0,326 ab (0,2657 – 0,3857)	1,384 ab (1,3038 – 1,4646)	11,7 cd (10,91 – 12,47)	2,1 a (1,61 – 2,59)
	CL ₂₅	66,3 ab (27,07 – 105,47)	0,343 ab (0,2914 – 0,3941)	1,408 ab (1,3379 – 1,4783)	12,5 bc (11,73 – 13,22)	2,0 a (1,64 – 2,37)
<i>B. thuringiensis</i>	CL ₁₀	117,2 a (64,04 – 170,35)	0,349 ab (0,2990 – 0,3998)	1,418 ab (1,3483 – 1,4877)	13,8 a (13,44 – 14,14)	1,9 a (1,63 – 2,31)
	CL ₂₅	77,6 ab (38,91 – 116,37)	0,316 ab (0,2553 – 0,3759)	1,370 ab (1,2902 – 1,4505)	13,9 ab (13,16 – 14,78)	2,2 a (1,65 – 2,69)
Testemunha	Água	97,4 ab (50,33 – 144,52)	0,432 ab (0,3678 – 0,4961)	1,539 ab (1,4441 – 1,6345)	10,7 de (10,39 – 11,09)	1,6 a (1,31 – 1,88)

1Médias (intervalo de confiança) seguidas da mesma letra na linha não diferem pelo teste t de Student (P > 0,05). R₀ = taxa líquida de reprodução; r_m = taxa intrínseca de aumento; λ = taxa finita aumento; T = tempo médio de geração e Dt = tempo necessário para a população duplicar em número.

4. Discussão

A disponibilidade e qualidade da planta hospedeira podem afetar diretamente a dinâmica populacional dos insetos-praga, podendo assim, acarretar mudanças significativas no desempenho da fase imatura, bem como dos adultos (Golizadeh et al., 2009).

A exposição às concentrações subletais de cada produto testado afetou de forma diferente *P. xylostella*, com o inseto apresentando menor período e sobrevivência de larvas em função das concentrações subletais de ciantraniliprole, o que também foi observado para a taxa de pupação por Han et al. (2012). Em alguns casos a sobrevivência larval foi menor que 80%, valor mínimo requerido para registro de inseticidas no Brasil (MAPA, 2012). O peso das pupas foi afetado pela CL₂₅ de ciantraniliprole, fato também relatado por Guo et al. (2013) para a mesma concentração subletal desse produto, o que deve estar relacionado a uma menor ingestão de alimentos durante a fase larval e consequente exposição ao produto.

As concentrações subletais de *Bt* aumentaram a duração dos períodos larval e pupal de *P. xylostella*, o que também foi reportado para este inseto, após exposição à CL₅ de Vip3A, por Gulzar e Wright (2015), sendo que a duração da fase larval em lepidópteros pode aumentar de acordo com a concentração de *Bt* (Ma et al., 2008; Huang et al., 2018). Foi relatado por Loeb et al. (2004) que insetos ao ingerir alimento contaminado por *Bt* podem reparar a infecção no intestino médio devido a elevada produção de células estimulada por mitógenos. A presença de grânulos (esferitos) envolvendo as células epiteliais do intestino médio de *P. xylostella* após a infecção por *Bt kurstaki* foi observada por Ribeiro et al. (2013).

Polanczyk e Alves (2005) relataram que alguns isolados de *Bt* podem causar alterações fisiológicas afetando negativamente a reprodução, refletindo na qualidade e quantidade de ovos depositados pelas fêmeas. Já, para os resultados obtidos neste trabalho não é possível fazer essa mesma inferência, pelo fato de que a quantidade de ovos colocados pelas fêmeas, com e sem contato com a toxina foram similares. Não foram observadas diferenças na longevidade e fecundidade das fêmeas, assim como foi citado por Santos (2018) com as lagartas de *P. xylostella*.

também expostas a produtos à base de *B. thuringiensis*. Contudo, essa mesma autora cita que alguns insetos emergiram com deformações nas asas ou não conseguiram sair por completo da exúvia pupal. De Bortoli et al. (2012) descreveram que *P. xylostella*, sob ação de produtos formulados à base de *B. thuringiensis*, sofreram alterações no peso das pupas, resultados esses que contrapõem aqueles discriminados na Tabela 3, mostrando que o peso das pupas oriundas de lagartas com ou sem ingestão da toxina foram semelhantes.

Laurentis (2013) verificou que *P. xylostella* em contato com isolados/produtos à base de *B. thuringiensis* apresentou período pupal médio de 4,24 dias, sendo na testemunha 4,4 dias, enquanto De Bortoli (2014) cita média de 3,0 dias, resultados estes que diferem dos apresentados neste trabalho. Isso permite inferir que as populações estão sujeitas a alterações biológicas após gerações devido a diversos fatores, tais como mutações, como relatado por Roux et al. (2007).

Nesta pesquisa, ao atingirem a fase adulta, os insetos apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos, sendo a longevidade de fêmeas e fecundidade reduzidas nas concentrações subletais do extrato de *P. cubeba*. Muitos estudos apontam a toxicidade de extratos de *Piper* spp. para insetos (Scott et al., 2004; 2008; Brito et al., 2015). Entretanto, alguns desses estudos focam apenas nos efeitos larvicidas em *P. xylostella*, pouco se sabendo sobre os efeitos de doses letais ou subletais destes extratos (Park, 2012; Kraikrathok et al., 2013; Hwang et al., 2017). A longevidade reduzida dos adultos pode diminuir a população de pragas na sequência das gerações, levando também a uma menor produção de ovos e vida útil mais curta (Er et al., 2017).

A fecundidade de *P. xylostella* foi afetada pelas concentrações subletais do extrato de *P. cubeba*, existindo relatos de que extratos de plantas podem ocasionar redução na oviposição de lepidópteros-praga, incluindo *P. xylostella* (Babu et al., 2000; Freitas et al., 2014; Ferreira et al., 2020). De acordo com Birah et al. (2010), o extrato do cravo da Índia pode ter alguma ação juvenoide sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), sendo que Truzzi (2020) verificou ação lagartocida nessa espécie, onde a taxa de mortalidade foi de 90,0%, relatando também a existência da ação de repelência, tanto para lagartas de *S. frugiperda* como de *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1808) (Lepidoptera: Noctuidae).

Além disso, de acordo com Torres et al. (2001) e Borgoni e Vendramim (2003), os metabólitos secundários presentes nas plantas podem também provocar efeitos adversos na biologia e na imunologia dos insetos, inibindo o crescimento e reduzindo a fecundidade.

A redução na fecundidade e fertilidade causada por extratos botânicos pode estar associada aos efeitos indiretos das concentrações subletais via alimentação, uma vez que os compostos podem influenciar no número de ovários e, portanto, reduzir a produção de ovos, associado a possíveis distúrbios alimentares e deficiência nutricional (Costa et al., 2004). Esse efeito é fundamental em campo, pois ao reduzir o número de ovos viáveis, ocorrerá a redução do número de lagartas nas gerações subsequentes e, sendo assim, com a menor quantidade de indivíduos eclodindo ocorrerá redução nos danos e prejuízos provocados nas culturas. Já a mortalidade pupal observada nos tratamentos acontece, possivelmente, devido a ação de compostos inseticidas (provenientes de metabólitos secundários das plantas nos órgãos endócrinos e tecidos do inseto, que, ao serem ingeridos e absorvidos pelo inseto poderia provocar deformações nas pupas e a não emergência de adultos (Guo et al., 2014; Sun et al., 2013). Nesse sentido, a piperina, que é um alcaloide, tem sido reportada como um composto associado à redução da fertilidade e à mortalidade de embriões em Lepidoptera (Tavares et al., 2011; Ferreira et al., 2020; Nobsathian et al., 2021), o que não foi observado com as concentrações subletais de *P. cubeba* na viabilidade dos ovos de *P. xylostella* neste trabalho.

O aumento da fecundidade de *P. xylostella* causada pela CL₁₀ de *B. thuringiensis* pode estar relacionada à hormese, fenômeno no qual a exposição à altas doses de um inseticida pode causar efeitos inibitórios, mas em baixas doses podem promover efeitos que estimulam processos biológicos (Mattson, 2008). Alguns estudos têm reportado a influência de *Bt* na hormese em insetos-praga (Cutler e Guedes, 2017; Campos et al., 2019; Rabelo et al., 2020), sendo que os efeitos transgeracionais tornam este fenômeno mais evidente (Xiao et al., 2015).

Outros insetos apresentaram aumento na fecundidade com a aplicação de inseticidas sintéticos ou à base de azadiractina (Cutler et al., 2009; Ayyanath et al., 2013; Mallqui et al., 2014; Er et al., 2017). Em *P. xylostella*, isso pode indicar que a

aplicação continuada do produto pode implicar na evolução da resistência (Sota et al., 1998; Deng et al., 2016), com a seleção de populações resistentes ou com o surto de pragas secundárias podendo estar relacionado com a sobrevivência dos insetos relacionada às concentrações subletais dos produtos (Desneux et al., 2007; Guedes e Cutler, 2013; França et al., 2017).

Os inseticidas em concentração subletal refletem significativamente nos parâmetros da tabela de vida dos artrópodes (Liang et al., 2019; Su e Xia, 2020), sendo que, de acordo com Stark et al. (2007), a tabela de vida é uma técnica útil para se observar a toxicidade de inseticidas, uma vez que parâmetros ecológicos e toxicológicos são combinados, fornecendo uma melhor previsão dos efeitos tóxicos em nível populacional.

Assim, o inseticida Ciantraniliprole pode ter sua ação subletal variável em lepidópteros-praga, sendo que as concentrações subletais desse ingrediente ativo provocaram redução na população de *Ostrinia furnacalis* (Guenée, 1854) (Lepidoptera: Pyralidae) e afetaram o peso de pupas, a fecundidade e a sobrevivência de *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1808) (Lepidoptera: Noctuidae) (Song et al., 2013; Zhang et al., 2013). Como foi observado neste estudo com *P. xylostella*, não houve redução destes parâmetros quando comparado ao tratamento controle. Mas, assim como observado para o extrato de *P. cubeba*, o inseticida sintético reduziu os valores médios de R_0 , indicando que uma concentração mais baixa dos produtos (químico e botânico) retardará o crescimento populacional da praga, fato este também relatado por Tamilselvan et al. (2021).

As alterações no sistema nervoso e muscular, na alimentação, na oviposição e na atividade motora foram ressaltadas por Karise e Mand (2015) como sendo os principais efeitos subletais de inseticidas em insetos-praga. Destacam eles ainda que as mudanças no sistema nervoso e muscular podem atingir a termorregulação, a respiração e o balanço hídrico dos insetos.

Portanto, embora existam diversos grupos de inseticidas com os mais variados modos de ação, os efeitos subletais geralmente provocam alterações no sistema muscular, o que pode levar ao colapso de outros sistemas, como por exemplo, perda da coordenação da abertura e fechamento dos espiráculos,

aumentando assim a perda de água pelo inseto, podendo acarretar sua morte (Karise e Mand, 2015).

Os estudos toxicológicos em insetos se concentram em sua maioria nos efeitos letais (toxicidade aguda), mas aqueles relacionados aos efeitos subletais (toxicidade crônica) são importantes para detectar impactos no comportamento dos insetos no ambiente agrícola (Liu e Chen, 2010; Ribeiro et al., 2014). A partir destes estudos, é possível avaliar posteriormente os efeitos deletérios e possíveis usos de subdoses para o MIP e para o manejo da resistência (Lemes et al., 2021).

Em resumo, o presente estudo indicou que baixas concentrações de ciantraniliprole e, principalmente, do extrato de *P. cubeba*, inibiram o desenvolvimento de *P. xylostella* criada em laboratório, significando que a aplicação desses inseticidas nas lavouras pode auxiliar no controle da praga de maneira muito eficaz, matando o inseto e/ou suprimindo seu crescimento populacional, possivelmente de forma mais eficiente do que outros inseticidas comumente usados.

5. Conclusões

Concentrações subletais de ciantraniliprole (CL₁₀ e CL₂₅) reduzem a sobrevivência larval de *P. xylostella*.

A CL₁₀ de *B. thuringiensis* aumenta e a de *P. cubeba* diminui a fecundidade de *P. xylostella*.

O extrato de *P. cubeba* apresenta efeito subletal em *P. xylostella* diminuindo o número de gerações.

6. Referências

Agrofit (2021) Sistema de agrotóxicos fitossanitários. Coordenação Geral de Agrotóxicos e Afins. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 31 jul. 2021.

Ayyanath MM, Cutler GC, Scott-Dupree CD, Sibley PK (2013) Transgenerational shifts in reproduction hormones in green peach aphid exposed to low concentrations of imidacloprid. **PLoS One** 8:e74532.

Babu R, Murugan K, Kavitha R, Sivaramakrishnan S (2000) Synergistic effects of extract from *Azadirachta indica*, *Pongamia pinnata* and *Vitex negundo* on feeding,

survival and fecundity of *Helicoverpa armigera* Hünér (Lepidoptera: Noctuidae). **Indian Journal of Environment and Toxicology** 10:42-44.

Baker GJ, Kovaliski J (1999) Detection of insecticide resistance in *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) populations in South Australian crucifer crops. **Australian Journal of Entomology** 38:132-134.

Birah A, Sharma TVRS, Singh S, Srivastava RC (2010) Effect of aqueous leaf extract of cloves (*Syzygium aromaticum*) on growth and development of tobacco caterpillar (*Spodoptera litura*). **Indian Journal of Agricultural Sciences** 80:534-537.

Borgoni PC, Vendramim JD (2003) Bioatividade dos extratos aquosos de *Trichillia* spp. sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho. **Neotropical Entomology** 32:65-69.

Brito EFD, Baldin ELL, Silva RDCM, Ribeiro LDP, Vendramim JD (2015). Bioactivity of *Piper* extracts on *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) in tomato. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 50:196-202.

Cameron P, Walker G, Warning DB (1998) Moth resistant to pesticide. **Commercial Grower** 53(2):12-13.

Campos SO, Santana IV, Silva C, Santos-Amaya OF, Guedes RNC, Pereira EJG (2019) Bt-induced hormesis in Bt-resistant insects: Theoretical possibility or factual concern? **Ecotoxicology and Environmental Safety** 183:109577.

Capinera JL (2018) **Diamondback Moth, *Plutella xylostella* (Linnaeus) (Insecta: Lepidoptera: Plutellidae).** Disponível em:<<https://edis.ifas.ufl.edu/pdf/IN/IN27600.pdf>>. Acesso em: 19 jul. 2021.

Cardoso MO, Pamplona AMSR, Michereff Filho M (2010) **Recomendações técnicas para o controle de lepidópteros-praga em brócolis e repolho no Amazonas.** Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 15 p. (Circular Técnica, 35).

Cartea ME, Lema M, Francisco M, Velasco PM (2011) Basic information on vegetable *Brassica* crops. In.: Sadowski J, Kole C (Eds.) **Genetics, genomics and breeding of vegetable brassicas.** Enfield: Science Publishers, p. 1-33.

Castelo Branco M, França FH (2015) Traça das crucíferas, *Plutella xylostella* (L.). In: Vilela EF, Zucchi RA (Eds.) **Pragas introduzidas no Brasil:** insetos e ácaros. Piracicaba: Fealq, p. 516-528.

Castelo Branco M, França FH, Pontes LA, Amaral PST (2003) Avaliação da suscetibilidade a inseticidas em populações de traça-das-crucíferas de algumas áreas do Brasil. **Horticultura Brasileira** 21:549-552.

Castelo Branco M, Gatehouse AG (1997) Insecticide resistance in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae) in the Federal District, Brazil. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil** 26:75-79.

Castelo Branco M, Gatehouse AG (2001) A survey of insecticide susceptibility in *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae) in the Federal District, Brazil. **Neotropical Entomology** 30:327-332.

Chapman JW, Reynolds DR, Smith AD, Riley JR, Pedgley DE, Woiwod IP (2002) High altitude migration of the diamondback moth *Plutella xylostella* to the UK: a study using radar, aerial netting, and ground trapping. **Ecological Entomology** 27:641-650.

Costa EL, Silva NRFP, Fiúza LM (2004) Efeitos, aplicações e limitações de extratos de plantas inseticidas. **Acta Biologica Leopoldensia** 26:173–185.

Coustau C, Chevillon C (2000) Resistance to xenobiotics and parasites: can we count the cost?. **Trends in Ecology and Evolution** 15(9):378-383.

Cutler GC, Guedes RN (2017) Occurrence and significance of insecticide-induced hormesis in insects. In: Duke SO, Kudsk P, Solomon K (Eds.) **Pesticide dose: effects on the environment and target and non-target organisms**. American Chemical Society. p. 101-119. doi:10.1021/bk-2017-1249.fw001

Cutler GC, Ramanaidu K, Astatkie T, Isman MB (2009) Green peach aphid, *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae), reproduction during exposure to sublethal concentrations of imidacloprid and azadirachtin. **Pest Management Science** 65:205-209.

De Bortoli CP (2014) **Toxicidade e efeitos subletais de toxinas Cry de *Bacillus thuringiensis* Berliner em diferentes populações de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) em laboratório**. 95 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia-Entomologia Agrícola), Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

De Bortoli SA, Vacari AM, Magalhães GO, Dibelli W, De Bortoli CP, Alves MP (2012) Subdosages of *Bacillus thuringiensis* on *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) and *Trichogramma pretiosum* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) **Revista Caatinga** 25(2):50-57.

Deng ZZ, Zhang F, Wu ZL, Yu ZY, Wu G (2016) Chlorpyrifos-induced hormesis in insecticide-resistant and-susceptible *Plutella xylostella* under normal and high temperatures. **Bulletin of Entomological Research** 106:378-386.

Desneux N, Decourtye A, Delpuech J (2007) The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. **Annual Review of Entomology** 52:81-106.

Dias DGS, Soares CMS, Monnerat RG (2004) Avaliação de larvicidas de origem microbiana no controle da traça-das-crucíferas em brócolis-flor. **Horticultura Brasileira** 22:553-556.

Er A, Taşkıran D, Sak O (2017) Azadirachtin-induced effects on various life history traits and cellular immune reactions of *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Archives of Biological Sciences** 69:335-344.

Ferreira EA, Souza AS, Domingues A, Da Silva MMM, Padial IMPM, Carvalho EM, Cardoso CAL, Mussury RM (2020) Phytochemical screening and bioactivity of *Ludwigia* spp. in the control of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). **Insects** 11(9):596.

Filgueira FAR (2008) **Novo manual de olericultura**: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. Viçosa: UFV, 421 p.

Finney DJ (1971) **Probit analysis**. Cambridge: Cambridge University Press, 333 p.

França SM, Breda MO, Barbosa DRS, Araujo AMN, Guedes CA (2017) The sublethal effects of insecticides in insects. In.: Shields VDC (Ed.) **Biological control of pest and vector insect**. London: IntechOpen, p. 163-200.

Freitas AF, Pereira FF, Formagio ASN, Lucchetta JT, Vieira MDC, Mussury RM (2014) Effects of methanolic extracts of *Annona* species on the development and reproduction of *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology** 43:446-452.

Frost SW (1949) The diamondback moth in Pennsylvania. **Journal of Economic Entomology** 42(4):681-682.

Georghiou GP, Taylor CE (1977a) Operational influences in the evolution of insecticide resistance. **Journal of Economic Entomology** 70:653-658.

Georghiou GP, Taylor CE (1977b) Genetic and biological influences in the evolution of insecticide resistance. **Journal of Economic Entomology** 70:319-323.

Golizadeh A, Kamali K, Fathipour Y, Abbasipour H (2009) Life table of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L) (Lepidoptera: Plutellidae) on five cultivated brassicaceous host plants. **Journal Agricultural Science and Technology** 11:115-124.

Gonçalves, KC (2020) **Compatibilidade, efeitos letais e subletais de misturas de bioinseticidas à base de *Bacillus thuringiensis* e inseticidas em *Chrysodeixis includens***. 124 p. Tese (Doutorado em Agronomia-Entomologia Agrícola), Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

Guedes RNC, Cutler GC (2013) Insecticide-induced hormesis and arthropod pest management. **Pest Management Science** 70(5):690-697.

Gulzar A, Wright DJ. (2015) Sub-lethal effects of Vip3A toxin on survival, development and fecundity of *Heliothis virescens* and *Plutella xylostella*. **Ecotoxicology** 24:1815-1822.

Guo L, Desneux N, Sonoda S, Liang P, Han P, Gao XW (2013). Sublethal and transgenerational effects of chlorantraniliprole on biological traits of the diamondback moth, *Plutella xylostella* L. **Crop Protection** 48:29-34.

Guo H, Yang M, Qi Q (2014) Insecticidal and antifeedant effects of two alkaloids from *Cynanchum komarovii* against larvae of *Plutella xylostella* L. **Journal of Applied Entomology** 10:32-35.

Han W, Zhang S, Shen F, Liu M, Ren C, Gao X (2012) Residual toxicity and sublethal effects of chlorantraniliprole on *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). **Pest Management Science** 68:1184-1190.

Huang S, Li X, Li G, Jin D (2018) Effect of *Bacillus thuringiensis* CAB109 on the growth, development, and generation mortality of *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: noctuidea). **Egyptian Journal of Biological Pest Control** 28:1-5.

Hwang KS, Kim YK, Park KW, Kim YT (2017) Piperolein B and piperchabamide D isolated from black pepper (*Piper nigrum* L.) as larvicidal compounds against the diamondback moth (*Plutella xylostella*). **Pest Management Science** 73:1564-1567.

Imenes SDL, Campos TB de, Rodrigues Netto SM, Bergmann EC (2002) Avaliação da atratividade de feromônio sexual sintético da traça das crucíferas, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), em cultivo orgânico de brócolis. **Arquivos do Instituto Biológico** 69:81-84.

Karise R, Mänd M (2015) Recent insights into sublethal effects of pesticides on insect respiratory physiology. **Open Access Insect Physiology** 5:31–39. doi:10.2147/OAIP.S68870

Kraikrathok C, Ngamsaengi S, Bullangpoti V, Pluempanupat W, Koul O (2013) Bio efficacy of some piperaceae plant extracts against *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae). **Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences** 78:305-310.

Krebs CJ (1994) **Ecology**: the experimental analysis of distribution and abundance New York: Harper Collins, 800 p.

Laurentis VL (2013) **Variabilidade populacional de *Plutella xylostella* (L, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) e suscetibilidade a *Bacillus thuringiensis* Berliner**. 87 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia-Entomologia Agrícola), Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

Lemes AA, Sipriano-Nascimento TP, Vieira NF, Cardoso CP, Vacari AM, De Bortoli SA (2021) Acute and chronic toxicity of indoxacarb in two populations of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). **Journal of Economic Entomology** 114:298-306.

Liang PZ, Ma KS, Chen XW, Tang CY, Xia J, Chi H, Gao XW (2019) Toxicidade e efeitos subletais da flupiradifurona, um novo inseticida butenolídeo, no desenvolvimento e fecundidade de *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae). **Journal of Economic Entomology** 112:852-858

Liu TX, Chen W (2010) Toxicity, persistence and efficacy of indoxacarb and two other insecticides on *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) immatures in cabbage. **International Journal of Pest Management** 49:235–241.

Loeb MJ, Martin PA, Hakim RS, Goto S, Takeda M (2004) Regeneration of cultured midgut cells after exposure to sublethal doses of toxin from two strains of *Bacillus thuringiensis*. **Journal of Insect Physiology** 47:599–606. doi:10.1016/s0022-1910(00)00150-5.

Ma XM, Liu XX, Ning X, Zhang B, Han F, Guan XM, Tan YF, Zhang QW (2008). Effects of *Bacillus thuringiensis* toxin Cry1Ac and *Beauveria bassiana* on asiatic corn borer (Lepidoptera: Crambidae). **Journal of Invertebrate Pathology** 99:123-128.

Maia AHN, Luiz AJB, Campanhola C (2000) Statistical inference on associated fertility life table parameters using Jackknife technique: computational aspects **Journal of Economic Entomology** 93(2):511-518.

Mallqui KSV, Vieira JL, Guedes RNC, Gontijo LM (2014) Azadirachtin-induced hormesis mediating shift in fecundity-longevity trade-off in the mexican bean weevil (Chrysomelidae: Bruchinae). **Journal of Economic Entomology** 107:860–866.

MAPA – Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (2012) **Manual de procedimentos para registro de agrotóxicos: coordenação geral de agrotóxicos e afins**. Disponível em:<<http://www.agricultura.gov.br/>>. Acesso em: outubro de 2021.

Mattson MP (2008) Hormesis defined. **Ageing Research Reviews** 7:1-7.

Monnerat RG, Leal-Bertioli SCM, Bertioli DJ, Butt TM, Bordat D (2004) Caracterização de populações geograficamente distintas da traça-dascrucíferas por suscetibilidade ao *Bacillus thuringiensis* Berliner e RAPD-PCR. **Horticultura Brasileira** 22(3):607-609.

Nobsathian S, Saiyaitong C, Koul O, Pluempanupat W, Bullangpoti V, Kumrungsee N (2021) The insecticidal potential of *Piper ribesoides* (Piperales: Piperaceae) extracts and isolated allelochemicals and their impact on the detoxification enzymes of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). **Phytoparasitica** 49:659–673.

Pardo-Lopez L, Soberon M, Bravo A (2012) *Bacillus thuringiensis* insecticidal three-domain Cry toxins: mode of action, insect resistance and consequences for crop protection. **FEMS Microbiology Reviews** 37:3–22.

Park IK (2012) Larvicidal activity of constituents identified in *Piper nigrum* L. fruit against the diamondback moth, *Plutella xylostella*. **Korean Journal of Applied Entomology** 51:149-152.

Polanczyk RA, Alves SB (2005) Biological parameters of *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) assayed with *Bacillus thuringiensis* Berliner. **Science of Agriculture** 62(5):464-468.

Rabelo MM, Matos JML, Santos-Amaya OF, França JC, Gonçalves J, Paula-Moraes SV, Guedes RNC, Pereira, E. J. G. (2020) Bt-toxin susceptibility and hormesis-like response in the invasive southern armyworm (*Spodoptera eridania*). **Crop Protection** 132:105129.

Regnault-Roger C, Vicent C, Arnason JT (2012) Essential oils in insect control: low-risk products in a high-stakes world. **Annual Review Entomology** 57:405-424. doi:10.1146/annurev-ento-120710-100554

Reis A, Boiteux LS (2008) **Novas Espécies Hospedeiras de *Alternaria brassicae* na Família Brassicaceae no Brasil**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 13 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 46).

Ribeiro L, Wanderley-Teixeira V, Ferreira H, Teixeira Á, Siqueira H (2014) Fitness costs associated with field-evolved resistance to chlorantraniliprole in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). **Bulletin of Entomological Research** 104:88-96.

Ribeiro LMS, Wanderley-Teixeira V, Siqueira HAA, Oliveira ACB, Lemos AJJM, Teixeira AAC (2013) Midgut histopathology of resistant and susceptible *Plutella xylostella* exposed to commercial formulations of *Bacillus thuringiensis*. **Bulletin of Insectology** 66:161-171.

Robertson JL, Worner SP (1990) Population toxicology: suggestions for laboratory bioassays to predict pesticide efficacy. **Journal of Economic Entomology** 83(1):8-12.

Roux O, Gevrey M, Arvanitakis L, Gers C, Bordat D, Legal L (2007) SSRPCR: Tool for discrimination and genetic structure analysis of *Plutella xylostella* populations native to different geographical areas. **Molecular Phylogenetics and Evolution** 3:240-250.

Santos NA (2018) ***Xylocoris sordidus* (Reuter) (Hemiptera: Anthocoridae): possível agente de controle biológico aplicado**. 161 p. Tese (Doutorado em Entomologia), Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

SAS Institute (2015) SAS/IML 14.1 User's Guide. Cary, NC: SAS Institute Inc.

Scott IM, Jensen HR, Nicol R, Lesage L, Bradbury R, Sanchez-Vindas P, Poveda L, Arnason JT, Philogène BJR (2004) Efficacy of *Piper* (Piperaceae) extracts for control of common home and garden insect pests. **Journal of Economic Entomology** 97:1390-1403.

Scott IM, Jensen HR, Philogène BJR, Arnason JT (2008) A review of *Piper* spp. (Piperaceae) phytochemistry, insecticidal activity and mode of action. **Phytochemistry Reviews** 7:65.

Silveira Neto S, Nakano O, Bardin D, Vila Nova NA (1976) **Manual de ecologia dos insetos**. São Paulo: Editora Ceres, 420 p.

Simmons GS, Suckling DM, Carpenter JE, Addison MF, Dyck VA, Vreysen MJB (2010) Improved quality management to enhance the efficacy of the sterile insect technique for lepidopteran pests. **Journal of Applied Entomology** 134:261-273.

Song Y, Dong J, Sun H (2013) Chlorantraniliprole at sublethal concentrations may reduce the population growth of the Asian corn borer, *Ostrinia furnacalis* (Lepidoptera: Pyralidae). **Acta Entomologica Sinica** 56:446–451.

Sota N, Motoyama N, Fujisaki K, Nakasuji F (1998) Possible amplification of insecticide hormoligosis from resistance in the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae). **Applied Entomology and Zoology** 33:435–440.

Stark JD, Banks JE (2003) Population-level effects of pesticides and other toxicants on arthropods. **Annual Review of Entomology** 48(1):505-519.

Stark JD, Vargas R, Banks JE (2007) Incorporating ecologically relevant measures of pesticide effect for estimating the compatibility of pesticides and biocontrol agents. **Journal of Economic Entomology** 100:1027-1032.

Su C, Xia X (2020) Efeitos subletais do metiltio-diafenthiuron nos parâmetros da tabela de vida e nas propriedades enzimáticas da traça-das- crucíferas, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). **Pesticide Biochemistry Physiology** 162:43.

Sun D, Liu Y, Qin L, Xu J, Li F, Liu S (2013) Competitive displacement between two invasive whiteflies: Insecticide application and host plant effects. **Bulletin of Entomological Research** 103:344-353.

Tabashnik BE, Carrière Y (2017) Surge in insect resistance to transgenic crops and prospects for sustainability. **Nature Biotechnology** 35:926.

Talekar NS, Shelton AM (1993) Biology, ecology, and management of the diamondback moth. **Annual Review of Entomology** 38:275-301.

Tamilselvan R, Kennedy JS, Suganthi A (2021) Sublethal and transgenerational effects of spinetoram on the biological traits of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). **Ecotoxicology** 30:667-677.

Tavares WS, Cruz I, Petacci F, Freitas SS, Serratilde JE, Zanuncio JC (2011) Insecticide activity of piperine: Toxicity to eggs of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae) and phytotoxicity on several vegetables. **Journal of Medicinal Plants Research** 5:5301–5306.

Torres AL, Barros R, Oliveira JV (2001) Efeitos de extratos aquosos de plantas no desenvolvimento de *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Noctuidae). **Neotropical Entomology** 30:151-156.

Truzzi CC (2020) ***Helicoverpa armigera* e *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae): dieta artificial, produtos para controle e efeitos em polinizadores.** 156 p. Tese (Doutorado em Agronomia/Entomologia Agrícola), Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

Xiao D, Yang T, Desneux N, Han P, Gao X (2015) Assessment of sublethal and transgenerational effects of pirimicarb on the wheat aphids *Rhopalosiphum padi* and *Sitobion avenae*. **PLoS One** 10:e0128936.

Yu H, Li Y, Li X, Romeis J, Wu K (2013) Expression of Cry1Ac in transgenic Bt soybean lines and their efficiency in controlling lepidopteran pests. **Pest Management Science** 69:1326-1333.

Zhang RM, Dong JF, Chen JH, Ji QE, Cui JJ (2013). The sublethal effects of chlorantraniliprole on *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Integrative Agriculture** 12:457-466.

CAPÍTULO 6 – Considerações finais

Com a demanda crescente por inseticidas de baixo impacto ambiental, estudos com a utilização de produtos oriundos de plantas vem ganhando maior importância. No entanto, mesmo após alguns resultados promissores de toxicidade desses produtos contra insetos-praga, são necessários estudos adicionais para definir o melhor método de preparação e conservação das propriedades ativas, assim como para solucionar possíveis entraves relacionados a decomposição e a toxicidade para insetos benéficos (inimigos naturais e polinizadores).

Além disso, grandes quantidades de insetos são necessárias para a realização de pesquisas visando aprimoramento e o desenvolvimento de programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP), o que torna de suma importância a elaboração de metodologias seguras e eficientes de criação e que sejam adequadas para a produção de insetos de qualidade e em grande quantidade (De Bortoli et al., 2017). Para isso, a otimização das técnicas de criação contribui para a obtenção desses insetos em maior escala (De Bortoli et al., 2018).

Atualmente compostos químicos oriundos de plantas são utilizados como fontes para a síntese, em laboratório, de inseticidas mais eficientes e, diante deste cenário, plantas do gênero *Piper* têm indicado uma enorme variedade dessas substâncias, onde vários compostos já foram isolados e sintetizados, tendo eles comprovada atividade biológica, inclusive como inseticida.

Plutella xylostella (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae), a traça-das-crucíferas, possui vários relatos de resistência às principais classes de inseticidas, totalizando mais de 90 compostos químicos e biológicos, com produtos de diferentes mecanismos de ação, segundo dados da “Arthropod Pesticide Resistance Database” (APRD, 2018). Em vista disso e de outros fatores, como os custos das aplicações visando reduzir os níveis de dano, o controle químico tem tornado os custos da produção agrícola bastante elevados, dado aos altos investimentos na síntese e formulação de novos produtos. Além disso, também a busca por produtos de origem vegetal e microbiana, que tem aumentando nos últimos anos, também tem colaborado para a elevação no custeio da exploração agrícola.

O extrato de *P. cubeba*, ainda não comercializado, juntamente com outras espécies do gênero *Piper* (família Piperaceae) têm atividades relatadas contra insetos de várias ordens, destacando-se Coleoptera, Hemiptera e Lepidoptera (Lima et al., 2009; Truzzi, 2020).

Diante dos resultados obtidos na presente pesquisa, torna-se evidente que, como outras piperáceas, *P. cubeba* se apresenta como uma alternativa promissora ao MIP devido ao potencial inseticida de seus extratos, sendo, porém, necessário o aprofundamento dos estudos visando solucionar alguns entraves existentes, tais como: isolamento dos compostos ativos, de modo que novos ensaios poderão determinar seus efeitos letais e subletais nos insetos, viabilizando a possibilidade da produção comercial de novas moléculas sintéticas e, conseqüentemente, a formulação de produtos comerciais que poderão incluídos no manejo integrado de *P. xylostella*; equacionar o problema da fácil decomposição desses produtos; a realização de ensaios em campo e casa de vegetação para análise de toxicidade e fitotoxicidade; testes para avaliar a melhor forma de armazenamento visando manter suas propriedades; e análise dos efeitos desses produtos nas interações com organismos não alvo.

A presente pesquisa, de caráter exploratório, objetiva fornecer novas informações e subsídios para possível auxílio na obtenção e manutenção em laboratório de insetos de qualidade e com baixo custo para pesquisa e produção massal, além de melhores resultados no controle de *P. xylostella* em culturas de importância econômica, com menores prejuízos ao ambiente, como com a utilização do extrato de *P. cubeba*, que possui boa atividade inseticida, tornando-o uma alternativa para MIP de *P. xylostella*.

Os estudos sobre a ação do extrato de *P. Cubeba* devem ter continuidade, uma vez que os resultados obtidos nesta tese são pioneiros para o controle da traça-das-crucíferas, tendo ainda muitos detalhes a serem desvendados, especialmente em relação aos efeitos sobre as plantas (fitotoxicidade), os componentes do extrato que realmente possuem o potencial inseticida e seus efeitos em organismos não alvos (inimigos naturais e polinizadores).

Referências

APRD (2018) Arthropod Pesticide Resistance Database 2018 Disponível em:<<http://www.pesticideresistance.org/>>. Acesso em: 21 jun. 2021

De Bortoli SA, Truzzi CC, Nunes GS, Magalhães GO, Vieira NF, Santos NA, Cardoso CP (2018) Criação de insetos para pesquisa e alimentação. In.: Castilho RC, Truzzi CC, Pinto CPG (Eds.) **Tópicos em entomologia agrícola - XI**. Jaboticabal: Gráfica Multipress Ltda., p. 13-40.

De Bortoli SA, Vacari AM, De Bortoli CP (2017) Criação de insetos: Passado, presente e futuro. In.: Castilho RC, Barilli DR, Truzzi CC (Eds.) **Tópicos em entomologia agrícola - X**. Jaboticabal: Gráfica Multipress Ltda., p. 13-26.

Lima RK, Cardoso MG, Moraes JC, Melo BA, Rodrigues VG, Guimarães PL (2009) Atividade inseticida do óleo essencial de pimento longa (*Piper hispidinervum* C. DC.) sobre lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Acta Amazônica** 39:377-382.

Truzzi CC (2020) ***Helicoverpa armigera* e *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae): dieta artificial, produtos para controle e efeitos em polinizadores**. 156 p. Tese (Doutorado em Agronomia/Entomologia Agrícola). Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.