

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS  
Programa de Pós-Graduação em Parasitologia



Dissertação

**Bioatividade de extratos aquosos de *Eucalyptus* sp.  
L'Hér. (Myrtaceae) e *Melia azedarach* L. (Meliaceae) sobre  
*Musca domestica* L. (Diptera, Muscidae)**

**Sabrina Rodrigues Quadro de Freitas**

Pelotas, 2008

**Sabrina Rodrigues Quadro de Freitas**

**BIOATIVIDADE DE EXTRATOS AQUOSOS DE *Eucalyptus* sp.  
L'HÉR. (MYRTACEAE) E *Melia azedarach* L. (MELIACEAE) SOBRE  
*Musca domestica* L. (DIPTERA, MUSCIDAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Parasitologia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (Área de conhecimento: Parasitologia).

Orientador: Prof. Dr. Paulo Bretanha Ribeiro  
Co-orientadora: Profa. Dra. Fátima Tereza Alves Beira

Pelotas, 2008

Dados de catalogação na fonte:  
Ubirajara Buddin Cruz – CRB-10/901  
Biblioteca de Ciência & Tecnologia - UFPel

F866b Freitas, Sabrina Rodrigues Quadro de  
Bioatividade de extratos aquosos de *Eucalyptus* sp. L'Hér.  
(Myrtaceae) e *Melia azedarach* L. (Meliaceae) sobre *Musca  
domestica* L. (Diptera, Muscidae) / Sabrina Rodrigues Quadro  
de Freitas ; orientador Paulo Bretanha Ribeiro ; co-orientador  
Fátima Tereza Alves Beira. – Pelotas, 2008. – 78f. ; il. color. –  
Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em  
Parasitologia. Departamento de Microbiologia e Parasitologia.  
Instituto de Biologia. Universidade Federal de Pelotas.  
Pelotas, 2008.

1.Parasitologia. 2.Extrato aquoso. 3.Deterrência.  
4.*Eucalyptus* sp. 5.*Melia azedarach*. 6.*Musca domestica*.  
I.Freitas, Sabrina Rodrigues Quadro. II.Beira, Fátima Tereza  
Alves. III.Título.

CDD: 614.4322

**Banca Examinadora:**

Prof. Dr. Paulo Bretanha Ribeiro (UFPel - Presidente)

Profa. Dra. Adriane Maria Delgado Menezes (UFPel)

Profa. Dra. Élvia Elena Silveira Vianna (UCPel)

Profa. Dra. Nara Amélia Farias (UFPel)

*Dedico meu trabalho ao meu esposo  
Wanderley, por seu amor incondicional e  
aos meus pais Ney e Vera, a quem devo  
tudo o que sou hoje.*

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, simplesmente por tudo.

À Universidade Federal de Pelotas, em especial ao Departamento de Microbiologia e Parasitologia (IB), por contribuir para minha formação desde o ingresso no curso de graduação em Ciências Biológicas.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de estudos, essencial para a realização deste trabalho.

Ao meu orientador e amigo Prof. Paulo Bretanha Ribeiro, pela amizade, dedicação e orientação em todos esses anos, tendo aceitado mais esse desafio. Obrigada por estar sempre disposto a ensinar e compartilhar seus valiosos conhecimentos. Obrigada pelo seu bom humor, simplicidade e paciência e por ter contribuído para minha vida pessoal e profissional.

À Prof. Fátima Tereza Alves Beira, pela co-orientação neste trabalho e pelas valiosas contribuições.

À Coordenação e professores do Programa de Pós-Graduação em Parasitologia, pela oportunidade e pelos ensinamentos transmitidos durante o curso.

Aos professores e funcionários do Departamento de Microbiologia e Parasitologia (IB), em especial à Profa. Gladis Aver Ribeiro e a Rodrigo Veiga Lima os quais, sempre vieram em meu auxílio durante a realização deste trabalho.

Ao meu grande amor Wanderley Freitas, pelo carinho, amor e apoio em todas as minhas decisões. Obrigada por ter compreendido a minha ausência e por me dar ânimo para nunca desistir, mesmo nos piores momentos. És fundamental para minha vida!

Aos meus pais Ney Roberto Quadro e Vera Lúcia Quadro, pelo amor, dedicação e apoio em todas as etapas percorridas, sempre me incentivando a continuar e nunca desistir. Obrigada por serem exemplos na minha vida e terem me ensinado a ser uma pessoa de caráter, que busca seus objetivos, respeitando os

dos outros. Obrigada por terem me proporcionado o bem mais precioso da vida: a educação.

À minha irmã Sandra Quadro, pelo carinho, amizade e por estar presente em todos os momentos da minha vida.

Aos meus queridos amigos e colegas do laboratório de Biologia e Taxonomia de Insetos (UFPel), pelo ótimo convívio e por estarem ao meu lado em todos os momentos, em especial à Adriane Menezes, Cristine Zimmer, Dani Araújo, Graciela Saalfeld, Juliano Duarte, Marcial Cárcamo e Rosiane Brandão, pelas contribuições e auxílio na elaboração deste trabalho.

À minha família e amigos de verdade, que torcem sempre por mim e vibram com as minhas vitórias. Vocês são indispensáveis para minha vida!

Aos amigos que conquistei durante o curso de mestrado, pelos momentos de descontração e trocas de experiência.

A todas as pessoas que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho, muito obrigada!

## RESUMO

Freitas, Sabrina Rodrigues Quadro de. **Bioatividade de extratos aquosos de *Eucalyptus* sp. L'Hér. (Myrtaceae) e *Melia azedarach* L. (Meliaceae) sobre *Musca domestica* L. (Diptera, Muscidae).** 2008. 78f. Dissertação (Mestrado em Parasitologia) – Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS.

Os extratos de origem vegetal têm sido amplamente estudados visando-se obter uma alternativa eficaz e ecologicamente viável para o controle de pragas. O estudo de substâncias com bioatividade deterrente seletiva, que atuem sobre o comportamento, desenvolvimento e performance reprodutiva dos insetos, é de extrema importância, a fim de se evitar os problemas causados pelo uso de inseticidas químicos não seletivos. Baseado na importância de *Musca domestica* L. (Diptera, Muscidae) devido ao alto potencial de veiculação de patógenos e ocorrência em altas populações, e na carência de estudos sobre os efeitos de extratos vegetais sobre os insetos, realizou-se o presente estudo, com o objetivo de avaliar a bioatividade deterrente de extratos aquosos de *Eucalyptus* sp. L'Hér. (Myrtaceae) e *Melia azedarach* L. (Meliaceae) sobre larvas de *M. domestica* e a influência do extrato aquoso de *M. azedarach* sobre o comportamento de oviposição desse inseto. Para avaliar a influência dos extratos aquosos de *Eucalyptus* sp. e *M. azedarach* sobre larvas de *M. domestica* foram utilizadas as concentrações de 5 e 10%, sendo estabelecidas três réplicas para cada tratamento, além do grupo controle. Foram utilizadas 50 larvas de primeiro estágio de *M. domestica* para cada réplica, sendo os extratos aquosos oferecidos junto ao substrato de alimentação das larvas, utilizando-se água para o grupo controle. As larvas foram acompanhadas até atingirem o estágio de pupa e emergência dos adultos, sendo estimado o período larval; mortalidade larval; período pupal; peso das pupas; mortalidade pupal; razão sexual; peso das fêmeas; número de ovos; investimento reprodutivo; morfometria da asa e tamanho da tibia e mortalidade total. Com exceção das variáveis, período larval e pupal, que tiveram uma redução significativa no tratamento com extrato aquoso a 10%, o fitoextrato de *Eucalyptus* sp. não influenciou significativamente nas variáveis analisadas, não interferindo no desenvolvimento de *M. domestica*. Por outro lado, o extrato aquoso de *M. azedarach*, em ambas as concentrações, provocou aumento do período larval, redução de peso das pupas e das fêmeas, redução de tamanho das fêmeas, diminuição do número de ovos e investimento reprodutivo, maior mortalidade, além de redução do período pupal na concentração de 5%, exercendo bioatividade negativa sobre características biométricas e morfométricas, promovendo a redução da performance reprodutiva. A influência do extrato aquoso de *M. azedarach* a 10% no comportamento de oviposição de *M. domestica* foi estimada através da oferta simultânea e independente do fitoextrato em sítios de oviposição, sendo estabelecidas três réplicas para cada tratamento. Os resultados revelaram que tanto na oferta isolada como na oferta simultânea, houve redução significativa do número de ovos, aumento do período de pré-oviposição, do tempo letal médio e da longevidade das fêmeas, na tentativa de cumprir a performance reprodutiva, demonstrando a bioatividade deterrente dessa planta.

Palavras-Chaves: Extrato aquoso; deterrência; *Eucalyptus* sp.; *Melia azedarach*; *Musca domestica*.

## ABSTRACT

Freitas, Sabrina Rodrigues Quadro de. **Bioactivity of aqueous extracts of *Eucalyptus* sp. L'Hér. (Myrtaceae) and *Melia azedarach* L. (Meliaceae) on *Musca domestica* L. (Diptera, Muscidae).** 2008. 78p. Dissertation (Master Degree in Parasitology) – Biology Institute, Federal University of Pelotas, Pelotas, RS.

The extracts of vegetal origin have been largely studied with the aim of obtaining an efficient and ecologically viable alternative to the control of plagues. The study of substances with selective deterrent bioactivity that affects insect's behavior, development and reproductive output is extremely important to avoid the problems caused by non selective chemical insecticides. Based in the importance of *Musca domestica* L. (Diptera, Muscidae) due to its high potential of carrying pathogens, its occurrence in high populations and in the lack of studies about the effects of vegetal extracts over insects, the present study was carried out with the objective of evaluating the deterrent bioactivity of aqueous extracts of *Eucalyptus* sp. L'Hér. (Myrtaceae) and *Melia azedarach* L. (Meliaceae) over larvae of *M. domestica* and the influence of the aqueous extract of *M. azedarach* on the oviposition behavior of this insect. To evaluate the influence of the aqueous extracts of *Eucalyptus* sp. and *M. azedarach* on larvae of *M. domestica*, concentrations of 5 and 10% were used establishing three replicates for each treatment, despite the control group. The larvae were examined until they reached the pupa stage and the adults emergency, estimating the pupal period, larval mortality, pupal period, weight of the pupae, pupal mortality, sexual reason, weight of females, number of eggs, reproductive output, morphometry of the wing and tibia and total mortality. In exception of the larval and pupal variables - that had a significant reduction in the treatment with 10% aqueous extract – the extract of *Eucalyptus* sp. did not significantly influenced the analyzed variables, not interfering in the development of *M. domestica*. In the other hand the aqueous extract of *M. azedarach*, in both concentrations, caused an increase in the larval period, reduction of the weight of the pupas and females, reduction of the females body, decrease in the reproductive output and egg production, higher mortality, despite of a decrease in the pupal period in the 5% concentration, promoting negative bioactivity on biometric and morphometric characteristics and a reduction in the reproductive output. The influence of the aqueous extract of *M. azedarach* at 10% on the behavior of *M. domestica* was estimated by the simultaneous offer and independent offer of the extract in oviposition sites, establishing three replicates for each treatment. The results revealed that in both types of offer there was a significant reduction in the number of eggs, increase in the pre oviposition period, in the medium lethal period and in the longevity of females, attempting to accomplish the reproductive output, showing the deterrent bioactivity of this plant.

Key Words: Aqueous extract; deterrency; *Eucalyptus* sp.; *Melia azedarach*; *Musca domestica*.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Câmara climatizada do Laboratório de Biologia de Insetos do Departamento de Microbiologia e Parasitologia/IB – UFPel.....	27
Figura 2	Adultos de <i>Musca domestica</i> em gaiola de criação no Laboratório de Biologia de Insetos – UFPel.....	28
Figura 3	Recipiente contendo substrato alimentar para o desenvolvimento larval, no interior de um funil adaptado para coleta de larvas pós-alimentar, encaixado a um frasco com serragem úmida para pupariação das larvas de <i>Musca domestica</i> , em condições de laboratório.....	28
Figura 4	Recipiente contendo serragem úmida, para o cultivo de pupas de <i>Musca domestica</i> , em condições de laboratório.....	29
Figura 5	Desidratação das folhas de <i>Eucalyptus</i> sp. e <i>Melia azedarach</i> em estufa, a 45°C por 48h.....	29
Figura 6	Moinho elétrico utilizado para trituração das folhas secas de <i>Eucalyptus</i> sp. e <i>Melia azedarach</i> para obtenção de pó.....	30
Figura 7	Processos de maceração e filtração dos fitoextratos de <i>Eucalyptus</i> sp. e <i>Melia azedarach</i> . A – Frascos contendo pó das folhas em água destilada, por 24h; B – Frascos com extratos cobertos por papel alumínio; C – Filtração do extrato aquoso.....	30
Figura 8	Frascos contendo meio de cultura, com larvas de <i>Musca domestica</i> . A – Em recipiente contendo serragem úmida; B – Cobertos com organza e mantidos em estufa B.O.D.....	32
Figura 9	Frascos contendo serragem úmida, com pupas de <i>Musca domestica</i> , mantidos em estufa B.O.D. para emergência.....	32
Figura 10	Desenho esquemático da asa de <i>Musca domestica</i> mostrando os pontos adotados para as medidas morfométricas (LOMÔNACO e GERMANOS, 2001).....	33

Figura 11	Gaiola de <i>Musca domestica</i> com oferta simultânea de sítios de oviposição com extrato aquoso de <i>Melia azedarach</i> a 10% e sem extrato aquoso.....	51
Figura 12	Gaiola de <i>Musca domestica</i> contendo sítios de oviposição. A – Com extrato aquoso de <i>Melia azedarach</i> a 10%; B – Sem extrato aquoso.....	51
Figura 13	Gaiolas de <i>Musca domestica</i> , em triplicata, contendo sítios de oviposição para avaliação da bioatividade do extrato aquoso de <i>Melia azedarach</i> sobre o comportamento de oviposição.....	52
Figura 14	Placa contendo meio de oviposição, com ovos de <i>Musca domestica</i> .....	52
Figura 15	Influência do extrato aquoso de <i>Melia azedarach</i> a 10% sobre o comportamento de oviposição de <i>Musca domestica</i> , através da oferta simultânea de sítios de oviposição com e sem fitoextrato.....	55
Figura 16	Influência do extrato aquoso de <i>Melia azedarach</i> a 10% sobre o comportamento de oviposição de <i>Musca domestica</i> , através da oferta isolada de sítios de oviposição com e sem fitoextrato.....	57
Figura 17	Mortalidade diária de fêmeas e machos de <i>Musca domestica</i> , em gaiolas contendo sítios de oviposição, com extrato aquoso de <i>Melia azedarach</i> a 10%.....	61
Figura 18	Mortalidade diária de fêmeas e machos de <i>Musca domestica</i> , em gaiolas contendo sítio de oviposição, sem extrato aquoso de <i>Melia azedarach</i> .....	62
Figura 19	Mortalidade diária de fêmeas e machos de <i>Musca domestica</i> , em gaiolas com oferta simultânea de sítios de oviposição, com e sem extrato aquoso de <i>Melia azedarach</i> a 10%.....	64

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Influência do extrato aquoso de <i>Eucalyptus</i> sp. a 5% e 10%, sobre variáveis biométricas e morfométricas de <i>Musca domestica</i> .....	35
Tabela 2	Influência do extrato aquoso de <i>Melia azedarach</i> a 5% e 10%, sobre variáveis biométricas e morfométricas de <i>Musca domestica</i> .....	40
Tabela 3	Influência do extrato aquoso de <i>Melia azedarach</i> a 10%, sobre o comportamento de oviposição de <i>Musca domestica</i> , oferecido simultaneamente em sítios de oviposição com e sem fitoextrato.....	53
Tabela 4	Influência do extrato aquoso de <i>Melia azedarach</i> a 10%, oferecido em sítios de oviposição isolados, sobre o comportamento de oviposição de <i>Musca domestica</i> .....	56
Tabela 5	Frequência de oviposição de <i>Musca domestica</i> em sítios de oviposição, com e sem extrato aquoso de <i>Melia azedarach</i> a 10%, através da oferta simultânea e isolada.....	58
Tabela 6	Influência do extrato aquoso de <i>Melia azedarach</i> a 10%, oferecido em sítios de oviposição com e sem fitoextrato, em gaiolas separadas, na longevidade de fêmeas de <i>Musca domestica</i> .....	62
Tabela 7	Influência do extrato aquoso de <i>Melia azedarach</i> a 10%, oferecido em sítios de oviposição com e sem fitoextrato, em gaiolas separadas, na longevidade de machos de <i>Musca domestica</i> .....	63
Tabela 8	Influência do extrato aquoso de <i>Melia azedarach</i> a 10% oferecido em sítios de oviposição como única alternativa ou simultaneamente com sítio sem fitoextrato, na longevidade de fêmeas de <i>Musca domestica</i> .....	65
Tabela 9	Influência do extrato aquoso de <i>Melia azedarach</i> a 10% em sítio de oviposição, oferecido simultaneamente com sítio sem fitoextrato, na longevidade de fêmeas de <i>Musca domestica</i> , comparado à não oferta do fitoextrato.....	65

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	<b>13</b>
<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>15</b>
<b>METODOLOGIA GERAL.....</b>	<b>23</b>
<b>CAPÍTULO 1 – BIOATIVIDADE DE EXTRATOS AQUOSOS DE <i>Eucalyptus</i> sp. L'Hér. e <i>Melia azedarach</i> L. SOBRE DESENVOLVIMENTO DE LARVAS DE <i>Musca domestica</i> L.....</b>	<b>24</b>
1. INTRODUÇÃO.....	24
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	27
2.1 Manutenção da colônia de <i>Musca domestica</i> .....	27
2.2 Preparo de extratos aquosos de <i>Eucalyptus</i> sp. e <i>Melia azedarach</i> .....	29
2.3 Avaliação da bioatividade de fitoextratos sobre larvas de <i>Musca domestica</i> .....	31
2.4 Análise Estatística.....	33
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
3.1 Bioatividade de extrato aquoso de <i>Eucalyptus</i> sp. sobre larvas de <i>Musca domestica</i> .....	33
3.2 Bioatividade de extrato aquoso de <i>Melia azedarach</i> sobre larvas de <i>Musca domestica</i> .....	38
4. CONCLUSÕES.....	44
<b>CAPÍTULO 2 – INFLUÊNCIA DO EXTRATO AQUOSO DE <i>Melia azedarach</i> L. SOBRE O COMPORTAMENTO DE OVIPOSIÇÃO DE <i>Musca domestica</i> L.....</b>	<b>46</b>
1. INTRODUÇÃO.....	46

2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	49
2.1 Manutenção da colônia de <i>Musca domestica</i> .....	49
2.2 Preparo do extrato aquoso de <i>Melia azedarach</i> .....	50
2.3 Influência do extrato aquoso de <i>Melia azedarach</i> sobre o comportamento de oviposição de <i>Musca domestica</i> .....	50
2.4 Análise Estatística.....	52
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	53
4. CONCLUSÕES.....	67
<b>DISCUSSÃO GERAL</b> .....	68
<b>CONCLUSÕES GERAIS</b> .....	70
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	71

## INTRODUÇÃO GERAL

Os insetos apresentam grande importância, tanto do ponto de vista ecológico, como médico e veterinário. Do ponto de vista ecológico, exercem papel importante na manutenção da biodiversidade, atuando como polinizadores, predadores, parasitos ou parasitóides, ou ainda servindo de alimento para outras espécies animais, participando assim, da cadeia alimentar e contribuindo para o equilíbrio populacional de diversas espécies. Além disso, espécies necrófagas fazem parte da reciclagem da biomassa, atuando na decomposição de cadáveres. Por outro lado, algumas espécies de insetos, causam incômodo ao homem e outros animais, sendo importantes veiculadores de inúmeros patógenos, como bactérias, vírus, fungos, protozoários e helmintos, representando um problema de saúde pública.

Entre as espécies de insetos de importância na saúde humana e animal, destaca-se a *Musca domestica* (Linnaeus, 1758), díptero da família Muscidae, de ampla distribuição geográfica, altamente sinantrópico. Esta espécie está associada, normalmente, a ambientes com pouca sanitização, como lixões urbanos e granjas de bovinos, suínos e aves, sendo frequentemente encontrada no ambiente domiciliar, ocorrendo em altas populações.

O controle de *M. domestica*, feito basicamente com o uso de produtos químicos não seletivos, tem ocasionado diversos problemas, entre eles, prejuízos aos organismos benéficos, surgimento de populações resistentes e contaminação ambiental. Com base nesses fatores têm sido estudados novos métodos de controle, que sejam menos agressivos ao meio ambiente, causem menor impacto ao ecossistema e garantam a manutenção de populações de insetos não alvo, como é o caso dos inimigos naturais.

Entre as alternativas estudadas destacam-se os inseticidas produzidos a partir de extratos vegetais, os quais tem demonstrado ação negativa contra diversas espécies de insetos, despertando o interesse de pesquisadores. O uso de

fitoextratos para o controle de insetos, por tratar-se de produtos naturais que fazem parte do ecossistema, pode ser uma estratégia viável, diminuindo o impacto sobre o ambiente. Entretanto, cabe salientar a necessidade de estudos detalhados tanto sobre a ação desses compostos na população que se pretende controlar, como em relação à ação inseticida do produto e seu efeito em longo prazo, ou seja, sobre as gerações futuras. A avaliação do impacto desses produtos sobre os agroecossistemas é extremamente importante, pois, embora sejam produtos naturais, podem exercer o mesmo efeito do que um produto químico sintético, se aplicado de forma incorreta e indiscriminada.

Avaliar a bioatividade específica de extratos de plantas, sobre o ciclo de *M. domestica*, bem como de outros insetos, é importante para a determinação do melhor método e forma de aplicação dos derivados vegetais a serem utilizados no seu controle. Com o trabalho, buscou-se estudar a bioatividade deterrente de extratos de plantas sobre os insetos, tendo em vista que métodos seletivos reduzem os problemas gerados pelo uso de produtos químicos sintéticos, representando uma alternativa eficaz e viável a ser implantada.

O uso de extratos de plantas para redução das populações de insetos, associado a outros métodos de controle, tais como físico e biológico, representa uma estratégia viável, uma vez que sistemas auto-sustentáveis de produção requerem métodos menos agressivos que, preferencialmente, façam parte do agroecossistema e, assim, mais duradouros.

## REVISÃO DE LITERATURA

A *Musca domestica* (Linnaeus, 1758) (Diptera, Muscidae) é um inseto de importância na saúde pública e animal que se desenvolve em quase todos os tipos de matéria orgânica em decomposição ou fermentação, sendo considerada um inseto praga devido às altas populações em que é encontrada, representando um importante problema de saúde pública (FATCHUROCHIM et al., 1989; MARICONI et al., 1999) pelo alto potencial de veiculação de patógenos e pelo incômodo que causa.

De acordo com Axtell e Arends (1990) a ocorrência de *M. domestica* é considerada um grande problema em granjas de criação de aves e de gado, onde o acúmulo de fezes, juntamente com restos de alimentos desses animais, constitui um ótimo substrato para o desenvolvimento de seus estágios imaturos.

O controle dessa e da maioria das espécies de insetos de importância médica e veterinária é realizado, basicamente, com a aplicação de inseticidas organossintéticos, o que acarreta diversos problemas diretos e indiretos (GINARTE, 2003). Segundo Marcondes (2001), o uso de inseticidas químicos apresenta várias limitações. Os inseticidas não seletivos constituem uma forte pressão de seleção sobre os insetos, podendo levar à supressão populacional de inimigos naturais, causando a dependência crescente de seu uso, além do surgimento de populações resistentes.

A aplicação em grandes áreas e o uso continuado de inseticidas causam uma maior poluição ambiental. Além disso, o uso de inseticidas químicos com período residual longo pode provocar acúmulo na cadeia alimentar, bem como resíduos nos alimentos, o que gera danos às espécies.

De acordo com Omoto (2000), os efeitos adversos de inseticidas químicos sobre a saúde e o meio ambiente têm direcionado ao desenvolvimento de moléculas com maior seletividade a organismos não alvos, entre eles, os inimigos naturais de

pragas. A evolução de resistência de insetos a inseticidas tem se tornado um dos grandes entraves em programas de controle de pragas, o que tem levado à busca de novos sítios de ação, bem como ao conhecimento do modo de ação de inseticidas, fundamental em programas de manejo da resistência de insetos considerados pragas.

Dentre as conseqüências da evolução da resistência estão: a aplicação mais freqüente de inseticidas; aumento na dosagem; uso de misturas indevidas; e substituição por um outro produto, geralmente de maior toxicidade. Esses fatores comprometem os programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP), em vista da maior contaminação do meio ambiente com produtos químicos, dos efeitos prejudiciais ou destruição de organismos benéficos, da intoxicação dos aplicadores, além da elevação nos custos de controle da praga (OMOTO, 2000).

Os problemas gerados pelo uso indiscriminado de inseticidas têm levado à busca de novas estratégias de controle, incluindo a utilização de produtos naturais que sejam menos agressivos ao meio ambiente e tenham um bom resultado, com um baixo custo (GINARTE, 2003). Entre os métodos avaliados, destacam-se os inseticidas obtidos a partir de extratos vegetais, os quais têm merecido grande atenção (OMOTO, 2000). Porém, em relação a *M. domestica*, as informações sobre esse tipo de controle são ainda bastante restritas, o que levou à realização do presente estudo.

As plantas constituem um recurso importante para milhares de espécies de insetos fitófagos. Cada parte da planta torna-se uma fonte alimentar para determinada fase do inseto (adulta ou imatura). A evolução das plantas e dos insetos está intimamente ligada, pois os insetos foram um fator importante na seleção de determinadas características evolutivas das plantas, e estas determinaram várias adaptações nos insetos. Embora cerca de 67% das plantas floríferas sejam polinizadas por insetos, algumas espécies também podem danificá-las. A principal estratégia de defesa vegetal é a química, realizada por determinados compostos tóxicos depositados nas folhas, ou em outras partes, ou por compostos indigeríveis presentes nos tecidos em altas concentrações, tais como taninos, resinas e sílica (RUPPERT e BARNES, 1996).

As substâncias químicas extraídas das plantas, normalmente são classificadas em metabólitos primários e em metabólitos secundários. Os metabólitos primários são substâncias necessárias para o desenvolvimento

fisiológico da planta e possuem um papel importante no metabolismo celular básico. Por outro lado, os metabólitos secundários são substâncias que não tem função no metabolismo primário da planta, mas frequentemente tem um papel ecológico como atrativo de polinizadores, defesa contra microrganismos, insetos e predadores e, até mesmo, contra outras plantas. Os metabólitos secundários são sintetizados em células especializadas e em estágios de desenvolvimento distintos, sendo utilizados comercialmente como produtos farmacêuticos ou inseticidas (BALANDRIN, 1985 apud VIVAN, 2005).

Os compostos secundários dos vegetais são substâncias produzidas em pequenas quantidades, sem valores nutritivos (salvo raras exceções) e suscetíveis de influir no crescimento, no comportamento ou em qualquer outro aspecto da biologia das espécies. No caso das relações plantas-insetos, esses compostos podem ser tanto produtos repulsivos ou atrativos como inibidores ou tóxicos. Os compostos secundários com ação *qualitativa* são substâncias nitrogenadas tóxicas, cuja concentração nos tecidos é em geral pequena, sendo encontrados em vegetais anuais, cujo surgimento é efêmero, ou nas espécies vegetais raras. Os insetos especializados na exploração desses vegetais adquiriram certa tolerância aos compostos tóxicos ou possuem mecanismos de desintoxicação. Por outro lado, os compostos secundários com ação *quantitativa* reduzem o poder digestivo dos insetos que os ingerem, ou agem impedindo os insetos de se alimentar. Trata-se de taninos, resinas ou ligninas, cuja concentração costuma ser superior a 20%, encontrados nos vegetais perenes e especialmente nas árvores ou vegetais de maior ocorrência (DAJOZ, 2005).

As substâncias do metabolismo secundário de plantas têm demonstrado grande potencial no controle de insetos pragas, por atuarem como repelentes, deterrentes ou intoxicantes. O conhecimento da especificidade dessas substâncias, bem como, da concentração necessária para o controle das populações é importante para evitar o surgimento de problemas semelhantes aos causados pelo uso de produtos químicos. De acordo com Roel (2001), os estudos de plantas com propriedades inseticidas foram retomados após a constatação de graves problemas de contaminação ambiental causados pela utilização de produtos químicos.

São conhecidos milhares de compostos secundários vegetais, destacando-se os alcalóides, aminoácidos, cumarinas, flavonóides, lipídeos, ácidos fenólicos, quinonas, terpenos e proteínas. Essas substâncias, além de agirem como

fagoestimulantes ou como fagorrepressores, costumam ter uma ação sobre o desenvolvimento e a reprodução dos insetos, sendo encontradas nas plantas substâncias análogas de hormônios que podem afetar o crescimento, a muda e a metamorfose. Além disso, as plantas podem emitir semioquímicos que são localizados pelos predadores ou parasitóides de insetos herbívoros, que geralmente localizam suas presas, o que é considerado uma defesa indireta (DAJOZ, 2005).

Os taninos são substâncias do metabolismo secundário das plantas, classificados como substâncias quantitativas, por serem redutores digestivos, com efeito proporcional à concentração (STRONG et al., 1984). Reduzem significativamente o crescimento e a sobrevivência de insetos, uma vez que inativam enzimas digestivas e criam um complexo de taninos-proteínas de difícil digestão (MELLO e SILVA-FILHO, 2002). Variedades de sorgo (*Sorghum vulgare* Pers.) com alto teor de taninos prolongam o ciclo de ovo a adulto e diminuem o peso dos descendentes de *Sitophilus zeamais* Most. (Coleoptera, Curculionidae) (LARCHER, 2000). No trabalho de Cavalcante et al. (2006), as espécies que causaram maiores índices de mortalidade nas formas jovens de *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889) (Homoptera, Aleyrodidae) foram as que apresentaram as maiores concentrações de tanino.

Outro grupo de substâncias importantes são os alcalóides. Segundo Strong et al. (1984), são compostos secundários ácidos, não-protéicos, com ação qualitativa, agindo mesmo em pequenas quantidades. São particularmente tóxicos para insetos e, freqüentemente, causam sua morte (MELLO e SILVA-FILHO, 2002).

Panizzi e Parra (1991) mencionam que o conhecimento de que a planta do piretro, *Chrysanthemum cinerariaefolium* Vis. (Asteraceae), possui propriedades inseticidas, conduziu à síntese de substâncias análogas, os piretróides sintéticos, mais estáveis e com baixo custo de produção. De acordo com Neves (2004), os piretróides apresentam alto poder letal sobre os insetos, baixo poder residual, são inodoros, de baixa toxicidade para mamíferos e aves e alta eficácia contra diferentes grupos de artrópodes como moscas, mosquitos, baratas, formigas, triatomíneos e carrapatos. Grainge e Ahmed (1988) citam que as plantas e seus derivados têm mostrado atividade contra ácaros, roedores, nematódeos, bactérias, vírus, fungos e insetos. Segundo Neves (2004), o estudo de produtos vegetais análogos aos inseticidas sintéticos iniciou em vista dos problemas de resistência e desequilíbrio ecológico causado pelo uso desses produtos.

A utilização de compostos tóxicos de origem vegetal não é uma técnica recente, já que seu uso no controle de pragas era bastante comum nos países tropicais antes do advento dos inseticidas sintéticos. Os primeiros inseticidas botânicos utilizados foram a nicotina, extraída da *Nicotiana tabacum* L. (Solanaceae), a piretrina extraída do piretro *C. cinerariaefolium*, a rotenona extraída de *Derris* spp. e *Lonchocarpus* spp. (Fabaceae), a sabadina e outros alcalóides extraídos da sabadila *Schoenocaulon officinale* A. Gray (Liliaceae) e a rianodina extraída de *Rhynchospora speciosa* (Flacourtiaceae) (LAGUNES e RODRÍGUEZ, 1989). Entretanto, esses inseticidas praticamente deixaram de ser usados com o surgimento dos inseticidas organossintéticos, os quais se mostravam mais eficientes e baratos (VENDRAMIM e CASTIGLIONI, 2000).

Dentre as plantas inseticidas estudadas, *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae), conhecida no Brasil como nim, nime ou nime asiático, é considerada a mais importante. Utilizada no controle de insetos em alguns países asiáticos há mais de 2000 anos, apresenta uma série de compostos limonóides, dentre os quais a azadiractina é o que ocorre em maior concentração, apresentando maior atividade tóxica contra insetos, sendo encontrada em várias partes da planta, principalmente nas sementes (VENDRAMIM e CASTIGLIONI, 2000). Sua atividade inseticida já foi referida para mais de 400 espécies de insetos, das quais mais de 100 ocorrem no Brasil (PENTEADO, 1999). As principais vantagens do nim em relação a várias outras plantas inseticidas são: a atividade sistêmica, eficiência em baixas concentrações, baixa toxicidade a mamíferos e menor probabilidade de desenvolvimento de resistência pela ocorrência de um complexo de princípios ativos (VENDRAMIM e CASTIGLIONI, 2000). Os bons resultados obtidos com o nim têm estimulado a pesquisa com outras plantas da família Meliaceae como *Melia azedarach* L. (conhecida como cinamomo, santabárbara, jasmim-de-soldado ou pára-raios) e *Trichilia pallida* Sw. (catiguá) (MORDUE e BLACKWELL, 1993; RODRÍGUEZ HERNÁNDEZ e VENDRAMIM, 1996), além de diversas outras famílias botânicas.

De acordo com Jacobson (1989), as espécies botânicas mais promissoras, como fontes de substâncias inseticidas, pertencem às famílias Anacardiaceae, Annonaceae, Asteraceae, Cannellaceae, Lamiaceae, Meliaceae, Myrtaceae e Rutaceae. Vendramim e Castiglioni (2000) citam ainda, como mais importantes, as famílias: Acanthaceae, Apocynaceae, Araceae, Celastraceae, Clusiaceae,

Euphorbiaceae, Fabaceae, Flacourtiaceae, Liliaceae, Piperaceae, Ranunculaceae, Sapotaceae, Simaroubaceae, Solanaceae, Vernenaceae e Zingiberaceae.

No Brasil, nos últimos anos, com o crescimento da agricultura orgânica e agroecológica, muitas plantas com atividade inseticida vêm sendo utilizadas no controle de insetos na lavoura e criação animal, em substituição aos inseticidas sintéticos. Entre as principais plantas que estão sendo utilizadas citam-se: a *Ruta graveolens* L. (Rutaceae) (arruda), *M. azedarach* (cinamomo), *Annona reticulata* L. (Annonaceae) (anona), *Piptadenia* spp. Benth. (Fabaceae) (angico), *Allium sativum* L. (Liliaceae) (alho), *Derris urucu* (Killip et Smith) (Fabaceae) (timbó), *Lupinus albus* L. (Fabaceae) (tremoço), *Eucalyptus* sp. L'Hér. (Myrtaceae) (eucalipto), *Coleus* sp. (Lamiaceae) (boldo), *Prunus persica* (L.) (Rosaceae) (pessegueiro), *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze (Araucariaceae) (pinheiro), *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf (Poaceae) (cana-de-cheiro) e *Phytolacca dioica* L. (Phytolaccaceae) (umbu) (AVANCINI, 1994; ABREU JÚNIOR, 1998; BURG e MAYER, 2001).

Há diversas formas de se utilizar as plantas inseticidas, sendo mais comum o seu emprego na forma de pós secos, óleos e extratos aquosos ou orgânicos (metanólico, alcoólico, butanólico, clorofórmico, hexânico etc.). Os pós e extratos aquosos, por serem de fácil obtenção e aplicação, constituem-se na melhor opção para o agricultor de baixa renda, que normalmente não dispõe de recursos econômicos e técnicos para aquisição e aplicação dos produtos sintéticos (VENDRAMIM e CASTIGLIONI, 2000).

Outro aspecto importante a ser considerado na produção do fitoextrato é a parte do vegetal utilizado. Segundo Souza e Vendramim (2000), o efeito tóxico de um vegetal varia em função da estrutura utilizada no preparo do extrato. Isto se deve ao fato de os compostos secundários não estarem distribuídos uniformemente. A utilização de diferentes partes da planta, como folhas, ramos, frutos e sementes, tem sido registrada em vários trabalhos, revelando resultados distintos, como o de Rodríguez Hernández (1995), que ao comparar o efeito de diferentes estruturas vegetais de *M. azedarach* sobre *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), verificou que extratos dos ramos tiveram efeitos deterrentes, enquanto os de folhas e frutos foram fagoestimulantes.

O tipo de resistência em que a planta hospedeira provoca efeitos adversos ao inseto denomina-se antibiose (VENDRAMIM e CASTIGLIONI, 2000). Esses efeitos, decorrentes da alteração do metabolismo do inseto, incluem repelência, inibição de

oviposição e da alimentação, alterações no sistema hormonal, causando distúrbios no desenvolvimento, deformações, infertilidade e mortalidade nas diversas fases (ROEL, 2001), além de redução no tamanho, peso, longevidade e fecundidade dos adultos (VENDRAMIM e CASTIGLIONI, 2000).

Alguns extratos de plantas, ou suas combinações ativas isoladas possuem ação inseticida aguda ou crônica como reguladores de crescimento ou redutores da alimentação de diferentes espécies de insetos (SHAPIRO et al., 1994). Vendramim e Castiglioni (2000) citam que a azadiractina e os limonóides, presentes na *A. indica*, provocam redução da fecundidade e esterilidade de ovos e o cineol, presente em *Eucalyptus* sp., provoca redução da digestibilidade.

Segundo Roel (2001), a extensão dos efeitos e o tempo de ação são dependentes da dosagem utilizada, de maneira que a morte ocorre nas dosagens mais elevadas e os efeitos menos intensos e mais duradouros nas dosagens menores. A utilização de doses subletais causa redução das populações a longo prazo e necessita de menores quantidades de produtos, enquanto que as doses letais muitas vezes tornam sua utilização inviável pela grande quantidade necessária.

Extratos de *M. azedarach* têm sido muito eficientes no controle de insetos-praga, como *S. frugiperda*, *Helicoverpa zea* Boddie (Lepidoptera, Arctiidae) e *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera, Acrolepiidae), causando mortalidade, redução no consumo foliar, redução na porcentagem de eclosão de larvas e prolongando o período larval (McMILLIAN et al., 1969; RODRÍGUEZ HERNÁNDEZ, 1995; CHEN et al., 1996).

Poucos trabalhos têm sido realizados avaliando a ação de extratos vegetais sobre *M. domestica*. Ferreira et al. (2006), avaliaram a ação inseticida e repelente de extratos hexano e clorofórmio de *Asclepia curassavica* (Linnaeus) (Asclepiadaceae) sobre adultos desse inseto. Através da aplicação tópica, os autores constataram que os dois extratos testados apresentaram atividade inseticida frente a *M. domestica*, sendo que o extrato clorofórmio foi o mais ativo, em concentrações mais baixas. No trabalho de Ahmed et al. (1981), o pó da folha e da haste da planta *Tylophora indica* (Burm. F.) Merr., planta da mesma família, demonstrou eficácia no controle de larvas de *M. domestica* com mortalidade de até 78%, na concentração de 10%, em laboratório.

Para a caracterização da bioatividade dos inseticidas vegetais podem ser utilizados diversos parâmetros. Em condições de laboratório os parâmetros mais avaliados comumente são oviposição, consumo de alimento (em testes com e sem chance de escolha), duração do ciclo biológico, peso, tamanho, mortalidade das fases imatura e adulta, fecundidade, fertilidade e alterações morfogênicas. Os tratamentos podem ser efetuados em plantas no campo, em folhas ou discos foliares em laboratório, através da incorporação em dietas artificiais, mistura com grãos ou produtos armazenados, ou através de aplicação tópica nos insetos (VENDRAMIM e CASTIGLIONI, 2000).

As plantas utilizadas no presente estudo foram *Eucalyptus* sp. (eucalipto), pertencente à família Myrtaceae e *M. azedarach* (cinamomo), da família Meliaceae. Ambas são plantas perenes, cultivadas na nossa região em abundância, o que viabilizou o trabalho. A escolha foi baseada na publicação de trabalhos testando o efeito de seus extratos para o controle de insetos, os quais têm revelado resultados promissores (ABDEL HALIM e MORSY, 2005; GINARTE, 2003; CHAGAS et al., 2002; RODRÍGUEZ HERNÁNDEZ, 1995; SUKONTASON et al. 2004a; SUKONTASON et al., 2004b; VENDRAMIM e SCAMPINI, 1997).

O controle de insetos, através de produtos naturais extraídos de plantas, por apresentarem seletividade e eficácia contra várias espécies de insetos-praga, além de baixa toxicidade para o homem e animais (SCHMUTTERER, 1987; SAXENA, 1989), é compatível com os propósitos dos programas de Manejo Integrado de Pragas.

## METODOLOGIA GERAL

O trabalho foi realizado no Laboratório de Biologia de Insetos, do Departamento de Microbiologia e Parasitologia do Instituto de Biologia (IB), da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Campus Capão do Leão, RS.

Para a realização dos experimentos foi mantida uma colônia de *M. domestica* em câmara climatizada, com temperatura, umidade e fotofase controladas, conforme Ribeiro et al. (2001).

O estudo foi realizado em duas etapas. Na primeira etapa, foi avaliada a bioatividade de extratos aquosos de folhas de *Eucalyptus* sp. e *M. azedarach* nas concentrações de 5% e 10%, sobre larvas de *M. domestica*, utilizando-se larvas de primeiro estágio, obtidas a partir da colônia de manutenção do laboratório. As larvas foram alimentadas com dieta contendo os fitoextratos, sendo acompanhadas até atingirem o estágio adulto, estimando-se diferentes variáveis.

Na segunda parte do estudo, foi avaliada a ação do fitoextrato de *M. azedarach* a 10%, sobre o comportamento de oviposição de *M. domestica*. Para isso, foram utilizados adultos desse inseto, obtidos da colônia de manutenção. O teste foi feito oferecendo-se sítios de oviposição contendo o fitoextrato e sem o fitoextrato, de forma simultânea ou isolada, como única alternativa.

Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística através do programa Statistix 8 (2003).

## CAPÍTULO 1

### **BIOATIVIDADE DE EXTRATOS AQUOSOS DE *Eucalyptus* sp. L'Hér. e *Melia azedarach* L. SOBRE DESENVOLVIMENTO DE LARVAS DE *Musca domestica* L.**

#### **1. INTRODUÇÃO**

O método convencional para o controle de insetos em curto prazo é basicamente o uso de inseticidas químicos. No entanto, as aplicações massivas produzem freqüentemente o risco do surgimento de populações resistentes, além de deixarem resíduos no ambiente, atingindo diversas espécies animais. De acordo com Sukontason et al. (2004a), os bioinseticidas baseados em compostos naturais de plantas, revelam-se ser uma alternativa possível como inseticidas seletivos, eficazes e toxicologicamente seguros.

Espécies com atividade deterrente (negativa) são encontradas em diversas famílias vegetais. Segundo Jacobson (1989) entre as espécies botânicas mais promissoras, como fontes de substâncias inseticidas, encontram-se as plantas das famílias Meliaceae e Myrtaceae, as quais têm sido amplamente estudadas, revelando bioatividade negativa sobre determinados grupos de insetos.

A família Meliaceae é conhecida por conter uma variedade de compostos, que mostram atividade inseticida, antialimentar, modificadora e reguladora do crescimento e desenvolvimento dos insetos (D'AMBROSIO e GUERRIERO, 2002).

A espécie *Melia azedarach* L. (Meliaceae) (cinamomo) é reconhecida há muito tempo por suas propriedades inseticidas. Esta árvore cresce tipicamente nas regiões tropicais e subtropicais de Ásia, mas é cultivada hoje em dia também em outras regiões quentes do mundo pela sua tolerância climática considerável. Os extratos do fruto de *M. azedarach* demonstram uma variedade de efeitos nos

insetos, tais como inibição da alimentação, do crescimento, queda na fecundidade, defeitos morfogenéticos, e mudanças no comportamento (HAMMAD et al., 2001; GAJMER et al, 2002; BANCHIO et al., 2003; WANDSCHEER et al., 2004).

Resultados de pesquisas com *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae), considerada por alguns autores a mais eficiente planta inseticida (RODRÍGUEZ HERNÁNDEZ, 1995; VENDRAMIM, 1997), mostram que esta espécie é capaz de provocar inibição alimentar nos insetos, redução da motilidade intestinal, inibição da biossíntese da quitina, deformações em pupas e adultos, redução na fecundidade, alteração da longevidade, esterilização, inibição da oviposição e mortalidade de formas imatura e adulta (MORDUE e BACKWELL, 1993; SCHMUTTERER, 1988).

O potencial inseticida de plantas da família Meliaceae tem sido avaliado, no Brasil, em *Spodoptera frugiperda* (Smith) e *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917), ambas as espécies de lepidópteros, tendo resultados promissores com algumas espécies como *Trichilia pallida* Sw. e *M. azedarach* (RODRÍGUEZ HERNÁNDEZ e VENDRAMIM, 1997; ROEL, 1998; THOMAZINI, 1999; TORRECILLAS, 1997; VENDRAMIM e SCAMPINI, 1997).

Plantas da família Myrtaceae também têm demonstrado efeito deterrente sobre algumas espécies de insetos. O potencial inseticida de *Eucalyptus globulus* Labill tem sido avaliado, com resultados promissores. Abdel Halim e Morsy, (2005) ao avaliarem a atividade inseticida do óleo dessa espécie, contra a maturação larval e emergência dos adultos de *Musca domestica* (Linnaeus, 1758) (Diptera, Muscidae), encontraram uma taxa de mortalidade larval de 100% e 90%, em concentrações que variavam de 100% a 0,1%. Além disso, não houve emergência de adultos, que receberam o tratamento na fase de larva. Os autores recomendam o uso deste produto para controle de larvas de *M. domestica*.

Sukontason et al. (2004a), avaliando a ação do óleo de eucalipto sobre adultos de *M. domestica*, constataram que os machos foram mais susceptíveis que as fêmeas. Os mesmos autores observaram que *M. domestica* é mais susceptível que *Chrysomya megacephala* (F.) (Diptera, Calliphoridae), e o óleo de eucalipto reduz a emergência de adultos de *M. domestica*.

Em outro trabalho, Sukontason et al. (2004b), utilizando microscopia eletrônica de varredura, observaram algumas alterações ultraestruturais superficiais em larvas de terceiro ínstar de *M. domestica* e de *C. megacephala* induzidas pelo óleo de eucalipto. Ao mergulharem as larvas em 0,902g.mL<sup>-1</sup> de eucaliptol por 30

segundos, os autores observaram que o tegumento das larvas, de ambas as espécies, mostraram fortes alterações na superfície corporal com edema de tegumento, formação de bolhas, fenda parcial e deformação dos espinhos.

Nathan (2007) avaliou a ação do extrato obtido a partir do óleo essencial de *Eucalyptus tereticornis* Sm. (Myrtaceae) contra estágios maduros e imaturos do mosquito *Anopheles stephensi* Liston (Diptera, Culicidae) sob condições de laboratório. O extrato obtido do óleo das folhas mostrou uma alta bioatividade larvicida, pupicida e adulticida, em doses elevadas.

Ginarte (2003) avaliou a atividade larvicida de 10 extratos aquosos de plantas de diferentes famílias, em larvas de *M. domestica*, através da mistura dos extratos no meio de cultura para as larvas. A autora observou que o extrato de folhas secas de *Chenopodium ambrosioides* L. (Chenopodiaceae) e o extrato de folhas frescas de *Allium porum* L. (Liliaceae) foram tóxicos para as larvas deste inseto.

De acordo com Gallo et al. (2002), a bioatividade de produtos vegetais pode produzir vários efeitos nos insetos como repelência, inibição da oviposição e da alimentação, inibição do crescimento, alterações no sistema hormonal, alterações morfogênicas, alterações do comportamento sexual, esterilização dos adultos e mortalidade na fase imatura ou adulta, sendo que a mortalidade é apenas um dos efeitos e nem sempre deve ser o objetivo principal da avaliação da bioatividade de extratos vegetais. O autor refere que o objetivo principal deve ser reduzir, ou se possível, impedir a oviposição e alimentação do inseto e, conseqüentemente o crescimento da população.

De acordo com Procópio et al. (2003), o controle de pragas de produtos armazenados com o emprego de pós vegetais pode ser resultante da repelência ou toxicidade desses produtos, o que se reflete no menor crescimento da população do inseto.

Shin-Foon e Yu-Tong (1993), citam que as plantas com ação inseticida são fontes de substâncias bioativas, compatíveis com programas de Manejo Integrado de Pragas para o controle de insetos, podendo ser associado a outros métodos de controle, mantendo a dinâmica ambiental, sem deixar resíduos químicos e sem prejudicar ao homem e animais não alvo.

A toxicidade de uma planta contra insetos, não a qualifica necessariamente como um inseticida. Vários aspectos devem ser levados em consideração, tais como: forma de extração e conservação (armazenamento) dos extratos, eficácia em

baixas concentrações, ausência de toxicidade para mamíferos e outros animais, fácil obtenção, manipulação e aplicação e, viabilidade econômica (VIEGAS JUNIOR, 2003).

Com base nesses aspectos e na carência de estudos sobre a bioatividade de fitoextratos sobre o desenvolvimento de *M. domestica*, espécie de grande importância médica e veterinária, pelas altas populações em que ocorre e alta capacidade de transmissão de patógenos, foi desenvolvido o presente estudo, com o objetivo de avaliar a bioatividade deterrente de extratos aquosos de *Eucalyptus* sp. L'Hér. (Myrtaceae) e *M. azedarach* (Meliaceae) sobre larvas de *M. domestica*.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Manutenção da colônia de *Musca domestica*

Para a realização do trabalho, foi mantida uma colônia de *M. domestica*, pré-estabelecida e já adaptada às condições de laboratório, conforme Ribeiro et al. (2001). A colônia foi mantida em câmara climatizada a  $26 \pm 5$  °C, umidade relativa do ar, acima de 75% e fotofase de 12 horas (Fig. 1).



Figura 1 – Câmara climatizada do Laboratório de Biologia de Insetos do Departamento de Microbiologia e Parasitologia/IB – UFPel.

Os adultos foram mantidos em gaiolas teladas com dimensões de 30x30x30cm e alimentados “*ad libitum*” com dieta composta por açúcar refinado e farinha de carne, na proporção de 2:1 e água, disponibilizada em copo de Becker,

contendo pedaços de espuma de poliestireno cobrindo a superfície do líquido (Fig. 2).



Figura 2 – Adultos de *Musca domestica* em gaiola de criação no Laboratório de Biologia de Insetos – UFPel.

Para obtenção de posturas, foi oferecido aos adultos um meio constituído por farinha de carne e serragem, na proporção de 2:1, adicionando-se água até torná-lo pastoso. As posturas foram transferidas para um recipiente maior, contendo o mesmo meio, dentro de um funil de coleta. Após a eclosão, as larvas foram alimentadas até o terceiro ínstar, quando abandonaram o substrato, sendo recolhidas em um frasco contendo serragem úmida, preso à base do funil (Fig. 3). As pupas foram incubadas a 26°C, em recipientes contendo serragem úmida fechados com organza (Fig. 4), até a emergência dos adultos, os quais eram transferidos para as gaiolas da colônia, para renovação da mesma.



Figura 3 – Recipiente contendo substrato alimentar para o desenvolvimento larval, no interior de um funil adaptado para coleta de larvas pós-alimentar, encaixado a um frasco com serragem úmida para pupariação das larvas de *Musca domestica*, em condições de laboratório.



Figura 4 – Recipiente contendo serragem úmida, para o cultivo de pupas de *Musca domestica*, em condições de laboratório.

## 2.2 Preparo de extratos aquosos de *Eucalyptus* sp. e *Melia azedarach*

As folhas de *Eucalyptus* sp. e *M. azedarach*, foram coletadas em árvores adultas, no Campus da UFPel, Capão do Leão, RS, e submetidas à limpeza manual, sendo separadas dos galhos. A coleta das folhas de *M. azedarach* e de *Eucalyptus* sp. ocorreu nos meses de Abril/2007 e Julho/2007 respectivamente. Posteriormente, as folhas foram desidratadas em estufa de cultura FANEM<sup>®</sup> Modelo 002 CB, a 45°C, por 48 horas (Fig. 5). Após a desidratação foram moídas em moinho elétrico FRITSCH GmbH Pulverisette<sup>®</sup> 14, até transformação em pó (Fig. 6).



Figura 5 – Desidratação das folhas de *Eucalyptus* sp. e *Melia azedarach* em estufa, a 45°C por 48h.

Os extratos foram obtidos por maceração do pó das folhas de *M. azedarach* e de *Eucalyptus*, preparados anteriormente, em água destilada, por 24 horas, em frascos de vidro cobertos com papel alumínio evitando a exposição do extrato à luminosidade, mantidos em temperatura ambiente (Fig. 7). Após o processo de maceração os extratos resultantes foram filtrados em gaze, para posterior utilização

nos experimentos, segundo a metodologia descrita por Cavalcante et al. (2006) e Souza e Vendramim (2000), conforme a Fig. 7. Foram testadas as concentrações de 5% e 10%, das duas plantas utilizadas.



Figura 6 – Moinho elétrico utilizado para trituração das folhas secas de *Eucalyptus* sp. e *Melia azedarach* para obtenção de pó.



Figura 7 – Processos de maceração e filtragem dos fitoextratos de *Eucalyptus* sp. e *Melia azedarach*. A – Frascos contendo pó das folhas em água destilada, por 24h; B – Frascos com extratos cobertos por papel alumínio; C – Filtragem do extrato aquoso.

### **2.3 Avaliação da bioatividade de fitoextratos sobre larvas de *Musca domestica***

Para a avaliação da bioatividade dos fitoextratos de *Eucalyptus* sp. e *M. azedarach*, nas concentrações de 5% e 10%, sobre larvas de *M. domestica*, foram constituídas três réplicas para cada tratamento (tipo de extrato e concentrações), preparados anteriormente como descrito no item 2.2, sendo montado um grupo controle para cada réplica. As avaliações foram realizadas, imediatamente após o preparo dos fitoextratos (CAVALCANTE et al., 2006; SOUZA e VENDRAMIM, 2000).

Após a eclosão, 50 larvas de primeiro ínstar de *M. domestica*, para cada réplica, foram transferidas para frascos contendo 200g de dieta composta por 100g de farinha de carne e serragem, na proporção de 2:1 e 100ml de fitoextrato nas concentrações de 5% e 10%, conforme o tratamento, tornando o meio pastoso. Para o grupo controle, o fitoextrato foi substituído por H<sub>2</sub>O destilada. Conforme descrito acima, foram feitas três réplicas para cada tratamento, totalizando 150 larvas. Os frascos com os tratamentos (ração mais larvas), foram colocados no interior de recipientes maiores contendo serragem úmida até altura de 5cm, para retenção das larvas de terceiro estágio que, ao completarem o desenvolvimento, abandonam o meio (Fig. 8). Esses recipientes, contendo os tratamentos, foram cobertos com organza e mantido em estufa B.O.D. a 25°C, umidade relativa superior a 80% e fotofase de 12 horas (Fig. 8). Os meios foram observados diariamente e umedecidos com água, caso houvesse desidratação, até as larvas atingirem o estágio de pupa, estimando-se desta forma o período e a mortalidade larval. Para a avaliação do peso das pupas, as mesmas foram pesadas individualmente, com idade de 24h, em balança analítica de precisão Marte A-200, sendo transferidas para frascos de vidro contendo serragem úmida. Os frascos foram mantidos em B.O.D., nas mesmas condições descritas acima e observados diariamente até a emergência dos adultos, para estimativa do período e da mortalidade pupal (Fig. 9).

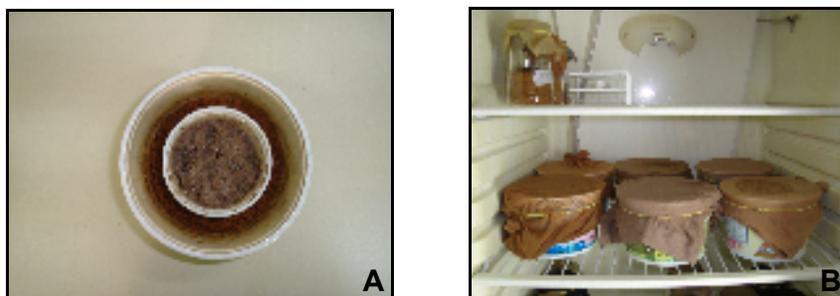


Figura 8 – Frascos contendo meio de cultura com larvas de *Musca domestica*. A – Em recipiente contendo serragem úmida; B – Cobertos com organza e mantidos em estufa B.O.D.



Figura 9 – Frascos contendo serragem úmida, com pupas de *Musca domestica*, mantidos em estufa B.O.D. para emergência.

Após a emergência, os adultos foram mantidos conforme a colônia de manutenção, item 2.1. Após 24 horas da emergência, foi fornecido meio para postura, conforme item 2.1, com a finalidade de estimular a maturação do aparelho reprodutor. O meio foi trocado diariamente, permanecendo, durante cinco dias nas gaiolas. Após quinze dias da emergência, os adultos foram anestesiados com acetato de etila, para realização da sexagem. Posteriormente, as fêmeas de cada réplica foram individualizadas, pesadas em balança analítica de precisão, tendo a asa direita e a tibia direita do terceiro par de pernas destacadas, para montagem entre lâmina e lamínula, para posteriores medições em microscópio óptico Olympus CBB, com auxílio de ocular micrométrica, num aumento de 5x. Para medição das asas das fêmeas foram adotados quatro pontos de referência, sendo medidas as distâncias entre o ponto O e os pontos A, B e C (Fig. 10) conforme Lomônaco e Germanos (2001). Por último, o abdome foi dissecado sob estereomicroscópio Olympus SZ-40 para contagem do número de ovos por fêmea e estimativa do

investimento reprodutivo, que se dá através da divisão do número total de ovos, pelo peso em gramas da fêmea, recém sacrificada (COLLINS, 1980).

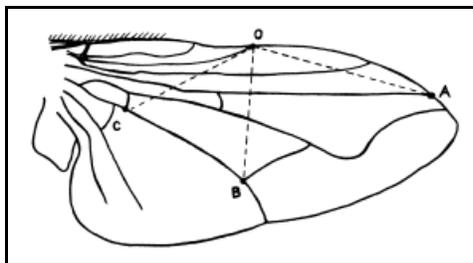


Figura 10 – Desenho esquemático da asa de *Musca domestica* mostrando os pontos adotados para as medidas morfológicas (LOMÔNACO e GERMANOS, 2001).

## 2.4 Análise Estatística

As variáveis avaliadas foram: período larval; mortalidade larval; período pupal; peso das pupas; mortalidade pupal; razão sexual; peso das fêmeas; número de ovos; investimento reprodutivo; morfometria da asa e tamanho da tíbia e mortalidade total.

A análise estatística foi realizada através do programa Statistix 8 (2003), utilizando-se o teste não-paramétrico Kruskal-Wallis, sendo as médias comparadas ao nível de 5% de significância. Os dados paramétricos foram submetidos à Análise de Variância, utilizando-se o Teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Bioatividade de extrato aquoso de *Eucalyptus* sp. sobre larvas de *Musca domestica*

O extrato aquoso de *Eucalyptus* sp. nas concentrações de 5% e 10%, oferecido para larvas de primeiro estágio de *M. domestica*, promoveu mortalidade total (larva a adulto) de 30,67% e 33,33%, respectivamente, sendo que no grupo controle a mortalidade foi de 39,33% e 25,33%, respectivamente. No trabalho

realizado por Sukontason et al. (2004a), testando eucaliptol sobre larvas de terceiro estágio de *M. domestica* e *C. megacephala*, foi observado que a emergência de *M. domestica* foi reduzida, sendo esta espécie mais susceptível que *C. megacephala*.

A mortalidade de larvas tratadas com extrato aquoso de *Eucalyptus* sp. a 5%, foi menor do que no grupo controle, sendo de 21,33% e 30%, respectivamente. Por outro lado, na concentração de 10%, o extrato provocou uma mortalidade larval maior, sendo de 28%, enquanto que no grupo controle a mortalidade foi de 20%.

O extrato aquoso de *Eucalyptus* sp. nas concentrações de 5% e 10% provocou uma mortalidade pupal de 11,86% e 7,40%, respectivamente, enquanto que no grupo controle a mortalidade foi de 13,33% e de 6,67%. Esses resultados revelam que o extrato aquoso de *Eucalyptus* sp. na concentração de 10%, causou uma maior mortalidade de pupas em relação ao grupo controle, quando comparado à concentração de 5%, embora essa diferença não possa ser considerada relevante.

Na avaliação da influência dos extratos aquosos de *Eucalyptus* sp. nas concentrações de 5% e 10% no período larval e pupal de *M. domestica* constatou-se que na concentração de 5% o fitoextrato não influenciou em nenhuma dessas variáveis. Entretanto, na concentração de 10% foi observado que o extrato provocou uma redução significativa ( $P=0,000$ ) em ambos os períodos no grupo tratado, sendo de 6,03 dias (período larval) e de 6,23 dias (período pupal) para o tratamento, e de 6,64 dias e 6,61 dias para o grupo controle, respectivamente (tab. 1). Embora sendo estatisticamente significativa, foi observado que a diferença não chegou a um dia. Esse resultado pode estar atribuído ao fato de que as observações, tanto da fase de larva como de pupa, foram realizadas em um intervalo de 24h, o que não permitiu estimar os períodos, larval e pupal, com precisão.

A análise dos dados demonstrou que as variáveis: peso das pupas, peso das fêmeas, número de ovos por fêmea, investimento reprodutivo, tamanho dos adultos (estimado pelas medições da asa e tibia) e razão sexual, não foram influenciadas significativamente ( $P<0,05$ ) pelo extrato aquoso de *Eucalyptus* sp nas concentrações de 5% e 10%, quando oferecido para a fase de larva de *M. domestica* (tab. 1).

Os resultados obtidos diferem dos achados de outros autores. Nathan (2007) avaliando a ação do extrato do óleo essencial de *E. tereticornis* contra estágios maduros e imaturos do mosquito *A. stephensi*, observou que doses mais elevadas dos extratos de folhas dessa planta suprimiram a atividade de pupas e adultos desse díptero, sendo que larvas de primeiro e segundo ínstar foram mais suscetíveis a

todos os tratamentos. O autor constatou que a maior taxa de mortalidade (quase 100%) foi atingida com a dose mais elevada do extrato da planta (160ppm). Tais diferenças podem estar relacionadas ao tipo de solvente utilizado, visto que os autores testaram uma substância purificada, além da espécie de *Eucalyptus* utilizada.

Tabela 1 – Influência do extrato aquoso de *Eucalyptus* sp. a 5% e 10%, sobre variáveis biométricas e morfométricas de *Musca domestica*.

	EXTRATO 5%		EXTRATO 10%	
	Controle	Tratamento	Controle	Tratamento
Período larval (dias)	6,33 ± 0,660 a	6,41 ± 0,860 a	6,64 ± 0,696 a	6,03 ± 0,520 b
Período pupal (dias)	6,36 ± 0,692 a	6,20 ± 0,688 a	6,61 ± 0,874 a	6,23 ± 0,764 b
Peso pupas (g)	0,024 ± 0,004 a	0,024 ± 0,002 a	0,022 ± 0,002 a	0,022 ± 0,002 a
Peso fêmeas (g)	0,021 ± 0,003 a	0,020 ± 0,002 a	0,019 ± 0,002 a	0,020 ± 0,003 a
Nº ovos/ fêmea	75,98 ± 31,872 a	67,00 ± 36,812 a	68,82 ± 36,397 a	77,12 ± 33,553 a
IR*	3.706,88	3.301,19	3.665,90	3.920,91
Tíbia (mm)	1,99 ± 0,058 a	1,98 ± 0,058 a	1,92 ± 0,075 a	1,93 ± 0,082 a
Asa OA (mm)	2,77 ± 0,082 a	2,74 ± 0,083 a	2,69 ± 0,122 a	2,71 ± 0,107 a
Asa OB (mm)	1,77 ± 0,062 a	1,76 ± 0,070 a	1,74 ± 0,081 a	1,75 ± 0,071 a
Asa OC (mm)	1,67 ± 0,042 a	1,65 ± 0,058 a	1,63 ± 0,082 a	1,64 ± 0,072 a
Razão sexual	0,44	0,55	0,59	0,44

As letras diferentes ao lado das médias entre as colunas indicam subconjuntos de valores que diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Valores correspondem à Média ± Desvio Padrão

\*IR = Investimento Reprodutivo

Sukontason et al. (2004a), ao avaliarem os efeitos do eucaliptol sobre adultos de *M. domestica* e *C. megacephala* utilizando aplicação tópica, verificaram que os machos da *M. domestica* foram mais susceptíveis que as fêmeas, com a DL50 (dose letal de 50%) sendo de 118 e 177  $\mu\text{g} \cdot \text{mosca}^{-1}$ , respectivamente. Para *C. megacephala* obtiveram a DL50 mais alta, de 197  $\mu\text{g}/\text{mosca}$  para machos e 221  $\mu\text{g}/\text{mosca}$  para fêmeas. Os autores observaram que as moscas de ambas as espécies, que sobreviveram ao tratamento, tiveram longevidade menor após o tratamento com eucaliptol.

Os extratos de *Eucalyptus* sp. têm sido testados contra diferentes grupos de artrópodes. Chagas et al. (2002) ao avaliarem a ação de óleos essenciais e concentrados emulsionáveis de *Eucalyptus citriodora* Hook (Myrtaceae), *E. globulus* e *Eucalyptus staigeriana* F. Muell. ex Bailey (Myrtaceae) contra larvas e fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) constataram que o óleo essencial de *E. citriodora* e *E. staigeriana* mataram 100% das larvas a uma concentração de 10% e *E. globulus* a 20%. No caso das fêmeas ingurgitadas, o óleo essencial de *E. citriodora* teve eficácia máxima a 25%, *E. globulus* a 10% e *E. staigeriana* a 15%. Embora os autores tenham adotado uma metodologia diferenciada, os dados obtidos revelam que as concentrações utilizadas, bem como o tipo de extrato, podem influenciar nos resultados.

Pérez-Pacheco et al. (2004) avaliaram o efeito tóxico de extratos aquosos e acetônicos de diversas plantas coletadas no México, entre elas, *Acacia farnesiana* (L.) (Fabaceae), *E. globulus* e *M. azedarach* e de alguns óleos e essências vegetais utilizadas em perfumaria, sobre larvas de *Culex quinquefasciatus* (Say) (Diptera, Culicidae) em laboratório. Os autores constataram que a mortalidade de larvas de *C. quinquefasciatus* obtida com extratos aquosos nas concentrações de 5% a 15% de 39 plantas testadas, não foi maior do que 15% em nenhum dos tratamentos. Já utilizando a concentração de 25%, os efeitos foram mais intensos, ocorrendo uma mortalidade de 20% com algumas plantas. Esse fato comprova que a concentração dos extratos influencia na ação dos compostos vegetais.

O tipo de solvente utilizado para a extração dos compostos secundários das plantas a serem testadas pode influenciar nos resultados. Os resultados sugerem que novos testes sejam executados, utilizando-se outros tipos de solventes para a extração de compostos de *Eucalyptus* sp.. A extração dos compostos através de solventes orgânicos poderia revelar resultados mais promissores em relação ao

controle de *M. domestica*. A seleção do solvente para extração de compostos secundários é um processo fundamental, em razão da solubilidade desses compostos, comparada à água utilizada como solvente.

Kathuria e Kaushik (2005), avaliaram a ação de extratos crus de folhas de *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. (Myrtaceae) e *Tylophora indica* (Burm. F.) Merr. (Asclepiadaceae) como inibidores de alimentação sobre larvas de quinto estágio de *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1805) (Lepidoptera, Noctuidae). Os extratos etanólicos de ambas as espécies de planta exibiram atividade de inibição da alimentação significativa, sendo que as concentrações de 6,9% para *E. camaldulensis* e de 2,8% para *T. indica*, causaram a redução de 50% na alimentação larval. Em relação aos extratos hexânicos de ambas as espécies, as concentrações de 9,3% e 5,2%, foram as mais eficazes, respectivamente.

Monzon et al. (1994), testaram o potencial larvicida de extratos aquosos de folhas frescas de *Annona squamosa* L. (Annonaceae), *E. globulus*, *Lansium domesticum* Correa (Meliaceae), *A. indica* e *Codiaeum variegatum* (L.) A. Juss. (Euphorbiaceae) sobre *Aedes aegypti* (L.) (Diptera, Culicidae) e *C. quinquefasciatus* através da exposição de larvas de 3º e 4º instares a sete concentrações diferentes. Ao determinarem a taxa média de mortalidade em várias concentrações, os autores constataram que *L. domesticum* e *A. squamosa* foram mais efetivos contra larvas de *A. aegypti* e *C. quinquefasciatus*, respectivamente. *A. aegypti* foi mais susceptível do que *C. quinquefasciatus*, em relação ao *L. domesticum* e *A. indica*, enquanto *C. quinquefasciatus* foi mais susceptível que *A. aegypti* em relação ao *E. globulus*, *C. variegatum* e *A. squamosa*.

Procópio et al. (2003) avaliaram a repelência, sobrevivência e emergência de adultos de *Sitophilus zeamais* Most. (Coleoptera, Curculionidae) em grãos de milho tratados com pó de partes distintas de *A. indica*, *Capsicum frutescens* L. (Solanaceae), *C. ambrosioides*, *E. citriodora*, *M. azedarach* e *Ricinus communis* L. (Euphorbiaceae), constatando que *E. citriodora* e *C. frutescens* (folhas), provocaram repelência. Os autores observaram que a única planta que afetou a sobrevivência da praga foi *C. ambrosioides* (erva-de-santa-maria), que provocou mortalidade total dos insetos infestantes e nenhuma emergência de adultos.

De acordo com Torres et al. (2001) a suscetibilidade de insetos praga a aleloquímicos extraídos de vegetais depende da estrutura e da espécie vegetal, da forma de extração e espécie do inseto. Os resultados obtidos na avaliação da

bioatividade do extrato aquoso de *Eucalyptus* sp. sobre larvas de *M. domestica* sugerem estudos posteriores utilizando-se outros tipos de solventes, outras partes da planta, além de concentrações diferentes. A não bioatividade do fitoextrato pode ter ocorrido em função da ineficácia do solvente utilizado para extração de moléculas químicas deterrentes sobre insetos, tendo em vista que em trabalhos testando óleo de eucalipto (SUKONTASON et al., 2004a; ABDEL HALIM e MORSY, 2005) os resultados mostraram-se promissores.

A utilização da água como solvente para obtenção dos fitoextratos, no presente estudo, baseou-se no fato de ser um solvente universal, de fácil acesso à população e de baixo custo. Além disso, é um componente que faz parte do ecossistema, o que torna mais viável a introdução na natureza no caso de aplicações em ecossistemas artificiais, como granjas de suínos, aves e bovinos. Vendramim e Castiglioni (2000) citam que em relação à extração, sempre que os princípios ativos forem solúveis em mais de um solvente deve-se dar preferência aos mais polares, principalmente a água, pela maior facilidade de obtenção e utilização e pela menor persistência no ambiente e menor risco de desenvolvimento de resistência. De acordo com os autores, a variação na concentração dos princípios ativos nos diversas partes vegetais e ao longo do ciclo da planta, a técnica mais adequada de extração e conservação dos extratos, a fase do inseto mais suscetível, a concentração a ser utilizada e a estabilidade após a aplicação, são fatores que devem ser conhecidos para que o emprego de inseticidas botânicos tenha sucesso.

### **3.2 Bioatividade de extrato aquoso de *Melia azedarach* sobre larvas de *Musca domestica***

Os extratos aquosos de folhas de *M. azedarach* nas concentrações de 5% e 10%, quando oferecidos para larvas de primeiro estágio de *M. domestica* promoveram uma mortalidade total (larva a adulto) maior no grupo tratado do que no grupo controle em ambas concentrações. No tratamento com fitoextrato a 5%, a mortalidade total foi de 50%, enquanto que no grupo controle a mortalidade foi de 44,67%. Por outro lado, no tratamento com fitoextrato a 10%, enquanto 59,33% das larvas tratadas não atingiram o estágio adulto, o mesmo ocorreu com 36,67% das larvas do grupo controle, resultado que revela que o fitoextrato de *M. azedarach* na concentração de 10% mostrou maior bioatividade sobre *M. domestica*.

Em relação à mortalidade larval, foi observado que a taxa de mortalidade foi maior no grupo tratado em ambas concentrações do fitoextrato. Enquanto 38,67% e 36% das larvas dos tratamentos com extrato a 5% e 10%, respectivamente, morreram, 34% e 33,33% das larvas do grupo controle não atingiram o estágio de pupa.

Diferença maior foi observada em relação à mortalidade pupal. No tratamento com extrato a 5%, enquanto 18,48% das pupas que receberam o extrato na fase de larva morreram, 16,16% do grupo controle, não atingiram o estágio adulto. No tratamento com extrato a 10% a diferença foi mais marcante, visto que apenas 5% das pupas do grupo controle morreram, enquanto que no grupo tratado ocorreu uma mortalidade de 36,46%. Esses resultados mostram que a fase de pupa foi mais susceptível ao fitoextrato de *M. azedarach*, do que a fase de larva. Essa diferença pode ser atribuída ao fato de que o fitoextrato impediu as larvas de adquirirem os nutrientes necessários para o desenvolvimento pupal e conseqüente emergência dos adultos. A fase de larva representa um estágio importante no desenvolvimento do inseto, pois dela depende o estágio de pupa e estágio adulto. A influência do fitoextrato de *M. azedarach* observada nessa fase, pode representar uma alternativa de controle da *M. domestica*.

O extrato aquoso de *M. azedarach* provocou um aumento do período larval de 1,78 dias na concentração de 5% e de 4,34 dias na concentração de 10%, diferindo significativamente ( $P=0,000$ ) do grupo controle (tab. 2).

Os resultados obtidos corroboram com os achados por Torres et al. (2001), os quais estudaram o efeito inseticida de diferentes extratos aquosos vegetais no desenvolvimento de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera, Acrolepiidae). Os autores avaliaram a duração e a viabilidade larval e pupal, utilizando folhas, ramos, cascas, frutos e raízes de 13 espécies vegetais entre elas, *M. azedarach*, e uma formulação comercial de *A. indica*, constatando que o extrato aquoso de *M. azedarach* provocou um aumento da duração da fase larval de *P. xylostella* em 3,5 dias, sendo que a mortalidade das larvas foi de 96,7%. De acordo com os autores, esse alongamento poderia ser atribuído à presença de inibidores de crescimento, deterrentes de alimentação ou substâncias tóxicas existentes nesses extratos. Esse crescimento mais lento, resultante da ingestão de *M. azedarach*, também, foi observado em lagartas de *S. frugiperda* (RODRÍGUEZ HERNÁNDEZ e VENDRAMIM, 1996).

Tabela 2 – Influência do extrato aquoso de *Melia azedarach* a 5% e 10%, sobre variáveis biométricas e morfométricas de *Musca domestica*.

	EXTRATO 5%		EXTRATO 10%	
	Controle	Tratamento	Controle	Tratamento
Período larval (dias)	7,83 ± 0,915 a	9,61 ± 1,167 b	8,25 ± 1,540 a	12,59 ± 1,821 b
Período pupal (dias)	7,70 ± 0,907 a	7,51 ± 0,685 b	6,86 ± 1,418 a	6,95 ± 1,538 a
Peso pupas (g)	0,020 ± 0,003 a	0,017 ± 0,0024 b	0,020 ± 0,002 a	0,016 ± 0,003 b
Peso fêmeas (g)	0,017 ± 0,002 a	0,015 ± 0,002 b	0,017 ± 0,002 a	0,015 ± 0,002 b
Nº ovos/ fêmea	59,80 ± 33,206 a	21,93 ± 26,459 b	44,83 ± 24,853 a	31,21 ± 24,903 b
IR*	3.377,19	1.387,96	2.644,46	2.008,33
Tíbia (mm)	1,94 ± 0,103 a	1,86 ± 0,096 b	1,96 ± 0,073 a	1,87 ± 0,084 b
Asa OA (mm)	2,81 ± 0,123 a	2,69 ± 0,125 b	2,77 ± 0,092 a	2,64 ± 0,109 b
Asa OB (mm)	1,82 ± 0,088 a	1,75 ± 0,077 b	1,81 ± 0,059 a	1,75 ± 0,060 b
Asa OC (mm)	1,70 ± 0,075 a	1,63 ± 0,109 b	1,68 ± 0,070 a	1,62 ± 0,061 b
Razão sexual	0,59	0,44	0,52	0,52

As letras diferentes ao lado das médias entre as colunas indicam subconjuntos de valores que diferem significativamente entre si, através do Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Valores correspondem à Média ± Desvio Padrão

\*IR = Investimento Reprodutivo

Esse resultado demonstra que possivelmente as larvas prolongaram o seu período de desenvolvimento, na tentativa de alcançar o peso mínimo necessário para pupariação. De acordo com Torres et al. (2001), o alongamento juntamente com a mortalidade da fase larval, se resultante da aplicação de extratos vegetais torna-se muito importante, pois poderão aumentar o tempo de exposição da praga às condições bióticas e abióticas desfavoráveis, bem como o tempo médio de cada geração, reduzindo o crescimento populacional e conseqüentemente as populações

subseqüentes. Estando mais tempo no ambiente, ficariam mais suscetíveis a predadores, patógenos e parasitóides, os quais reduzem naturalmente as populações desta espécie praga.

O período pupal no tratamento com extrato de *M. azedarach* a 5%, sofreu uma redução estatisticamente significativa ( $P=0,005$ ). Porém, esse resultado possivelmente pode estar atribuído a um erro experimental, visto que as larvas tratadas com extrato a 10% não sofreram influência significativa no seu período pupal ( $P=0,264$ ) conforme a tab. 2, o que deveria ter ocorrido com o aumento da concentração, caso o extrato realmente influenciasse nesse estágio de desenvolvimento. Esse resultado corrobora com o trabalho de Torres et al. (2001), no qual, o extrato de *M. azedarach* não influenciou na duração da fase pupal de *P. xylostella*.

Souza e Vendramim (2000) avaliando a bioatividade de extratos aquosos de folhas de *M. azedarach* e de ramos de *T. pallida*, sobre a mortalidade e duração dos estágios de ovo e ninfa da mosca branca, *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889) (Homoptera, Aleyrodidae) biótipo B, concluíram que os extratos das duas plantas testadas, em concentrações variáveis de 1% e 3%, têm efeito ovicida sobre esse inseto. Porém, mesmo na maior concentração, não afetam a duração dos períodos de incubação e ninfal.

Em relação ao efeito do extrato aquoso de *M. azedarach* a 5% e 10% sobre o peso das pupas de *M. domestica*, foi constatado que houve influência significativa nesta variável ( $P=0,000$ ) havendo uma redução de peso, nas pupas do grupo tratado em ambas as concentrações (tab. 2). Esse resultado reforça a hipótese de que o fitoextrato, em ambas concentrações, exerce efeito negativo sobre larvas de *M. domestica*, fazendo com que estas não obtenham todos os recursos necessários para o seu desenvolvimento e conseqüentemente originem pupas menores.

A redução de peso na fase de pupa traz efeitos negativos ao inseto. Pupas menores originam adultos menores, que conseqüentemente terão uma menor performance reprodutiva. Essa hipótese pôde ser comprovada no presente estudo, visto que as fêmeas alimentadas na fase larval com o fitoextrato nas duas concentrações testadas, tiveram uma redução significativa no peso ( $P<0,05$ ), sendo que o peso médio nos dois tratamentos foi igual em ambos os grupos, tratado e não tratado, como pode ser observado na tab. 2. Esse resultado pode explicar a redução significativa ( $P<0,05$ ) do número de ovos das fêmeas, também ocorrida nos dois

grupos tratados (tab. 2). Zimmer et al. (2006), trabalhando com *Muscina stabulans* (Fallén, 1817) (Diptera, Muscidae), constataram que fêmeas menores produzem menor número de ovos.

Houve redução do investimento reprodutivo das fêmeas submetidas aos tratamentos na fase de larva, em ambas as concentrações (tab. 2), embora no tratamento com extrato a 5% essa redução tenha sido maior. Isso reforça a hipótese de que o extrato aquoso de cinamomo possui uma ou mais substâncias de ação deterrente contra *M. domestica* que provoca a redução populacional dessa espécie.

A influência do extrato aquoso de *M. azedarach* no tamanho dos adultos de *M. domestica* pôde ser comprovada através da análise morfométrica feita pelas medições da tíbia e da asa das fêmeas dos dois tratamentos. O fitoextrato, em ambas as concentrações, influenciou de forma significativa no comprimento da tíbia ( $P < 0,05$ ) e nas medidas de asa OA, OB e OC ( $P < 0,05$ ), sendo que as fêmeas originadas de larvas que receberam extrato foram menores do que as fêmeas do grupo controle (tab. 2). Esse resultado indica que o extrato de cinamomo a 5% e 10% pode interferir no desenvolvimento de *M. domestica*, fazendo com que sejam originados adultos menores, os quais conseqüentemente terão uma menor performance reprodutiva, fato que pode provocar um decréscimo na população, conforme discutido anteriormente.

Em relação ao número de fêmeas e machos, em ambos tratamentos, observou-se uma tendência de 50% de cada sexo, demonstrando que o fitoextrato não influenciou na razão sexual dessa espécie (tab. 2).

Muitos trabalhos têm demonstrado os efeitos de diferentes tipos de extratos de *M. azedarach* sobre várias espécies de insetos, demonstrando a possibilidade de utilização dessa planta como alternativa de controle para espécies pragas. Salles e Rech (1999), avaliaram o efeito de extratos de *A. indica* e *M. azedarach*, ambas contendo azadiractina, sobre o desenvolvimento e viabilidade larval e pupal, e deformação de pupas e adultos da mosca-das-frutas *Anastrepha fraterculus* (Wied.) (Diptera, Tephritidae). Os autores testaram o nim nas formulações de torta e líquida, e o cinamomo na formulação de pó seco, utilizando frutos macerados de ambas as plantas para obtenção das mesmas, constatando que independente da formulação o nim demonstrou possuir ação inseticida sobre ovos, larvas e pupas de *A. fraterculus* causando redução da viabilidade larval e na viabilidade pupal, além de deformações

das pupas, enquanto que nos tratamentos com pó de cinamomo, os efeitos foram menos marcantes.

Rodríguez Hernández (1995), comparando o efeito de diversos extratos de *M. azedarach* sobre lagartas de quarto ínstar de *S. frugiperda*, verificou que o extrato de caule (ramos) foi deterrente, enquanto os extratos de folhas e de frutos foram fagoestimulantes sobre esse inseto, resultado que permite inferir que há variação nos componentes químicos presentes nas estruturas vegetais dessa planta.

Mordue e Blackwell (1993) afirmaram que insetos tratados ou alimentados com azadiractina, substância presente em *M. azedarach*, apresentam inibição de crescimento, morte de larvas durante o processo de ecdise, alongamento da fase larval, deformações de pupas e adultos, redução na longevidade, fecundidade e fertilidade dos adultos, e até a morte dos insetos horas após o tratamento.

Os efeitos observados em plantas da família Meliaceae podem variar dependendo da espécie vegetal testada. Rodríguez Hernández e Vendramim (1997) testaram diferentes extratos aquosos de meliáceas e observaram que apenas os extratos de *T. pallida*, *M. azedarach* e *Cabralea canjerana* (Vell.), incorporados em dieta artificial, causaram mortalidade de 100% de larvas de *S. frugiperda*, enquanto que extratos de outras espécies causaram mortalidade reduzida, embora havendo inibição alimentar e do crescimento e redução no peso das pupas.

A ação dos fitoextratos depende também da espécie de inseto que se quer controlar. Gonçalves et al. (2001), avaliando a bioatividade de extratos aquosos de frutos de cinamomo em ovos, estágios imaturos ativos e fêmeas de *Mononychellus tanajoa* (Bondar) (Acari, Tetranychidae), verificaram que os extratos a 5% e 2,5% apresentaram reduzido efeito sobre o ácaro verde, causando uma mortalidade de 7,5% e 5% sobre as fêmeas, respectivamente.

A variação no efeito de uma planta inseticida em função da estrutura vegetal utilizada para o preparo do extrato deve-se ao fato de os compostos fito inseticidas, não estarem distribuídos uniformemente por toda a planta. Em *A. indica*, por exemplo, segundo Balandrin et al. (1988), de um total de 25 componentes voláteis até então identificados, cerca de 75% estavam presentes nas sementes, enquanto os demais estavam em outras partes vegetais.

Para extração dos princípios ativos dos vegetais, vários solventes têm sido utilizados, entre eles, água, etanol, acetona, clorofórmio, éter etílico, éter de petróleo e hexano, o que demonstra que várias substâncias ativas estão incluídas nesta

atividade, desde as muito polares que são extraídas com água, até as não polares que se extraem com hexano (RODRÍGUEZ HERNÁNDEZ, 2000).

Embora os resultados sejam positivos, há a necessidade de ampliar esses estudos, utilizando-se outros solventes, diferentes concentrações, outras partes da planta, bem como, produzir extratos a partir do cultivo celular de partes da planta com a molécula com bioatividade, identificando as moléculas para síntese do produto.

De acordo com Ginarte (2003), os extratos aquosos de folhas de plantas são de fácil acesso à população, entretanto os solventes para a extração podem influenciar na atividade inseticida. Em seu trabalho, a autora cita que os extratos diclorometanos foram mais efetivos contra larvas de *M. domestica*, enquanto os metanólicos foram menos tóxicos.

Torres et al (2001), mencionam que aleloquímicos extraídos de plantas, por possuírem características insetistáticas, podem não apresentar ação aguda contra insetos pragas, mas poderão, no final de uma geração, reduzir a população da praga para níveis iguais ou inferiores àqueles encontrados com a utilização de produtos com acentuada ação inseticida.

#### 4. CONCLUSÕES

Diante das condições deste experimento conclui-se que:

- ✓ O extrato aquoso de *Eucalyptus* sp. a 5% e 10% não interfere no período e viabilidade larval e pupal, na razão sexual, no número de ovos e investimento reprodutivo de *M. domestica*, não influenciando nas características biométricas;
- ✓ O extrato aquoso de *Eucalyptus* sp. a 5% e 10% não interfere no peso das pupas e fêmeas e nas medidas de asa e tibia de *M. domestica*, não influenciando nas características morfométricas;
- ✓ O extrato aquoso de *M. azedarach* a 5% e 10%, exerce bioatividade negativa sobre variáveis biométricas de *M. domestica*, causando um aumento do período pupal, na concentração de 5%, e aumento do período larval, redução da viabilidade larval e pupal, redução do número de ovos e redução do

investimento reprodutivo, não influenciando na razão sexual, em ambas as concentrações testadas;

- ✓ O extrato aquoso de *M. azedarach* a 5% e 10% influencia sobre as variáveis biométricas testadas, causando redução do peso das pupas, redução de peso das fêmeas, diminuição de tamanho de asa e tibia, promovendo a redução de tamanho e da performance reprodutiva.

## CAPÍTULO 2

### INFLUÊNCIA DO EXTRATO AQUOSO DE *Melia azedarach* L. SOBRE O COMPORTAMENTO DE OVIPOSIÇÃO DE *Musca domestica* L.

#### 1. INTRODUÇÃO

Entre os insetos de importância médica e veterinária que têm despertado o interesse de pesquisadores quanto aos métodos de controle, destaca-se a *Musca domestica* (Linnaeus, 1758), díptero da família Muscidae, altamente sinantrópico, que vive em altas populações, causando inúmeros prejuízos na saúde humana e animal. O controle dessa, e da maioria das espécies consideradas pragas, é feito comumente com o uso de inseticidas sintéticos. Entretanto, o uso indiscriminado desses produtos, na tentativa de se obter um controle eficaz em um curto espaço de tempo, traz inúmeros efeitos negativos, entre eles, o surgimento de populações resistentes, efeitos prejudiciais aos organismos benéficos e a contaminação ambiental. De acordo com Vivan (2005), o uso inadequado e exagerado de inseticidas sintéticos acentua o problema de resíduos e também compromete a saúde de agricultores, que muitas vezes os manipulam de forma inadequada com o objetivo de aumentar sua eficiência.

A necessidade de métodos mais seguros, menos agressivos ao homem e ao meio ambiente, tem estimulado a busca de novos inseticidas a partir de extratos vegetais. Segundo Roel (2001), a utilização de plantas com atividade inseticida apresenta inúmeras vantagens quando comparadas ao emprego de produtos sintéticos: os inseticidas naturais são obtidos a partir de recursos renováveis, sendo rapidamente degradáveis; por serem compostas pela associação de vários princípios ativos, o desenvolvimento de resistência dos insetos a essas substâncias é um

processo lento. Além disso, não deixam resíduos nos alimentos e, ainda, são de fácil acesso e obtenção pelos agricultores, o que representa um menor custo de produção.

Cada vez mais o estudo de substâncias repelentes ou que interrompem o processo alimentar de insetos vêm sendo realizado, com o objetivo de controlar insetos pragas. Essas substâncias apresentam vantagens, devido à especificidade, pois não eliminam inimigos naturais e dificultam a evolução de resistência pelos insetos (PANIZZI e PARRA, 1991).

De modo geral, os mecanismos de defesa exibidos pela planta em resposta aos insetos incluem uma série de características morfológicas e um complexo de substâncias químicas que tendem a tornar a planta repelente, tóxica ou de outro modo, inadequada para serem utilizadas por esses organismos (VENDRAMIM e CASTIGLIONI, 2000).

A utilização de substâncias de origem vegetal para o controle de insetos tem sido amplamente estudada (VALLADARES et al., 1997) sendo que as pesquisas com plantas inseticidas são realizadas, basicamente, com dois objetivos: a descoberta de novas moléculas que permitam a obtenção de novos inseticidas sintéticos e a obtenção de inseticidas botânicos naturais, como os pós secos e os extratos aquosos, para uso direto no controle de pragas (VENDRAMIM e CASTIGLIONI, 2000).

Um dos compostos naturais mais promissores é a azadiractina, extraída de plantas de *Azadirachta indica* A. Juss. (nim) e de *Melia azedarach* L. (cinamomo), ambas da família Meliaceae (VALLADARES et al., 1997). Extratos de folhas e de sementes de nim e cinamomo contêm cerca de quatro compostos ativos, dos quais, azadiractina, salanina, meliantriol e nimbim são os principais e que possuem comprovada ação inseticida (SCHMUTTERER, 1990).

A azadiractina é um triterpeno, mais especificamente um limonóide, que causa distúrbios fisiológicos, alterando o desenvolvimento e a funcionalidade de várias espécies de insetos praga, principalmente devido à ação de repelência alimentar, inibidora do desenvolvimento, crescimento e reprodução (SCHMUTTERER, 1990, VALLADARES et al., 1997).

De acordo com Schmutterer e Singh (1995), mais de 400 espécies de insetos, incluindo muitas pragas da agricultura, são suscetíveis aos vários efeitos fisiológicos e de desenvolvimento do nim, que incluem: deterrência de oviposição e alimentação, regulação do crescimento dos insetos, atividade ovicida, esterilizante e repulsiva.

Entre os efeitos provocados pelo uso de produtos vegetais observados sobre os insetos, destacam-se: repelência, inibição da oviposição, alimentação e crescimento, alterações no sistema hormonal, alterações morfogénéticas, alterações no comportamento sexual, mortalidade na fase imatura ou adulta (VENDRAMIM e CASTIGLIONI, 2000).

Determinados inseticidas botânicos modificam o comportamento dos insetos, interferindo no seu ciclo de vida, e por serem seletivos, não representam riscos aos insetos benéficos (SCHMUTTERER, 1990).

Os extratos de *A. indica* e de *Cymbopogon nardus* (L.) (Poaceae) (citronela) tem sido descritos como compostos naturais promissores, por terem o nível de toxicidade baixo ao ser humano e aos animais, e o efeito repulsivo elevado contra insetos (LINDSAY et al., 1996; SCHMUTTERER, 1990; SHARMA et al., 1993).

De acordo com Kim et al (2005) os produtos químicos utilizados como repelentes contra insetos, causam não somente a droga-resistência e toxicidade geral ao ser humano e aos animais, mas a poluição ambiental, o que tem levado ao estudo de novos produtos repulsivos. Os autores avaliaram a eficácia de repelência de citronela e citronelal, contra mosquitos *Culex pipiens pallens* (Diptera, Culicidae), em experimento a campo e *in vitro*, constatando um percentual de repelência de 73% a 86% *in vitro*, e 80% no campo, mostrando a eficácia de repelência elevada destes compostos aromáticos, em relação a esta espécie de mosquito.

Yoon e Kyung (2002), testaram a atividade repelente de diferentes tipos de extratos, entre eles extrato aquoso, de dezessete espécies de plantas nativas da Coréia, contra o mosquito *Aedes albopictus* Skuse, 1894 (Diptera, Culicidae), constatando que os extratos aquosos de folhas de *Artemisia princeps* Pampan. (Asteraceae), planta inteira de *Artemisia keiskeana* Miq. (Asteraceae), ramos e flores de *Lonicera japonica* Thunb. (Caprifoliaceae), folhas de *Hydrangea macrophylla* (Thunb.) (Hydrangeaceae), folhas de *Zanthoxylum schinifolium* Siebold & Zucc. (Rutaceae) e folhas de *Picrasma quassioides* (D. Don) (Simaroubaceae) demonstraram excelente atividade repelente contra o mosquito.

Vários trabalhos têm sido realizados avaliando a ação de extratos de *M. azedarach* sobre aspectos biológicos e comportamentais de diferentes espécies de insetos. Entretanto, são poucos os estudos avaliando a ação deterrente desta planta sobre o comportamento de oviposição. Hammad et al. (2000) e Hammad et al. (2001) testaram a ação de extratos de *M. azedarach* sobre *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889) (Homoptera, Aleyrodidae), constatando a ação repulsiva desta planta sobre esse inseto, o que provocou uma diminuição no número de ovos.

Com base na carência de estudos e na busca de novas alternativas de controle para espécies de importância médica e veterinária, realizou-se o presente estudo com o objetivo de avaliar a influência do extrato aquoso de *M. azedarach* sobre o comportamento de oviposição de *M. domestica*, através da oferta simultânea e independente, em sítios de oviposição.

## **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.1 Manutenção da colônia de *Musca domestica***

Para a realização do trabalho, manteve-se uma colônia de *M. domestica*, já adaptada às condições de laboratório, em câmara climatizada a  $26 \pm 5$  °C, umidade relativa do ar acima de 75% e fotofase de 12 horas, conforme Ribeiro et al. (2001).

Os adultos foram mantidos em gaiolas teladas com dimensões de 30x30x30cm e alimentados “*ad libitum*” com dieta composta por açúcar refinado e farinha de carne, na proporção de 2:1 e água, disponibilizada em copo de Becker, contendo pedaços de espuma de poliestireno cobrindo a superfície do líquido.

Para obtenção de posturas, foi oferecido aos adultos um meio composto por farinha de carne e serragem, na proporção de 2:1, adicionando-se água até torná-lo pastoso. As posturas foram transferidas para um recipiente maior, contendo o mesmo meio, dentro de um funil de coleta. Após a eclosão, as larvas foram alimentadas até o terceiro ínstar, quando abandonaram o substrato, sendo recolhidas em um frasco contendo serragem úmida, preso à base do funil. As pupas foram incubadas a 26°C, em recipientes fechados com organza, contendo serragem úmida, até a emergência dos adultos, os quais eram transferidos para as gaiolas da colônia para renovação da mesma.

## **2.2 Preparo do extrato aquoso de *Melia azedarach***

As folhas de *M. azedarach*, foram coletadas no Campus da UFPel, em Capão do Leão, RS, no mês de abril/2007 em árvores adultas e submetidas à limpeza manual, onde foram separadas dos galhos. Posteriormente, foram desidratadas em estufa de cultura FANEM® Modelo 002 CB, a 45°C, por 48 horas. Após a desidratação foram moídas em moinho elétrico FRITSCH GmbH Pulverisette® 14, até a transformação em pó.

Os testes foram feitos utilizando-se extrato aquoso de *M. azedarach* na concentração de 10%, sendo obtido por maceração de 3,33g de pó das folhas da planta, preparado anteriormente, e diluído em 10mL de água destilada, por 24 horas, em frasco de vidro coberto com papel alumínio, mantido em temperatura ambiente. Após o processo de maceração o extrato resultante foi filtrado em gaze, para posterior utilização na montagem do experimento (CAVALCANTE et al., 2006; SOUZA e VENDRAMIM, 2000). Durante todo período experimental, diariamente era preparado novo fitoextrato a ser utilizado, evitando-se assim a perda das propriedades da planta, com o armazenamento.

## **2.3 Influência do extrato aquoso de *Melia azedarach* sobre o comportamento de oviposição de *Musca domestica***

Para testar a influência do extrato aquoso de *M. azedarach* a 10% sobre o comportamento de oviposição de *M. domestica*, um experimento, com três tratamentos, foi implementado. O primeiro, com oferta simultânea de sítios de oviposição contendo extrato aquoso e sem o fitoextrato; um segundo tratamento, utilizando-se apenas sítios de oviposição contendo extrato aquoso; e um terceiro, com sítios de oviposição sem o fitoextrato (Fig. 11 e 12).



Figura 11 – Gaiola de *Musca domestica* com oferta simultânea de sítios de oviposição com extrato aquoso de *Melia azedarach* a 10% e sem extrato aquoso.

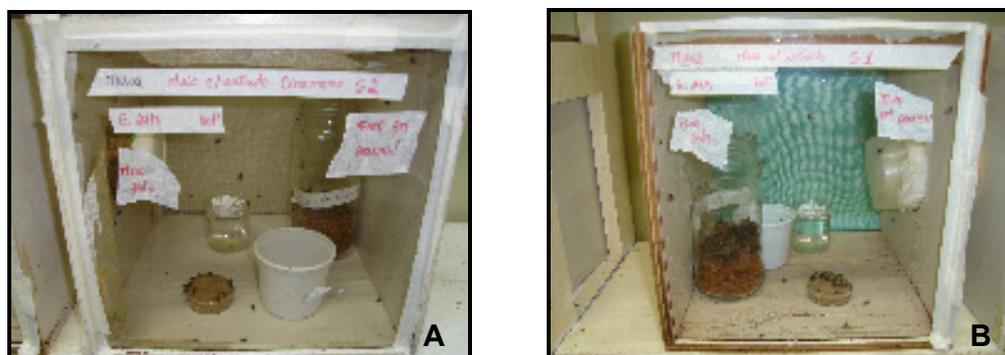


Figura 12 – Gaiola de *Musca domestica* contendo sítios de oviposição. A – Com extrato aquoso de *Melia azedarach* a 10%; B – Sem extrato aquoso.

Para cada tratamento foram estabelecidas 3 réplicas (gaiolas) com 30 casais de *M. domestica* cada (Fig. 13) sendo os adultos alimentados conforme a colônia de manutenção. Após aproximadamente 48h de emergência, foi oferecido aos adultos sítios de oviposição composto por 2 partes de farinha de carne, 1 parte de farinha de trigo e 1 parte de serragem, sendo adicionado o extrato aquoso a 10% ou água para torná-lo pastoso. Os sítios foram disponibilizados por um período de 49 dias (7 semanas) nas gaiolas, sendo trocados diariamente, utilizando-se o fitoextrato preparado 24 horas antes, conforme citado anteriormente.

Os meios foram oferecidos em placa de Petri pequena, sendo disponibilizada a mesma quantidade, aproximadamente 35g, em todas as placas. Através da contagem diária ao estereomicroscópio Olympus SZ-40, foi estimado o número de ovos (Fig. 14). Além disso, as réplicas foram observadas diariamente, para remoção dos indivíduos mortos e posterior sexagem, estimando-se desta forma, a longevidade dos adultos e o tempo letal médio.



Figura 13 – Gaiolas de *Musca domestica*, em triplicata, contendo sítios de oviposição para avaliação da bioatividade do extrato aquoso de *Melia azedarach* sobre o comportamento de oviposição.



Figura 14 – Placa contendo meio de oviposição, com ovos de *Musca domestica*.

## 2.4 Análise Estatística

Para avaliar a influência do extrato aquoso de *M. azedarach* a 10% no comportamento de oviposição de *M. domestica*, foram feitas duas análises: a primeira, comparando-se a média diária de ovos em sítios de oviposição com e sem o fitoextrato, oferecidos simultaneamente em uma mesma gaiola e a segunda, comparando-se a média diária de ovos em meio para oviposição com e sem fitoextrato, oferecidos em gaiolas diferentes. Além disso, foram avaliados: o período de pré-oviposição, a longevidade dos adultos e o tempo letal médio que corresponde ao tempo em que metade da colônia leva para morrer.

Para a análise da média diária do número de ovos foi realizada a análise estatística utilizando-se o teste não-paramétrico Kruskal-Wallis, com as médias comparadas ao nível de 5% de significância, sendo as análises realizadas através do programa Statistix 8 (2003).

Para avaliação da longevidade dos adultos, utilizou-se o teste do Qui-quadrado ( $\chi^2$ ), segundo Silveira Neto et al. (1976).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao avaliar a influência do extrato aquoso de *M. azedarach* a 10% sobre o comportamento de oviposição de *M. domestica*, através da comparação da média do número de ovos em sítios de oviposição com e sem extrato aquoso, oferecidos na mesma gaiola (tab. 3), constatou-se que os sítios de oviposição contendo fitoextrato apresentaram uma média diária de ovos significativamente inferior ( $P=0,000$ ) aos sítios de oviposição sem a presença do fitoextrato. Constatou-se ainda que o número máximo de ovos encontrados em um dia de exposição, durante o período experimental, foi superior nos sítios de oviposição sem fitoextrato (tab. 3).

Tabela 3 – Influência do extrato aquoso de *Melia azedarach* a 10%, sobre o comportamento de oviposição de *Musca domestica*, oferecido simultaneamente em sítios de oviposição com e sem fitoextrato.

	SÍTIOS SEM EXTRATO	SÍTIOS COM EXTRATO
Média diária ovos.gaiola <sup>-1</sup> ± DP	95,70 ± 214,37 a	12,21 ± 47,42 b
Nº Mínimo de ovos	0,00	0,00
Nº Máximo de ovos	1315,00	310,00

Valores com letras diferentes, nas colunas, diferem significativamente ( $P<0,05$ )

P = 0,0000 KW

DP= Desvio Padrão

Os resultados revelam que certamente *M. azedarach* apresenta em sua composição, alguma substância com ação deterrente que inibe a oviposição de *M. domestica*, o que indiretamente provocaria uma redução das populações desse inseto.

Alguns trabalhos citam a azadiractina, como uma das principais substâncias do metabolismo secundário de *M. azedarach* responsável pelos efeitos negativos provocados sobre os insetos. Alguns autores (SCHMUTTERER, 1990; MORDUE e BLACKWELL, 1993) ao avaliarem o efeito inibitório de extratos de *A. indica*, na oviposição de insetos, registraram que a azadiractina seria um dos componentes do nim que contribuem para a deterrência de oviposição.

Os resultados encontrados corroboram com os achados de Banchio et al. (2003), que verificaram que os extratos (etanol - hexano) de frutos de *M. azedarach* agiram como deterrentes sobre *Liriomyza huidobrensis* (Blanchard) (Diptera, Agromyzidae), interferindo na alimentação das fêmeas e reduzindo as taxas de oviposição. Os autores também constataram que o fitoextrato não afetou na porcentagem de parasitoidismo, sugerindo uma atividade seletiva.

Comparando-se a média de ovos.dia<sup>-1</sup> nos sítios de oviposição com e sem extrato aquoso oferecidos simultaneamente durante o período experimental (49 dias), constatou-se que os sítios de oviposição contendo o extrato aquoso de *M. azedarach*, apresentaram uma média de ovos.dia<sup>-1</sup> significativamente inferior (P=0,000) à média de ovos dos sítios sem o fitoextrato. Além disso, constatou-se que as primeiras posturas observadas nos sítios sem extrato aquoso ocorreram no 8º dia após o estabelecimento da colônia, enquanto que nas gaiolas com extrato aquoso as posturas iniciaram com 14 dias após o estabelecimento da colônia, havendo um aumento do período de pré-oviposição (Fig. 15).

Gajmer et al. (2002) avaliando os efeitos de extratos metanólicos de sementes de *A. indica* e *M. azedarach* no comportamento de oviposição de *Earias vittella* (Fab.) (Lepidoptera, Noctuidae), observaram que nos testes com chance de escolha, os adultos preferiram colocar um número maior de ovos na porção não tratada do substrato de oviposição, comparada com a porção tratada com extrato.

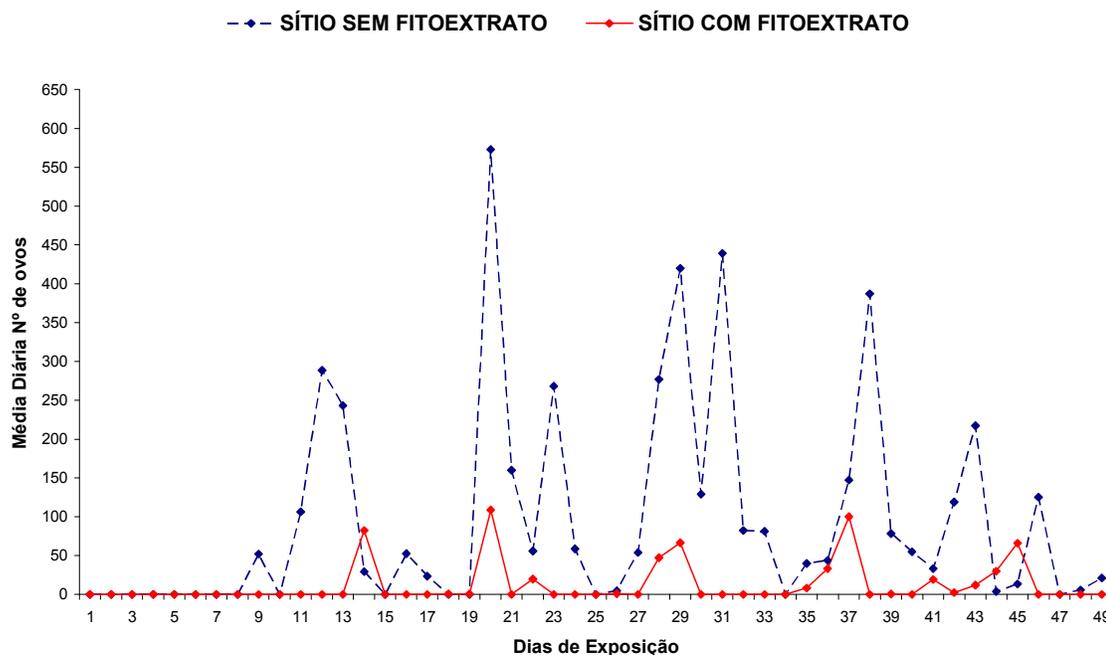


Figura 15 – Influência do extrato aquoso de *Melia azedarach* a 10% sobre o comportamento de oviposição de *Musca domestica*, através da oferta simultânea de sítios de oviposição com e sem fitoextrato.

No experimento cujo objetivo foi avaliar a influência do extrato aquoso de *M. azedarach* a 10% sobre o comportamento de oviposição de *M. domestica* expondo-se sítios de oviposição com e sem fitoextrato em gaiolas distintas observou-se uma média diária de ovos superior nos sítios de oviposição sem o fitoextrato, em relação aos sítios de oviposição com o fitoextrato, constatando-se uma redução estatisticamente significativa ( $P=0,000$ ) no comportamento de oviposição, influenciada pelo fitoextrato aquoso, conforme a tab. 4. Esse resultado mostra que não tendo alternativa, as fêmeas de *M. domestica* foram obrigadas à ovipositarem no meio contendo o fitoextrato a fim de cumprir sua função reprodutiva, porém, reduzindo o número de ovos. Esse resultado reforça a hipótese de que o extrato aquoso de folhas de cinamomo a 10% exerce efeito negativo sobre *M. domestica*, influenciando no comportamento de oviposição dessa espécie.

Tabela 4 – Influência do extrato aquoso de *Melia azedarach* a 10%, oferecido em sítios de oviposição isolados, sobre comportamento de oviposição de *Musca domestica*.

	<b>GAIOLAS SEM EXTRATO</b>	<b>GAIOLAS COM EXTRATO</b>
Média diária ovos.gaiola <sup>-1</sup> ± DP	106,80 ± 200,40 a	32,11 ± 114,15 b
Nº Mínimo de ovos	0,00	0,00
Nº Máximo de ovos	1000,00	972,00

Valores com letras diferentes, nas colunas, diferem significativamente (P<0,05)

P = 0,0000 KW

DP= Desvio Padrão

Comparando-se a média diária de ovos nos sítios de oviposição com e sem fitoextrato de *M. azedarach*, oferecidos em gaiolas diferentes, observou-se que embora tenha ocorrido uma menor redução do número de ovos nas gaiolas contendo o fitoextrato em relação ao tratamento anterior, foi estatisticamente significativa com P=0,000 (Fig. 16). Além disso, constatou-se que as fêmeas submetidas ao sítio de oviposição contendo o fitoextrato, realizaram a primeira postura aproximadamente 7 dias após as fêmeas que não foram expostas ao fitoextrato, o que reforça a hipótese de que o extrato aquoso de *M. azedarach* provoca um aumento do período de pré-oviposição (Fig. 16).

Gajmer et al. (2002) observaram que em condições sem chance de escolha, concentrações elevadas dos extratos de *A. indica* e *M. azedarach* causaram reduções proporcionais no número de ovos colocados por *E. vittella*. Os autores observaram que mesmo em fêmeas que não estavam em contato direto com os extratos, houve uma redução do número de ovos, demonstrando o efeito de repelência. Além disso, constataram que o efeito do extrato de nim foi mais proeminente, comparado com o do cinamomo, em ambos os testes e que o número de ovos foi reduzindo proporcionalmente ao aumento da concentração dos extratos.

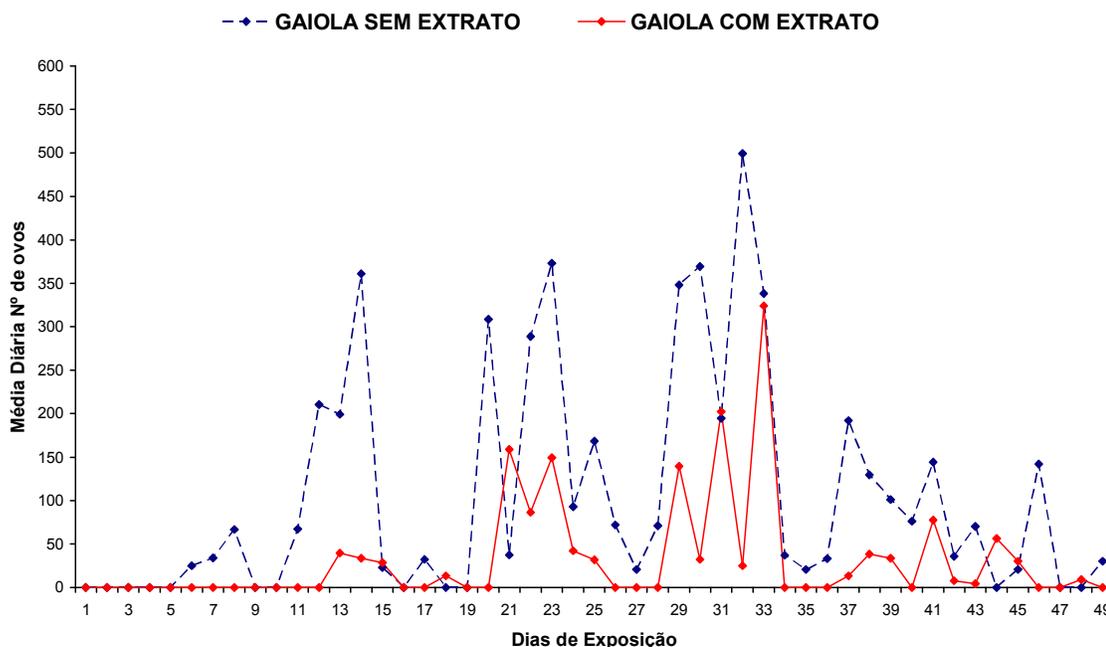


Figura 16 – Influência do extrato aquoso de *Melia azedarach* a 10% sobre o comportamento de oviposição de *Musca domestica*, através da oferta isolada de sítios de oviposição com e sem fitoextrato.

Ao comparar o número total de posturas realizadas em sítios de oviposição com e sem extrato aquoso de *M. azedarach*, com oferta simultânea e independente, constatou-se uma diferença em ambos os tratamentos (tab. 5). Nas gaiolas com oferta simultânea, enquanto 87,24% das posturas foram feitas nos sítios de oviposição sem o fitoextrato, apenas 12,76% das posturas foram realizadas nos meios contendo o fitoextrato. No tratamento com oferta independente, o percentual de posturas realizadas nos sítios de oviposição sem e com o fitoextrato foram de 69,87% e 30,13%, respectivamente. Os resultados revelam que o percentual de posturas nos meios contendo o extrato aquoso, no tratamento com oferta independente foi maior em relação ao tratamento com oferta simultânea, o que demonstra que as fêmeas ovipositaram em meio contendo fitoextrato, por não terem alternativa para oviposição.

Riba et al. (2003) avaliaram o potencial de inibição de oviposição de azadiractina sobre *Nezara viridula* L. (Heteroptera, Pentatomidae). Os autores estimaram o Índice de Deterrência de Oviposição (IDO), onde  $N_c$  corresponde ao

número de ovos no grupo controle e Nt, ao número de ovos no substrato tratado, através da fórmula:

$$IDO = (Nc - Nt) \cdot (Nc + Nt)^{-1}$$

O referido índice, varia de 0 (zero) a 1 (um), onde 0 (zero) indica que não há inibição de oviposição e 1 (um), indica inibição máxima de oviposição. Os autores observaram que azadiractina, aplicada na concentração de  $1\mu\text{g} \cdot (\text{cm}^2)^{-1}$  na superfície de oviposição, mostrou um efeito deterrente na oviposição, provocando uma redução do número de posturas.

A análise do Índice de Deterrência de Oviposição do extrato aquoso de *M. azedarach* a 10% sobre *M. domestica* demonstrou que no tratamento com oferta simultânea de sítios de oviposição, o índice foi de 0,77 sendo superior ao tratamento com oferta isolada, o qual foi de 0,54 constatando-se que na inexistência de sítio alternativo de oviposição o efeito de deterrência foi inferior. Isso demonstra que as fêmeas, na ausência de sítios ideais de oviposição, retêm os ovos, porém essa retenção é limitada.

Tabela 5 – Frequência de oviposição de *Musca domestica* em sítios de oviposição, com e sem extrato aquoso de *Melia azedarach* a 10%, através da oferta simultânea e isolada.

	Oferta Simultânea		Oferta Isolada	
	Com Extrato	Sem Extrato	Com Extrato	Sem Extrato
Total de Ovos	1.795	14.068	4.730	15.700
Percentual	12,76%	87,24%	30,13%	69,87%

Os resultados mostram que no tratamento em que *M. domestica* tinha alternativa de escolha, a diferença do número de ovos foi bem maior do que no teste sem opção de escolha. Chen et al. (1996) observaram que a oviposição de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera, Acrolepiidae) foi reduzida pelo extrato aquoso de frutos de *M. azedarach* em 49,60%; 86,60% e 93,50% em testes com chance de escolha e, em 46,20%; 72,10% e 80,20% em teste sem chance escolha nas concentrações 0,5%; 2% e 4%, respectivamente, ressaltando que essa redução é proporcional à concentração das substâncias bioativas utilizadas.

Salles e Rech (1999) avaliaram o efeito de extratos de *A. indica* e *M. azedarach*, na oviposição de *Anastrepha fraterculus* (Wied.) (Diptera, Tephritidae) (mosca-das-frutas). Os autores constataram que os tratamentos com torta de nim provocaram uma redução da viabilidade dos ovos e do número de ovos por fêmea, não havendo correspondência direta com as dosagens testadas, o que os autores atribuem ao fato de não terem sido utilizadas moscas com a mesma idade. Por outro lado, no tratamento com pó de cinamomo, o número médio de ovos não foi significativamente afetado nas cinco dosagens utilizadas, resultado que difere dos encontrados no presente estudo.

Nathan et al. (2005), testando o efeito de extratos metanólicos de folhas e sementes de *M. azedarach* sobre adultos de *Anopheles stephensi* Liston (Diptera, Culicidae) em laboratório, constataram uma forte atividade de anti-oviposição e repelência contra as picadas, sendo que os extratos da semente mostraram uma bioatividade elevada em todas as doses testadas, suprimindo a atividade dos adultos mesmo em doses baixas, enquanto que os extratos da folha provaram serem ativos, somente nas doses mais elevadas.

Hammad et al. (2000) avaliaram a ação de três tipos de extratos de frutos e folhas de *M. azedarach* contra adultos de *B. tabaci* (mosca do tomate), e de frutos da planta, contra ovos, ninfas de primeiro e segundo estágio e pupas desse inseto. De acordo com os autores os extratos de *M. azedarach* foram considerados repulsivos aos adultos da mosca do tomate, enquanto os extratos dos frutos mostraram um efeito prejudicial significativo sobre os estágios adiantados de ninfas. Também verificaram que os extratos metanólicos foram mais ativos, em relação aos extratos com outros solventes.

Hammad et al. (2001), avaliaram a eficácia de extratos aquosos e metanólicos de plantas cultivadas *in vitro*, folhas e frutos de *M. azedarach* contra adultos de *B. tabaci*, constatando que os extratos mostraram uma atividade repulsiva significativa, diminuindo a taxa de oviposição do inseto, sem afetar a emergência dos adultos. Os autores atribuem a redução do número de ovos ao fato de que os insetos não estavam se alimentando das plantas tratadas.

Estudando o efeito de diversos extratos aquosos em relação à preferência para oviposição de *P. xylostella* em discos de folhas de couve, Medeiros et al. (2005) constataram que os extratos proporcionaram efeito deterrente na oviposição da praga, com destaque para os extratos de frutos de *Sapindus saponaria* L.

(Sapindaceae), de frutos de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) (Fabaceae) e folhas de *Trichilia pallida* Sw. (Meliaceae), com índice de 100% de deterrência. Torres et al. (2006) avaliando o efeito de extratos aquosos de plantas na oviposição desse inseto, verificaram que o extrato aquoso da casca de *Aspidosperma pyrifolium* Mart. (Apocynaceae) apresentou repelência superior aos extratos de frutos de *M. azedarach* e o de amêndoa de *A. indica*.

Mazzonetto e Vendramim (2003) avaliaram a bioatividade dos pós de 18 espécies vegetais sobre o comportamento e sobrevivência de *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera, Bruchidae), praga de feijão armazenado. Através do teste de repelência, com e sem opção de escolha, e da avaliação da atividade inseticida os autores concluíram que os pós, obtidos da parte aérea de *Chenopodium ambrosioides* L. (Chenopodiaceae) (erva-de-santa-maria), de folhas de *Eucalyptus citriodora* Hook (Myrtaceae) (eucalipto-cheiroso), de *Mentha pulegium* L. (Lamiaceae) (poejo) e de *Ruta graveolens* L. (Rutaceae) (arruda), de cascas de frutos de *Citrus reticulata* Blanco (Rutaceae) (laranja 'Murcote') e *Citrus sinensis* (L.) (Rutaceae) (laranja 'Pera') e de cascas de *Lafoensia glyptocarpa* Koehne (Lythraceae) (mirindiba) são repelentes aos adultos desse coleóptero. Os pós de *C. ambrosioides* e de *Coriandrum sativum* L. (Apiaceae) (coentro) foram altamente tóxicos aos adultos, causando 100% de mortalidade até o quinto dia de contato com os insetos. Os autores também constataram que o pós de frutos de *M. azedarach* também demonstraram repelência, porém com menor eficácia, em relação às demais espécies de plantas utilizadas.

O efeito de deterrência de oviposição produzido pelos extratos vegetais pode ser interpretado de diferentes formas. Torres et al. (2006) relacionam o menor número de ovos colocados por *P. xylostella* nas superfícies tratadas com os extratos avaliados, à ação repelente dos compostos voláteis ou à irritabilidade das fêmeas em contato com as superfícies tratadas por ocasião da oviposição. De acordo com Nardo et al. (1997), extratos de *M. azedarach* têm afetado o número de ovos colocados e o número correspondente das pupas produzidas por *B. tabaci*, provavelmente por causa de sua ação anti-alimentar. Mordue e Blackwell (1993), mencionam que a seleção do substrato para oviposição de lepidópteros é feita através de estímulos sensitivos, sendo os tarsos e a probóscide os principais locais quimiorreceptores.

Ao avaliar a influência do extrato aquoso de *M. azedarach* a 10% sobre o período de pré-oviposição de *M. domestica*, constatou-se que as fêmeas mantidas em gaiolas, contendo sítios de oviposição com o fitoextrato, em ambos os tratamentos, tiveram um aumento no período em relação às fêmeas que receberam sítios de oviposição sem o fitoextrato. Nas gaiolas em que os sítios de oviposição não continham o fitoextrato, o período de pré-oviposição médio foi de 8,67 dias. Nas gaiolas em que o sítio de oviposição contendo o fitoextrato constituía-se como única alternativa, o período de pré-oviposição médio foi de 13,67 dias, sendo maior do que o período das fêmeas que receberam a oferta simultânea dos sítios com e sem fitoextrato (10,67 dias). Esse resultado demonstra que o extrato aquoso de cinamomo a 10% provocou um aumento do período de pré-oviposição das fêmeas, o que pode ter ocorrido na tentativa de obter outro substrato para oviposição e cumprir sua função reprodutiva.

Em relação à influência do fitoextrato na longevidade dos adultos, pode-se observar a distribuição da mortalidade diária de fêmeas e machos de *M. domestica* nas gaiolas contendo sítios de oviposição com e sem extrato aquoso, oferecidos em gaiolas separadas, na Fig. 17 e Fig. 18, respectivamente.

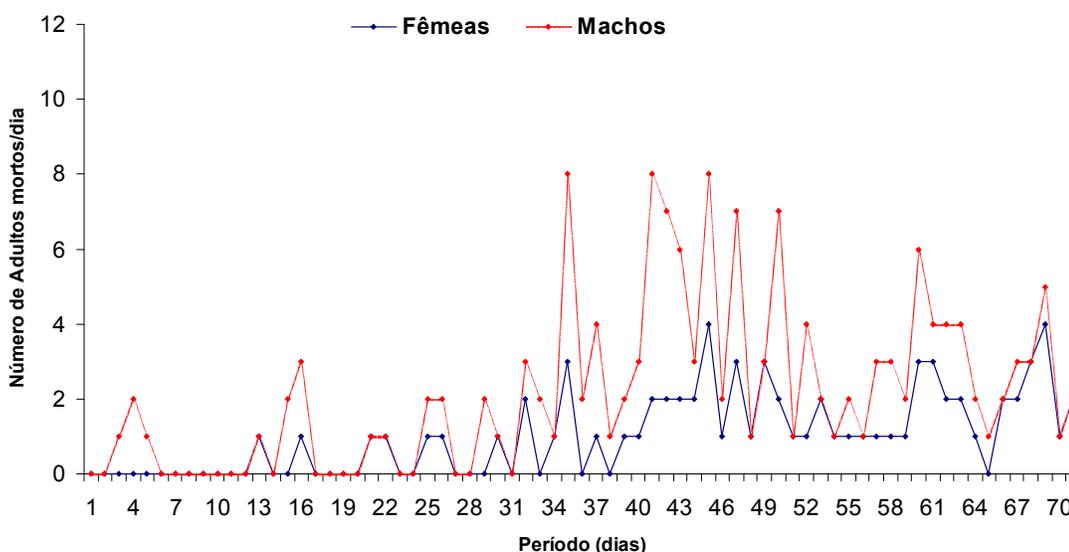


Figura 17 – Mortalidade diária de fêmeas e machos de *Musca domestica*, em gaiolas contendo sítios de oviposição, com extrato aquoso de *Melia azedarach* a 10%.

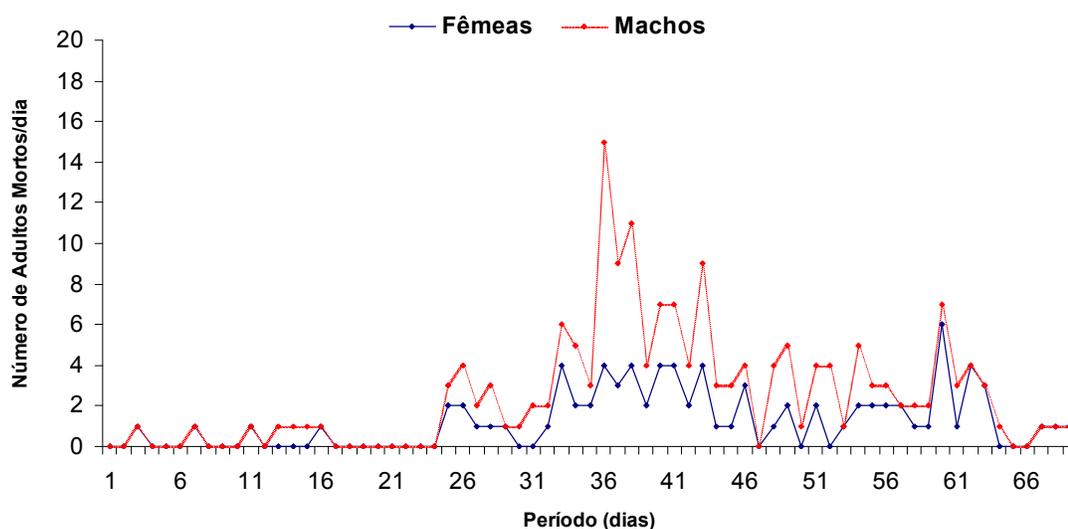


Figura 18 – Mortalidade diária de fêmeas e machos de *Musca domestica*, em gaiolas contendo sítios de oviposição, sem extrato aquoso de *Melia azedarach*.

A avaliação da bioatividade do fitoextrato sobre a longevidade dos adultos submetidos aos tratamentos revelou que o extrato aquoso de cinamomo a 10%, quando oferecido como única alternativa em sítios de oviposição, influenciou na longevidade de fêmeas de *M. domestica*. A maioria das fêmeas (78,08%) que receberam sítios de oviposição contendo fitoextrato, como única alternativa, morreram com mais de 40 dias de vida, enquanto apenas 56,47% das fêmeas mantidas nas gaiolas cujos meios não continham o fitoextrato, morreram nesse período (tab. 6).

Tabela 6 - Influência do extrato aquoso de *Melia azedarach* a 10%, oferecido em sítios de oviposição com e sem fitoextrato, em gaiolas separadas, na longevidade de fêmeas de *Musca domestica*.

TRATAMENTOS	LONGEVIDADE		TOTALIS
	<40 dias	>40 dias	
Sítio com extrato	16 (21,92%)	57 (78,08%)	73 (100,00%)
Sítio sem extrato	37 (43,53%)	48 (56,47%)	85 (100,00%)
	53	105	158

$$X^2_c = 8,26 > X^2_{t(5\%)}$$

Esse resultado revela que o fitoextrato influenciou significativamente na longevidade das fêmeas ( $\chi^2= 8,26$ ), sugerindo que o efeito de deterrência provocado pelo fitoextrato faz com que as fêmeas retenham os ovos, prolongando a sua longevidade, num esforço para cumprir a sua função reprodutiva.

Por outro lado, a avaliação da influência do extrato aquoso de *M. azedarach* a 10%, oferecido como única alternativa, na longevidade de machos de *M. domestica*, demonstrou que enquanto 55,17% dos machos que receberam os sítios de oviposição sem o fitoextrato morreram com menos de 40 dias de vida, 63,75% dos machos que foram submetidos ao extrato, morreram com mais de 40 dias de vida (tab. 7). Este resultado mostra que o extrato aquoso de cinamomo a 10% não influenciou significativamente sobre a longevidade dos machos, havendo confirmação pelo teste do  $\chi^2$  cujo valor foi de 6,03 quando  $\alpha=0,05$ .

Tabela 7 – Influência do extrato aquoso de *Melia azedarach* a 10%, oferecido em sítios de oviposição com e sem fitoextrato, em gaiolas separadas, na longevidade de machos de *Musca domestica*.

TRATAMENTOS	LONGEVIDADE		TOTALS
	<40 dias	>40 dias	
Sítio com extrato	29(36,25%)	51(63,75%)	80(100,00%)
Sítio sem extrato	48(55,17%)	39(44,83%)	87(100,00%)
	77	90	167

$$X^2_c = 6,03 < X^2_{t(5\%)}$$

A longevidade de machos e fêmeas, que receberam simultaneamente sítios para oviposição com e sem fitoextrato não foi influenciada significativamente, o que pode ser observado na Fig. 19.

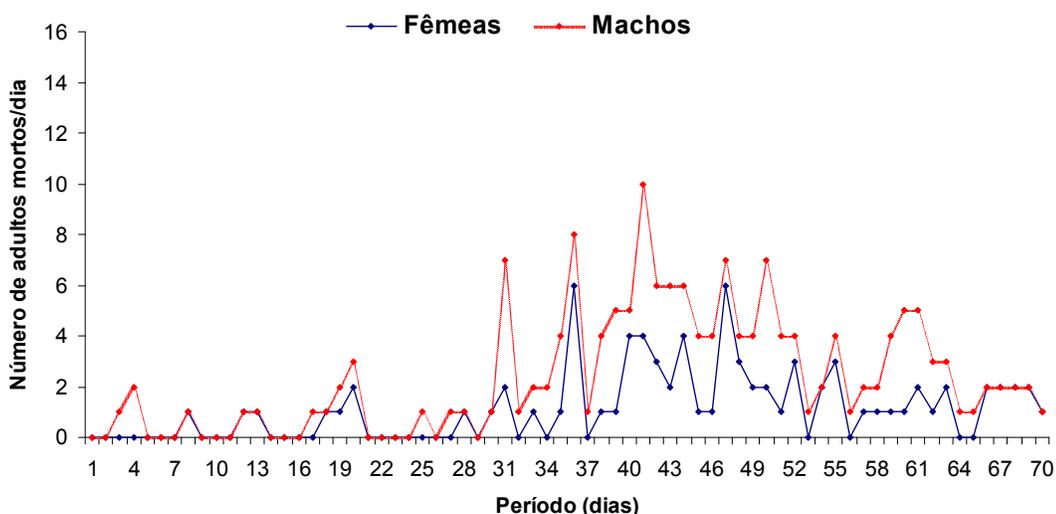


Figura 19 – Mortalidade diária de fêmeas e machos de *Musca domestica*, em gaiolas com oferta simultânea de sítios de oviposição, com e sem extrato aquoso de *Melia azedarach* a 10%.

A comparação entre a mortalidade das fêmeas que receberam os sítios de oviposição com e sem fitoextrato simultaneamente, com as fêmeas que receberam os meios em gaiolas separadas, mostra que não houve diferença significativa ( $\chi^2=1,73$ ) o que pode ser observado na tab. 8 e tab. 9.

Sukontason et al. (2004a), ao avaliarem os efeitos do eucaliptol sobre adultos de *M. domestica* e *Chrysomya megacephala* (F.) (Diptera, Calliphoridae) utilizando aplicação tópica, verificaram que os machos da *M. domestica* foram mais susceptíveis que as fêmeas, com DL50 (dose letal de 50%) sendo de 118 e 177  $\mu\text{g.mosca}^{-1}$ , respectivamente. Para *C. megacephala* obtiveram DL50 mais alto, de 197  $\mu\text{g.mosca}^{-1}$  para machos e 221  $\mu\text{g.mosca}^{-1}$  para fêmeas. As moscas vivas de ambas espécies tiveram longevidade menor após tratamento com eucaliptol.

Tabela 8 – Influência do extrato aquoso de *Melia azedarach* a 10% oferecido em sítios de oviposição como única alternativa ou simultaneamente com sítio sem fitoextrato, na longevidade de fêmeas de *Musca domestica*.

TRATAMENTOS	LONGEVIDADE		TOTALS
	<40 dias	>40 dias	
Sítio com extrato	16(21,92%)	57(78,08%)	73(100,00%)
Oferta simultânea	25(31,25%)	55(68,75%)	80(100,00%)
	41	112	153

$$X^2_c = 1,73 < X^2_{t(5\%)}$$

Tabela 9 – Influência do extrato aquoso de *Melia azedarach* a 10% em sítio de oviposição, oferecido simultaneamente com sítio sem fitoextrato, na longevidade de fêmeas de *Musca domestica*, comparado à não oferta do fitoextrato.

TRATAMENTOS	LONGEVIDADE		TOTALS
	<40 dias	>40 dias	
Sítio sem extrato	37(43,53%)	48(56,47%)	85(100,00%)
Oferta simultânea	25(31,25%)	55(68,75%)	80(100,00%)
	62	103	165

$$X^2_c = 2,69 < X^2_{t(5\%)}$$

A análise da influência do extrato aquoso de *M. azedarach* a 10% no tempo letal médio das colônias, demonstrou que nas gaiolas em que os sítios de oviposição não continham fitoextrato, o tempo letal médio foi de 40 dias, enquanto que nas gaiolas que continham o sítio de oviposição contendo o fitoextrato como única alternativa, houve um aumento de 4 dias no tempo letal médio, sendo de 44 dias. Além disso, constatou-se que na oferta simultânea dos dois tipos de sítios para oviposição, com e sem fitoextrato, foi observado um aumento de 3 dias do tempo letal médio da colônia (43 dias). Esse resultado comprova que o extrato aquoso de *M. azedarach* a 10% provocou um aumento da longevidade dos adultos, conforme discutido anteriormente.

Como pode ser observado, o extrato aquoso de folhas de *M. azedarach* a 10%, quando oferecido em sítios de oviposição, possui ação deterrente sobre *M. domestica*, interferindo no comportamento de oviposição, causando uma redução no número de ovos. De acordo com Vendramim e Castiglioni (2000), o objetivo principal do uso de produtos vegetais, deve ser o de reduzir ou se possível impedir a oviposição e alimentação do inseto e, conseqüentemente, o crescimento da população da praga.

Embora os resultados tenham mostrado que o uso de extrato aquoso de *M. azedarach* a 10% pode ser uma alternativa viável para o controle de *M. domestica*, é importante ressaltar que a melhor forma de controle de populações de insetos praga é a associação de diferentes métodos. De acordo com Crespo et al (2002), dos pontos de vista biológico e econômico, o melhor tratamento para controle de *M. domestica*, resistente à ciromazina, foi a associação do controle biológico, controle cultural e controle químico com aplicações localizadas de ciromazina tópica.

Os resultados mostram que extrato aquoso de folhas de *M. azedarach* a 10% possui atividade deterrente sobre adultos de *M. domestica*. Em condições de laboratório, a presença do fitoextrato em sítios de oviposição, inibiu a oviposição de *M. domestica*, reduzindo a capacidade de postura, prolongando o período de pré-oviposição e longevidade das fêmeas, influenciando na sua performance reprodutiva. Entretanto, cabe salientar que tal situação em um ecossistema artificial, como granja de aves, suínos e gado leiteiro, exigiria uma maior propagação de *M. domestica* em busca de sítios de oviposição adequados, pois, nos experimentos em que as moscas foram privadas de sítios de oviposição sem fitoextrato, uma condição extrema, houve retenção dos ovos, aumento da longevidade e redução da performance reprodutiva. Essa situação exporia a população de *M. domestica* às adversidades ambientais o que reduziria a probabilidade de sucesso reprodutivo.

Os resultados sugerem novas pesquisas em relação à utilização de outras partes da planta, bem como outros tipos de solventes, o que pode revelar resultados ainda mais promissores. A utilização de compostos de origem vegetal como estratégia de controle de insetos é uma técnica que vem sendo amplamente estudada e que poderá constituir um método mais seguro e de fácil acesso a população, trazendo inúmeros benefícios.

#### 4. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos permitem-nos concluir que:

- ✓ A presença de extrato aquoso de *M. azedarach* a 10% em sítios de oviposição de *M. domestica*, inibe a oviposição, reduzindo a capacidade de postura, prolongando o período de pré-oviposição e longevidade das fêmeas, em condições de laboratório.

## DISCUSSÃO GERAL

O extrato aquoso de *Melia azedarach* L. (Meliaceae), nas condições do experimento, mostrou-se promissor tanto na avaliação da bioatividade sobre as larvas, quanto na avaliação sobre o comportamento de oviposição de *Musca domestica* (Linnaeus, 1758) (Diptera, Muscidae). Os resultados demonstraram que extrato de *M. azedarach* possivelmente poderá ser utilizado como estratégia de controle de *M. domestica* em granjas de suínos, bovinos e aves, entretanto, cabe salientar a necessidade de estudos posteriores avaliando o impacto direto provocado sobre os inimigos naturais desse díptero, em ecossistemas artificiais.

A *M. domestica* foi utilizada como modelo experimental devido ao fato de ser um inseto de fácil obtenção e criação em laboratório. Contudo, estudos utilizando outras espécies de insetos importantes em saúde pública e animal são necessários, considerando a diversidade do grupo e a especificidade de substâncias deterrentes produzidas por plantas.

A ação deterrente sobre o desenvolvimento de *M. domestica* e inibição da oviposição provocada pelo extrato de *M. azedarach* em sítios de oviposição, leva à reflexão que de alguma maneira os adultos não reconhecem o substrato oferecido como sítio de oviposição ou percebem o efeito deterrente sobre o desenvolvimento, o que contribui para explicar o grande sucesso dos insetos.

Quando se pretende controlar um inseto de alta ocorrência em ecossistemas artificiais, devem-se associar diversos métodos de controle, dentro de um programa de Manejo Integrado de Pragas, a fim de evitar a pressão de seleção e conseqüentemente o surgimento de populações resistentes. Cabe salientar que em relação ao uso de produtos naturais, como é o caso dos fitoextratos, é importante avaliar sua bioatividade específica e os efeitos provocados em longo prazo, pois embora possam não exercer a atividade inseticida imediata, podem provocar diversos efeitos nos diferentes estágios de desenvolvimento do inseto, com reflexo

na performance reprodutiva, o que conseqüentemente, provoca uma queda da população. Além disso, deve-se avaliar o efeito desses produtos nas gerações subseqüentes e o impacto sobre as populações não alvo, buscando-se sempre a manutenção da biodiversidade e o equilíbrio da natureza.

## CONCLUSÕES GERAIS

- ✓ O extrato aquoso de *Eucalyptus* sp., em meio de cultura para larvas, não interfere nas características biométricas e morfométricas de *M. domestica*;
- ✓ O extrato aquoso de *M. azedarach*, em meio de cultura para larvas, exerce influência negativa nas características biométricas e morfométricas de *M. domestica*, com reflexo negativo na performance reprodutiva;
- ✓ O extrato aquoso de *M. azedarach*, em sítios de oviposição para *M. domestica*, interfere no comportamento de oviposição, repelindo os adultos e prolongando a longevidade, em condições de laboratório.

## REFERÊNCIAS

- ABDEL HALIM, A. S.; MORSY, T. A. The insecticidal activity of *Eucalyptus globulus* oil on the development of *Musca domestica* third stage larvae. **Journal of the Egyptian Society of Parasitology**, v.35, n.2, p.631-636, 2005.
- ABREU JÚNIOR, H. **Práticas alternativas de controle de pragas e doenças na agricultura: coletânea de receitas**. 1.ed. Campinas: EMOPI, 1998. 115p.
- AHMED, S. M.; CHANDER, H.; PEREIRA, J. Insecticidal potential and biological activity of Indian indigenous plants against *Musca domestica* L. **International Pest Control**, v.23, p.170-175, 1981.
- AVANCINI, C. A. M. **Sanidade Animal na Agroecologia – Atitudes Ecológicas de Sanidade Animal e Plantas Medicinais em Medicina Veterinária**. 1.ed. Porto Alegre: Fundação Gaia, 1994. 46p.
- AXTELL, R. C.; ARENDS, J. J. Ecology and management of arthropod pest of poultry. **Annual Review of Entomology**. v.35, p.101-126, 1990.
- BALANDRIN, M. F. et al. Natural Plant Chemical: Sources of Industrial and Medicinal Materials. *Science*, v.228, p.1154-1160, 1985. In: VIVAN, M. P. **Uso do cinamomo (*Melia azedarach*) como alternativa aos agroquímicos no controle do carrapato bovino (*Boophilus microplus*)**. 2005. 72p. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) – Curso de Pós-Graduação em Agroecossistemas, Universidade Federal de Santa Catarina.
- BALANDRIN, M. F.; MARK-LEE, S.; KLOCKE, J. A. Biologically active volatile organosulfur compounds from seeds of the neem tree, *Azadirachta indica* (Meliaceae). **Journal of Agriculture and Food Chemistry**. v.36, p.1048-1054, 1988.
- BANCHIO, E.; VALLADARES, G.; DEFAGÓ, M.; PALACIOS, S.; CARPINELLA, C. Effects of *Melia azedarach* (Meliaceae) fruit extracts on the leafminer *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae): assessment in laboratory and field experiments. **Annals of Applied Biology**. v.143, p.187–193, 2003.
- BURG, I. C.; MAYER, P. H. **Alternativas ecológicas para prevenção e controle de pragas e doenças**. 1.ed. Francisco Beltrão/PR: Grafite Gráfica e Editora Ltda., 2001. 153p.

CAVALCANTE, G. M.; MOREIRA, A. F. C.; VASCONCELOS, S. D. Potencialidade inseticida de extratos aquosos de essências florestais sobre mosca-branca.

**Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.41, n.1, p.9-14, jan., 2006.

CHAGAS, A. C. S.; PASSOS, W. M.; PRATES, H. T.; LEITE, R. C.; FURLONG, J.; FORTES, I. C. P. Efeito acaricida de óleos essenciais e concentrados emulsionáveis de *Eucalyptus* spp em *Boophilus microplus*. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v.39, n.5, p.247-253, 2002.

CHEN, C. C.; CHANG, S. J.; CHENG, L. L.; HOU, R. F. Effects of chinaberry fruit extract on feeding, growth and fecundity of the diamondback, *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Yponomeutidae). **Journal of Applied Entomology**, v.120, p.341-345, 1996.

COLLINS, N. C. Development responses to food limitation as indicators of environmental conditions for *Ephydra cinerea* Jones (Diptera). **Ecology**, v.61, p.650-661, 1980.

CRESPO, D. C.; LECUONA, R. E.; HOGSETTE, J. A. Strategies for Controlling House Fly Populations Resistant to Cyromazine. **Neotropical Entomology**, v.31, n.1, p.141-147, 2002.

DAJOZ, R. **Princípios de Ecologia**. 7.ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 520p.

D'AMBROSIO, M.; GUERRIERO, A. Degraded limonoids from *Melia azedarach* and biogenetic implications. **Phytochemistry**, v.60, p.419-424, 2002.

FATCHUROCHIM, S.; GEDEN, C. J.; AXTELL, R. C. Filth fly (Diptera) oviposition and larval development in poultry manure of various moisture levels. **Journal of Entomology Science**, v.24, n.2, p. 224-231, 1989.

FERREIRA, L. R.; DIERSMANN, E. M.; SANTOS, V. M. R.; MOURA, C. C.; BORJA, G. E. M.; COSTA, J. B. N.; MORAIS, A. A. Verificação da atividade inseticida das folhas de *Asclepias curassavica* (Linnaeus) em *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.1, n.1, p.1709-1712. 2006.

GAJMER, T.; SINGH, R.; SAINI, R. K.; KALIDHAR, S. B. Effect of methanolic extracts of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) and bakain (*Melia azedarach* L.) seeds on oviposition and egg hatching of *Earias vittella* (Fab.) (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Applied Entomology**, v.126, p.238-243. 2002.

GALLO, D. et al. **Entomologia Agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002, 920p.

GINARTE, C. M. A. **Efeitos de extratos de plantas e inseticidas de segunda e terceira gerações em populações de *Musca domestica* (Diptera: Muscidae)**. 2003. Tese (Doutorado) – Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.

GONÇALVES, M. E. C.; OLIVEIRA, J. V.; BARROS, R.; TORRES, J. B. Efeito de Extratos Vegetais sobre Estágios Imaturos e Fêmeas Adultas de *Mononychellus*

*tanajoa* (Bondar) (Acari: Tetranychidae). **Neotropical Entomology**, v.30, n.2, p.305-309, 2001.

GRAINGE, M.; AHMED, S. **Handbook of plants with pest-control properties**. John Wiley & Sons. New York, USA, 1988. 470p.

HAMMAD, A. E. M.; NEMER, N. M.; HAWI, Z. K.; HANNA, L. T. Responses of the sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci*, to the chinaberry tree (*Melia azedarach* L.) and its extracts. **Annals of Applied Biology**, v.137, p.79-88, 2000.

HAMMAD, A. E. M.; ZOURNAJIAN, H.; TALHOUK, S. Efficacy of extracts of *Melia azedarach* L. callus, leaves and fruits against adults of the sweetpotato whitefly *Bemisia tabaci* (Hom., Aleyrodidae) **Journal of Applied Entomology**, v.125, p.483-488, 2001.

JACOBSON, M. Botanical pesticides: past, present and future In: ARNASON, J. T.; PHILOGENE, B. J. R.; MORAND, P. **Insecticides of plant origin**. Washington: American Chemical Society. 1989. 213p.

KATHURIA, V.; KAUSHIK, N. Feeding inhibition of *Helicoverpa armigera* (Hübner) by *Eucalyptus camaldulensis* and *Tylophora indica* extracts. **Insect Science**, v.12, p.249-254, 2005.

KIM, J. K.; KANG, C. S.; LEE, J. K.; KIM, Y. R. Evaluation of Repellency Effect of Two Natural Aroma Mosquito Repellent Compounds, Citronella and Citronellal. **Entomological Research**, v.35, n.2, p.117-120, June, 2005.

LAGUNES, T. A.; RODRÍGUEZ, H. C. **Búsqueda de tecnología apropiada para el combate de plagas del maíz almacenado en condiciones rústicas**. Chapingo: CONACYT-CP, 1989, 150p.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: Rima, 2000, 550p.

LINDSAY, L. R.; SURGEONER, G. A.; HEAL, J. D.; GALLIVAN, G. J. Evaluation of the efficacy of 3% citronella candles and 5% citronella incense for protection against field populations of *Aedes* mosquitoes. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v.12, p.293-294, 1996.

LOMÔNACO, C.; GERMANOS, E. Variações Fenotípicas em *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae) em Resposta à Competição Larval por Alimento. **Neotropical Entomology**, v.30, n.2, p.223-231, 2001.

McMILLIAN, W.W.; BOWMAN, M.C.; BURTON, R.L.; STARKS, K.J.; WISEMAN, B.R. Extract of chinaberry leaf as a feeding deterrent and growth retardant for larvae of the corn earworm and fall armyworm. **Journal of Economic Entomology**, v.62, p.708-710, 1969.

MARCONDES, C. B. **Entomologia Médica e Veterinária**. 1.ed. São Paulo: Atheneu, 2001, 432p.

MARICONI, F. de A. M.; GUIMARÃES, J. H.; BERTI FILHO, E. **A mosca doméstica e algumas outras moscas nocivas**. Piracicaba: FEALQ, 1999, 135p.

MAZZONETTO, F.; VENDRAMIM, J. D. Efeito de Pós de Origem Vegetal sobre *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae) em Feijão Armazenado **Neotropical Entomology**, v.32, n.1, p.145-149, 2003.

MEDEIROS, C. A. M.; BOIÇA JUNIOR, A. L.; TORRES, A. L. Efeito de extratos aquosos de plantas na oviposição da traça-das-crucíferas, em couve. **Bragantia**, Campinas, v.64, n.2, p.227-232, 2005.

MELLO, M. O.; SILVA-FILHO, M. C. Plant-insect interactions: an evolutionary arms race between two distinct defense mechanisms. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v.14, p.71-81, 2002.

MONZON, R. B.; ALVIOR, J. P.; LUCZON, L. L.; MORALES, A. S.; MUTUC, F. E. Larvicidal potential of five Philippine plants against *Aedes aegypti* (Linnaeus) and *Culex quinquefasciatus* (Say). **Southeast Asian Journal of Tropical Medicine & Public Health**, v.25, n.4, p.755-759, 1994.

MORDUE, A. J.; BLACKWELL, A. Azadirachtin: an update. **Journal Insect of Physiology**, Exeter, v.39, p.903-924, 1993.

NARDO, E. A. B. de; COSTA, A. S.; LOURENÇÃO, A. L. *Melia azedarach* extract as an antifeedant to *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). **Florida Entomologist**. v.80, p.92-94, 1997.

NATHAN, S. S. The use of *Eucalyptus tereticornis* Sm. (Myrtaceae) oil (leaf extract) as a natural larvicidal agent against the malaria vector *Anopheles stephensi* Liston (Diptera: Culicidae). **Bioresource Technology**, v.98, p.1856-1860, 2007.

NATHAN, S. S.; SAVITHA, G.; GEORGE, D. K.; NARMADHA, A.; SUGANYA L.; CHUNG, P. G. Efficacy of *Melia azedarach* L. extract on the malarial vector *Anopheles stephensi* Liston (Diptera: Culicidae). **Bioresource Technology**, v.97, p.1316-1323, 2005.

NEVES, D. P. Controle de Insetos. In: NEVES, D. P.; MELO, A. L.; GENARO, O.; LINARDI, P. M. **Parasitologia Humana**. 10ed. São Paulo: Atheneu, 2004. p.387-391.

OMOTO, C. Modo de Ação de Inseticidas e Resistência de Insetos a Inseticidas. In: GUEDES, J. C.; COSTA, I. D.; CASTIGLIONI, E. **Bases e Técnicas do Manejo de Insetos**. Santa Maria: UFSM/CCR/DFS, Pallotti, 2000. p.30-49.

PANIZZI, A. R.; PARRA, J. R. P. **Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas**. 1.ed. São Paulo: Ed. Manole, 1991. 359p.

PENTEADO, S.R. **Defensivos alternativos e naturais para uma agricultura saudável**. Campinas: Ed. Cati, 1999. 79p.

PÉREZ-PACHECO, R.; RODRÍGUEZ HERNÁNDEZ, C.; LARA-REYNA, J.; MONTES BELMON, R.; RAMÍREZ VALVERDE, G. Toxicidad de aceites, esencias y extractos vegetales en larvas de mosquito *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). **Acta Zoológica Mexicana**, v.20, n.1, p.141-152, 2004.

PROCÓPIO, S. O.; VENDRAMIM, J. D.; RIBEIRO JÚNIOR, J. I.; SANTOS, J. B. Bioatividade de diversos pós de origem vegetal em relação a *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.27, n.6, p.1231-1236, nov./dez., 2003.

RIBA, M.; MARTÍ, J.; SANS, A. Influence of azadirachtin on development and reproduction of *Nezara viridula* L. (Het., Pentatomidae). **Journal of Applied Entomology**, v.127, p.37-41, 2003.

RIBEIRO, P. B.; CARVALHO, C. J. B.; REGIS, M.; COSTA, P. R. P. Exigências Térmicas e Estimativa do número de gerações de *Ophyra aenescens* Wiedemann, 1830 (Diptera, Muscidae, Azeliinae), em Pelotas, RS. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.68, n.1, p.75-82, jan./jun., 2001.

RODRÍGUEZ HERNÁNDEZ, C. **Efeito de extratos aquosos de Meliaceae no desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae)**. 1995. 100p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.

RODRÍGUEZ HERNÁNDEZ, C. **Plantas contra pragas: potencial práctico de ajo, anona, nim, chile y tabaco**. Texcoco, Mexico: Red de Acción sobre Plaguicidas y Alternativas en México, 2000. 133p.

RODRIGUEZ HERNÁNDEZ, C.; VENDRAMIM, J. D. Toxicidad de extractos acuosos de Meliaceae en *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Manejo Integrado de Plagas**, n.42, p.14-22, 1996.

RODRÍGUEZ HERNÁNDEZ, C.; VENDRAMIM, J. D. Avaliação da bioatividade de extratos aquosos de Meliaceae sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). **Revista de agricultura**, v.72, p.305-318, 1997.

ROEL, A. R. **Efeito de extratos orgânicos de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) na sobrevivência e desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae)**. 1998. 115p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.

ROEL, A. R. Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o Desenvolvimento Rural Sustentável. **Revista Internacional de Desenvolvimento Local**, v.1, n.2, p.43-50, Mar., 2001.

RUPPERT, E. E.; BARNES, R. D. **Zoologia dos Invertebrados**. 6.ed. São Paulo: Roca, 1996. 1074p.

SALLES, L. A.; RECH, N. L. Efeito de extratos de nim (*Azadiractha indica*) e cinamomo (*Melia azedarach*) sobre *Anastrepha fraterculus* (WIED.)

(DIPTERA:TEPHRITIDAE). **Revista Brasileira de AGROCIÊNCIA**, v.5, n.3, p.225-227, set-dez, 1999.

SAXENA, R. C. Inseticides from neem. In: ARNASON, J. T., PHILOGENE, B. J. R.; MORAND, P. **Inseticides of plant origin**. Washington: American Chemical Society, 1989. p.110-129.

SCHMUTTERER, H. Insect growth-disrupting and fecundity-reducing ingredients from neem and chinaberry trees. In: MORGAN, E. D.; MANDAVA, N. B. **CRC Handbook of Natural Pesticides**. Insect Growth Regulators – Part B., WASHINGTON: CRC, v.3,1987. p.119-170.

SCHMUTTERER, H. Potential of azadirachtin-containing pesticides for integrated pest control in developing and industrialized countries. **Journal Insect of Physiology**, Exeter, v.34, p.713-719, 1988.

SCHMUTTERER, H. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. **Annual Review of Entomology**, v.35, p.271-279, 1990.

SCHMUTTERER, H.; SINGH, R. P. List of insect pests susceptible to neem products. In: SCHMUTTERER, H. **The Neem Tree *Azadirachta indica* A. Juss. and Other Meliaceous Plants**. Germany: VCH Publications, Weinheim,1995. p.326-365.

SHAPIRO M. ; ROBERTSON J. L. ; WEBB, R. E. Effect of neem seed extract upon the gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae) and its nuclear polyhedrosis virus. **Journal of Economic Entomology**, v.87, n.2, p.356-360, 1994.

SHARMA, V. P.; ANSARI, M. A.; RAZDAN, R. K. Mosquito repellent action of neem (*Azadirachta indica*) oil. **Journal of the American Mosquito Control Association**. v.9, p.359-360, 1993.

SHIN-FOON, C; YU-TONG, Q. Experiments on the application of botanical insecticides for the control of diamondback moth in South China. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v.116, p.479-486, 1993.

SILVEIRA NETO, S.; NAKANO, O.; BARBIN, D.; VILLA NOVA, N. A. **Manual de Ecologia dos Insetos**. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres LTDA, 1976. 419p.

SOUZA, A. P.; VENDRAMIM, J. D. Atividade ovicida de extratos aquosos de meliáceas sobre a mosca branca *Bemisia tabaci* (Gennadius) biótipo B em tomateiro. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.57, n.3, jul./set., p.403-406, 2000.

STATISTIX 8. **Statistix user's manual**. Analytical software. Tallahassee, FL, 2003.

STRONG, D. R.; LAWTON, J. H.; SOUTHWOOD, T. R. E. **Insects on plants: community patterns and mechanisms**. London: Blackwell Scientific, 1984. 313p.

SUKONTASON, K. L.; BOONCHU, N.; SUKONTASON, K.; CHOOCHOTE, W. Effects of Eucalyptol on house fly (Diptera: Muscidae) and blow fly (Diptera:

Calliphoridae). **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, São Paulo, v.46, n.2, March-April, 2004.

SUKONTASON, K. L.; SUKONTASON, K.; BOONCHU, N.; PIANGJAI, S. Some ultrastructural superficial changes in house fly (Diptera: Muscidae) and blow fly (Diptera: Calliphoridae) larvae induced by Eucalyptol oil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, São Paulo, v.46, n.5, September-October, 2004.

THOMAZINI, A. P. B. W. **Efeito de genótipos de *Lycopersicon* spp. e de extratos aquosos de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) sobre *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lep., Gelechiidae)**. 1999. 95p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.

TORRECILLAS, S.M. **Efeito de extratos aquosos de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) no desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera) em diferentes genótipos de milho**. 1997. 141p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.

TORRES, A. L.; BARROS, R.; OLIVEIRA, J. V. Efeito de Extratos Aquosos de Plantas no Desenvolvimento de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) **Neotropical Entomology**, v.30, n.1, p.151-156, 2001.

TORRES, A. L.; BOIÇA JÚNIOR, A. L.; MEDEIROS, C. A. M.; BARROS, R. Efeito de extratos aquosos de *Azadirachta indica*, *Melia azedarach* e *Aspidosperma pyrifolium* no desenvolvimento e oviposição de *Plutella xylostella*. **Bragantia**, Campinas, v.65, n.3, p.447-457, 2006.

VALLADARES, G.; DEFAGÓ, M. T.; PALACIOS, S.; CARPINELLA, M. C. Laboratory evaluation of *Melia azedarach* (Meliaceae) extracts against the Elm leaf beetle (Coleoptera, Chrysomelidae). **Journal of Economic Entomology**, v.90, n.3, p.747-750, 1997.

VENDRAMIM, J. D. Uso de plantas inseticidas no controle de pragas. In: CICLO DE PALESTRAS SOBRE AGRICULTURA ORGÂNICA, 2., 1997, Campinas. **Anais**. Campinas: Fundação Cargill, 1997. p.64-69.

VENDRAMIM, J. D.; CASTIGLIONI, E. Aleloquímicos, Resistência de Plantas e Plantas Inseticidas. In: GUEDES, J. C.; COSTA, I. D.; CASTIGLIONI, E. **Bases e Técnicas do Manejo de Insetos**. Santa Maria: UFSM/CCR/DFS, Pallotti, 2000. p.113-128.

VENDRAMIM, J.D.; SCAMPINI, P.J. Efeito do extrato aquoso de *Melia azedarach* sobre o desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) em dois genótipos de milho. **Revista de Agricultura**, v.72, p.159-170, 1997.

VIEGAS JUNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, São Paulo, v.26, n.3., may/june, 2003.

VIVAN, M. P. **Uso do cinamomo (*Melia azedarach*) como alternativa aos agroquímicos no controle do carrapato bovino (*Boophilus microplus*)**. 2005. 72p. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) – Curso de Pós-Graduação em Agroecossistemas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC.

WANDSCHEER, C. B.; DUQUE, J. E.; SILVA, M. A. N.; Fukuyama, Y.; WOHLKE, J. L.; ADELMANN, J.; Fontana, J. D. Larvicidal action of ethanolic extracts from fruit endocarps of *Melia azedarach* and *Azadirachta indica* against the dengue mosquito *Aedes aegypti*. **Toxicon**. v.44, Issue 8, p.829-835, 2004.

YOON, Y. H.; KYUNG, S. H. Repellent Activity of n-Hexane, Ethylacetate, n-Butanol, and Water Extracts of Native Plants against *Aedes albopictus*. **Korean Journal of Entomology**, v.32, n.2, p.61-64, June, 2002.

ZIMMER, C. R; PIRES, S. M.; CÁRCAMO, M. C., RIBEIRO, P. B. Efeitos da competição larval intra-específica sobre caracteres biométricos de *Muscina stabulans* (Fallén, 1817) (DIPTERA: MUSCIDAE) em laboratório. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.73, n.2, p.203-209, 2006.