

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS  
ESCOLA SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE – ESA  
MESTRADO EM BIOTECNOLOGIA E RECURSOS NATURAIS - MBT**

**ATIVIDADE INSETICIDA DE *Palicourea marcgravii* St. Hil. (Rubiaceae) e  
*Piper aduncum* L. (Piperaceae) SOBRE CIGARRINHA (*Aetalion* sp.),  
PRAGA DE IMPORTÂNCIA ECONÔMICA NO AMAZONAS**

**WILSON CASTRO SILVA**

**MANAUS, AMAZONAS**

**DEZEMBRO, 2004**

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS  
ESCOLA SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE – ESA  
MESTRADO EM BIOTECNOLOGIA E RECURSOS NATURAIS - MBT**

**ATIVIDADE INSETICIDA DE *Palicourea marcgravii* St. Hil. (Rubiaceae) e  
*Piper aduncum* L. (Piperaceae) SOBRE CIGARRINHA (*Aetalion* sp.),  
PRAGA DE IMPORTÂNCIA ECONÔMICA NO AMAZONAS**

**WILSON CASTRO SILVA**

**Dissertação apresentada ao programa de Pós  
Graduação da Universidade do Estado do  
Amazonas como parte dos requisitos para  
obtenção do grau de Mestre em Biotecnologia  
e Recursos Naturais.**

Orientadora: Profa. Dra. Joana D'Arc Ribeiro  
Co-orientadora: Profa. Dra. Maria da Paz Lima

**MANAUS, AMAZONAS**

**DEZEMBRO, 2004**

## **Dedico**

Ao meu Deus, criador do universo, que pela sua grande misericórdia concedeu-me sabedoria, paciência nos momentos difíceis e determinação para que eu concluísse esse trabalho e conseguisse galgar mais um degrau na minha vida acadêmica e profissional.

A todas as pessoas que me ajudaram e me incentivaram a alcançar mais um objetivo em minha vida.

A minha família, em especial aos meus pais (Geraldo e Hilda), pelo amor e carinho que têm por mim, cobrindo-me todos os dias com suas orações ao nosso Deus.

Ao meu filho Wilson Júnior, que com sua presença na minha vida, enche-me de alegria e me dá força para vencer todos os obstáculos.

“Entrega o teu caminho ao Senhor, confia nele e o mais Ele fará”.  
(Salmo 37:5)

## AGRADECIMENTOS

A Profa. Dra. Joana D’Arc Ribeiro, Pesquisadora do INPA, minha orientadora, pela amizade, confiança, valiosos ensinamentos e inestimável colaboração na realização deste trabalho, que contribuiu para o meu crescimento intelectual;

A Profa. Dra. Maria da Paz Lima, Pesquisadora do INPA, pela co-orientação e apoio ao longo da realização deste trabalho;

A Profa. Dra. Hellen Emília Menezes de Souza, Coordenadora do Curso de Graduação em Medicina Veterinária das Faculdades Nilton Lins e Professora da Universidade do Estado do Amazonas, pela compreensão e confiança que sempre depositou em mim e pela colaboração e revisão deste trabalho;

Ao Dr. Rodney Ramiro Cavichioli, do Departamento de Zoologia da Universidade Federal do Paraná, pela identificação dos insetos;

Ao Prof. Dr. Marcos Vinícius Bastos Garcia, Pesquisador da EMBRAPA - Amazônia Ocidental – Manaus-Amazonas, pelo companheirismo, compreensão, colaboração, ajuda e valiosa participação na elaboração das análises estatísticas e por ter cedido o programa TOXRAT®;

Ao Partido Comunista do Brasil que me apoiou nas horas mais difíceis, contribuindo para que eu pudesse continuar o curso e alcançar o meu objetivo;

A SUFRAMA pela ajuda financeira para o desenvolvimento do Mestrado em Biotecnologia e Recursos Naturais;

Ao meu amigo, pesquisador do INPA, Carlos Cleomir de Souza Pinheiro pela amizade, ajuda e acolhida no laboratório de farmacologia para a elaboração dos extratos;

Ao mestre José Maria Rodrigues, pesquisador do INPA, pelos ensinamentos e acompanhamento dos bioensaios laboratoriais;

A amiga e aluna de mestrado em Agricultura no Trópico Úmido (INPA), Raquel da Silva Correa, pela preciosa ajuda na coleta das plantas e insetos;

Ao meu amigo Ramyses Hitotuzi, pessoa prestativa, que sem medir esforços colaborou na elaboração dos desenhos gráficos.

## RESUMO

O uso de extratos de plantas tóxicas e medicinais, em grande parte ainda inexplorada na Amazônia, constitui uma alternativa para o controle de insetos fitófagos, devido o baixo custo operacional, facilidade de preparação, utilização e segurança para o meio ambiente. A inexistência de trabalhos que abordem a atividade inseticida de *Palicourea marcgravii* e *Piper aduncum* sobre a cigarrinha (*Aetalion sp.*) motivou a realização desta pesquisa. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a ação inseticida de *P. marcgravii* e *P. aduncum* sobre *Aetalion sp.* Insetos adultos foram coletados na planta *Clitoria fairchildiana*, separados em grupos de dez indivíduos, colocados em recipientes plásticos e expostos à aplicação tópica de extratos aquosos de folhas e raízes das duas plantas. Extratos de folhas e raízes de *P. marcgravii* foram aplicados nas concentrações de 30, 40 e 50 mg/mL e 10, 20 e 30 mg/mL, respectivamente, e para *P. aduncum* os extratos de folhas e raízes foram aplicados nas concentrações de 10, 20 e 30 mg/mL para ambos. Os grupos de controle foram tratados com água destilada. Após os tratamentos, os recipientes foram transferidos para uma casa de vegetação e mantidos sob condições naturais de temperatura, luz e umidade. Os testes tiveram 48 horas de duração e a cada 12 horas a taxa de mortalidade foi avaliada. O experimento se caracterizou num delineamento inteiramente casualizado com três tratamentos em cinco repetições mais o grupo testemunha. Os dados foram avaliados com análise de variância (ANOVA), seguidos pelo teste de comparação múltipla (teste de Dunnett). O método de Probit foi usado para o cálculo dos valores da concentração letal mediana ( $CL_{50}$ ), do tempo letal mediano ( $TL_{50}$ ) e seus intervalos de confiança 95% (IC-95%). O programa TOXRAT® foi utilizado para execução das análises de Probit e construção das curvas de dose-resposta. O extrato de raízes de *P. marcgravii* apresentou maior toxicidade ( $CL_{50} = 12,4$  mg/mL), porém não foi estatisticamente diferente dos extratos de *P. aduncum* (folhas e raízes  $CL_{50} = 20,9$  mg/mL e  $20,2$  mg/mL, respectivamente). Os extratos de *P. aduncum* foram tóxicos em menores tempos de exposição (folhas e raízes  $TL_{50} = 30,2$  e  $22,3$  horas, respectivamente) que os de *P. marcgravii* (folhas e raízes  $TL_{50} = 41,2$  e  $34,9$  horas, respectivamente), embora não tenham sido estatisticamente diferentes. Os extratos de ambas espécies apresentaram ação inseticida sobre *Aetalion sp.*, entretanto, estudos mais detalhados sobre a composição química dos extratos e sua toxicidade sobre organismos não-alvo (benéficos) devem ser feitos antes de recomendá-los como inseticidas.

Palavras chaves: Ação inseticida, plantas tóxicas, controle de pragas, *Aetalion*, cigarrinha.

## ABSTRACT

The use of extracts of toxic and medicinal plants, usually under exploited in Amazonia, is an alternative to control phytophagous insects due to their low costs, easy preparation, use and environmental safety. The lack of papers about the insecticidal activity of *Palicourea marcgravii* and *Piper aduncum* on treehopper (*Aetalion sp.*) was the reason to carry out this research. The aim of this work was to evaluate the insecticidal action of *P. marcgravii* and *P. aduncum* on *Aetalion sp.* Adult insects were collected on the tree *Clitoria fairchildiana*, separated in groups of ten individuals into plastic vessels and exposed to topic application of aqueous extracts of leaves and roots of both plant species. The extracts of leaves and roots of *P. marcgravii* were applied at the concentrations of 30, 40 and 50 mg/mL and 10, 20 and 30 mg/mL, respectively, whereas for *P. aduncum* the extracts were applied at the concentrations of 10, 20 and 30 mg/mL, for both extracts of leaves and roots. The control groups were treated with distilled water. After the treatments, the vessels were transferred to a greenhouse and maintained under natural conditions of temperature, light and humidity. The tests lasted 48 h and every 12 h the mortality rate was evaluated. The experiments were performed in a complete randomized design with three treatments in five replicates more a attest group. The data were evaluated using One-way Analysis of Variance (ANOVA) followed by a multiple comparison method (Dunnnett's test). The Probit method was used for calculation of the median lethal concentration (LC<sub>50</sub>) and the median lethal time (LT<sub>50</sub>) values, and their 95% confidence limits. The computer program TOXRAT® was used for the Probit analysis and to fit the dose-response curves. The extract of roots of *P. marcgravii* was the most toxic (LC<sub>50</sub> = 12,4 mg/mL), but not statistically different from the *P. aduncum* extracts (leaves and roots, LC<sub>50</sub> = 20,9 and 20,9 mg/mL, respectively). The extracts of *P. aduncum* were toxic in shorter exposure time (leaves and roots, LT<sub>50</sub> = 30,2 and 22,3 h, respectively) than the *P. marcgravii* extracts (leaves and roots, LT<sub>50</sub> = 41,2 and 34,9 h, respectively), but not statistically different. The extracts of both species showed insecticidal action on *Aetalion sp.*, however, more detailed studies about the chemical composition of the extracts and their toxicity for non-target (beneficial) organisms should be done before to recommend them as insecticides.

Key words: Insecticidal action, toxic plants, pest control, *Aetalion*, treehopper.

## SUMÁRIO

	Página
<b>RESUMO</b>	
<b>ABSTRACT</b>	
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	4
2.1 Geral.....	4
2.2 Específicos.....	4
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	5
3.1 Aspectos biológicos e importância econômica das pragas.....	5
3.2 Aspectos biológicos e importância econômica de <i>Palicourea marcgravii</i>	7
3.3 Aspectos biológicos e importância econômica de <i>Piper aduncum</i> .....	8
3.4 Aspectos biológicos e importância econômica de <i>Clitoria fairchildiana</i> Howard.....	13
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	15
4.1 Seleção do material botânico.....	15
4.2 Secagem e trituração do material botânico.....	17
4.3 Identificação do material botânico .....	18
4.4 Coleta dos insetos.....	18
4.5 Identificação do inseto.....	19
4.6 Preparação do extrato aquoso liofilizado de folhas de <i>Palicourea marcgravii</i> .....	20
4.7 Preparação do extrato aquoso liofilizado de raízes de <i>Palicourea marcgravii</i> .....	21
4.8 Preparação do extrato aquoso liofilizado de folhas de <i>Piper aduncum</i> .....	22
4.9 Preparação do extrato aquoso liofilizado de raízes de <i>Piper aduncum</i> .....	23

4.10 Aplicação dos extratos aquosos de folhas e raízes de <i>Palicourea marcgravii</i> e <i>Piper aduncum</i> sobre adultos de <i>Aetalion sp.</i> .....	25
4.11 Avaliação inseticida do extrato de folhas e raízes de <i>Palicourea marcgravii</i> e <i>Piper aduncum</i> .....	27
4.12 Teste piloto.....	28
4.13 Análise estatística.....	28
<b>5 RESULTADOS</b> .....	31
5.1 Atividade inseticida do extrato aquoso de folhas de <i>Palicourea marcgravii</i> sobre adultos de <i>Aetalion sp.</i> .....	31
5.2 Atividade inseticida do extrato aquoso de raízes de <i>Palicourea marcgravii</i> sobre adultos de <i>Aetalion sp.</i> .....	36
5.3 Atividade inseticida do extrato aquoso de folhas de <i>Piper aduncum</i> sobre adultos de <i>Aetalion sp.</i> .....	42
5.4 Atividade inseticida do extrato aquoso de raízes de <i>Piper aduncum</i> sobre adultos de <i>Aetalion sp.</i> .....	48
5.5 Toxicidade aguda dos extratos de folhas e raízes de <i>Palicourea marcgravii</i> e de <i>Piper aduncum</i> .....	54
<b>6 DISCUSSÃO</b> .....	56
6.1 Ação inseticida dos extratos aquosos de folhas e raízes de <i>Palicourea marcgravii</i> e <i>Piper aduncum</i> .....	56
6.2 Significância entre os tratamentos e tempos avaliados.....	57
6.3 3 Efeitos das concentrações dos extratos na mortalidade.....	58
6.4 Toxicidade aguda de <i>Palicourea marcgravii</i> e <i>Piper aduncum</i> .....	58
<b>7 CONSIDERAÇÕES/SUGESTÕES</b> .....	60
<b>8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	62

## LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1 - Determinação do peso do material seco (g) do extrato aquoso liofilizado de folhas de <i>Palicourea marcgravii</i> .....	21
Tabela 2 - Determinação do peso do material seco (g) do extrato aquoso liofilizado de raízes de <i>Palicourea marcgravii</i> .....	22
Tabela 3 - Determinação do peso do material seco (g) do extrato aquoso liofilizado de folhas de <i>Piper aduncum</i> .....	23
Tabela 4 - Determinação do peso do material seco (g) do extrato aquoso liofilizado de raízes de <i>Piper aduncum</i> .....	24
Tabela 5 - Mortalidade de <i>Aetalion sp.</i> , nas diferentes concentrações de extrato aquoso de folhas de <i>Palicourea marcgravii</i> , nos intervalos de tempo avaliados...	31
Tabela 6 - Valores médios da mortalidade de <i>Aetalion sp.</i> nas diferentes concentrações de extrato aquoso de folhas <i>Palicourea marcgravii</i> , no intervalo de tempo de 48 horas.....	32
Tabela 7 - Mortalidade de <i>Aetalion sp.</i> , na concentração de 50 mg/mL de extrato aquoso de folhas de <i>Palicourea marcgravii</i> , nos intervalos de tempo avaliados.....	34
Tabela 8 - Valores médios da mortalidade de <i>Aetalion sp.</i> , na concentração de 50 mg/mL de extrato aquoso de folhas de <i>Palicourea marcgravii</i> , nos diferentes intervalos de tempo.....	35
Tabela 9 - Mortalidade de <i>Aetalion sp.</i> , nas diferentes concentrações de extrato aquoso de raízes de <i>Palicourea marcgravii</i> nos intervalos de tempo avaliados.....	37
Tabela 10 - Valores médios da mortalidade de <i>Aetalion sp.</i> nas diferentes concentrações de extrato aquoso de raízes <i>Palicourea marcgravii</i> , no intervalo de tempo de 48 horas.....	38
Tabela 11 - Mortalidade de <i>Aetalion sp.</i> , na concentração de 30 mg/mL de extrato aquoso de raízes de <i>Palicourea marcgravii</i> , nos intervalos de tempo de avaliados.....	40
Tabela 12 - Valores médios da mortalidade de <i>Aetalion sp.</i> , na concentração de 30 mg/mL de extrato aquoso de raízes <i>Palicourea marcgravii</i> , nos diferentes intervalos de tempo.....	41

Tabela 13 - Mortalidade de <i>Aetalion sp.</i> , nas diferentes concentrações de extrato aquoso de folhas de <i>Piper aduncum</i> , nos intervalos de tempo avaliados...	43
Tabela 14 - Valores médios da mortalidade de <i>Aetalion sp.</i> , nas diferentes concentrações de extrato aquoso de folhas de <i>Piper aduncum</i> , no intervalo de tempo de 48 horas.....	44
Tabela 15 - Mortalidade de <i>Aetalion sp.</i> , na concentração de 30 mg/mL de extrato aquoso de folhas de <i>Piper aduncum</i> , nos intervalos de tempo avaliados...	46
Tabela 16 - Valores médios da mortalidade de <i>Aetalion sp.</i> , na concentração de 30 mg/mL de extrato aquoso de folhas de <i>Piper aduncum</i> , nos diferentes intervalos de tempo.....	47
Tabela 17 - Mortalidade de <i>Aetalion sp.</i> , nas diferentes concentrações de extrato aquoso de raízes de <i>Piper aduncum</i> nos intervalos de tempo avaliados....	49
Tabela 18 - Valores médios da mortalidade de <i>Aetalion sp.</i> , nas diferentes concentrações de extrato aquoso de raízes de <i>Piper aduncum</i> , no intervalo de tempo de 48 horas.....	50
Tabela 19 - Mortalidade de <i>Aetalion sp.</i> , na concentração de 30 mg/mL de extrato aquoso de raízes de <i>Piper aduncum</i> , nos intervalos de tempo de avaliados.....	52
Tabela 20 - Valores médios da mortalidade de <i>Aetalion sp.</i> , na concentração de 30 mg/mL de extrato aquoso de raízes de <i>Piper aduncum</i> , nos diferentes intervalos de tempo.....	53
Tabela 21 – Toxicidade aguda de extratos vegetais para adultos de <i>Aetalion sp.</i> (concentração letal mediana – CL <sub>50</sub> ).....	55
Tabela 22 - Toxicidade aguda de extratos vegetais para adultos de <i>Aetalion sp.</i> (tempo letal mediano – TL <sub>50</sub> ).....	55

## LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 - Ramo de <i>Palicourea marcgravii</i> com inflorescência.....	16
Figura 2 - <i>Palicourea marcgravii</i> em beira de mata.....	16
Figura 3 – Ramos, folhas e inflorescências de <i>Piper aduncum</i> .....	17
Figura 4 - Ramos de <i>Clitoria fairchildiana</i> parasitados por <i>Aetalion sp.</i> .....	19
Figura 5 - <i>Aetalion sp.</i> .....	20
Figura 6 - Preparação das amostras para aplicação dos extratos.....	26
Figura 7 – Experimento na casa de vegetação do INPA.....	27
Figura 8 - Percentual de mortalidade de <i>Aetalion sp.</i> em relação às diferentes concentrações de extrato aquoso de folhas de <i>Palicourea marcgravii</i> .....	32
Figura 9 - Determinação da CL <sub>50</sub> do extrato aquoso de folhas de <i>Palicourea marcgravii</i> sobre <i>Aetalion sp.</i> , após correção de Abbott.....	33
Figura 10 - Percentual de mortalidade de <i>Aetalion sp.</i> , em relação aos intervalos de tempo observados, na concentração de 50 mg/mL de extrato aquoso de folhas de <i>Palicourea marcgravii</i> .....	34
Figura 11 – Percentual de mortalidade de mortalidade de <i>Aetalion sp.</i> , submetido à concentração de 50 mg/mL do extrato aquoso de folhas de <i>Palicourea marcgravii</i> em função do tempo.....	36
Figura 12 - Percentual de mortalidade de <i>Aetalion sp.</i> em relação às concentrações de extrato aquoso de raízes de <i>Palicourea marcgravii</i> .....	37
Figura 13 - Determinação da CL <sub>50</sub> do extrato aquoso de raízes de <i>Palicourea marcgravii</i> sobre <i>Aetalion sp.</i> , após correção de Abbott.....	39
Figura 14 - Percentual de mortalidade de <i>Aetalion sp.</i> , em relação aos intervalos de tempo observados, na concentração de 30 mg/mL de extrato aquoso de raízes de <i>Palicourea marcgravii</i> .....	40

Figura 15 – Percentual de mortalidade de <i>Aetalion sp.</i> , submetido à concentração de 30 mg/mL do extrato aquoso de raízes de <i>Palicourea marcgravii</i> em função do tempo.....	42
Figura 16 - Percentual de mortalidade dos insetos em relação às concentrações de extrato aquoso de folhas de <i>Piper aduncum</i> .....	43
Figura 17 - Determinação da CL <sub>50</sub> do extrato aquoso de folhas de <i>Piper aduncum</i> sobre <i>Aetalion sp.</i> , após correção de Abbott.....	45
Figura 18 - Percentual de mortalidade de <i>Aetalion sp.</i> em relação aos intervalos de tempo observados na concentração de 30 mg/mL de extrato aquoso de folhas de <i>Piper aduncum</i> .....	46
Figura 19 – Percentual de mortalidade de <i>Aetalion sp.</i> , submetido à concentração de 30 mg/mL do extrato aquoso de folhas de <i>Piper aduncum</i> em função do tempo.....	48
Figura 20 - Percentual de mortalidade dos insetos em relação às concentrações de extrato aquoso de raízes de <i>Piper aduncum</i> .....	49
Figura 21 - Determinação da CL <sub>50</sub> do extrato aquoso de raízes de <i>Piper aduncum</i> sobre <i>Aetalion sp.</i> , após correção de Abbott.....	51
Figura 22 - Percentual de mortalidade de <i>Aetalion sp.</i> em relação aos intervalos de tempo observados na concentração de 30 mg/mL de extrato aquoso de raízes de <i>Piper aduncum</i> .....	52
Figura 23 – Percentual de mortalidade de <i>Aetalion sp.</i> , submetido à concentração de 30 mg/mL do extrato aquoso de raízes de <i>Piper aduncum</i> em função do tempo.....	54

## **1 INTRODUÇÃO**

Quando a agricultura era praticada em uma escala reduzida, o papel das pragas não era significativo. Contudo, com o avanço tecnológico e, conseqüentemente, o desmatamento acelerado, as fronteiras agrícolas tomaram posição de destaque (NODA, 2002), o que causou o surgimento das pragas em potencial e de expressão econômica.

As primeiras medidas de controle de pragas surgiram de forma simples e rudimentar, baseadas nas observações e no uso dos meios disponíveis nas propriedades (ABREU JUNIOR, 1998). Posteriormente, muitas destas medidas foram testadas de modo empírico.

Com o advento dos agrotóxicos (inseticidas, fungicidas, bactericidas e outros) na década de quarenta com o uso do DDT, as pragas tornaram-se mais resistentes (PIMENTEL et al., 1992). Contudo, medida sanitária alternativa em benefício do homem e do próprio ambiente tem sido uma das preocupações da sociedade moderna.

Para o controle das pragas, medidas alternativas têm sido testadas (MATOS, 1970; SANTOS et al., 1988; PENTEADO, 2000; RIBEIRO et al., 2000) visando o uso de plantas. Muitas espécies vegetais, embora disponíveis na natureza, escapam ao ataque dos insetos. Vários são os fatores sugeridos, podendo-se considerar desde os compostos secundários tóxicos até o teor de umidade foliar.

O conhecimento de vegetais tóxicos aos insetos vem despertando atenção e interesse por parte de pesquisadores para desenvolver meios de controle de pragas prejudiciais às culturas (GONÇALVES, 1961; MARICONI, 1970; CRUZ, 1979).

Várias plantas tóxicas têm se destacado como eficientes no manejo e controle de insetos pragas. Como exemplo cita-se o uso de extratos de timbó (*Derris sp.*) em formigas cortadeiras (RIBEIRO et al., 2000). Essa planta se destaca pela sua toxidez devido ao princípio ativo da rotenona encontrada no caule e na raiz.

Outras plantas de importância toxicológica e econômica têm se destacado no Amazonas. Como exemplo, a espécie *Palicourea marcgravii*, importante pela sua atuação toxicológica em bovinos. Trata-se de uma planta de distribuição em terra firme e com características bem definidas. Essa planta foi testada via oral em animais de sangue quente e comprovada a sua eficiência (TOKARNIA et al., 1979), entretanto, ainda não foi testada em animais invertebrados.

Uma outra planta de interesse econômico para a Amazônia e que pode ser usada no controle de pragas é a *Piper aducum*, a qual contém um óleo essencial chamado dilapiol, cujo efeito inseticida foi descrito por Maia et al. (1988). Vários pesquisadores têm demonstrado

que esta planta, além da importância medicinal, também apresenta atividade inseticida, bactericida e fungicida (CORREA; PENNA, 1984; MAIA et al., 1998; VIEIRA, 1991; VERAS; YUYAMA, 2000; MORANDIM et al., 2003; FIGUEIRA et al., 2003; BASTOS et al., 2003).

Em programas de manejo integrado de insetos pragas, a utilização de plantas tóxicas e medicinais pode ser considerada um dos componentes chaves para a agricultura familiar e para o desenvolvimento sustentável. As plantas têm, nos últimos anos, despertado maior interesse por representarem um meio de reduzir o uso de produtos químicos sintéticos.

A ampla diversidade biológica, em grande parte ainda inexplorada, principalmente de regiões como a Amazônia, possibilita uma fonte para a pesquisa de novos produtos que poderão vir a substituir os defensivos químicos. Assim, o uso de extratos de *Palicourea marcgravii* e *Piper aduncum* poderá ser um novo método de controle contra os insetos fitófagos e, conseqüentemente, viabilizará custos operacionais, como também produzirá alimentos mais seguros e protegerá o meio ambiente dos efeitos diversos causados pelos defensivos agrícolas convencionais, tornando os pequenos agricultores da região amazônica independentes da aquisição desses produtos.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Geral**

Caracterizar a ação inseticida de *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) e *Piper aduncum* (Piperaceae) sobre cigarrinha (*Aetalion sp.*), praga de importância econômica na Amazônia.

### **2.2 Específicos**

- Verificar a ação inseticida dos extratos de folhas e raízes de *Palicourea marcgravii* sobre cigarrinha (*Aetalion sp.*), em condições experimentais;
- Verificar a ação inseticida dos extratos de folhas e raízes de *Piper aduncum* sobre cigarrinha (*Aetalion sp.*), em condições experimentais;
- Avaliar a CL<sub>50</sub> dos extratos de *Palicourea marcgravii* e *Piper aduncum*.

### **3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

#### **3.1 Aspectos biológicos e importância econômica das pragas**

Segundo Zucchi et al. (1992) estima-se que aproximadamente 90.000 espécies de insetos são consideradas pragas no mundo. Elas provocam grandes prejuízos as principais culturas, podendo proporcionar perdas na produção que variam de 2 a 28%. Entretanto, as pragas das culturas no Brasil acarretam prejuízos na produção com variáveis de 7 a 79%. Os insetos atacam a maioria das plantas, inclusive aquelas cultivadas pelo homem.

Dentre esses insetos, encontram-se os sugadores, os quais causam vários danos às plantas, o que pode ser observado nas partes do tecido vegetal. Estes insetos sugam a seiva dos caules, raízes, ramos, folhas e frutos, ocasionando o definhamento da planta, além de injetarem substâncias tóxicas durante a sucção, comprometendo o desenvolvimento normal dos tecidos e a produção. Além desses danos físicos ao vegetal, outros prejuízos econômicos e ambientais podem ser causados, os quais são comparáveis aos prejuízos indiretos produzidos pelas pragas (GALLO et al., 1988).

Segundo Borrer e Delong (1988), entre esses insetos sugadores, encontra-se o *Aetalion* sp, pertencente à família Aetalionidae, sendo a espécie *Aetalion reticulatum* a “cigarrinha dos pomares” a mais conhecida.

A cigarrinha é um inseto polífono, amplamente distribuído em todo país, que vive em colônias numerosas nas extremidades dos ramos jovens e delgados. Devido o seu hábito alimentar de sucção da seiva da planta, pode ocasionar danos relevantes à mesma pela ocorrência de grande infestação de ninfas e adultos. Importantes, também, são os danos indiretos causados à planta por esse inseto, que durante a sucção introduzem suas peças bucais no tecido vegetal causando ferimentos que irão favorecer a entrada de organismos patogênicos (VANETTI, 1983).

Esse inseto, através das suas picadas, provoca a formação da fumagina e atrai formigas devido a substâncias açucaradas que expelem (GALLO et al., 1970). Segundo Vanetti (1983), *Aetalion reticulatum* é hospedeiro dos citros em geral, do abacateiro (*Persea americana*), ameixeira (*Prunus salicina*), caqui ( *Diospyros* sp.), jaqueira (*Artocarpus heterophyllus*), mangueira (*Mangifera indica*), amoreira (*Morus celsa*), cafeeiro (*Coffea arabica*), dália (*Dahlia pinnata*), algodoeiro (*Gossypium* sp.), jacarandá (*Jacaranda mimosifolia*) e plátano (*Platanus hybrida*).

Produtos fosforados podem ser utilizados para seu controle (ALVES et al., 1992).

### 3.2 Aspectos biológicos e importância econômica de *Palicourea marcgravii*

*Palicourea marcgravii* St. Hil. pertencente à família Rubiaceae é conhecida pelos nomes populares de cafezinho, café-bravo, erva-do-café, erva-de-rato, roxa, roxona e vick (HOEHNE, 1932; TOKARNIA et al., 1979 ).

Arbusto lenhoso, nodoso e quebradiço, podendo atingir até 4m de altura. As folhas são opostas, oblongo-lanceoladas, cartáceas; quando jovem às vezes arroxeadas no dorso; nervação peninérvea. Tanto o caule como as folhas exalam, quando esmagados, nítido odor de salicilato de metila, cheiro característico do Balsamo de Bengué. Os frutos são pequenas drupas arredondadas costadas, 2-loculares, inicialmente avermelhadas passando a roxo-escuras, quase pretas na maturação (SAINT-HILAIRE, 1824 apud TOKARNIA et al., 1979).

É uma planta severamente tóxica com ampla distribuição geográfica no Brasil, exceto no extremo sul e sertão do nordeste. Ocorre somente na terra firme e, devido à necessidade de sombreamento, cresce apenas e, principalmente, nas bordas de floresta, em capoeiras e ainda em pastos recém formados (HOEHNE, 1932; TOKARNIA et al., 1979). Foi considerada por Tokarnia et al. (1979) como a planta tóxica mais importante da Amazônia pela sua toxicidade aos herbívoros.

Foi constatado experimentalmente que, em condições naturais, a intoxicação por *Palicourea marcgravii* se dá por via oral a bovinos, caprinos, coelhos, cobaias, ratos e eqüinos. Contudo, esse último é menos sensível a erva-de-rato (PACHECO; CARNEIRO, 1932; TOKARNIA; DOBEREINER, 1978; TOKARNIA et al., 1979).

A intoxicação por *Palicourea marcgravii* em bovinos, geralmente, ocorre quando os animais adentram nas matas ou capoeiras onde existe a planta, ou quando eles são colocados em pastos recém-formados, em áreas antes ocupadas por mata. A planta possui boa palatabilidade e os bovinos a ingerem em qualquer época do ano, mesmo com forrageio abundante. A dose letal para os bovinos é em torno de 1 grama das folhas frescas por quilograma de peso do animal (TOKARNIA et al., 1979). Foi constatado, ainda, que, mesmo dissecada, a planta mantém a sua ação tóxica (DOBEREINER; TOKARNIA, 1959).

A evolução da intoxicação por *Palicourea marcgravii*, após a ingestão da dose letal em bovinos e outros animais, é, geralmente, superaguda, conhecida como síndrome da morte súbita. Esses sintomas consistem em queda repentina do animal no chão, sobrevivendo a morte dentro de poucos minutos. Em alguns casos o animal mostra desequilíbrio, tremores musculares, respiração ofegante (TOKARNIA; DOBEREINER, 1978; TOKARNIA et al., 1979).

Quanto ao princípio ativo de *Palicourea marcgravii*, os autores atribuem a sua toxidez à presença do ácido monofluoroacético, substância que interfere no metabolismo energético das células, isto é, no ciclo de Krebs (TOKARNIA et al., 1979), levando o animal à morte.

### **3.3 Aspectos biológicos e importância econômica de *Piper aduncum***

*Piper aduncum* é uma planta conhecida vulgarmente, como: pimenta-de-macaco, pimenta-longa, aperta-ruão, tapa-buraco, pimenta-de-fruto-ganchoso (MAIA et al., 2001), e, ainda, como jaguarandi (YUNCKER, 1975).

Trata-se de um arbusto que varia de 2 a 7 metros de altura; caule nitidamente nodoso, com folhas membranáceas ou cartáceas, elíptico-ovadas ou elíptico-lanceoladas, o ápice curtamente acuminado e a base assimétrica, arredondada ou cordiforme, opaca em ambas as faces, sendo a inferior finamente pubescente; nervação com pêlos quase adpressos. Inflorescência em espigas alongadas, com flores minúsculas, aclamídeas ou nuas, e frutos drupas obpiramidais amareladas, com minúscula semente marrom (ALBUQUERQUE, 1980)

Figura 3.

Segundo Maia et al. (2001), é uma planta muito comum, com ocorrência em áreas abertas do tipo savana e floresta secundária, em solo argiloso e areno-argiloso. É considerada uma planta invasora emergente nas rodovias recém-abertas em áreas de floresta de terra firme, tendo ampla distribuição no norte e nordeste do Brasil. Yuncker (1975) afirma que essa planta se distribui através da América do Sul e em todo Brasil, e acredita que a mesma pode ser encontrada também em toda a Amazônia brasileira, bem como no Peru e na Bolívia.

A partir das folhas e ramos finos de *Piper aduncum* pode ser extraído o óleo essencial dilapiol, considerado por Maia et al. (1998) como sendo um inseticida e, também, uma substância sinérgica de diversos inseticidas naturais.

O dilapiol foi o maior componente encontrado no óleo essencial extraído de folhas e ramos finos de oito amostras da planta *Piper aduncum* coletadas em diferentes localidades da região amazônica. Dos diversos locais onde a planta foi coletada, a que apresentou maior rendimento e concentração de óleo foi a coletada em Manaus-Amazonas, com 3,4% e 91,1%, respectivamente (MAIA et al., 2001).

Oliveira et al. (2004) isolaram os fitoconstituintes do produto dermodilapiol, a partir das frações hexânica, clorofórmica, butanólica e hidroalcoólica, empregando uma combinação de diferentes métodos cromatográficos. Esse processo permitiu identificar os componentes majoritários presentes no produto como sendo o fenilpropanóide, dilapiol e o derivado de ácido benzóico prenilado, 4-hidroxi-3-(3-metil-2-butenil) benzoato de metila.

Bhuiyan et al. (2001) avaliaram os efeitos sinérgicos do dilapiol com diversos inseticidas botânicos e extratos de plantas em larvas de quarto ínstar de *Spodoptera litura*. Os resultados apresentaram mortalidade significativa das larvas.

Dentre os óleos essenciais que compõem as espécies de *Piper*, Morandim et al. (2003) relatam que dos diversos órgãos da *Piper aduncum* pode-se obter diferentes metabólitos. O componente majoritário encontrado nas folhas e nos frutos foi o linalol, o qual apresentou alto potencial antifúngico.

Estudos químicos com a espécie *Piper aduncum* revelaram a presença de monoterpenos e sesquiterpenos, cromenes (B-pirene, myrcene, cineole, copaene, caryophyllene, eupathoryocromene), ácido benzóico, flavonóides e dihydrochalcone (MOREIRA et al., 1998; ORJALA et al., 1993; BURKE; NAIR, 1986). Algumas destas substâncias apresentaram atividade antifúngica, antibactericida e citotóxica (OKUNADE et al., 1997; ORJALA et al., 1994)

O gênero *Piper* está bem representado na região amazônica, nos seus vários ecossistemas, e a atividade biológica de suas espécies é bastante conhecida e muito utilizada na medicina popular no tratamento de várias doenças (BASTOS et al., 2003).

Na medicina popular, a planta é usada para proporcionar o estreitamento vaginal, a fim de evitar o prolapso do útero. É ainda usada como diurética, antiblenorrágica, antiinflamatória, antidiarréica, no tratamento de cistite, pielite e feridas crônicas (VIEIRA, 1991; MAIA et al., 1998).

Suas raízes são usadas, internamente, para a desobstrução do fígado e como estimulante; externamente são usadas no combate a erisipela (CORRÊA, 1984). Entretanto, Lainetti e Brito (1980) afirmam que as raízes dessa planta são tóxicas.

Corrêa (1984), pesquisando sobre o fruto de *Piper aduncum*, verificou que ele é acre picante e é utilizado, internamente, como incisivo (anti-blenorrágico e estimulante digestivo), e adequado para o tratamento de úlceras crônicas quando usado externamente.

Na tentativa de controlar a vassoura de bruxa, doença parasitária do cacauero (*Theobroma cacao*), Maia et al. (1998) testaram o óleo essencial de *Piper aduncum* contra o fungo *Crinipellis pernicioso*. As concentrações utilizadas variaram de 50 a 100 ppm. Estes autores verificaram que houve 100% de inibição sobre o crescimento micelial e germinação desse fungo.

Maia et al. (1998) realizaram pesquisas aplicando extrato de folhas de *Piper aduncum*, extraído com éter de petróleo bruto, sobre *Biomphalaria glabrata*, conhecido como vetor de esquistossomíase. Verificou-se que houve forte atividade moluscicida.

Para o controle de pragas, Veras e Yuyama (2000) realizaram estudos com extrato aquoso de folhas de *Piper aduncum*, e os resultados obtidos indicaram o extrato como uma

possível alternativa para o controle mais efetivo e de maior valor agregado para o fungo *Crinipellis pernicioso*, agente da vassoura-de-bruxa do cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum*).

Os óleos essenciais de caule, folha e frutos das espécies *Piper aduncum*, *Piper arboreum* e *Piper tuberculatum* foram testados em cinco tipos de fungos, sendo que as três espécies mostraram-se ativas frente ao *Cladosporium sphaerospermum*. Nesse fungo, o óleo dos frutos de *Piper aduncum* apresentou atividade potencializada (MORANDIM et al., 2003).

No desenvolvimento de alternativas de controle de doenças de plantas, foi avaliado o efeito antagônico do princípio ativo de *Piper aduncum* no crescimento da bactéria *Ralstonia solanacearum* raças 1 e 2 visando desenvolver estratégias para o controle do moko da bananeira e murcha bacteriana das Solanáceas. O óleo essencial e o extrato etanólico de *Piper aduncum* inibiram o crescimento das estirpes. A atividade antagônica do óleo essencial de *Piper aduncum* apresentou maior eficiência do que a do extrato etanólico, provavelmente, pela maior concentração de dilapiol presente no óleo, que tem cerca de 92 a 98%. Os resultados obtidos no referido trabalho indicaram que tanto o óleo essencial como o extrato de *Piper aduncum* apresentam potencial para o controle das raças 1 e 2 de *Ralstonia Solanacearum* (VERAS; YUYAMA, 2001).

A atividade antimicrobiana de *Piper aduncum*, *Piper marginatum* e *Piper regnelli*, foi avaliada por Figueira et al. (2003) por meio de ensaios bioautográficos e determinação da concentração mínima inibitória (MIC). Os resultados mostraram que os óleos essenciais das três espécies foram eficientes no controle de diferentes bactérias; o óleo de *Piper marginatum*

inibiu o crescimento de *Salmonella choleraesuis* e o extrato hidroalcoólico de *Piper aduncum* e *Piper marginatum* foi eficaz para *Staphylococcus aureus* e *Bacillus subtilis*.

Com o objetivo de avaliar a atividade bactericida dos óleos essenciais de folhas e galhos de espécies do gênero *Piper*, foram estudadas oito espécies de plantas coletadas nos municípios de Marituba e Medicilândia, no Estado do Pará, dentre elas a *Piper aduncum*. Todos os oito óleos essenciais apresentaram atividade bactericida (halos de inibição entre 0,8 a 20 mm), destacando-se os óleos de *Piper enckea* e *Piper aduncum*, que inibiram o crescimento de todas as bactérias testadas apresentando halos de inibição entre 16 e 20 mm (BASTOS et al., 2003).

#### **3.4 Aspectos biológicos e importância econômica de *Clitoria fairchildiana* Howard**

Pertencente à família das Leguminosas e subfamília Papilionoideae, *Clitoria fairchildiana* é uma árvore de crescimento rápido, muito ramosa, com copa ampla, inflorescências paniculadas, racemosas pubescentes nas partes jovens. Tem o nome popular de sombreiro devido produzir boa sombra (CORRÊA; PENNA, 1978).

Regionalmente conhecida como palheteira ou paliteira, faveira, sombreiro, sobreiro e sombra-da-vaca. É uma árvore procedente de regiões tropicais da América do Sul e muito comum nos Estados do Amazonas, Roraima, Pará, Maranhão e Goiás. De crescimento rápido, e apresenta copa ampla, sendo utilizada na arborização de cidades e para sombreamento de culturas como café e cacau. Apresenta raízes que, quando jovens, possuem extraordinária quantidade de nódulos bacterianos, contribuindo para o enriquecimento do solo em nitrogênio. Suas sementes podem ser usadas como alimento, não são tóxicas e produzem óleo

comestível, semelhante ao óleo de oliva, com cheiro e sabor agradáveis, rico em vitamina A e provitamina (PRANCE; SILVA, 1975)

Rosário et al. (2004), desenvolvendo um novo sistema agroflorestal, utilizaram *Clitoria fairchildiana*, consorciada ao plantio de abacaxi e de outras culturas, para ocupar espaço no solo, evitando, assim, a invasão de plantas daninhas, e, também, para aumentar o potencial de produção de biomassa mantendo a fertilidade do solo. *Clitoria fairchildiana* mostrou grande eficiência no controle de plantas invasoras e suas sementes apresentaram um excelente poder de germinação e desenvolvimento.

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

Os experimentos e a verificação da ação inseticida dos extratos de folhas e raízes de *Palicourea marcgravii* e *Piper aduncum* foram realizados no Laboratório de Entomologia Agrícola e em Casa de Vegetação da Coordenação de Pesquisas em Ciências Agronômicas (CPCA); no Laboratório de Farmacologia da Coordenação de Pesquisas de Produtos Naturais (CPPN), no Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Manaus-AM, Brasil, no período de junho a outubro de 2004.

### **4.1 Seleção do material botânico**

As amostras de *Palicourea marcgravii* (Figuras 1 e 2) foram obtidas na Fazenda Experimental da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), localizada na estrada BR-174, Km 37. A identificação do material foi feita com base nos caracteres morfológicos, comparando-se o material com outros já identificados no herbário do INPA. Para separar as folhas, utilizou-se tesoura de poda e, para as raízes, um facão. O material obtido no campo foi acondicionado em sacos plásticos e transportado para o Laboratório de Farmacologia do INPA.



Figura 1- Ramo de *P. marcgravii* com inflorescência.  
Foto: SILVA, W.C., 2004.



Figura 2 - *P. marcgravii* em beira de mata.  
Foto: SILVA, W.C., 2004.

As amostras de *Piper aduncum* (Figura 3) foram obtidas na estrada AM-010, km 24, na margem da estrada, do lado esquerdo, sentido Manaus – Rio Preto da Eva e identificada de forma idêntica a anterior. As folhas foram coletadas utilizando-se tesoura de poda e, para a retirada das raízes, foram utilizados enxada e terçado. O material foi acondicionado em sacos plásticos e transportado para o INPA.



Figura 3 – Ramos, folhas e inflorescências de *Piper aduncum*. Foto: SILVA, W.C., 2004.

#### 4.2 Secagem e trituração do material botânico

As folhas de *Palicourea marcgravii* e *Piper aduncum* foram acondicionadas em sacos de papel e colocadas em uma estufa, à temperatura de 37 °C, durante sete dias. Após esse período de secagem, foram trituradas e acondicionadas em sacos plásticos de 3kg, sendo, posteriormente, armazenadas em geladeira à temperatura de aproximadamente 10° C.

As raízes de *Palicourea marcgravii* e *Piper aduncum* foram lavadas para retirada da terra e colocadas para secar em casa de vegetação à temperatura ambiente, variando de 34 °C a 40 °C, durante sete dias. Após esse período, as raízes foram cortadas em pedaços de tamanho de 5 cm x 1 cm e colocadas novamente para secar em casa de vegetação por mais 24 horas. Após a segunda secagem, foram trituradas e acondicionadas em sacos plásticos de 3kg e, posteriormente, armazenadas em geladeira à temperatura de 10° C aproximadamente.

### 4.3 Identificação do material botânico

Parte do material vegetal coletado de *Palicourea marcgravii* e *Piper aduncum* e amostras de *Clitoria fairchildiana*, planta hospedeira do inseto *Aetalion sp.*, foram prensadas para a confecção das exsiccatas e levadas ao herbário do INPA para identificação. Em seguida as exsiccatas com amostras de *Palicourea marcgravii* e a *Clitoria fairchildiana* foram incorporadas ao acervo do INPA sob os números 215076 e 214933, respectivamente; a exsicata, com amostra de *Piper aduncum*, foi comparada com o material existente no herbário do INPA de números 172186 e 214711, mas não foi incorporada ao acervo.

### 4.4 Coleta dos insetos

Adultos de *Aetalion sp.* (Figura 4) foram coletados na planta *Clitoria fairchildiana*, localizada na Av. Efigênio Sales, bairro do Aleixo, no município de Manaus-AM. Tesoura de poda foi utilizada para o corte das folhas e dos ramos, os quais foram colocados em sacos plásticos para transportá-los até o Laboratório de Entomologia Agrícola do INPA, onde foram iniciados os testes.



Figura 4 - Ramos de *Clitoria fairchildiana* parasitados por *Aetalion sp.* Foto: SILVA, W.C., 2004.

#### 4.5 Identificação do inseto

O inseto foi identificado pelo Dr. Rodney Ramiro Cavichioli, do Departamento de Zoologia, setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, como: inseto de ordem Hemiptera, subordem Auchenorrhyncha, família Aetalionidae, gênero *Aetalion*, espécie não identificada (Figura 5).



Figura 5 - *Aetalion sp.* Foto: SILVA, W.C., 2004.

#### **4.6 Preparação do extrato aquoso liofilizado de folhas de *Palicourea marcgravii***

Em um frasco mariotte de 4,0 litros, contendo 3,0 litros de água destilada, foram acondicionados 383,6 g de folhas trituradas de *Palicourea marcgravii* e deixados em processo de extração por maceração durante 72 horas. Após esse período, o extrato foi filtrado e colocado em um frasco de 3,0 litros.

Para o processo de liofilização, cinco recipientes de vidro, variando de 7cm a 10cm de diâmetro e 10cm a 15cm de altura, foram inicialmente tarados e, em seguida, o extrato filtrado foi distribuído nos cinco recipientes para obtenção do peso de matéria seca, conforme ilustra a Tabela 1.

Os recipientes, contendo os extratos, foram colocados no liofilizador para desidratação, onde permaneceram por cinco dias. Após o processo de liofilização, os

recipientes foram pesados e a diferença entre o peso do recipiente com o extrato liofilizado e o peso do recipiente vazio, obteve-se o peso do material seco extraído (Tabela 1).

Tabela 1 - Determinação do peso do material seco (g) do extrato aquoso liofilizado de folhas de *Palicourea marcgravii*

RECIPIENTE	RECIPIENTE VAZIO (g)	RECIPIENTE COM EXTRATO LÍQUIDO (g)	RECIPIENTE COM EXTRATO LIOFILIZADO (g)	PESO SECO DO MATERIAL EXTRAÍDO (g)
1	391,2	633,3	399,0	7,8
2	300,1	482,0	306,2	6,1
3	296,0	494,4	302,7	6,7
4	278,9	403,6	281,9	3,0
5	270,5	460,4	276,6	6,1

#### 4.7 Preparação do extrato aquoso liofilizado de raízes de *Palicourea marcgravii*

Em um frasco mariotte de 4,0 litros, foram colocadas 880,9 g de raízes trituradas de *Palicourea marcgravii* em 3,5 litros de água destilada, para extração, por maceração, do extrato aquoso, durante 72 horas. Após esse período, o extrato foi filtrado e colocado em um frasco de 3,0 litros.

Para o processo de liofilização, cinco recipientes de vidro, variando de 7cm a 10cm de diâmetro e 10cm a 15cm de altura, foram inicialmente tarados e, em seguida, o extrato filtrado

foi distribuído nos cinco recipientes para obtenção do peso do material seco, conforme ilustra a Tabela 2.

Os recipientes, contendo os extratos, foram colocados no liofilizador para desidratação, onde permaneceram por cinco dias. Após o processo de liofilização, os recipientes foram pesados e a diferença entre o peso do recipiente com extrato liofilizado e o peso do recipiente vazio, obteve-se o peso do material seco extraído (Tabela 2).

Tabela 2 - Determinação do peso do material seco (g) do extrato aquoso liofilizado de raízes de *Palicourea marcgravii*

RECIPIENTE	RECIPIENTE VAZIO (g)	RECIPIENTE COM EXTRATO LÍQUIDO (g)	RECIPIENTE COM EXTRATO LIOFILIZADO (g)	PESO SECO DO MATERIAL EXTRAÍDO (g)
1	293,4	419,7	299,2	5,8
2	407,4	542,4	414,3	6,9
3	310,0	415,2	315,2	5,2
4	299,3	424,5	305,3	6,0
5	290,2	405,2	296,0	5,8

#### 4.8 Preparação do extrato aquoso liofilizado de folhas de *Piper aduncum*

Em um frasco mariotte de 4,0 litros, contendo 3,5 litros de água destilada, colocou-se 654,1 g de folhas trituradas de *Piper aduncum* para extração, por maceração, durante 72 horas, do extrato aquoso. Após esse período, o extrato foi filtrado e colocado em um frasco de 3,0 litros.

Para o processo de liofilização, cinco recipientes de vidro, variando de 7cm a 10cm de diâmetro e 10cm a 15cm de altura, foram inicialmente tarados e, em seguida, o extrato filtrado foi distribuído nos cinco recipientes para obtenção do peso do material seco, conforme ilustra a Tabela 3.

Os recipientes, contendo os extratos, foram colocados no liofilizador para desidratação, onde permaneceram por cinco dias. Após o processo de liofilização, os recipientes foram pesados e a diferença entre o peso do recipiente com o extrato liofilizado e o peso do recipiente vazio, obteve-se o peso do material seco extraído (Tabela 3).

Tabela 3 - Determinação do peso do material seco (g) do extrato aquoso liofilizado de folhas de *Piper aduncum*

RECIPIENTE	RECIPIENTE VAZIO (g)	RECIPIENTE COM EXTRATO LÍQUIDO (g)	RECIPIENTE COM EXTRATO LIOFILIZADO (g)	PESO SECO DO MATERIAL EXTRAÍDO (g)
1	298,8	522,0	310,0	11,2
2	273,6	530,6	285,7	12,1
3	314,0	534,2	324,7	10,7
4	288,2	499,2	298,7	10,5
5	300,7	506,4	308,8	8,1

#### 4.9 Preparação do extrato aquoso liofilizado de raízes de *Piper aduncum*

Em um frasco mariotte de 4,0 litros, contendo 3,0 litros de água destilada, foram acondicionados 705,8 g de raízes trituradas de *Piper aduncum* e deixados em processo de

extração por maceração durante 72 horas. Após esse período, o extrato foi filtrado e colocado em um frasco de 3,0 litros.

Para o processo de liofilização, cinco recipientes de vidro, variando de 7cm a 10cm de diâmetro e 10cm a 15cm de altura, foram inicialmente tarados e, em seguida, o extrato filtrado foi distribuído nos cinco recipientes para obtenção do peso do material seco, conforme ilustra a Tabela 4.

Os recipientes, contendo os extratos, foram colocados no liofilizador para desidratação, onde permaneceram por cinco dias. Após o processo de liofilização, os recipientes foram pesados e a diferença entre o peso do recipiente com o extrato liofilizado e o peso do recipiente vazio, obteve-se o peso do material seco extraído (Tabela 4).

Tabela 4 - Determinação do peso do material seco (g) do extrato aquoso liofilizado de raízes de *Piper aduncum*

RECIPIENTE	RECIPIENTE VAZIO (g)	RECIPIENTE COM EXTRATO LÍQUIDO (g)	RECIPIENTE COM EXTRATO LIOFILIZADO (g)	PESO SECO DO MATERIAL EXTRAÍDO (g)
1	304,5	536,2	307,4	2,9
2	324,5	549,5	327,5	3,0
3	299,0	545,4	301,9	2,9
4	302,1	506,6	304,7	2,6
5	309,8	522,6	312,6	2,8

#### **4.10 Aplicação dos extratos aquosos de folhas e raízes de *Palicourea marcgravii* e *Piper aduncum* sobre adultos de *Aetalion* sp.**

No laboratório, duzentos insetos adultos foram separados e distribuídos em vinte recipientes de plásticos de 15cm de diâmetro por 10cm de altura. Foram colocados dez insetos em cada recipiente, juntamente com dois pedaços de caules jovens de *Clitoria fairchildiana*, de aproximadamente 7cm de comprimento por 1cm de diâmetro, para alimentação e um pedaço de algodão umedecido com água (Figura 6).

Para vedação do recipiente, a fim de evitar fuga dos insetos, foi utilizado tecido tipo filó de 40cm de comprimento e 40cm de largura, com orifícios para permitir a respiração dos insetos, ajustados com uma liga elástica (Figura 6).

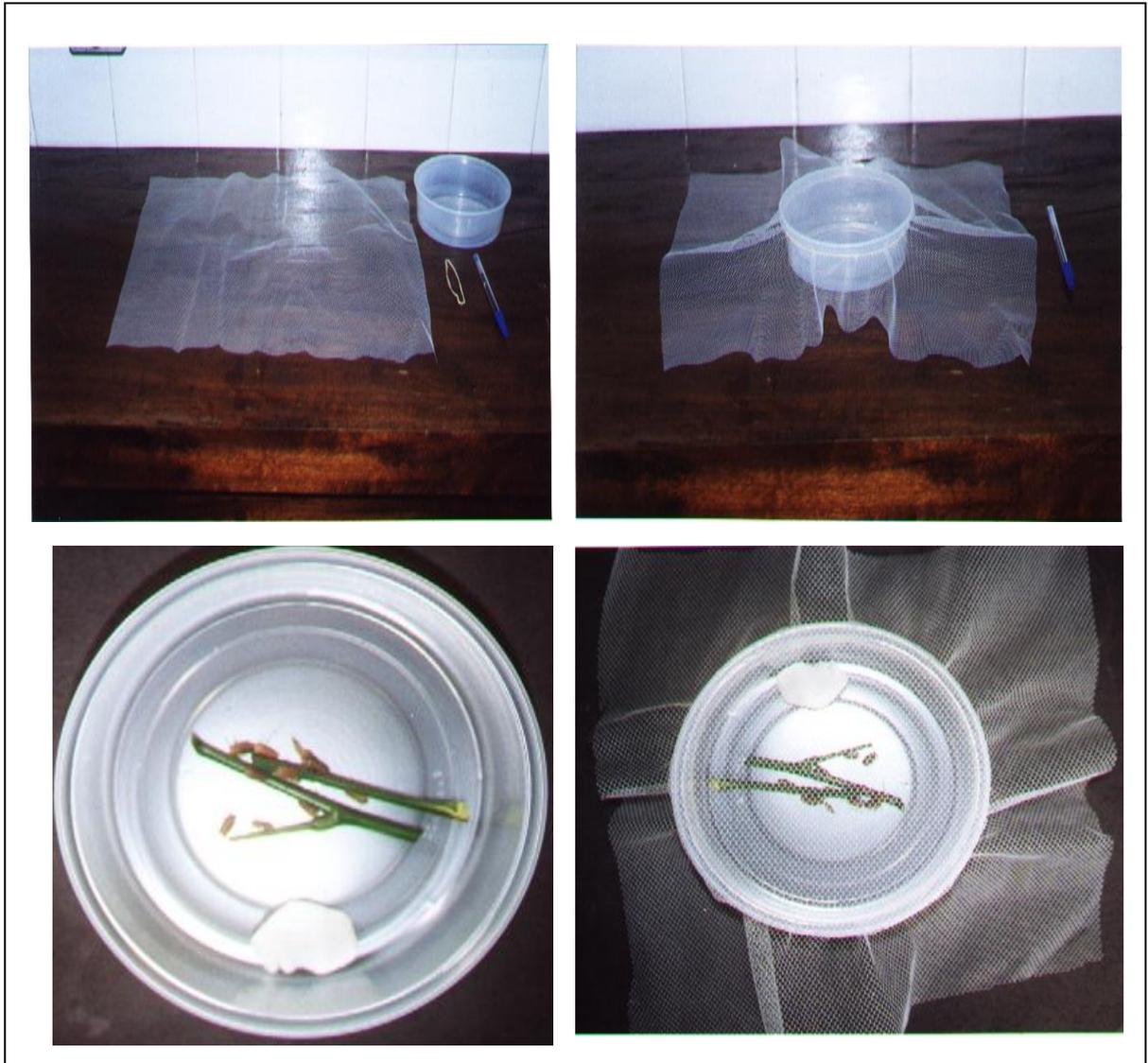


Figura 6 - Preparação das amostras para aplicação dos extratos. Foto: SILVA, W.C., 2004.

Um pulverizador de plástico foi utilizado para aplicação do extrato sobre os insetos. Após a aplicação, as amostras foram colocadas sobre uma bancada em casa de vegetação, à temperatura de  $30^{\circ} \pm 5^{\circ}\text{C}$ , umidade relativa de  $80 \pm 10\%$  (Figura 7). A mortalidade dos insetos foi avaliada de 12 em 12 horas, durante 48 horas, sendo a alimentação trocada e o algodão umedecido com água após 24 horas.



Figura 7 - Experimento na casa de vegetação do INPA. Foto: SILVA, W.C., 2004.

#### 4.11) Avaliação inseticida dos extratos de folhas e raízes de *Palicourea marcgravii* e *Piper aduncum*

Para avaliar a eficiência do extrato das folhas de *Palicourea marcgravii* como inseticida, o extrato aquoso foi preparado e aplicado sobre os insetos em três concentrações: 30mg/mL, 40mg/mL e 50mg/mL. As concentrações do extrato das raízes de *Palicourea marcgravii* foram 10mg/mL, 20mg/mL e 30mg/mL.

Os extratos das folhas e das raízes de *Piper aduncum* foram preparados e aplicados também em três concentrações: 10mg/mL, 20mg/mL e 30mg/mL. O grupo controle recebeu aplicação de água destilada.

#### 4.12) Teste piloto

Para determinação das diferentes concentrações dos extratos das plantas, foram realizados cinco testes pilotos usando-se a mesma metodologia anteriormente verificada.

O primeiro teste foi realizado com a aplicação do extrato de folhas de *Palicourea marcgravii* sobre adultos de *Aetalion sp.*, nas concentrações de 10, 20 e 30 mg/mL. No segundo teste, as concentrações foram aumentadas para 30, 40 e 50 mg/mL.

Os demais testes foram realizados aplicando-se o extrato das raízes de *Palicourea marcgravii* e das folhas e raízes de *Piper aduncum* sobre adultos de *Aetalion sp.*, nas concentrações de 10, 20 e 30 mg/mL para cada um dos extratos.

#### 4.13 Análise estatística

Os valores obtidos nos experimentos foram submetidos a uma análise de variância – ANOVA (ZAR, 1984), usando-se um delineamento inteiramente casualizado, com três tratamentos e com cinco repetições, mais o grupo testemunha, a fim de ser avaliada a mortalidade dos insetos. Os resultados foram expressos pelos parâmetros: CL<sub>50</sub> (Concentração Letal Mediana), TL<sub>50</sub> (Tempo Letal Mediano), MCEO (Menor Concentração de Efeito Observado), CNEO (Concentração de Nenhum Efeito Observado), MTEO (Menor Tempo de Efeito Observado) e TNEO (Tempo de Nenhum Efeito Observado).

Para avaliação da toxicidade aguda, foi usada a ANOVA, onde os valores médios das taxas de mortalidade, em cada tratamento, foram comparados, seguidos pelo teste de

comparação múltipla (teste de Dunnett), que comparou as médias dos tratamentos com o controle, determinando quais concentrações tiveram valores médios (taxa de mortalidade) diferentes do controle. Valores de taxas de mortalidade foram previamente transformados em arcoseno para procedimento da ANOVA.

O método de Probit (FINNEY, 1971) foi usado para o cálculo dos valores da  $CL_{50}$  e dos respectivos intervalos de confiança 95% (IC-95%). O programa TOXRAT® foi utilizado para execução das análises de Probit e construção das curvas de dose-resposta. Nos casos de mortalidade natural ocorrida no controle, antes do cálculo da  $CL_{50}$  os valores da mortalidade nos tratamentos foram corrigidos segundo a fórmula de Abbott, a seguir:

$$Mc(\%) = \frac{\%Mo - \%Mt}{100 - \%Mt} \times 100, \text{ onde}$$

Mc = Mortalidade corrigida  
Mo = Mortalidade observada  
Mt = Mortalidade na testemunha

Para comparação da toxicidade entre os extratos, os valores dos intervalos de confiança de duas  $CL_{50}$  foram usados. Valores da  $CL_{50}$  foram considerados estatisticamente diferentes quando os seus IC-95% não se sobrepuseram.

A MCEO foi a menor concentração que produziu efeito estatisticamente significativo aos insetos, quando comparada com o controle. A CNEO foi a maior concentração que não causou efeito estatisticamente significativo, quando comparada com o controle.

O MTEO foi o menor tempo em que houve mortalidade estatisticamente significativa, quando comparado com o controle. O TNEO foi o maior tempo em que não ocorreu mortalidade estatisticamente significativa, quando comparado com o controle.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Atividade inseticida do extrato aquoso de folhas de *Palicourea marcgravii* sobre adultos de *Aetalion sp.*

Os valores percentuais referentes à mortalidade do inseto, nas concentrações de 30, 40 e 50 mg/mL de extrato aquoso de folhas de *Palicourea marcgravii* e intervalos de tempo avaliados, encontram-se na Tabela 5 e estão demonstrados na Figura 8. O total de mortalidade observada foi de 58%, na concentração de 50 mg/mL, no decorrer de 48 horas.

Tabela 5 - Mortalidade de *Aetalion sp.*, nas diferentes concentrações de extrato aquoso de folhas de *Palicourea marcgravii*, nos intervalos de tempo avaliados.

CONCENTRAÇÃO mg/mL	MORTALIDADE %				
	12 (h)	24 (h)	36 (h)	48 (h)	Total
30	0	22	10	8	40
40	4	20	14	18	56
50	6	20	16	16	58
Controle (H <sub>2</sub> O)	0	0	0	4	4

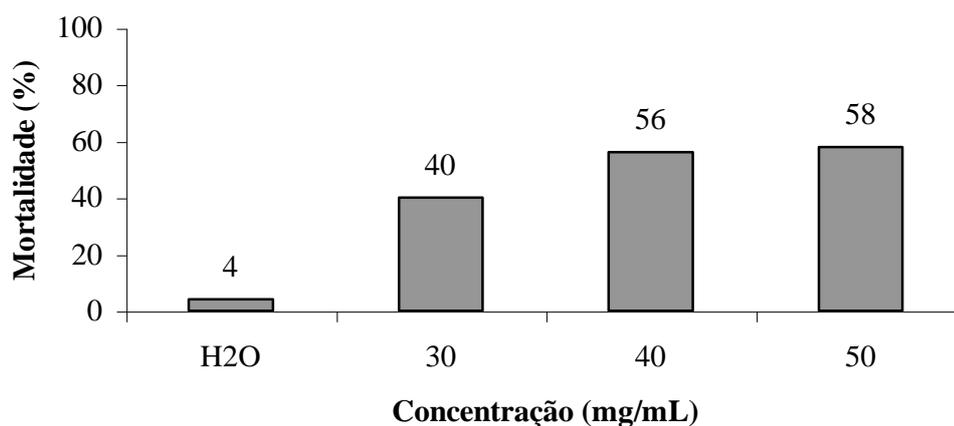


Figura 8 – Percentual de mortalidade de *Aetalion sp.* em relação às diferentes concentrações de extrato aquoso de folhas de *Palicourea marcgravii*.

Na Tabela 6, encontram-se as diferenças estatísticas significativas de mortalidade média ocorrida nas concentrações de 30, 40 e 50 mg/mL de extrato aquoso de folhas de *Palicourea marcgravii*, em relação ao controle, no intervalo de tempo de 48 horas.

Tabela 6 - Valores médios da mortalidade de *Aetalion sp.* nas diferentes concentrações de extrato aquoso de folhas *Palicourea marcgravii*, no intervalo de tempo de 48 horas.

CONCENTRAÇÕES mg/mL	MORTALIDADE MÉDIA EM 48h ( % )
Controle (H <sub>2</sub> O)	4,0 <b>a</b> (± 8,9)
30	40,0 <b>b</b> (± 21,2)
40	56,0 <b>c</b> (± 13,4)
50	58,0 <b>d</b> (± 13,0)

Letras, em negrito, indicam diferença significativa  $\alpha=0,05$  pelo Teste de Dunnett.

A concentração letal 50 ( $CL_{50}$ ), encontrada a partir das médias de mortalidade dos insetos nas concentrações de 30, 40 e 50 mg/mL de extrato aquoso de folhas *Palicourea marcgravii* no intervalo de tempo de 48 horas, foi de 39,9 mg/mL com intervalo de confiança de 95 % (Figura 9).

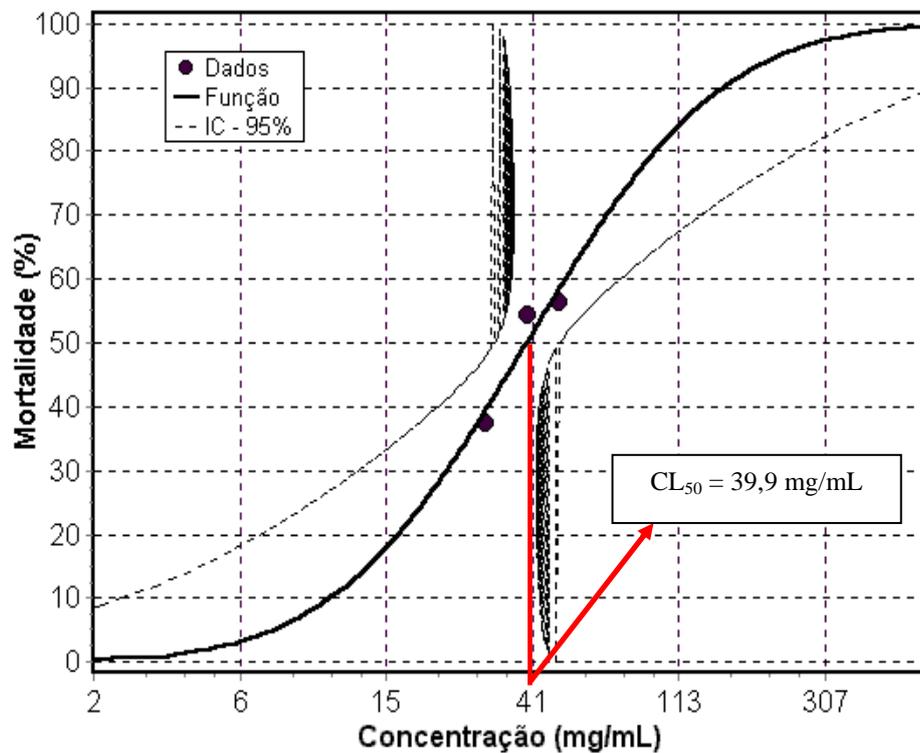


Figura 9 – Determinação da  $CL_{50}$  do extrato aquoso de folhas de *Palicourea marcgravii* sobre *Aetalion sp.*, após correção de Abbott.

Os valores percentuais referentes à mortalidade do inseto, na concentração de 50 mg/mL de extrato aquoso de folhas de *Palicourea marcgravii*, nos intervalos de tempo avaliados, encontram-se na Tabela 7 e estão demonstrados na Figura 10. Observou-se mortalidade de 20% em 24 horas.

Tabela 7 - Mortalidade de *Aetalion sp.*, na concentração de 50 mg/mL de extrato aquoso de folhas de *Palicourea marcgravii*, nos intervalos de tempo avaliados.

CONCENTRAÇÃO mg/MI	MORTALIDADE (%)			
	12h	24h	36h	48h
50	0	4	0	10
	0	2	6	0
	2	12	0	0
	2	0	8	0
	2	2	2	6
	2	2	2	6
Total	6	20	16	16

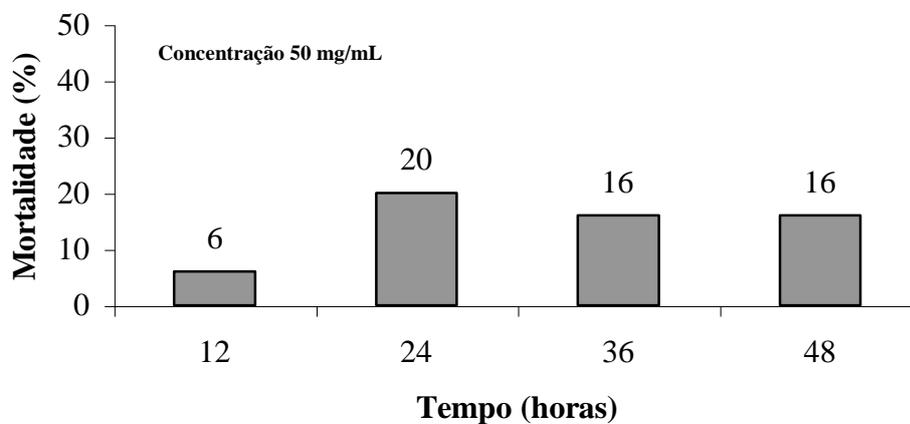


Figura 10 – Percentual de mortalidade de *Aetalion sp.*, em relação aos intervalos de tempo observados, na concentração de 50 mg/mL de extrato aquoso de folhas de *Palicourea marcgravii*.

Na Tabela 8, encontram-se as diferenças estatísticas significativas de mortalidade média ocorrida nos intervalos de tempo avaliados, na concentração de 50mg/mL de extrato aquoso de folhas de *Palicourea marcgravii*, em relação ao controle.

Tabela 8 - Valores médios da mortalidade de *Aetalion sp.*, na concentração de 50 mg/mL de extrato aquoso de folhas de *Palicourea marcgravii*, nos diferentes intervalos de tempo.

CONCENTRAÇÃO (mg/mL)	TEMPO (Horas)	MORTALIDADE MÉDIA ( % )
Controle (H <sub>2</sub> O)	0	0,0 <b>a</b>
50	12	6,0 <b>a</b> (± 5,5)
	24	20,0 <b>b</b> (± 23,5)
	36	16,0 <b>c</b> (± 18,2)
	48	16,0 <b>d</b> (± 23,0)

Letras, em negrito, indicam diferença significativa  $\alpha=0,05$  pelo Teste de Dunnett.

O tempo letal 50 (TL<sub>50</sub>), encontrado a partir das médias de mortalidade dos insetos na concentração de 50 mg/mL de extrato aquoso de folhas de *Palicourea marcgravii*, nos intervalos de tempo avaliados, foi de 41,2 horas com intervalo de confiança de 95 % (Figura 11).

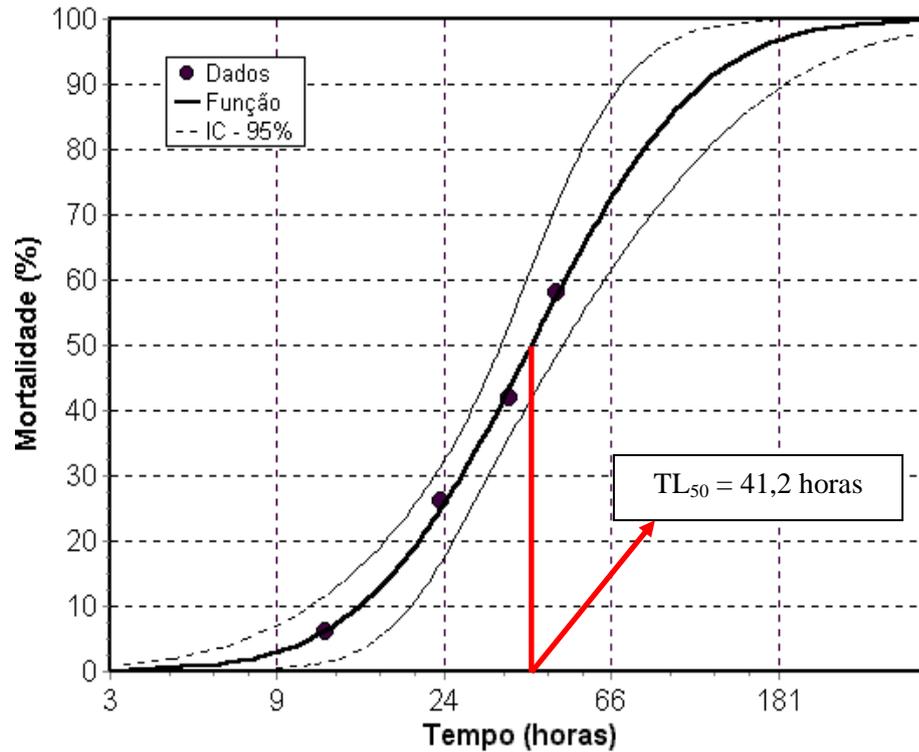


Figura 11 – Percentual de mortalidade de *Aetalion sp.*, submetido à concentração de 50 mg/mL do extrato aquoso de folhas *Palicourea marcgravii*, em função do tempo.

## 5.2 Atividade inseticida do extrato aquoso de raízes de *Palicourea marcgravii* sobre adultos de *Aetalion sp.*

Os valores percentuais referentes à mortalidade do inseto, nas concentrações de 10, 20 e 30 mg/mL de extrato aquoso de raízes de *Palicourea marcgravii* e intervalos de tempo avaliados, encontram-se na Tabela 9 e estão demonstrados na Figura 12. Observou-se, que no decorrer de 48 horas, o total de mortalidade foi de 74%, na concentração de 30 mg/mL.

Tabela 9 - Mortalidade de *Aetalion sp.*, nas diferentes concentrações de extrato aquoso de raízes de *Palicourea marcgravii* nos intervalos de tempo avaliados.

CONCENTRAÇÃO mg/mL	MORTALIDADE %				
	12 (h)	24 (h)	36 (h)	48 (h)	Total
10	0	12	6	30	48
20	4	20	4	32	60
30	6	24	14	30	74
Controle (H <sub>2</sub> O)	0	0	2	2	4

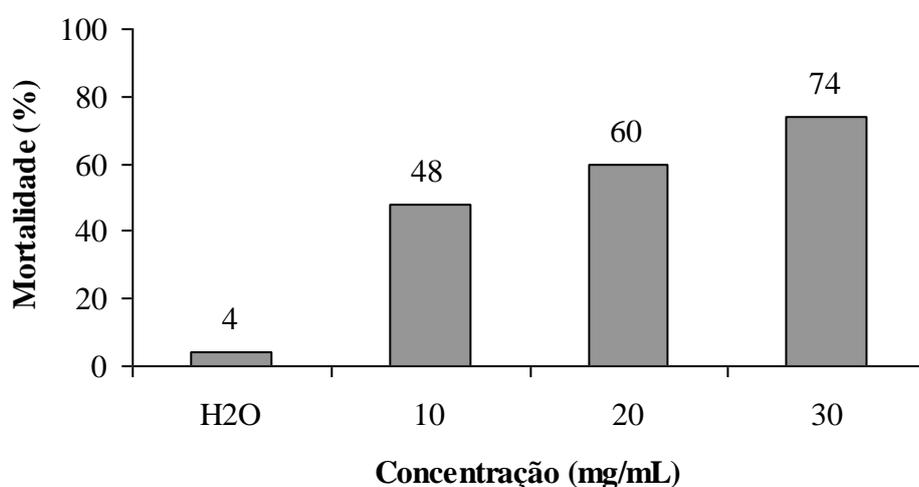


Figura 12 – Percentual de mortalidade de *Aetalion sp.* em relação às concentrações de extrato aquoso de raízes de *Palicourea marcgravii*.

Na Tabela 10, encontram-se as diferenças estatísticas significativas de mortalidade média, ocorrida nas concentrações de 10, 20 e 30 mg/mL de extrato aquoso

de raízes de *Palicourea marcgravii*, em relação ao controle, no intervalo de tempo de 48 horas.

Tabela 10 - Valores médios da mortalidade de *Aetalion sp.* nas diferentes concentrações de extrato aquoso de raízes *Palicourea marcgravii*, no intervalo de tempo de 48 horas.

CONCENTRAÇÕES Mg/mL	MORTALIDADE MÉDIA EM 48h ( % )
Controle (H <sub>2</sub> O)	4,0 <b>a</b> (± 5,5)
10	48,0 <b>b</b> (± 8,4)
20	60,0 <b>c</b> (± 18,7)
30	74,0 <b>d</b> (± 16,7)

Letras, em negrito, indicam diferença significativa  $\alpha=0,05$  pelo teste de Dunnett.

A concentração letal 50 (CL<sub>50</sub>), encontrada a partir das médias de mortalidade dos insetos nas concentrações de 10, 20 e 30 mg/mL de extrato aquoso de raízes de *Palicourea marcgravii* no intervalo de tempo de 48 horas, foi de 12,4 mg/mL com intervalo de confiança de 95 % (Figura 13).

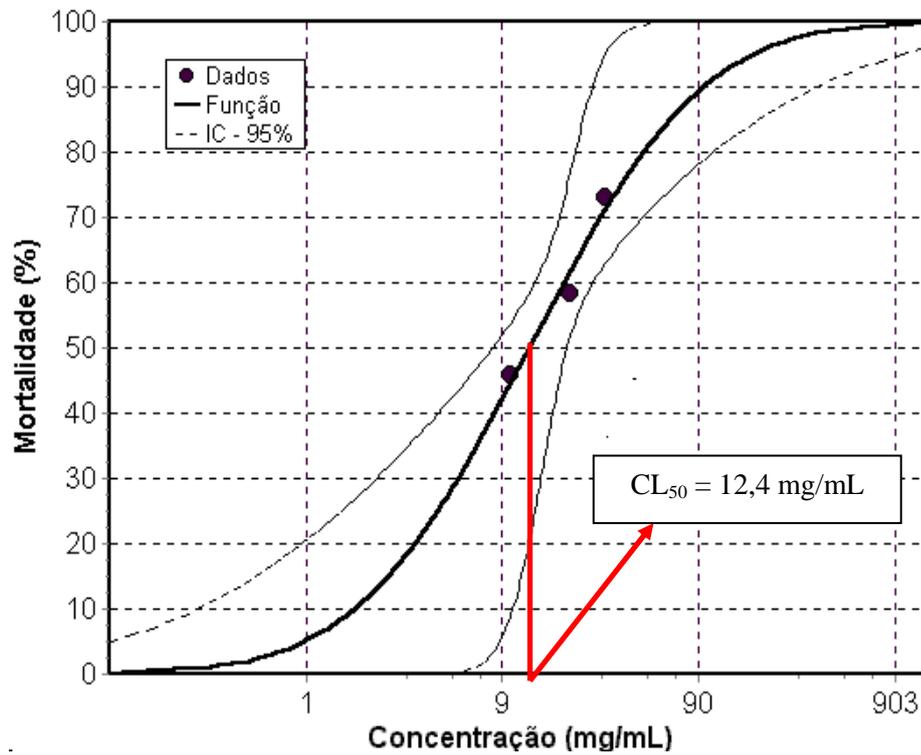


Figura 13 – Determinação da  $CL_{50}$  do extrato aquoso de raízes de *Palicourea marcgravii* sobre *Aetalion sp.*, após correção de Abbott.

Os valores percentuais referentes à mortalidade do inseto, na concentração de 30 mg/mL de extrato aquoso de raízes de *Palicourea marcgravii*, nos intervalos de tempo avaliados, encontram-se na Tabela 11 e estão demonstrados na Figura 14. Observou-se mortalidade de 30% em 48 horas.

Tabela 11 - Mortalidade de *Aetalion sp.*, na concentração de 30 mg/mL de extrato aquoso de raízes de *Palicourea marcgravii*, nos intervalos de tempo de avaliados.

CONCENTRAÇÃO mg/mL	MORTALIDADE (%)			
	12h	24h	36h	48h
30	2	8	0	6
	2	8	6	4
	0	4	0	8
	0	2	6	6
	2	2	2	6
	Total	6	24	14

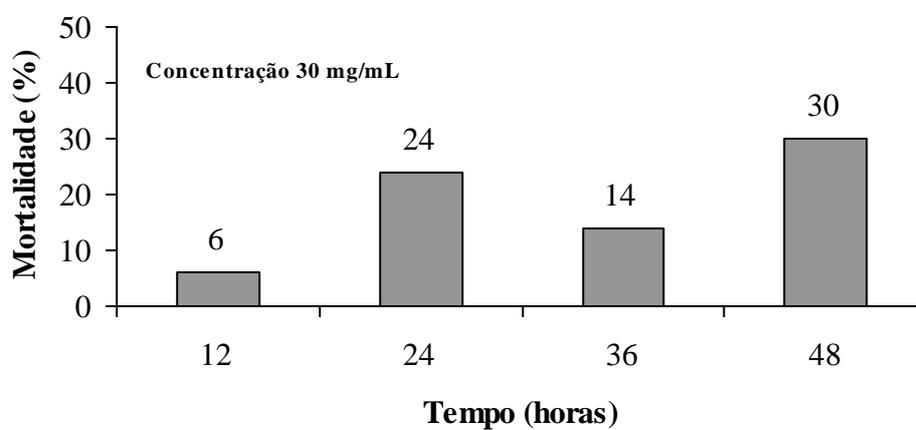


Figura 14 – Percentual de mortalidade de *Aetalion sp.*, em relação aos intervalos de tempo observados, na concentração de 30 mg/mL de extrato aquoso de raízes de *Palicourea marcgravii*.

Na Tabela 12, encontram-se as diferenças estatísticas significativas de mortalidade média ocorrida nos intervalos de tempo avaliados, na concentração de 30mg/mL de extrato aquoso de raízes de *Palicourea marcgravii*, em relação ao controle.

Tabela 12 - Valores médios da mortalidade de *Aetalion sp.*, na concentração de 30 mg/mL de extrato aquoso de raízes de *Palicourea marcgravii*, nos diferentes intervalos de tempo.

<b>CONCENTRAÇÃO (mg/mL)</b>	<b>TEMPO (Horas)</b>	<b>MORTALIDADE MÉDIA EM 48h ( % )</b>
Controle (H <sub>2</sub> O)	0	0,0 <b>a</b>
30	12	6,0 <b>a</b> (± 5,5)
	24	24,0 <b>b</b> (± 15,2)
	36	14,0 <b>c</b> (± 15,2)
	48	30,0 <b>d</b> (± 7,1)

Letras, em negrito, indicam diferença significativa  $\alpha=0,05$  pelo teste de Dunnett.

O tempo letal 50 (TL<sub>50</sub>), encontrado a partir das médias de mortalidade dos insetos na concentração de 30 mg/mL de extrato aquoso de raízes de *Palicourea marcgravii*, nos intervalos de tempo avaliados, foi de 34,9 horas com intervalo de confiança de 95 % (Figura 15)

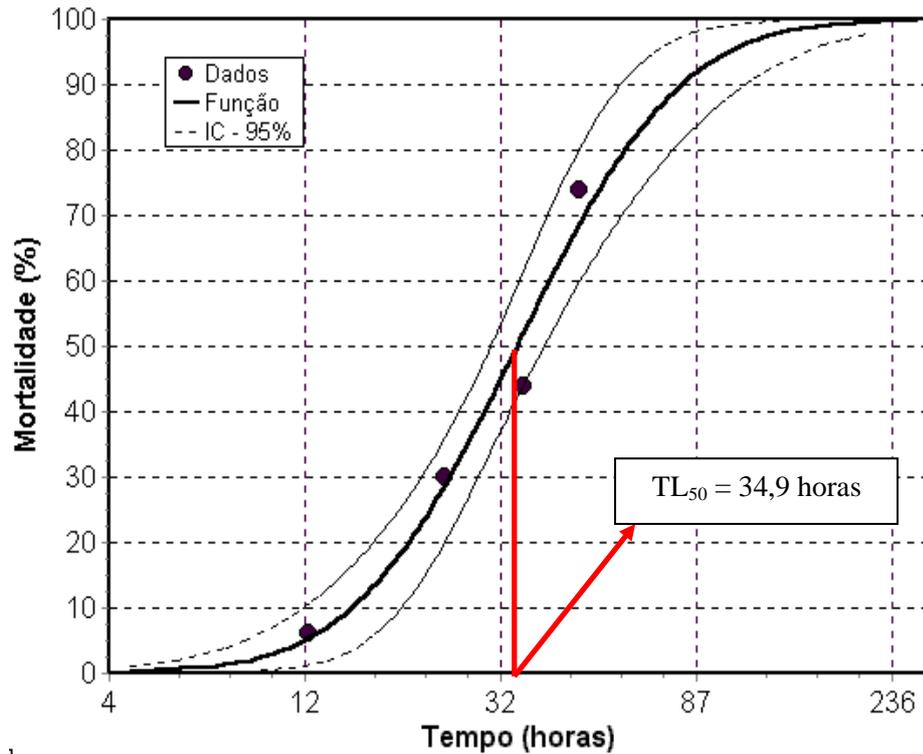


Figura 15 – Percentual de mortalidade de *Aetalion sp.*, submetido à concentração de 30 mg/mL do extrato aquoso de raízes de *Palicourea marcgravii*, em função do tempo .

### 5.3 Atividade inseticida do extrato aquoso de folhas de *Piper aduncum* sobre adultos de *Aetalion sp.*

Os valores percentuais referentes à mortalidade do inseto, nas concentrações de 10, 20 e 30 mg/mL de extrato aquoso de folhas de *Piper aduncum* e intervalos de tempo avaliados, encontram-se na Tabela 13 e estão demonstrados na Figura 16. Observou-se, que no decorrer de 48 horas, o total de mortalidade foi de 72%, na concentração de 30 mg/mL.

Tabela 13 - Mortalidade de *Aetalion sp.*, nas diferentes concentrações de extrato aquoso de folhas de *Piper aduncum*, nos intervalos de tempo avaliados.

CONCENTRAÇÃO mg/mL	MORTALIDADE %				
	12 (h)	24 (h)	36 (h)	48 (h)	Total
10	0	12	10	6	28
20	4	14	12	8	38
30	8	36	14	14	72
Controle (H <sub>2</sub> O)	0	0	0	2	2

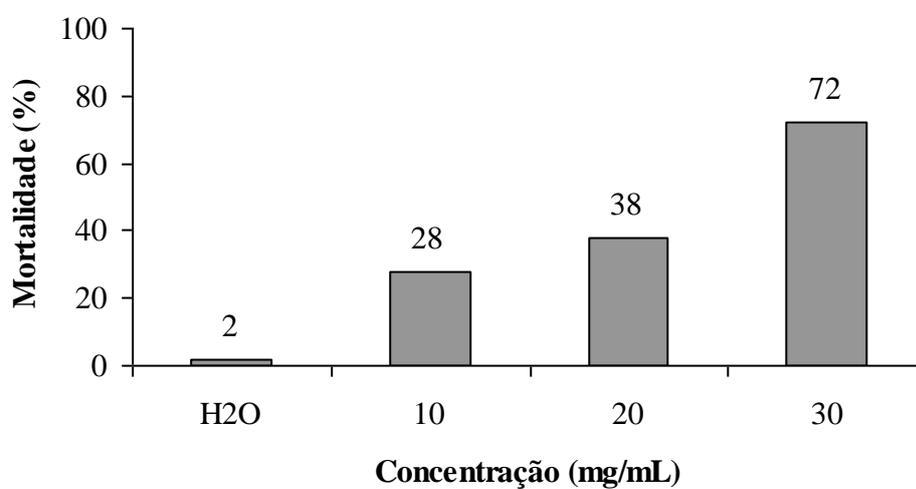


Figura 16 – Percentual de mortalidade dos insetos em relação às concentrações de extrato aquoso de folhas de *Piper aduncum*.

Na Tabela 14, encontram-se as diferenças estatísticas significativas de mortalidade média ocorrida nas concentrações de 10, 20 e 30 mg/mL de extrato aquoso de folhas de *Piper aduncum*, em relação ao controle, no intervalo de tempo de 48 horas.

Tabela 14 - Valores médios da mortalidade de *Aetalion sp.*, nas diferentes concentrações de extrato aquoso de folhas de *Piper aduncum*, no intervalo de tempo de 48 horas.

<b>CONCENTRAÇÕES</b> <b>Mg/mL</b>	<b>MORTALIDADE MÉDIA EM 48h</b> <b>( % )</b>
Controle (H <sub>2</sub> O)	2,0 <b>a</b> (± 4,5)
10	28,0 <b>b</b> (± 13,0)
20	38,0 <b>c</b> (± 27,7)
30	72,0 <b>d</b> (± 11,0)

Letras, em negrito, indicam diferença significativa  $\alpha=0,05$  pelo teste de Dunnett.

A concentração letal 50 (CL<sub>50</sub>), encontrada a partir das médias de mortalidade dos insetos, nas concentrações de 10, 20 e 30 mg/mL de extrato aquoso de folhas de *Piper aduncum* no intervalo de tempo de 48 horas, foi de 20,9% com intervalo de confiança de 95 % (Figura 17).

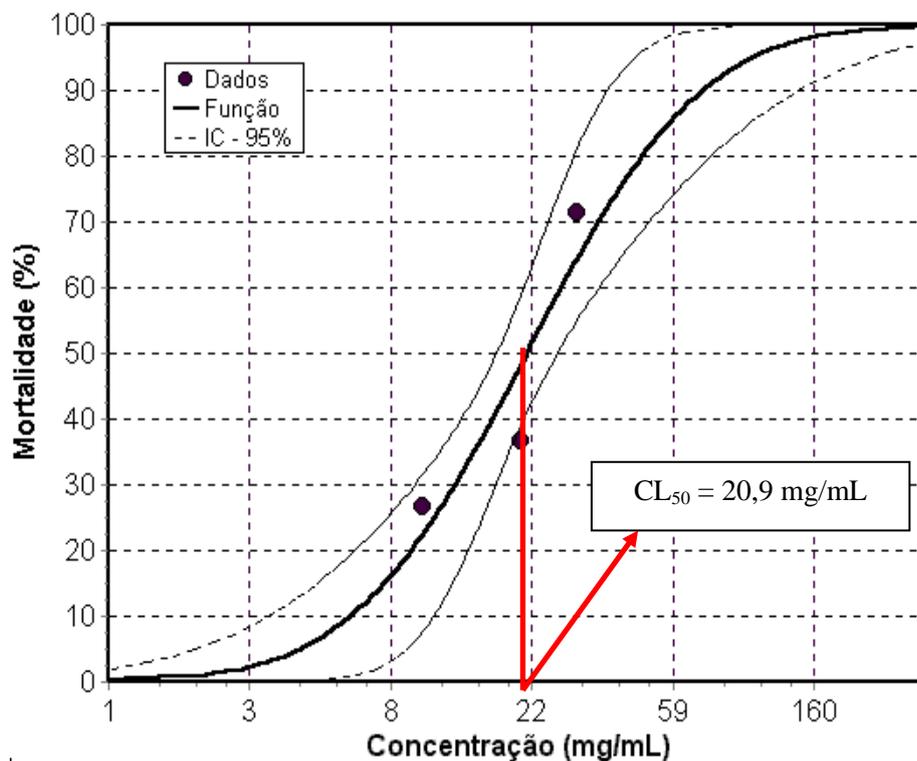


Figura 17 – Determinação da CL<sub>50</sub> do extrato aquoso de folhas de *Piper aduncum* sobre *Aetalion sp.*, após correção de Abbott.

Os valores percentuais referentes à mortalidade do inseto, na concentração de 30 mg/mL de extrato aquoso de folhas de *Piper aduncum*, nos intervalos de tempo avaliados, encontram-se na Tabela 15 e estão demonstrados na Figura 18. Observou-se mortalidade de 36% em 24 horas.

Tabela 15 - Mortalidade de *Aetalion sp.*, na concentração de 30 mg/mL de extrato aquoso de folhas de *Piper aduncum*, nos intervalos de tempo avaliados.

CONCENTRAÇÃO mg/mL	MORTALIDADE (%)			
	12h	24h	36h	48h
30	2	2	6	2
	0	10	2	2
	2	8	2	2
	0	10	4	0
	4	6	0	8
	Total	8	36	14

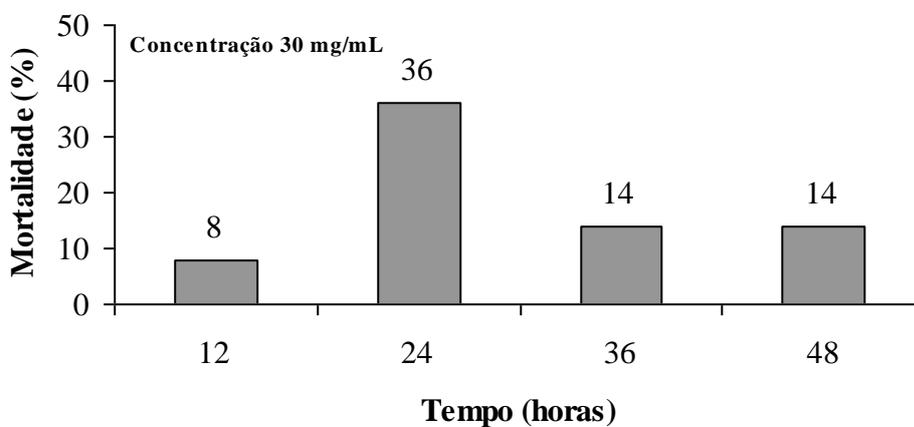


Figura 18 – Percentual de mortalidade de *Aetalion sp.* em relação aos intervalos de tempo observados na concentração de 30 mg/mL de extrato aquoso de folhas de *Piper aduncum*.

Na Tabela 16, encontram-se as diferenças estatísticas significativas de mortalidade média ocorrida nos intervalos de tempo avaliados, na concentração de 30mg/mL de extrato aquoso de folhas de *Piper aduncum*, em relação ao controle.

Tabela 16 - Valores médios da mortalidade de *Aetalion sp.*, na concentração de 30 mg/mL de extrato aquoso de folhas de *Piper aduncum*, nos diferentes intervalos de tempo.

<b>CONCENTRAÇÃO (mg/mL)</b>	<b>TEMPO (Horas)</b>	<b>MORTALIDADE MÉDIA EM 48h ( % )</b>
Controle (H <sub>2</sub> O)	0	0,0 <b>a</b>
30	12	8,0 <b>b</b> (± 8,4)
	24	36,0 <b>c</b> (± 16,7)
	36	14,0 <b>d</b> (± 11,4)
	48	14,0 <b>e</b> (± 15,2)

Letras, em negrito, indicam diferença significativa  $\alpha=0,05$  pelo teste de Dunnett.

O tempo letal 50 (TL<sub>50</sub>), encontrado a partir das médias de mortalidade dos insetos na concentração de 30 mg/mL de extrato aquoso de folhas de *Piper aduncum* nos intervalos de tempo avaliados, foi de 30,2 horas com intervalo de confiança de 95 % (Figura 19)

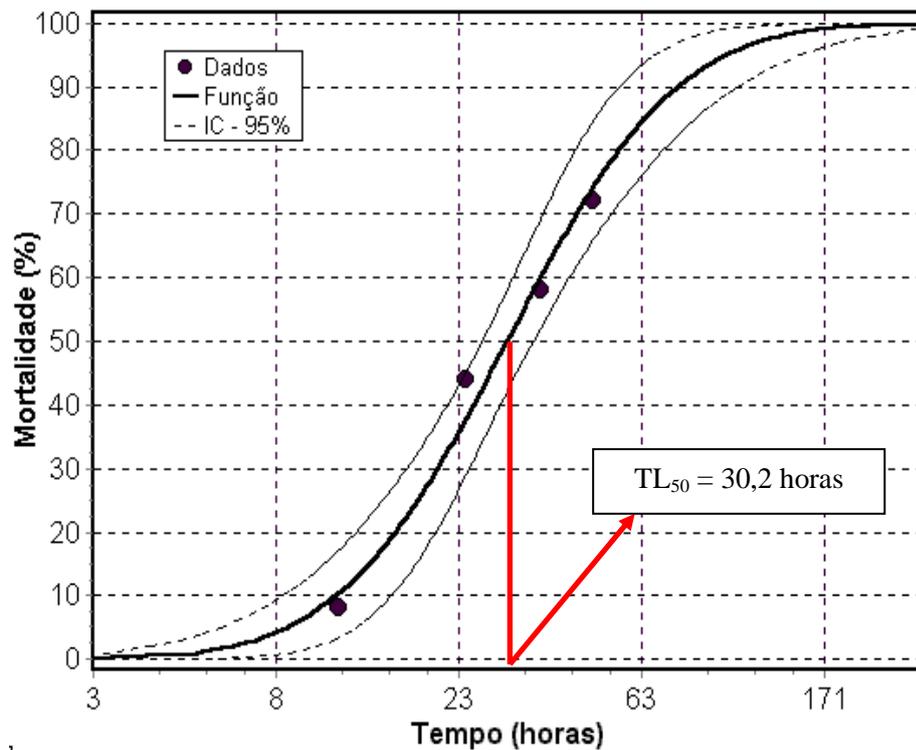


Figura 19 – Percentual de mortalidade de *Aetalion sp.*, submetido à concentração de 30 mg/mL do extrato aquoso de folhas de *Piper aduncum*, em função do tempo.

#### 5.4 Atividade inseticida do extrato aquoso de raízes de *Piper aduncum* sobre adultos de *Aetalion sp.*

Os valores percentuais referentes à mortalidade do inseto, nas concentrações de 10, 20 e 30 mg/mL de extrato aquoso de raízes de *Piper aduncum* e intervalos de tempo avaliados, encontram-se na Tabela 17 e estão demonstrados na Figura 20. No decorrer de 48 horas, observou-se que o total de mortalidade, na concentração de 30 mg/mL, foi de 80%.

Tabela 17 - Mortalidade de *Aetalion sp.*, nas diferentes concentrações de extrato aquoso de raízes de *Piper aduncum* nos intervalos de tempo avaliados.

CONCENTRAÇÃO mg/mL	MORTALIDADE				
	%				
	12 (h)	24 (h)	36 (h)	48 (h)	Total
10	4	4	8	10	26
20	8	16	4	12	40
30	28	22	18	12	80
Controle (H <sub>2</sub> O)	0	0	2	4	6

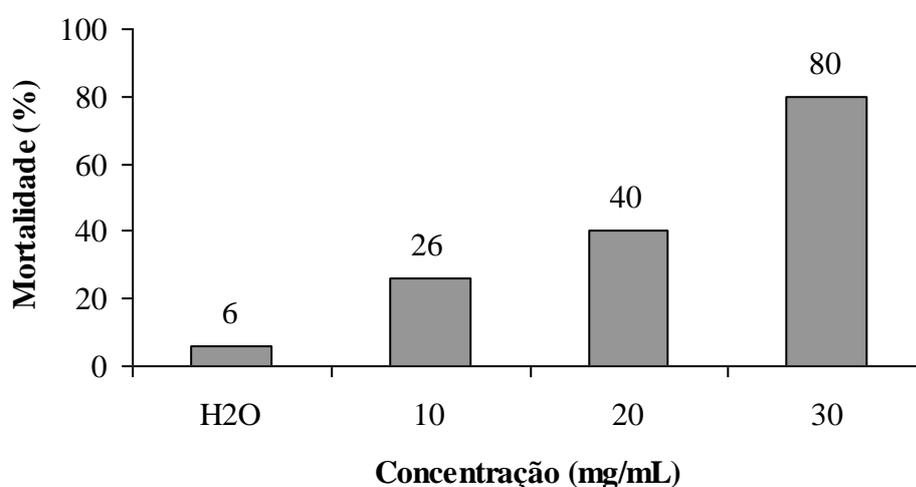


Figura 20 – Percentual de mortalidade dos insetos em relação às concentrações de extrato aquoso de raízes de *Piper aduncum*.

Na Tabela 18, encontram-se as diferenças estatísticas significativas de mortalidade média ocorrida nas concentrações de 10, 20 e 30 mg/mL de extrato aquoso de raízes de *Piper aduncum*, em relação ao controle, no intervalo de tempo de 48 horas.

Tabela 18 - Valores médios da mortalidade de *Aetalion sp.*, nas diferentes concentrações de extrato aquoso de raízes de *Piper aduncum*, no intervalo de tempo de 48 horas.

<b>CONCENTRAÇÕES mg/mL</b>	<b>MORTALIDADE MÉDIA EM 48h ( % )</b>
Controle (H <sub>2</sub> O)	6,0 <b>a</b> (± 8,9)
10	26,0 <b>b</b> (± 8,9)
20	40,0 <b>c</b> (± 22,4)
30	80,0 <b>d</b> (± 12,2)

Letras, em negrito, indicam diferença significativa  $\alpha=0,05$  pelo teste de Dunnett.

A concentração letal 50 (CL<sub>50</sub>), encontrada a partir das médias de mortalidade dos insetos nas concentrações de 10, 20 e 30 mg/mL de extrato aquoso de raízes de *Piper aduncum*, no intervalo de tempo de 48 horas, foi de 20,2% com intervalo de confiança de 95 % (Figura 21).

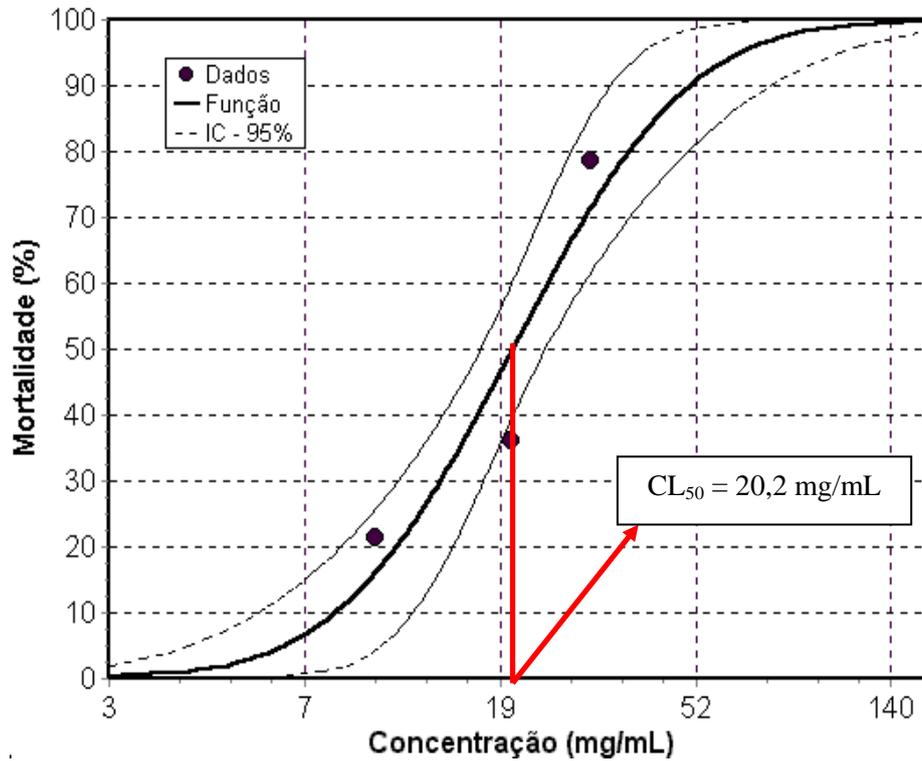


Figura 21 – Determinação da CL<sub>50</sub> do extrato aquoso de raízes de *Piper aduncum* sobre *Aetalion sp.*, após correção de Abbott.

Os valores percentuais referentes à mortalidade do inseto, na concentração de 30 mg/mL de extrato aquoso de raízes de *Piper aduncum*, nos intervalos de tempo avaliados, encontram-se na Tabela 19 e estão demonstrados na Figura 22. Observou-se mortalidade de 28% em 12 horas.

Tabela 19 - Mortalidade de *Aetalion sp.*, na concentração de 30 mg/mL de extrato aquoso de raízes de *Piper aduncum*, nos intervalos de tempo de avaliados.

CONCENTRAÇÃO mg/mL	MORTALIDADE (%)			
	12h	24h	36h	48h
30	6	8	2	4
	6	4	4	2
	2	2	6	4
	4	6	2	2
	10	2	4	0
	Total	28	22	18

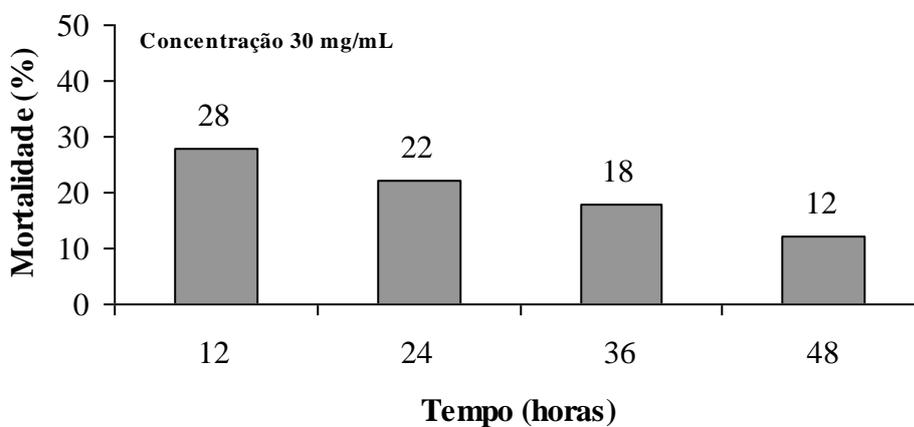


Figura 22 – Percentual de mortalidade de *Aetalion sp.* em relação aos intervalos de tempo observados na concentração de 30 mg/mL de extrato aquoso de raízes de *Piper aduncum*.

Na Tabela 20, encontram-se as diferenças estatísticas significativas de mortalidade média ocorrida nos intervalos de tempo avaliados, na concentração de 30mg/mL de extrato aquoso de raízes de *Piper aduncum*, em relação ao controle.

Tabela 20 - Valores médios da mortalidade de *Aetalion sp.*, na concentração de 30 mg/mL de extrato aquoso de raízes de *Piper aduncum*, nos diferentes intervalos de tempo.

<b>CONCENTRAÇÃO (mg/mL)</b>	<b>TEMPO (Horas)</b>	<b>MORTALIDADE MÉDIA EM 48h ( % )</b>
Controle (H <sub>2</sub> O)	0	0,0 <b>a</b>
30	12	28,0 <b>b</b> (± 14,8)
	24	22,0 <b>c</b> (± 13,0)
	36	18,0 <b>d</b> (± 8,4)
	48	12,0 <b>e</b> (± 8,4)

Letras, em negrito, indicam diferença significativa  $\alpha=0,05$  pelo teste de Dunnett.

O tempo letal 50 (TL<sub>50</sub>), encontrado a partir das médias de mortalidade dos insetos na concentração de 30 mg/mL de extrato aquoso de raízes de *Piper aduncum*, nos intervalos de tempo avaliados, foi de 22,3 horas com intervalo de confiança de 95 % (Figura 23)

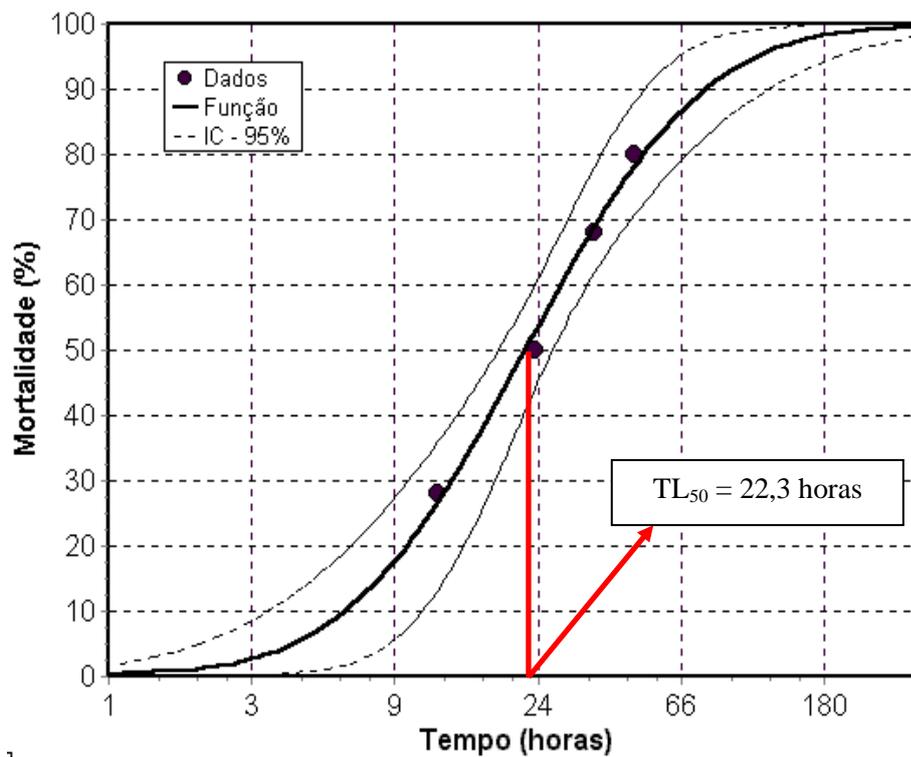


Figura 23 – Percentual de mortalidade de *Aetalion sp.*, submetido à concentração de 30 mg/mL do extrato aquoso de raízes de *Piper aduncum*, em função do tempo.

### 5.5 Toxicidade aguda dos extratos de folhas e raízes de *Palicourea marcgravii* e de *Piper aduncum*

A Tabela 21 apresenta a comparação da toxicidade entre os extratos de folhas e raízes de *Palicourea marcgravii* e de *Piper aduncum* utilizando os valores dos intervalos de confiança de duas  $CL_{50}$ .

Tabela 21 - Toxicidade aguda de extratos vegetais para adultos de *Aetalion sp.* (concentração letal mediana – CL<sub>50</sub>)

Extratos	CL <sub>50</sub> (mg/mL)	95 % Intervalo de confiança (IC)		IC – Sobreposição				
		Inferior	Superior	1	2	3	4	
1	Palicourea (folhas)	39,9	32,0	49,8	*			
2	Palicourea (raízes)	12,4	8,0	19,3		*	*	*
3	Piper (folhas)	20,9	16,9	25,9		*	*	*
4	Piper (raízes)	20,2	17,1	23,9		*	*	*

\* Significativo ao nível de 5% de probabilidade

A Tabela 22 apresenta a comparação do tempo quando atingiu 50% de mortalidade dos insetos, com o uso dos extratos de folhas e raízes de *Palicourea marcgravii* e de *Piper aduncum*, utilizando os valores dos intervalos de confiança de duas TL<sub>50</sub>.

Tabela 22 - Toxicidade aguda de extratos vegetais para adultos de *Aetalion sp.* (tempo letal mediano – TL<sub>50</sub>)

Extratos	TL <sub>50</sub> (horas)	95 % Intervalo de confiança (IC)		IC – Sobreposição				
		Inferior	Superior	1	2	3	4	
1	Palicourea (folhas)	41,2	34,2	49,7	*	*	*	
2	Palicourea (raízes)	34,9	30,5	39,9	*	*	*	
3	Piper (folhas)	30,2	26,2	34,6	*	*	*	*
4	Piper (raízes)	22,3	18,4	27,0				*

\* Significativo ao nível de 5% de probabilidade

## 6 DISCUSSÃO

### 6.1 Ação inseticida dos extratos aquosos de folhas e raízes de *Palicourea marcgravii* e *Piper aduncum*

Dentre os extratos aquosos de folhas e raízes de *Palicourea marcgravii* e *Piper aduncum*, o que apresentou maior ação inseticida sobre adultos de *Aetalion sp.*, no intervalo de tempo de 48 horas, foi o de raízes de *Piper aduncum* na concentração de 30 mg/mL, determinando mortalidade média de 80%. A mortalidade observada com o extrato de raízes de *Piper aduncum* mostrou a maior toxicidade dessa parte da planta, tal efeito tóxico foi relatado por Lainetti e Brito (1980).

O extrato de folhas de *Palicourea marcgravii* mostrou menor ação inseticida, causando a mortalidade média de 40%, na concentração de 30 mg/mL, no intervalo de tempo de 48 horas. Apesar de Tokarnia e Dobereiner (1978) relatarem que esta parte da planta apresenta alta toxicidade para mamíferos (dose letal para bovinos em torno de 1 grama de folhas frescas por quilograma de peso do animal), sua ação tóxica em insetos se mostrou menos eficiente.

Os extratos aquosos de folhas e raízes de *Piper aduncum* apresentaram atividade inseticida sobre adultos de *Aetalion sp.* Provavelmente a mortalidade do inseto ocorreu pela presença de fenilpropanóide, dilapiol e derivado de ácido benzóico prenilado, 4-hidroxi-3-(3-metil-2-butenil) benzoato de metila encontrados nessa planta e que foram isolados por Oliveira et al., 2004.

Os extratos aquosos de folhas e raízes de *Palicourea marcgravii* mostraram ação inseticida sobre adultos de *Aetalion sp.* A presença do princípio ativo encontrado nessa planta, o ácido monofluoracético, possivelmente, é o responsável pela mortalidade do inseto, devido a sua ação tóxica interferindo no metabolismo de respiração celular. De acordo com o que é relatado por Tokarnia et al., 1979, essa substância interfere no metabolismo energético das células, isto é, no ciclo de Krebs.

## **6.2 Significância entre os tratamentos e tempos avaliados**

Analisando os resultados mostrados nas Tabelas 6, 10, 14 e 18, observou-se que todos os tratamentos com concentrações de extrato de *Palicourea marcgravii* e *Piper aduncum* apresentaram, estatisticamente, diferenças significativas em relação ao controle.

Nas Tabelas 8 e 12, na aplicação de extrato de *Palicourea marcgravii* nas maiores concentrações avaliadas (folhas 50mg/mL e raízes 30mg/mL), verificou-se que no intervalo de tempo de 12 horas não houve, estatisticamente, diferenças significativas de mortalidade em relação ao controle. Nos demais intervalos de tempo (24, 36 e 48 horas), ocorreu mortalidade significativa.

Nos resultados apresentados nas Tabelas 16 e 20, observou-se que houve, estatisticamente, mortalidade significativa nos tempos avaliados em relação ao controle, na aplicação de extratos de *Piper aduncum* nas maiores concentrações (folhas 30mg/mL e raízes 30mg/mL). Isso confirma que entre os extratos das duas plantas avaliadas, a ação inseticida de *Piper aduncum* ocorre no menor espaço de tempo, principalmente das raízes, que em 12 horas alcançou a mortalidade média de 28%.

### **6.3 Efeitos das concentrações dos extratos na mortalidade**

Os extratos de raízes de *Palicourea marcgravii* e de folhas e raízes de *Piper aduncum* apresentaram a maior concentração de efeito observado (MCEO) de 10 mg/mL e a concentração de nenhum efeito observado (CNEO) abaixo de 10 mg/mL. O extrato de folhas de *Palicourea marcgravii* teve a MCEO igual a 30 mg/mL e a CNEO menor que 30 mg/mL. Observou-se que os extratos de raízes de *Palicourea marcgravii* e de folhas e de raízes de *Piper aduncum* podem ocasionar mortalidade ou não na concentração abaixo de 10mg/mL e, o extrato de folhas de *Palicourea marcgravii* pode causar mortalidade ou não na concentração abaixo de 30 mg/mL. Porém, com relação ao extrato de folhas de *Palicourea marcgravii*, foi observado, em teste piloto realizado, que o seu uso nas concentrações de 10 e 20 mg/mL causa mortalidade.

### **6.4 Toxicidade aguda de *Palicourea marcgravii* e *Piper aduncum***

De acordo com a Tabela 21, os valores da  $CL_{50}$  foram considerados, estatisticamente, diferentes quando os seus IC-95% não se sobrepuseram. Observou-se que o extrato aquoso de folhas de *Palicourea marcgravii* apresentou menor toxicidade  $CL_{50} = 39,9\text{mg/mL}$  e foi

considerado, estatisticamente, diferente dos demais extratos apresentados na referida Tabela, devido não ter havido sobreposição entre os seus intervalos de confiança.

O extrato aquoso de raízes *Palicourea marcgravii* apresentou maior toxicidade  $CL_{50} = 12,4$  mg/mL, porém não foi considerado estatisticamente diferente dos extratos aquosos de folhas e raízes de *Piper aduncum*, pois os seus intervalos de confiança se sobrepuseram. Isso significa que os três extratos, estatisticamente, possuem semelhante ação inseticida para causar a mortalidade de 50% dos insetos.

Da análise dos resultados expostos na Tabela 22, verificou-se que os valores do  $TL_{50}$  foram considerados, estatisticamente diferentes, quando os seus IC-95% não se sobrepuseram. Observou-se que o extrato aquoso de raízes de *Piper aduncum* atingiu 50% de mortalidade no menor tempo de exposição que os demais extratos apresentados na referida Tabela, com o  $TL_{50} = 22,3$  horas, sendo considerado estatisticamente diferente dos extratos aquosos de folhas e raízes de *Palicourea marcgravii*, pois seus intervalos de confiança não se sobrepuseram. Porém, não foi considerado estatisticamente diferente do extrato aquoso de folhas de *Piper aduncum*, devido ter ocorrido sobreposição entre os seus intervalos de confiança.

O extrato aquoso de folhas de *Palicourea marcgravii* atingiu 50% de mortalidade no maior tempo de exposição que os outros extratos, apresentando  $TL_{50} = 41,2$  horas. Porém, não foi considerado estatisticamente diferente dos extratos aquosos de raízes de *Palicourea marcgravii* e de folhas de *Piper aduncum*, pois os seus intervalos de confiança se sobrepuseram.

## 7 CONCLUSÕES

A avaliação da ação inseticida dos extratos aquosos de folhas e raízes de *Palicourea marcgravii* e *Piper aduncum* nas diferentes concentrações, no presente trabalho, possibilitou a elaboração das seguintes conclusões:

O extrato de raízes de *Palicourea marcgravii* apresentou maior toxicidade ( $CL_{50} = 12,4$  mg/mL), porém, estatisticamente, não apresentou diferença significativa dos extratos de *Piper aduncum* (folhas e raízes  $CL_{50} = 20,9$  mg/mL e  $20,2$  mg/mL, respectivamente);

O extrato de raízes de *Piper aduncum* foi tóxico em menor tempo de exposição ( $TL_{50} = 22,3$  horas) que os extratos de folhas de *Piper aduncum* ( $TL_{50} = 30,2$  horas) e extratos de *Palicourea marcgravii* (folhas e raízes  $TL_{50} = 41,2$  e  $34,9$  horas, respectivamente), porém, estatisticamente, não apresentou diferença significativa em relação ao extrato de folhas de *Piper aduncum*, mas foi diferente significativamente dos extratos de folhas e raízes de *Palicourea marcgravii*.

Dentre os extratos avaliados, o mais indicado, de acordo com os estudos realizados, é o extrato de folhas de *Piper aduncum*. Esse extrato apresentou um alto potencial inseticida sobre adultos de *Aetalion sp.*, com a vantagem de que a *Piper aduncum* é encontrada em

grande quantidade na região amazônica, tornando a coleta das folhas bastante acessível, não agredindo o meio ambiente, pois não causa a morte da planta. Apesar dos extratos de raízes de *Piper aduncum* e *Palicourea marcgravii* terem apresentado um grande poder inseticida, não são indicados, devido à dificuldade de encontrar a *Palicourea marcgravii* na região, além da coleta das raízes levar a morte das plantas, causando, assim, impacto ambiental;

Os extratos aquosos de folhas e raízes de *Palicourea macgravii* e *Piper aduncum* apresentaram ação inseticida sobre o inseto *Aetalion sp.*, entretanto, estudos mais aprofundados sobre a composição química dos extratos e sua toxicidade sobre organismos não-alvo (benéficos) devem ser feitos, antes de recomendá-los como inseticidas.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 18, p. 265-266, 1925.

ABREU JUNIOR, H. A. **Práticas alternativas de controle de pragas e doenças**. São Paulo: Emopi, 1998. 115p.

ALBUQUERQUE, J. M. Identificação de plantas invasoras de culturas da região de Manaus. **Acta Amazonica**, v.10, p. 47-95, 1980.

ALVES, S. B.; SILVEIRA NETO, S.; VENDRAMIM, J. D. Pragas dos citros. In: FUNDAÇÃO DE ESTUDO AGRÍCOLA LUIZ DE QUEIROZ. **Curso de entomologia aplicada à agricultura**, Piracicaba, 1992. p.540-570.

BASTOS, C. N.; SILVA, D. H. M. M.; GUIMARÃES, E. F.; ANDRADE, E. H. A.; MAIA, J. G. S. **Atividade bactericida e composição de óleos essenciais de *Piper spp.*** Documentos, IAC, Campinas, 2003. 74p.

BHUIYAN, M. K. R; HASSAN, E; ISMAN, M. B. Growth inhibitory and lethal effects of some botanical insecticides and potential synergy by dilapiol in *Spodoptera litura* (Fab.) (Lepdoptera Noctuidal). **Journal of Plant Disease and Protection**, n.108, p. 82-88, 2001.

BORROR, D. J.; DELONG, D. M. **Introdução ao estudo dos insetos**. São Paulo: Edgar Blücher, 1988. 652p.

BURKE, B; NAIR, M. Phanylpropene benzoic acid and flavonoid derivatives from fruits of Jamaican Piper species. **Phytochemistry**, v.25, n.6, p.1427-1430, 1986.

CORRÊA, M. P; PENNA, L. A. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Desenvolvimento florestal, 1984. v.1, p.138.

\_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, 1978. v.6, p.139.

CRUZ, G. L. **Dicionário das plantas úteis do Brasil**. Rio de Janeiro, 1979. 587p.

DOBEREINER, J.; TOKARNIA, C. H. Intoxicação de bovinos pela “erva de rato” (*Palicourea marcgravii* St. Hil.) no Vale do Itapicuru, Maranhão. **Arquivos do Instituto de Biologia Animal**, Rio de Janeiro, v.2, p.83-91, 1959.

FIGUEIRA, G. M.; DUARTE, M. C. T.; SILVA, C. A. L.; DELARMELINA, C. Atividade antimicrobiana do extrato e do óleo essencial de *Piper spp* cultivadas na coleção de germoplasmas do CPQBA-Unicamp. **Hortic. Brás.**, v.21, n.2, p. 403, jul. 2003. Suplemento 1.

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

GALLO, D.; NAKANO, O.; NETO, S. S.; CARVALHO, R. P.; BATISTA, G. C.; FILHO, E. B.; ZUCCHI, R. H.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D. **Manual de entomologia agrícola**. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres, 1988. 649 p.

GALLO, D.; NAKANO, O.; WIENDL, F. M.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L. **Manual de entomologia**: pragas das plantas e seu controle. São Paulo: Agronômica Ceres, 1970. 858p.

GONÇALVES, C. R. O gênero *Acromyrmex* no Brasil. **Studia Ent.**, v.4, n.1-4, p.113-180, 1961.

HOEHNE, F. C. Plantas tóxicas e suspeitas da flora brasileira. *Palicourea marcgravii* St. Hil. (*Psychotria maregravii* Spreng.). Herva-de-rato verdadeira. **Rev. Ind. Animal**, S. Paulo, v.2, n.8, p.873-881, 1932.

LAINETTI R.; BRITO, N. R. S. **A saúde pelas plantas e ervas do mundo inteiro**. Rio de Janeiro: Tecnoprint, 1980. 163p.

MAIA, J. G. S.; ZOHBI, M. G. B.; ANDRADE, E. H. A.; SANTOS, A. S.; SILVA, M. H. L. da; LUZ, A. I. R.; BASTOS, C. N. Constituents of the essential oil of *Piper aduncum* L. growing wild in the Amazon region. **Flavour and Fragrance Journal**, v.13, p.269-272, 1998.

MAIA, J. G. S.; ZOGHBI, M. G. B.; ANDRADE, E. H. **Plantas aromáticas na Amazônia e seus óleos essenciais**. Belém: Museu Paraense Emílio Goeldi, 2001. 173p. (Coleção Adolpho Ducke).

MARICONI, F. A. M. **As saúvas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1970. 167p.

MATOS, J. M. D. **As plantas que curam também podem matar**. Fortaleza: Edições UFC, 1970.

MORANDIM, A. A.; NAVICKIENE, H. M. D.; REGASINI, L. O.; CORDON, T.; FERRI, A. F.; AGRIPINO, D.; CAVALHEIRO, A. J.; LOPES, M. N.; MARQUES, M. O. M.; YOUNG, M. C. M.; KATO, M. J.; BOLZANI, V. S.; FURLAN, M. **Constituição e atividade antifúngica dos óleos essenciais das folhas e caules de *Piper aduncum* L, *P. arboreum* Aublet e *P. tuberculatum* Jacq e dos frutos de *P. aduncum* L. e *P. tuberculatum* Jacq**. Documentos, IAC, Campinas, 2003. 74p.

MOREIRA, D. L.; GUIMARÃES, E. F.; KAPLAN, M. A. A Chromene from *Piper aduncum*. **Phytochemistry**, v.48, n. 6, p. 1075-1077, 1998.

NODA, H. **Duas décadas de contribuições do INPA a pesquisa agrônômica no trópico úmido**. Manaus: INPA/MCT, 2002. 329p.

OKUNADE, A. L.; HUFFORD, C. D.; CLARK, A. M.; LENTZ, D. Antimicrobial Properties of the constituents of *Piper aduncum*. **Phytotherapy research**, v. 11, p.142-144, 1997.

OLIVEIRA, L. C. P.; NUNOMURA, S. M.; POHLIT, A. M.; PAGNOCA, F. C.; MAUSE, R. A. Análise de marcadores químicos de *Piper aduncum* por Clae. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PLANTAS MEDICINAIS, 18, 2004, Manaus. **Resumos...** Manaus: INPA/FDB, 2004. p. 37.

ORJALA, J.; ERDELMEIER, C. A. J.; WRIGHT, A. D.; RALI, T.; STICHER, O. Two chromenes and a prenylated benzoic acid derivative from *Piper aduncum*. **Phytochemistry**, v.34, n.3, p.813-818, 1993.

ORJALA, J.; WRIGHT, A. D.; BEHRENDT, H.; FOLKERS, G.; STICHER, O. Cytotoxic and antibacterial dihydrochalcones from *Piper aduncum*. **Journal of Natural Products**, v.57, n.1, p.18-26, 1994.

PACHECO, G.; CARNEIRO, V. Estudos experimentais sobre plantas tóxicas. Intoxicação dos animais pela “erva de rato da mata”. **Revista da Sociedade Paulista de Medicina Veterinária.**, Rio de Janeiro, v.2, n. 2-3, p. 23-46, 1932.

PENTEADO, S. R. **Defensivos alternativos e naturais**. 2.ed. São Paulo: Grafimagem, 2000. 90p.

PIMENTEL, D.; ACQUAIL, H.; BILTON, M. Environmental and social costs of pesticide use. **Biociense**, v.42, n.10, p.750-760, 1992.

PRANCE, G. T.; SILVA, M. F. da. **Árvores de Manaus**. Manaus: CNPq/INPA. 1975. p.170-172.

RIBEIRO, J. D.; CASTRO, A. P.; TAVARES, R. Uso de plantas tóxicas no controle de formigas cortadeiras (HYMENOPTERA; FORMICIDAE) no Amazonas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE DEFENSIVOS AGRÍCOLAS NATURAIS. Fortaleza. **Resumos...** Fortaleza, 2000. p. 53

RIBEIRO, J. D.; SILVA, N. M.; QUEIROZ, M. V. B.; BUSTAMANTE, N. C. **Técnicas de procedimentos entomológicos**. Manaus: EDUA, 2000. 268p.

ROSARIO, A. A. S. e; PENEIREIRO, F. M. GONÇALO, E. N.; OLIVEIRA, A. C. de; BRILHANTE, N. A. **Avaliação técnica do plantio adensado em sistemas agroflorestais com relação ao controle de plantas invasoras**. Disponível em: [http://www.agrofloresta.net/artigos/plantio\\_adensado\\_saf\\_peneireiro.pdf](http://www.agrofloresta.net/artigos/plantio_adensado_saf_peneireiro.pdf). Acesso em: 01 dez 2004.

SAINT-HILAIRE, M. A. de. **Histoire des plantes les plus remarquables du Brésil et du Paraguay; comprenant leur description, et des dissertations sur leurs rapports, leurs usages, etc**. Paris: Tome Premier. 1924. p. 231-232.

SANTOS, J. H. R.; GADELHA, J. W.; PIMENTEL, J. V. F.; JÚLIO, P. V. M. R. **Controle alternativo de pragas e doenças**. Fortaleza: EUFC, 1988. 227p.

TOKARNIA, C. H.; DOBEREINER, J. E **Intoxicação experimental por *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae) em bovinos e coelhos**. [S.l.; s.n].1978.

TOKARNIA, C. H.; DOBEREINER, J. E; SILVA, M. F. **Plantas tóxicas da Amazônia**. Manaus: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/INPA, 1979. 95p.

TOXRAT®. **Software for statistical analysis of biotests**. Germany: ToxRat solution GmbH, 2003. 1CD-ROM

VANETTI, F. **Entomologia agrícola**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa. 1983. 303p. (Reimpressão).

VÉRAS, S. M; YUYAMA, K. Controle da vassoura-de-Bruxa do cupuaçuzeiro por meio de extrato de *Piper Aduncum L.* In: CONGRESSO BRASILEIRO DE DEFENSIVOS AGRÍCOLAS NATURAIS, 2000, Fortaleza. **Resumos...** Fortaleza, 2000. p. 32.

VÉRAS, S. M; YUYAMA, K. Atividade antagônica “in vitro” do óleo essencial e extrato de pimenta longa (*Piper aduncum*) no crescimento de *Ralstonia solanacearum* raças 1 e 2. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 34, São Pedro, SP. **Resumos...** Fitopatologia Brasileira, Brasília-DF, 2001. p.274.

VIEIRA, L. S. **Manual de medicina popular:** a fitoterapia da Amazônia. Belém: Faculdade de Ciências Agrárias do Pará. 1991. 248p.

YUNCKER, T. G. **Hoehnea** – The Piperaceae of Brazil. São Paulo: Instituto de Botânica, v.2, p.99, 102, 1975.

ZAR, J. H. **Biostatistical analysis.** 2nd ed. Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall, 1984. 718p.

ZUCHI, R. A.; VENDRAMIM, J. D.; BERTI FILHO, E. Importância dos insetos e manejo de pragas. In: FUNDAÇÃO DE ESTUDOS AGRÁRIOS LUIZ DE QUEIROZ. **Curso de entomologia aplicada à agricultura.** Piracicaba. Ed. Ceres, 1992. p.1-3.