

BIOATIVIDADE DE EXTRATOS ETANÓLICOS DE *Croton* SOBRE *Plutella xylostella*
(L.) E AÇÃO FUMIGANTE E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE
Croton greviioides (Baill.) SOBRE *Zabrotes subfasciatus* (Boheman)

por

CLEIA GOMES VIEIRA E SILVA

(Sob Orientação de Cláudio Augusto Gomes da Câmara)

RESUMO

As plantas constituem fontes naturais de substâncias inseticidas, e vêm sendo utilizadas pela humanidade desde a antiguidade. As plantas medicinais apresentam grandes quantidades de compostos secundários como alcalóides, terpenos, flavonóides e esteróides, que promovem alta resistência ao ataque de pragas e de doenças. O gênero *Croton*, que é constituído por espécies que ocorrem naturalmente no estado de Pernambuco, onde muitas delas são utilizadas na medicina popular. Estas plantas se caracterizam pela produção de óleo essencial e detém expressiva relevância alicerçada em suas fontes de componentes fixos e voláteis com reconhecida atividade biológica no tratamento de várias enfermidades. O conhecimento de que plantas medicinais apresentam alta resistência ao ataque de doenças e pragas motivou a investigação do potencial inseticida de extratos etanólicos brutos de diferentes partes de plantas do gênero *Croton* no controle de *Plutella xylostella* L. e do efeito fumigante de óleos essenciais da espécie *C. greviioides* contra *Zabrotes subfasciatus* Boheman. Todas as plantas investigadas são nativas do bioma pernambucano com uso na medicina popular pela comunidade onde sua ocorrência é registrada. Os extratos brutos foram obtidos por maceração a frio, utilizando como solvente o etanol, a partir de folhas e caules das espécies *Croton jacobinensis* Baill., *C. micans* Muell., *C.*

rhamnifolius H.B.K. e *C. sellowii* Baill. Já o óleo essencial foi obtido por hidrodestilação a partir de folhas e caule de *C. grewoides*. Os extratos obtidos foram diluídos em concentrações previamente determinadas mediante experimento piloto e tiveram suas atividades testadas sobre o desenvolvimento e sobrevivência de *Plutella xylostella* L. Para isto, com auxílio de torre de Potter, discos de oito cm de diâmetro de folhas de couve, *Brassica oleracea* var. *acephala* L., foram pulverizados com diferentes concentrações dos extratos etanólicos, e oferecidos às larvas confinadas em placas de Petri. Dentre os extratos estudados, o extrato etanólico de folhas de *C. rhamnifolium* foi o mais tóxico à fase larval, seguido do extrato etanólico de caule da mesma espécie, apresentando CL_{50} de 14,95 e 42,40 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente. Observou-se ainda uma interferência do extrato de *C. rhamnifolius* no desenvolvimento de *P. xylostella*. O óleo essencial obtido a partir do caule e folhas de *Croton grewoides* Baill. foi analisado por CG/EM. Um total de 22 compostos foi identificado. A classe química predominante foi fenilpropanóide, cujo representante majoritário, o (E)-anetol apresentou percentual de 65,5% no óleo de folha, e 47,8% no óleo do caule. Bioensaio de fumigação foi realizado contra o caruncho do feijão *Z. subfasciatus*. O óleo essencial de folhas foi cerca de 3,4 vezes mais tóxico eficaz do que o óleo essencial do caule cujos valores estimados para a CL_{50} foram 4,0 e 13,7 $\mu\text{g L}^{-1}$ de ar, respectivamente.

PALAVRAS-CHAVE: Euphorbiaceae, inseticidas naturais, traça-das-crucíferas caruncho do feijão

BIOACTIVITY OF ETHANOLIC EXTRACTS OF *Croton* AGAINST *Plutella xylostella* (L.)
AND FUMIGANT ACTION AND CHEMICAL COMPOSITION OF ESSENTIAL OILS FROM
SPECIES OF *Croton greviioides* (Baill.) AGAINST *Zabrotes subfasciatus* (Boheman.)

by

CLEIA GOMES VIEIRA E SILVA

(Under the Direction of Cláudio Augusto Gomes da Câmara)

ABSTRACT

Plants constitute natural sources of insecticide substances and have been used by mankind since Antiquity. It is also known that medicinal plants present great quantities of secondary compounds such as alkaloids, terpenes, flavonoids and steroids which promote high resistance to the onset of pests and diseases. The genus *Croton*, which is made up of species that occur naturally in the State of Pernambuco, where many of them are used in the popular medicine and characterize themselves by the production of essential oil, owns expressive relevance founded on their sources of fixed and volatile components with recognized biological activity in the treatment of various illnesses. The knowledge that medicinal plants present high resistance to the onset of diseases and pests has led us to investigate the potential insecticide of crude ethanolic extracts from different parts of plants of the genus *Croton* against *Plutella xylostella* L. and of the essential oil of the species *C. greviioides* against *Zabrotes subfasciatus* Boheman. All the investigated plants are native to the biome in Pernambuco with use in the popular medicine by the community where its occurrence is reported. The crude extracts were obtained through cold maceration, ethanol being used as solvent, from leaves and stalks of the species *Croton jacobinensis* Baill., *C. micans* Muell., *C. rhamnifolius* H.B.K and *C. sellowii* Baill. The essential oil, on the other hand, was obtained

through hydro-distillation from the leaves and stalk of *C. grewioides*. These extracts were diluted into previously determined concentrations by means of a pilot experiment and their activities were tested for the development and survival of *Plutella xylostella* L. To do so, with the aid of Potter's Tower, eight-cm diameter cabbage disks, *Brassica oleracea* var. *acephala* L., were ground with different concentrations of the ethanolic extracts and offered to caterpillars confined into Petri's dishes. Among the studied extracts, the ethanolic extract from leaves of *C. rhamnifolium* was the most toxic at the larval phase, followed by the ethanolic extract from the stalk of the same species, presenting CL_{50} of 14.95 and 42.40 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectively. The interference of the extract of *C. rhamnifolius* in the development of *P. xylostella* was also noticed. From the stalk and leaves of *Croton grewioides* Baill essential oils were extracted through hydro-distillation and then analyzed by GC/MS. This analysis revealed that both oils are made up of 22 compounds, in which the predominant chemical class was that of the phenylpropanoids, whose major representative was (E)-anetol (65.5% in the leaves and 47.8% in the stalk). The fumigant effect of both essential oils was assessed for the woodworm of beans, *Z. subfasciatus*, which presented itself as potential for the control of this pest. The essential oil of leaves presented itself about 3.4 times more effective than the essential oil from the stalk and the estimated values for the CL_{50} were 4.0 and 13.7 $\mu\text{g mL}^{-1}$ of air, respectively.

KEY-WORDS: Euphorbiaceae, natural insecticidals, diamond backmoth, mexican bean weevil

BIOATIVIDADE DE EXTRATOS ETANÓLICOS DE *Croton* SOBRE *Plutella xylostella*
(L.) E AÇÃO FUMIGANTE E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Croton*
greivoides (Baill.) SOBRE *Zabrotes subfasciatus* (Boheman)

Por

CLEIA GOMES VIEIRA E SILVA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, da
Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de
Mestre em Entomologia Agrícola.

RECIFE - PE

Julho – 2007

BIOATIVIDADE DE EXTRATOS ETANÓLICOS DE *Croton* SOBRE *Plutella xylostella*
(L.) E AÇÃO FUMIGANTE E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE
Croton grevioides (Baill.) SOBRE *Zabrotes subfasciatus* (Boheman)

Por

CLEIA GOMES VIEIRA E SILVA

Orientador: _____
Cláudio Augusto Gomes da Câmara – UFRPE

Co-orientadores: _____
José Vargas de Oliveira – UFRPE

Reginaldo Barros – UFRPE

Examinador: _____
Marcelo Coutinho Picanço – UFV

Ailton Pinheiro Lobo – UFRPE

DEDICATÓRIA

À Deus por todo o seu amor que tem guiado a minha vida.

À minha mãe, Donata, por todo o carinho e apoio nos momentos difíceis e ao meu pai,

Antonio.

Ao meu irmão Ravi pelo incentivo e alegrias vividas.

À minha família pelo carinho que sustenta a minha vida.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE em cujas instalações foi desenvolvido este trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo suporte financeiro.

Ao Prof ° Dr. Cláudio Augusto Gomes da Câmara pela orientação e compreensão, que auxiliaram no meu crescimento profissional.

Ao Prof ° Dr. Marcelo Picanço - Laboratório de MIP, Departamento de Biologia Animal, UFV, minha gratidão e admiração pelo exemplo de conduta profissional, pelos bons conselhos e receptividade por ocasião do meu estágio em seu laboratório.

Ao Prof ° Dr. Jorge Braz Torres, Departamento de Agronomia – UFRPE, pelas sugestões ao projeto por ocasião do exame de qualificação, pela oportunidade de intercâmbio com a UFV e também pelos bons conselhos.

Ao Prof ° Dr. José Vargas de Oliveira, Departamento de Agronomia – UFRPE, sempre acessível e disposto a colaborar.

Ao Prof° Dr. Antônio F. de Souza Leão Veiga pelas sugestões ao projeto.

Aos amigos especiais, Leandro, Leandra, Patty, Flávia e Fátima pelo apoio e amizade sincera.

Aos colegas de curso Ana Elizabete, Marta, Gilberto, Marciene, Franklin, Suerda, Laurici, e Hugos.

Ao Prof^o Dr. Reginaldo Barros e aos colegas do Laboratório de Biologia de Insetos (UFRPE), Rose, Luiz, Izeudo, Antônio e Wendel.

A todos (são muitos) os alunos e estagiários do laboratório de MIP (UFV), em especial aos amigos recentemente conquistados e que se fizeram muito especiais durante meu estágio na UFV, Shaiene e Márcio Dionízio. Minha gratidão também às amigas Joana e Chris, que fizeram minha estada em Viçosa-MG ainda melhor.

Enfim, a todos os funcionários e alunos do Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola da UFRPE.

SUMÁRIO

	Páginas
DEDICATÓRIA	vii
AGRADECIMENTOS	viii
CAPÍTULOS	
1 INTRODUÇÃO	01
LITERATURA CITADA.....	05
2 CAPITULO 2.....	08
RESUMO	09
ABSTRACT	10
INTRODUÇÃO	11
MATERIAL E MÉTODOS	14
RESULTADOS E DISCUSSÃO	18
AGRADECIMENTOS.....	20
LITERATURA CITADA.....	21
TABELAS.....	24
FIGURA.....	27
3 CAPITULO 3.....	30
RESUMO	31
ABSTRACT	32
INTRODUÇÃO	33
MATERIAL E MÉTODOS	35

RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
AGRADECIMENTOS	41
LITERATURA CITADA.....	41
TABELAS.....	44

CAPÍTULO 1

Introdução

O controle de pragas utilizando plantas inseticidas não é recente e data desde a Idade Antiga, sendo uma prática que persiste até hoje. No entanto, entre as décadas de 50 e 70, logo após a Segunda Guerra Mundial, ocorreu um avanço na síntese orgânica, inclusive de produtos com atividade inseticida. Moléculas como HCH (hexacloroexano), DDT, aldrin, dieldrin e clordano foram desenvolvidas e passaram a ser utilizadas (Lagunes & Rodríguez 1992, Viegas Jr. 2003). Entretanto, constatou-se que o emprego dessas e outras substâncias foram responsáveis por impactos ambientais, além de perderem rapidamente o espectro de ação, que mostraram quando foram sintetizadas (Roel 2001, Viegas Jr. 2003). Desta forma, os estudos de controle de pragas com produtos derivados de plantas foram retomados no início dos anos sessenta, com a preocupação em proteger o meio ambiente (Roel 2001).

As plantas, como organismos que co-evoluem com insetos são fontes naturais de substâncias inseticidas, já que as mesmas são produzidas e se acumulam no vegetal em resposta a um ataque de herbívoros. Para se protegerem contra a ação de herbívoros, as plantas desenvolveram dois mecanismos de defesa, diretos e indiretos. Os mecanismos diretos envolvem substâncias como a sílica, metabólitos especiais (aleloquímicos), enzimas e proteínas, além de órgãos como tricomas e espinhos que afetam diretamente a performance de ataque do inseto. Já os indiretos se devem a ação de substâncias voláteis, emitidas pela planta, cuja produção é induzida mediante ao ataque de uma praga, atuando na atração de predadores ou parasitóides do inseto fitófago (Birkett *et al.* 1999, Kato *et al.* 2004) . Um exemplo da ação desses componentes voláteis é aquele biossintetizado pela planta de milho, *Zea Mays* L., que libera substâncias pertencentes às classes

químicas dos alcalóides, mono e sesquiterpenos, que atuam na atração da vespa, *Cotesia marginiventris* Cresson, que é um parasitóide da lagarta-do-cartucho, *Spodoptera exigua* Hübner, uma importante praga em milharais. Neste caso, a substância só é produzida e emitida quando ocorre o contato oral de *S. exigua* com o tecido injuriado da planta. Outro fato interessante, é que a emissão desses voláteis só se dá durante o dia, período no qual a vespa tem o hábito de procurar por seus hospedeiros (Pinto *et al.* 2002). Assim, o estudo dos mecanismos de defesa das plantas possibilita investigar novos inseticidas que preencham os requisitos de eficácia, segurança e seletividade. A exploração de compostos secundários bioativos presentes no extrato bruto ou óleos essenciais de plantas podem ser eficientes no controle de pragas.

Sabe-se, que as plantas medicinais têm sido utilizadas como fonte na obtenção de novos inseticidas antes do advento dos inseticidas organossintéticos (Martins *et al.* 1998). Essas plantas constituem fonte de compostos secundários, como alcalóides, terpenos, flavonóides e esteróides com propriedades medicinais comprovadas (Di Stasi 1996). De acordo com Martins *et al.* (1998), as plantas medicinais apresentam alta resistência a doenças e pragas o que facilita o seu cultivo em larga escala. Segundo Jbilou *et al.* (2006), os efeitos deletérios desses extratos podem ser devido a toxicidade, inibição de crescimento, redução de fecundidade, fertilidade e repelência.

Yang & Tangs (1988) relataram que há forte conexão entre espécies de plantas medicinais e plantas com propriedades inseticidas. Assim, a seleção de novas espécies vegetais a partir do conhecimento prévio de seu uso na medicina popular, aumenta a chance de se descobrirem componentes bioativos com propriedades inseticidas.

Atualmente, a propriedade inseticida de espécies de algumas famílias de plantas é investigada por vários grupos de pesquisa e está relacionada na utilização das mesmas na medicina popular. Como exemplo se pode mencionar a espécie *Pterocaulon polystachyum* D C. (Asteraceae) que é utilizada na medicina popular argentina em casos de carcinomas na epiderme

oral humana e apresenta propriedades repelentes contra pulgas e moscas (Debenedetti 1994, Mongelli *et al.* 2000). *Piper aduncum* L. (Piperaceae), cuja infusão das folhas é empregada como tônico, antiespasmódico, antiemorrágico e para afecções do fígado, vesícula e baço (Lorenzi & Matos, 2002) também é conhecida por sua toxicidade a *Cerotoma tingomarianus* Bechyné, (Fazolin *et al.* 2005). As folhas e flores do alecrim, *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiaceae) além de possuir indicações terapêuticas para reumatismo, inapetência, debilidade cardíaca e problemas respiratórios são efetivas contra a oviposição e a sobrevivência de *Acanthoscelides obtectus* Say, praga de grãos armazenados (Regnault & Hamraoui 1993). Outro exemplo é a potente ação antitumoral, pesticida e inseticida dos fitoquímicos presentes nas folhas, cascas e brotos de *Annona muricata* L. (Anonaceae), os quais já foram relatados e patenteados (Alali *et al.* 1999).

Outras grandes famílias de angiospermas, como Compositae, Gramineae, Leguminosae, Solanaceae também têm sido muito estudadas. No entanto, a família Euphorbiaceae que tem sido uma das menos estudadas, merece destaque especial, haja vista, ser uma das mais extensas famílias de fanerógamas compreendendo cerca de 300 gêneros e 7600 espécies (Cronquist 1981). Nessa família, o gênero *Croton* detém expressiva relevância econômica alicerçada em seu conteúdo de óleos essenciais e diversas substâncias ativas como terpenóides, flavonóides e alcalóides (Braga 1960). Este é o segundo em número de espécies, cerca de 1.200 distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais (Webster 1994). No Brasil são registradas aproximadamente 300 espécies de *Croton* que crescem em matas, campos e cerrados de Norte a Sul do país. Várias espécies ocorrem na Caatinga e nas áreas de Brejos de altitude de Pernambuco (Albuquerque & Andrade 2002). No Nordeste, são conhecidas popularmente por marmeleiro ou velame e são usadas na medicina popular no tratamento de inflamações, úlceras, e hipertensão (Bighetti *et al.* 1999, Hiruma-Lima *et al.* 2002).

A espécie *Croton cajucara* Benth (Euphorbiaceae), por exemplo, representa um recurso medicinal de grande importância no Estado do Pará. Suas as folhas e cascas do caule são utilizadas em forma de chá ou pílulas, no combate a diabetes, diarreia, malária, febre, problemas estomacais, inflamações do fígado, rins, vesícula e no controle de índices elevados de colesterol (Van Den Berg *et al.* 1982, Martins 1989) Esta espécie também é rica em diterpenos e atua inibindo o crescimento de *Heliothis virescens* Fabr. (Kubo *et al.* 1981). Na espécie *Croton linearis* Jacq. foi constatada a ocorrência de um diterpeno com efeito inseticida para uma importante praga da batata doce, *Cylas formicarius elegantulus* Summers (Alexander *et al.* 1991). Estudos realizados por Almeida *et al.* (1999) demonstraram que o extrato alcoólico de *Croton tiglium* Willd. pode ocasionar 99% de mortalidade de *Sitophilus zeamais* Motsch. De acordo com Guerra (1985), as espécies de *Croton* possuem alto poder inseticida e em alguns casos são mais tóxicas aos insetos do que o piretro, substância já comercializada em vários lugares do mundo como inseticida, que é encontrada nas flores do crisântemo, e segundo Couto & Sigrist (1995) apresenta um largo espectro de ação.

De modo geral, a utilização de plantas medicinais no controle de insetos pode ter duas vertentes. Primeiramente, quando é detectada a atividade, os compostos são isolados, identificados e posteriormente sintetizados em larga escala. Em laboratório, o novo inseticida, através de transformações químicas, pode ter seus efeitos iniciais otimizados, suprimindo ou minimizando sua toxicidade (quando necessário) em mamíferos ou inimigos naturais. No segundo caso, quando é identificada a atividade inseticida, sua utilização se dá na forma de extrato vegetal bruto. No entanto, a escolha do método está em função da complexidade das estruturas químicas da substância, que poderá permitir ou não sua síntese, da viabilidade econômica e tecnológica (Fazolin 2005). Entretanto, segundo Ming (1996), menos de 1% da flora brasileira foi pesquisada

quimicamente, o que evidencia a importância de trabalhos cujo objetivo é conhecer a composição química de plantas potencialmente inseticidas.

O interesse no uso de extratos vegetais para o controle de pragas vem crescendo cada vez mais, principalmente devido a alguns fatores, como a produção de alimentos livre de resíduos de agrotóxicos, manutenção da biodiversidade local, preservação e qualidade da água, conservação de solos e por propiciar melhor qualidade de vida aos agricultores responsáveis pela produção. Mas, para isso, é necessária uma investigação minuciosa do potencial de espécies de plantas com eficiência no controle de pragas, considerando, sobretudo, o conhecimento empírico e a experiência popular. Sendo, portanto, o objetivo deste trabalho, estudar o potencial bioativo de extratos etanólicos e óleos essenciais de espécies do gênero *Croton* que ocorrem naturalmente no Estado de Pernambuco.

Literatura Citada

- Alali F.Q.X. Liu & J. McLaughlin. 1999.** Annonaceous acetogenins: recent progress. *J. Nat. Prod.* 62: 504-540.
- Alexander, I. C., O.K. Pascoe, P. Marchand & L.A.D. Williams. 1991.** An insecticidal diterpene from *Croton linearis*. *Phytochemistry.* 30: 1801-1803.
- Almeida, F.A.C., A.C. Goldfarb & J.P.G. Gouveia. 1999.** Avaliação de extratos vegetais e métodos de aplicação no controle de *Sitophilus* spp. *Rev. Bras. Prod. Agroind.* 1:13-20.
- Albuquerque, U.P. & L.H.C. Andrade. 2002.** Conhecimento botânico tradicional e conservação em uma área de Caatinga no Estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil. *Acta Bot. Bras.* 1: 273-285.
- Braga, R. 1960.** Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará. Natal, Editora Universitária-UFRN, 540 p.
- Birkett M.A., C.A.M. Campbell, K. Chamberlain, E. Guerrieri, A.J. Hick, J.L. Martin, M. Matthes, J.A. Napier, J.Pettersson, J.A. Pickett, G.M. Poppy, E.M. Pow, B.J. Pye, L.E. Smart, G.H. Wadhams, L.J. Wadhams & C.M. Woodcock..** New roles for cis-jasmone as an insect semiochemical and in plant defense. *PNAS* 16: 9329 –9334.

- Cronquist, A. 1981.** An integrated system of classification of flowering plants. New York, Columbia University Press. 1262p.
- Couto, H.T.Z. & P.O. Sigrist. 1995.** O poder inseticida do crisântemo. Rev. Univ. Agron. Zoot. 1: 46-47.
- Debenedetti, S.L. 1994.** 5-(3-methyl-2-butenyloxy)-6,7-methylenedioxy-coumarin, a 5,6,7-trioxygenated coumarin from *Pterocaulon virgatum*. J. Nat. Prod. 57: 11 1539-1542.
- Di Stasi, L.C. 1996.** Química de produtos naturais. p. 109-127. In L. C. Di Stasi (Ed), Plantas medicinais: arte e ciência - um guia de estudos multidisciplinar. São Paulo, Universidade Paulista Editora, 345 p.
- Fazolin, M. 2005.** Prospecção e avaliação de plantas da Amazônia com potencial de uso inseticida. SBRT.
- Fazolin, M., J.L.V. Estrela, V. Catani, M.S. Lima & M.R. Alcício. 2005.** Toxicidade do Óleo de *Piper aduncum* L. a Adultos de *Cerotoma tingomarianus* Bechyné (Coleoptera: Chrysomelidae). Neotrop. Entomol 34: 485-489.
- Guerra, M.S. 1985.** Alternativa para o controle de pragas e doenças de plantas cultivadas e seus produtos. Brasília, Embrapa, 165p.
- Heemann, A. C., M.O.G. Winckler, & M. D. Miguel 2004.** Revisão do Gênero *Pterocaulon* – aspectos fitoquímicos e atividades biológicas. Visão Acad., 5: 53-60
- Jbilou R., A. Ennabili & F. Sayah. 2006.** Insecticidal activity of four medicinal plant extracts against *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). Afr. J. Biotechnol. 5: 936-940.
- Kato N.S., E.C. Lima, S.R. Conceição, R.M. Kuster e A.M. Oliveira Filho & C.L.S. Lage. 2004.** Produtos naturais para o controle da transmissão da dengue – atividade larvicida de *Myroxylon balsamum* (óleo vermelho) e de terpenóides e fenilpropanóides. Quim. Nova 27:46-49
- Kubo, I., Y. Asaka & K. Shibata. 1991.** Insect growth inhibitory nor-diterpenes, cis-dehydrocrotonin and trans-dehydrocrotonin, from *Croton cajucara*. Phytochemistry. 30: 2545-2546.
- Lagunes T., A. & C. Rodríguez H. 1992.** Los extractos acuosos vegetales con actividad insecticida: el combate de la conchuela del frijol. Texcoco, Usaid-Conacyt-SME-CP, 57p.
- Lorenzi, H. & F.J.A. Matos. 2002.** Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas. Nova Odessa, Instituto Plantarum, 253p.

- Martins, J.E.C. 1998.** Plantas Medicinais de uso na Amazônia; Belém, Centro de Estudos Jurídicos do Pará, 92p.
- Ming, L.C. 1996.** Coleta de plantas medicinais. p. 69-86. In L. C. Di Stasi (Ed.), Plantas medicinais: arte e ciência - um guia de estudos multidisciplinar. São Paulo, Universidade Paulista Editora, 345 p.
- Mongelli, E. 2000.** Cytotoxic and DNA interaction activities of extracts from medicinal plants used in Argentina. J. Ethnopharmacol. 71: 145-151.
- Pinto, A.C.P., D.H.S. Silva, V.S. Bolzani, N.P. Lopes & R.A. Epifanio. 2002.** Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. Quim. Nova 25: 45-61.
- Regnault, R.C. & A. Hamraoui. 1993.** Efficiency of plants from the south of France used as traditional protectants of *Phaseolus vulgaris* L. against its bruchid *Acanthoscelides obtectus* (Say.). J. Stored Prod. Res. 29: 259-264.
- Roel, A.R. 2001.** Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o Desenvolvimento Rural Sustentável. Rev. Int. Des. Local. 1: 43-50.
- Van Den Berg, M.E. 1982.** Plantas Medicinais na Amazônia-Contribuição ao seu Conhecimento Sistemático; Belém, Falangola Editora, 158p.
- Viegas Jr., C. 2003.** Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. Quím. Nova, 26: 390-400.
- Webster, G.L. 1994.** Synopsis of the genera and suprageneric *taxa* of Euphorbiaceae. Ann. Miss. Bot. Gard. 81:33-144.
- Yang R.Z & Tangs C.S. 1988.** Plants used for pest control in China: a literature review. Econ. Bot. 42: 376-406.

CAPÍTULO 2

ATIVIDADE INSETICIDA DE EXTRATOS ETANÓLICOS DE ESPÉCIES DE *Croton* SOBRE *Plutella xylostella* L. ¹

CLEIA G. V. E SILVA² E CLÁUDIO A. G. CÂMARA³

²Departamento de Agronomia – Entomologia, UFRPE, Av. Dom Manoel de Medeiros s/n,
Dois Irmãos, 52171-900, Recife- PE, Brasil.

³Departamento de Química, UFRPE, Av. Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, 52171-
900, Recife-PE, Brasil

¹ Silva, C.G.V., C.A.G. Câmara, Atividade inseticida de extratos orgânicos de espécies do gênero *Croton* que ocorrem naturalmente no estado de Pernambuco. Bioassay

RESUMO - As espécies *Croton jacobinensis* Baill, *Croton micans* Muell., *Croton rhamnifolius* H.B.K. foram coletadas em regiões de Brejos de Altitude no município de Brejo de Madre de Deus e *Croton sellowii* Baill na região de restinga, litoral Sul no município de Cabo se Santo Agostinho, PE. Os extratos brutos de folha e caule das espécies coletadas foram obtidos por maceração com etanol a temperatura ambiente e foram avaliados sobre o desenvolvimento e sobrevivência de larvas de *Plutella xylostella* L. Os extratos foram pulverizados em disco de folhas de couve usando torre de Potter (*Brassica oleracea* var. *acephala*). As concentrações utilizadas foram determinadas mediante ensaios preliminares para estimar as concentrações letais média (CL₅₀) dos extratos testados. Verificou-se que *C. rhamnifolius* (folha) foi o mais tóxico, cuja CL₅₀ foi estimada em 14,95µg mL⁻¹, seguido dos extratos de *C. rhamnifolius* (caule), *C. jacobinensis* (caule), *C. jacobinensis* (folha), *C. sellowii* (folha), *C. sellowii* (caule) com CL₅₀ de, 42,40; 116,21; 183,85; 801,36; 1252,00µg mL⁻¹, respectivamente. As larvas alimentadas com discos de couve impregnadas com todos os extratos, com exceção do *C. sellowii* (caule), apresentaram duração larval prolongada. Por outro lado, nenhum dos extratos afetou a duração da fase pupal de *P. xylostella*.

PALAVRAS-CHAVE: Plantas inseticidas, Euphorbiaceae, ação inseticida, traça-das-crucíferas

INSECTICIDAL ACTIVITY OF ETANOLICS EXTRACTS OF *Croton* AGAINST *Plutella xylostella* L. (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE)

ABSTRACT –Species *Croton jacobinensis* Baill, *Croton micans* Muell., *Croton rhamnifolius* H.B.K. had been collected in heath regions in the city of Brejo Madre de Deus and *C. sellowii* Baill in the region South coast, in the city of Cabo de Santo Agostinho, PE. The crude extracts of the collected species were obtained through maceration with etanol in ambient temperature. The etanolics extracts had been evaluated on the development and survival of larvae of *Plutella xylostella* L. using the method of spraying with Potter's tower in leaf disks from spring greens (*Brassica oleracea* var. *acephala*). The used concentrations had been determined by means of preliminary assays for esteem the lethal concentrations average (CL₅₀) of tested extracts. It was verified that the *C. rhamnifolius* (leaf) was most toxic, whose CL₅₀, was esteem in 14,95µg mL⁻¹, followed of extracts of *C. rhamnifolius* (stem), *C. jacobinensis* (stem), *C. jacobinensis* (leaf), *C. sellowii* (leaf), *C. sellowii* (stem) whose CL₅₀ had been, 42,40; 116,21; 183,85; 801,36; 1252,00µg mL⁻¹, respectively. The larvae fed with spring greens impregnated with all extracts, with exception of the *C. sellowii* (stem), had presented drawn out larval duration. However, none of extracts affected the duration of the pupal phase of *P. xylostella*.

KEY WORDS: Insecticidals plants, Euphorbiaceae, insecticidals action, diamondback moth

Introdução

A traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L.), é considerada praga-chave no cultivo de olerícolas como a couve, o repolho e outras brassicáceas (Maranhão *et al.* 1998). Trata-se de um microlepidóptero da família Plutellidae, cujo adulto apresenta coloração parda e, cerca de 10 mm de comprimento; a fase jovem consta de quatro ínstaes larvais em média. As larvas são inicialmente esbranquiçadas e posteriormente esverdeadas (Monnerat 1998, Gallo *et al.* 2002). As injúrias às culturas são ocasionadas pelas larvas que a partir do segundo ínstar perfuram as folhas, diminuindo o valor do produto e tornando-o inadequado para o comércio. Quando o ataque ocorre logo após o transplante das mudas provoca redução no estande de plantas podendo os danos atingirem a ordem de 100%, (Ooi & Kelderman, 1979, Villas Bôas *et al.* 1990, Chen *et al.* 1996, Torres *et al.* 2001, Silva *et al.* 2003).

Diversas táticas têm sido empregadas no controle desta praga, sendo o uso de inseticidas sintéticos, o método mais utilizado. Contudo, as populações de *P. xylostella* se destacam pela facilidade com que manifestam resistência aos ingredientes ativos das formulações. Esta resistência tem sido verificada também para produtos biológicos, a exemplo dos formulados à base de *Bacillus thuringiensis* Berliner. Assim, são requeridas doses cada vez mais elevadas de produtos sintéticos com maior toxicidade (Castelo Branco *et al.* 1997, Perez *et al.* 1997). Em determinadas regiões são feitas até 16 aplicações de inseticidas durante o ciclo da cultura. No entanto, o uso constante e excessivo desses produtos além de acarretar problemas à saúde do agricultor e ao meio ambiente, exerce pressão seletiva sobre as populações da praga favorecendo a seleção de linhagens resistentes a diversos compostos químicos, como ocorre com os inseticidas piretróides e fosforados (Castelo Branco 1999). Diante desta dificuldade no controle e, da possibilidade de contaminação ambiental pela utilização irracional destes produtos, novas alternativas como a utilização de inseticidas naturais, que minimizem os problemas apresentados

pelos químicos sintéticos, são cada vez mais estudadas e empregadas na supressão populacional desta praga.

A verificação da bioatividade de extratos orgânicos de plantas contra pragas é uma área promissora, atualmente bastante pesquisada. A utilização de produtos naturais na forma de macerados de diferentes partes de vegetais, consiste num excelente recurso que pode vir a ser utilizado devido ao baixo custo, fácil emprego, por minimizar problemas ambientais e constituir importantes agentes no controle de pragas (Marques *et al.* 2004), inclusive *P. xylostella* (Shin-Foon & Yu-Tong 1993). Segundo Torres *et al.* (2001) a suscetibilidade de insetos aos aleloquímicos extraídos de vegetais depende do órgão e da espécie vegetal, forma de extração e espécie do inseto. De acordo com Chagas *et al.* (2003), uma gama de compostos distintos pode ser isolada dependendo do solvente usado na obtenção do extrato. Afirmativa esta, corroborada pelos estudos realizados por Stein & Klingauf (1990), os quais, verificaram que a mortalidade de *Myzus persicae* Sulzer e larvas de segundo ínstar de *P. xylostella* ocasionada por extratos etanólicos e aquosos de folhas de *Prosopis juliflora* Swartz foi 90 e 28% com extrato etanólico e de 6 e 10% com extrato aquoso, respectivamente. Estudos desenvolvidos por Torres *et al.* (2001), mostraram a influência negativa dos extratos aquosos de Pereiro-do-Sertão, *Aspidosperma pyrifolium* Mart., Nim, *Azadirachta indica* A. Juss, e uma formulação comercial de Nim sobre a viabilidade larval deste inseto, ou seja, as larvas que se alimentaram de folhas de couve impregnadas com estas substâncias não atingiram a fase de pupa.

De acordo com Medeiros *et al.* (2005), extrato aquoso das folhas de *Enterolobium contortisilliquum* Vell., *Sapindus saponaria* L. e *Trichilia pallida* Swartz apresentaram 100% de deterrência para a oviposição de *P. xylostella*, ou seja, interferiram negativamente na postura deste inseto. Já Verkerk & Wright (1993) puderam observar que a azadiractina, principal composto bioativo da planta de nim apresentam efeito ovicida para *P. xylostella* na concentração

de 10 a 100 $\mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$. Assim como Bezerril & Carneiro (1992), verificaram apenas 5,6 e 6,8% de emergência de adultos, quando as larvas foram alimentadas com extratos aquosos de *Melia azedarach* L. e *Mirabilis jalapa* L. respectivamente.

O gênero *Croton*, pertence à família Euphorbiaceae e reúne espécies que ocorrem na Caatinga e nas áreas de brejos de altitude do Estado de Pernambuco (Albuquerque & Andrade 2002). No geral são conhecidas popularmente como marmeleiro ou velame. São espécies arbustivas ou subarbustivas com até dois metros de altura, provido de látex incolor e óleo essencial, este último rico em terpenóides. Esses componentes voláteis, que são os responsáveis pelo agradável aroma dessas plantas (Randau *et al.* 2004), segundo Farmer & Ryan (1990) são encontrados geralmente em todas as partes das plantas aromáticas, apresentam uma enorme diversidade estrutural, o que aumenta as chances desses óleos essenciais de se tornarem verdadeiras fontes de substâncias bioativas, podendo apresentar algum efeito adverso na biologia de artrópodes.

As espécies do gênero *Croton* que ocorrem naturalmente no Estado de Pernambuco e amplamente estudadas no que diz respeito às propriedades farmacológicas também apresentam potencial no controle de *P. xylostella* conforme constataram Torres *et al.* (2001). Estes autores verificaram que a utilização do extrato aquoso de *Croton* sp. afetou a viabilidade pupal de *P. xylostella*, sendo que de 65% das pupas submetidas ao tratamento não houve emergência de adultos. Puderam observar, ainda, que a viabilidade larval de *P. xylostella* foi reduzida, em média, 36,67% quando o mesmo extrato foi utilizado. Estes e outros estudos reforçam o potencial da utilização de produtos botânicos, especialmente obtidos a partir de espécies de *Croton* no controle da traça-das-crucíferas.

Assim, este trabalho objetivou avaliar o potencial dos extratos etanólicos de caule e folhas de *C. jacobinensis* Baill, *C. micans* Muell., *C. rhamnifolius* H.B.K., e *C. sellowii* Baill.

encontradas naturalmente no Estado de Pernambuco no desenvolvimento e sobrevivência de *P. xylostella*.

Material e Métodos

O estudo foi conduzido no Laboratório de Produtos Naturais Bioativos do Departamento de Química da Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE, onde foram preparados os extratos e, no Laboratório de Biologia de Insetos do Departamento de Agronomia, Área de Fitossanidade da UFRPE, onde foram conduzidos os bioensaios com a *P. xylostella*.

Seleção e coleta das espécies vegetais. Foram selecionadas, para condução dos bioensaios, quatro espécies de *Croton*. O critério adotado para a seleção dessas espécies baseou-se na utilização das mesmas na medicina popular. As espécies selecionadas foram, *Croton jacobinensis* Baill., *C. micans* Muell., *C. rhamnifolius* H.B.K e *C. sellowii* Baill.. As partes das plantas utilizadas no bioensaio foram folhas e caule. Tendo sido as três primeiras espécies coletadas na área de Brejos de Altitude do município de Brejo da Madre de Deus, e última na praia de Gaibú no município de Cabo de Santo Agostinho. As espécies coletadas foram identificadas pela especialista em gênero *Croton*, Maria de Fátima Araújo Lucena - UFPE. Uma excicata de cada espécie foi catalogada sob os nº 45553 (*C. jacobinensis*), 48218 (*C. micans*), 48217 (*C. rhamnifolius*) e 45622 (*C. sellowii*) e depositada no Herbário Vasconcelos Sobrinho no Departamento de Botânica da UFRPE.

Preparação dos extratos etanólicos. O processamento das plantas foi realizado no Laboratório de Produtos Naturais Bioativos da UFRPE. Folhas e caules, após a coleta foram colocadas em estufa à temperatura de 40° C por um período de 48 horas. Em seguida, as partes de cada espécie foram trituradas separadamente em moinho e pesadas. Cerca de 220g do caule de *C. jacobinensis* foi acondicionado em um recipiente de vidro, o qual foi adicionado etanol até cobrir todo o

material vegetal. A maceração foi realizada a frio por um período de 72 horas com intervalos de 24 horas para assegurar a extração do maior número de substâncias a partir da matriz vegetal. O extrato foi filtrado, e evaporado à pressão reduzida com o intuito de minimizar possíveis degradações dos constituintes químicos pela ação da temperatura elevada. Após a retirada do solvente obteve-se 9,13g de material oleoso de cheiro forte, o qual foi denominado de extrato etanólico bruto do caule de *C. jacobinensis*. Esse mesmo procedimento foi utilizado com o caule e folha de todas as outras plantas previamente selecionadas. O rendimento de cada extrato é apresentado na Tabela 1.

Preparo das concentrações. As concentrações utilizadas em todos os experimentos (Tabela 2) foram preparadas a partir de uma solução hidroalcoólica. Para facilitar a dissolução dos extratos na água destilada, adicionou-se ao extrato bruto 0,5mL de etanol e o volume foi para uma concentração de 1mg de extrato bruto/mL de solução hidroalcoólica.

Criação de *Plutella xylostella*. A criação foi estabelecida a partir de pupas obtidas junto à criação-estoque mantidas no Laboratório de Biologia de Insetos da UFRPE. Os adultos emergidos foram sexados e acondicionados em gaiolas plásticas teladas, contendo um recipiente com esponja embebida em água, cujo objetivo era manter a umidade relativa adequada para os insetos no interior da gaiola. Sobre a esponja foi colocado um disco de papel filtro (\varnothing 8,0cm) e sobre o mesmo, nas mesmas dimensões, um disco de folha de couve manteiga, *B. oleracea* var. *acephala*, para a realização das posturas. Os adultos foram alimentados com solução de mel a 10%, fornecida em espuma de poliuretano acoplada em um orifício circular na parte superior da gaiola. Diariamente, os discos de folha de couve com as posturas, foram transferidos para placas de Petri datadas, onde permaneceram até a eclosão das larvas. Em seguida, os discos contendo as larvas foram colocados em recipientes plásticos retangulares contendo folhas de couve manteiga, provenientes de cultivo orgânico, as quais serviram de alimento. As larvas permaneceram nestes

recipientes, onde as folhas de couve eram trocadas diariamente até atingirem a fase de pupa, quando eram recolhidas em tubos de ensaio vedados com plástico de PVC contendo microorifícios para circulação de ar.

As pupas foram armazenadas sob temperatura ambiente até a emergência de novos adultos, os quais eram transferidos para as gaiolas anteriormente mencionadas dando origem a uma nova geração da praga.

Bioensaios com *Plutella xylostella*. Discos de folha de couve (*B. oleracea* var. *acephala*) proveniente de cultivo orgânico com 8 cm de diâmetro foram pulverizados com 2ml da solução hidroalcoólica dos extratos etanólicos brutos do caule e folha das plantas selecionadas em diferentes concentrações Tabela 2. Para efetuar as pulverizações utilizou-se torre de Potter calibrada à pressão de 10lb/pol². A testemunha consistiu de discos pulverizados com a solução hidroalcoólica sem o extrato. Após a pulverização, os discos foram postos sobre papel de filtro à temperatura ambiente para retirada do excesso de umidade. Posteriormente foram transferidos para placas de Petri e acondicionados sobre um disco de papel de filtro. Os testes foram conduzidos à temperatura de $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$, umidade relativa $70\% \pm 10$ e fotofase de 12h. Foram realizados testes preliminares para obtenção de faixas de respostas, ou seja, intervalos de concentração dos extratos que ocasionaram mortalidade do inseto próximo de zero até próximo de 100%. Dentro deste amplo intervalo, foram obtidas faixas mais estreitas de respostas para serem utilizadas na obtenção das concentrações letais médias (CL_{50}).

Efeito dos extratos de *Croton* sobre as Larvas. O método utilizado para avaliar a viabilidade larval e pupal em diferentes concentrações dos extratos etanólicos brutos foi realizado de acordo com o metodologia descrita por Torres *et al.* (2001) e Boiça Júnior *et al.* (2005) com algumas modificações. Discos de folha de couve tratados foram colocados em placas de Petri contendo disco de papel de filtro umedecido com água destilada. Em cada placa foram confinadas dez

larvas de *P. xylostella* recém-eclodidas (0-24h). Cada tratamento consistiu em uma das concentrações dos diferentes extratos brutos e contou com 10 repetições. A primeira avaliação da mortalidade foi feita 72h após o confinamento das larvas, contabilizando-se o número de indivíduos mortos e substituindo os discos de folha de couve por outros não tratados. Após a primeira avaliação, as outras foram realizadas a cada 24h e os discos de folha trocados a cada 48h até que as larvas atingissem o estágio de pupa. As pupas de cada tratamento foram individualizadas em placas de teste ELISA[®] para avaliação da viabilidade pupal.

Análise dos dados. Os parâmetros biológicos avaliados foram a mortalidade e duração das fases larval e pupal. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado constituído de 47 tratamentos (diferentes concentrações dos extratos do caule e folhas das espécies de *Croton*) com 10 repetições, cada repetição contendo 10 larvas recém-eclodidas. Foram calculadas as curvas de concentração-mortalidade dos extratos para as larvas utilizando-se o programa estatístico SAS (SAS Institute 2000), cuja probabilidade de aceitação da hipótese de nulidade pelo teste χ^2 fosse maior que 0,05. Por meio dessas curvas, foram estimadas as CL₅₀ de cada extrato (Finney 1971). Os extratos foram considerados estatisticamente diferentes quando os intervalos de confiança a 95% (IC 95%) das CL₅₀ não se sobrepuseram. No cálculo das CL₅₀, algumas das concentrações foram suprimidas para melhor ajuste do modelo. Para verificar se houve influência dos diferentes extratos na duração larval e pupal, os resultados foram submetidos à análise de regressão (SAS Institute 2000).

Resultados e Discussão

Os percentuais dos extratos etanólicos brutos, obtidos a partir de caule e folhas das diferentes espécies de *Croton*, variaram para o caule entre 3,9% (*C. micans*) e 4,2% (*C. sellowii*) e para os extratos da folha variaram entre 4,5% (*C. micans*) e 6,0% (*C. sellowii*) (Tabela 1).

Dentre os extratos testados o que apresentou maior toxicidade às larvas de *P. xylostella* foi o de folhas de *C. rhamnifolius*, pois requereu menor quantidade ($14,95 \mu\text{g mL}^{-1}$) para causar 50% de mortalidade na população, seguido dos extratos de *C. rhamnifolius* (caule), *C. jacobinensis* (caule), *C. jacobinensis* (folha), *C. sellowii* (folha), *C. sellowii* (caule) com valores de CL_{50} de 42,4; 116,21; 183,85; 801,36; $1252,00 \mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente. Já os resultados obtidos com a aplicação do extrato de *C. micans* (folha), devido à heterogeneidade dos dados, não apresentaram distribuição de Probit. Os parâmetros das curvas de concentração-mortalidade são apresentados na Tabela 2.

Os extratos de *C. rhamnifolius* (folha), *C. rhamnifolius* (caule), *C. jacobinensis* (folha) e *C. sellowii* (folha) são similares entre si. Já os extratos do caule de *C. jacobinensis* e *C. sellowii* diferiram entre si e entre os demais. De acordo com os coeficientes angulares (β) a maior inclinação da curva ocorreu com a aplicação do extrato de *C. sellowii* (folha), o que significa que pequenas variações na quantidade deste extrato podem provocar grande alteração no seu potencial de mortalidade. A razão de toxicidade do extrato de folha de *C. rhamnifolius* foi de 2,83; 12,30; 10,78; 53,60 e 83,75 em relação aos extratos *C. rhamnifolius* (caule), *C. jacobinensis* (folha), *C. jacobinensis* (caule), *C. sellowii* (folha), *C. sellowii* (caule), respectivamente (Tabela 2).

Os extratos apresentaram-se eficientes para o controle de *P. xylostella*, uma vez que, *C. jacobinensis* (folha e caule), *C. rhamnifolius* (folha e caule), *C. sellowii* (folha e caule) e *C. micans* (folha) nas maiores concentrações utilizadas ocasionaram mortalidades totais (larvas e pupas) de (95, 100), (100, 100), (100, 98) e 95% respectivamente (Tabela 3). A maior ou menor atividade de um extrato está associada ao tipo de solvente utilizado em sua preparação, outros fatores devem também ser levados em consideração, como a parte do vegetal utilizada na preparação dos extratos ou mesmo as espécies de insetos utilizados no bioensaio. (Trindade *et al.* 2000). Randau *et al.* (2004), estudando algumas espécies de *Croton*, afirmam que os terpenóides,

substâncias que podem estar associadas ao efeito inseticida, são encontrados em todas as partes da planta, havendo predominância dessas substâncias nas folhas e raízes. Este fato pode explicar a maior toxicidade dos extratos de folhas de *C. rhamnifolius* e *C. sellowii* comparados com dos seus caules.

As larvas alimentadas com discos de couve impregnados com o extrato de folha de *C. jacobinensis*, *C. rhamnifolius*, *C. sellowii* e *C. micans* e extrato de caule de *C. jacobinensis* e *C. rhamnifolius* tiveram, aparentemente, a duração prolongada nesta fase à exceção do extrato de caule de *C. sellowii* (Fig. 1, 2 e 3), cujo valor de Y da equação foi igual à média ($7,2 \pm 0,06$ dias), não demonstrando significância do tratamento. O prolongamento da fase larval é um fato que também foi observado nos experimentos realizados por Torres *et al.* (2001), com vários outros extratos vegetais, inclusive com extrato aquoso foliar de *Croton* sp. Neste caso o alongamento do ciclo de *P. xylostella* quando foram utilizados os extratos etanólicos de folha de *C. jacobinensis*, *C. rhamnifolius*, *C. sellowii*, *C. micans* e extrato etanólico de caule de *C. jacobinensis* e *C. rhamnifolius* pode ser devido à presença de substâncias inibidoras de crescimento ou fagodeterrentes. Isto constitui um fato relevante, uma vez que aumenta o tempo de exposição da praga aos inimigos naturais, assim como o tempo médio de cada geração, culminando em menor crescimento populacional da praga (Hernandez & Vendramim 1997, Torres *et al.* 2001).

Os extratos não afetaram a duração da fase pupal de *P. xylostella*. Para todos eles o valor de Y na equação foi igual à média. *C. jacobinensis* (folha), *C. rhamnifolius* (folha), *C. sellowii* (folha) *C. micans* (folha), *C. jacobinensis* (caule), *C. rhamnifolius* (caule) e *C. sellowii* (caule) apresentaram fase de pupa de $4,5 \pm 0,01$; $3,3 \pm 0,02$; $3,93 \pm 0,01$; $4,1 \pm 0,03$, $4,4 \pm 0,03$; $4,0 \pm 0,03$, $4,4 \pm 0,03$, $4,1 \pm 0,02$ dias, respectivamente. E esses valores não diferiram de acordo com as concentrações utilizadas. Entretanto, a viabilidade desta fase foi afetada pelos diferentes extratos (Tabela 3). Estes resultados também estão de acordo com os obtidos nos experimentos realizados

por Torres *et al.* (2001) com extrato aquoso foliar de *Croton* sp. Apesar de alguns extratos não terem demonstrado influência sobre a biologia de *P. xylostella* na fase de pupa, os estudos com as plantas utilizadas neste trabalho não devem ser descartados, uma vez que outros solventes podem potencializar a retirada de outros constituintes bioativos. Conforme afirma Costa *et al.* (2004), em alguns trabalhos têm sido verificadas diferenças nos componentes extraídos de acordo com o tipo de solvente utilizado na preparação dos extratos.

De acordo com resultados obtidos nesse trabalho, a toxicidade observada para os diferentes extratos testados, contra a traça das crucíferas, propiciará novos estudos promovendo a descoberta do(s) princípio(s) ativo(s) responsável(eis) pela ação inseticida por meio de abordagens metodológicas fitoquímicas objetivando o seu isolamento, caracterização e determinação estrutural. Outra perspectiva de estudo pode ser voltada para a avaliação das concentrações efetivas em condições de campo, a persistência, os mecanismos de ação e os demais aspectos necessários para viabilizar o uso comercial dos referidos extratos, principalmente com o extrato foliar de *C. rhamnifolius* por ter apresentado o melhor resultado para o controle de *P. xylostella*.

Agradecimentos

Os autores são gratos ao professor Jorge Braz Torres do Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco pelo auxílio nas análises estatísticas, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo ao primeiro autor e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo suporte financeiro.

Literatura Citada

- Abbott, W.S. 1925.** A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal Economic Entomology*. 18: 265-266.
- Albuquerque, U.P. & L.H.C. Andrade. 2002.** Conhecimento botânico tradicional e conservação em uma área de Caatinga no Estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil. *Acta Bot. Bras.* 1: 273-285.
- Bezerril, E.F. & J.S. Carneiro. 1992.** Manejo integrado da traça do repolho, *Plutella xylostella* (L.) no Planalto do Ibiapaba-Ceará. *Hortic. Bras.* 10: 49.
- Boiça Júnior, A.L., C.A.M. Medeiros, A.L. Torres & N.R. Chagas Filho. 2005.** Efeito de extratos aquosos de plantas no desenvolvimento de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) em couve. *Arq. Inst. Biol.*, 72: 45-50.
- Castelo Branco, M & A.G. Gatehouse. 1997.** Insecticide resistance in *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae) in the Federal District, Brazil. *An. Soc. Entomol. Bras. Piracicaba*, 26: 75-79.
- Castelo Branco, M. 1999.** Associação de armadilhas de feromônio e número de machos coletados para a redução do uso de inseticidas no controle da traça das crucíferas. *Hortic. Bras.* 17: 280.
- Chagas, A.C. S., R. C. Leite, J. Furlong, H. T. Prates & W. M. Passos. 2003.** Sensibilidade do carrapato *Boophilus microplus* a solventes. *Cienc. Rural* 33: 109-114.
- Chen, C., S. Chang, L. Cheng & R.F. Hou. 1996.** Deterrent effect of the chinaberry extract on oviposition of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae). *J. Appl. Entomol.* 120: 165-169.
- Costa, E.L.N., R..F.P. da Silva, L.M. Fiúza. 2004.** Efeitos, aplicações e limitações de extratos de plantas inseticidas. *Acta Biol. Leopold.* 26:173-185.
- Farmer, E.E. & C.A. Ryan. 1990.** Interplant communication: airborne methyl jasmonate induces synthesis of proteinase inhibitors in plant leaves. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 87: 7713-7716.
- Finney, D.J. 1971.** Probit analysis. London, Cambridge University, 333p.
- Gallo, D., O. Nakano, S. Silveira-Neto, R.P.L. Carvalho, G.C. Batista, E. Berti-Filho, J.R.P. Parra, R.A. Zucchi, S.B. Alves, J.D. Vendramin, L.C. Marchini, J.R.S. Lopes & C. Omoto. 2002.** *Entomologia Agrícola*. Piracicaba, FEALQ, 920p.

- Maranhão, E.A.A., M.P.L. Lima, E.H.A Maranhão & H.P. Lyra Filho. 1998.** Flutuação populacional da traça-das-crucíferas, em couve, na zona da Mata de Pernambuco. *Hortic. Bras.* 16: 50.
- Marques, R.P., A.C. Monteiro & G.T. Pereira. 2004.** Esporulation and viability of entomopathogenic fungi under mediums with different concentrations of Nim oil (*Azadirachta indica*). *Cienc. Rural* 34:1675-1680.
- Medeiros C.A.M., A.L. Boiça Junior & A.L. Torres. 2005.** Efeito de extratos aquosos de plantas na oviposição da traça-das-crucíferas, em couve. *Bragantia*. 64:227-232.
- Monnerat, R.G. & D. Bordat. 1998.** Influence of HD-1 (*Bacillus thuringiensis* ssp. *kurstaki*) on the developmental stages of *Diadegma* sp. (Hym. Ichneumonidae) parasitoid of *Plutella xylostella* (Lep.: Yponomeutidae). *J. Appl. Entomol.* 122: 49-51.
- Oliveira, J.V. de., J.D. Vendramin & M. L. Haddad. 1999.** Bioatividade de pós vegetais sobre o caruncho do feijão em grãos armazenados. *Rev. Agric.* 74: 217-224.
- Ooi, P.A.C. & W. Kelderman. 1979.** The biology of three common pests of cabbages in Cameron Highlands, Malaysia. *Malays. Agric. J.* 52: 85-101.
- Randau K.P, D.C. Florêncio, C.P. Ferreira & H.S Xavier. 2004.** Estudo farmacognóstico de *C. rhamnifolius* H.B.K e *C. rhaminifolioides* Pax & Hoffms (Euphorbiaceae). *Rev. Bras Farmacog.* 14: 89-96.
- Shin-Foon C. & Q. Yu-Tong. 1993.** Experiments on the application of botanical insecticides for the control of diamondback moth in South China. *J. Appl. Entomol.* 116: 479-486.
- Silva, V.C.A., Barros, R., Marques, E.J. & J.B Torres. 2003.** Susceptibility of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) to the fungi *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. *Neotrop. Entomol.*, 32:653-658.
- SAS Institute 2000.** SAS/STAT User's guide, version 8.02, TS level 2MO. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Stein, U. & F. Klingauf. 1990.** Insecticidal effect of plant extracts from tropical and subtropical species. Traditional methods are good as long as they are effective. *J. Appl. Entomol.* 110:160-166.
- Torres, A.L.; R. Barros & J.V. de Oliveira. 2001.** Efeitos de Extratos Aquosos de Plantas no Desenvolvimento de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). *Neotrop. Entomol.* 30: 151-156
- Trindade, R.C.P., I.M.R. Marques, H.S. Xavier & J.V. Oliveira. 2000.** Extrato metanólico da amêndoa da semente de nim e a mortalidade de ovos e lagartas da traça-do-tomateiro. *Sci. Agric.* 57: 407-413.

Verkerk, R.H.J. & D.J. Wright. 1993. Biological activity of neem seed kernel extracts and synthetic azadirachtin against larvae of *Plutella xylostella* L. Pestic. Sci. 37: 83-91.

Viegas-Júnior, C. 2003. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. Quim. Nova 26: 390-400.

Villas Bôas, G. L., M. Castelo Branco & A. L. Guimarães. 1990. Controle químico da traça das crucíferas em repolho do Distrito Federal. Hortic. Bras. 8: 10-11

Tabela 1. Percentuais dos extratos etanólico brutos do caule e folha das espécies de *Croton*

Espécie	Parte da planta	Quantidade (g)	%
<i>Croton rhaminifolium</i>	Caule	250	4,12
	Folha	250	5,57
<i>Croton jacobinensis</i>	Caule	220	4,15
	Folha	300	5,90
<i>Croton sellowii</i>	Caule	230	4,20
	Folha	300	5,01
<i>Croton micans</i>	Folha	270	4,50

Tabela 2. Concentração letal média (CL₅₀) e razão de toxicidade (RT) de extratos etanólicos de espécies de *Croton* sobre larvas de primeiro instar de *P. xylostella* alimentadas com folhas de couve tratadas com diferentes concentrações dos distintos extratos.

Espécies de <i>Croton</i>	Parte	n ¹	Equação (I.C. 95% para β)	CL ₅₀ (I.C. 95%)	χ ²	P	RT ³
<i>C. rhamnifollius</i>	Folha	600	Y = -1,495 + 1,272log _{conc.} (1,062 – 1,483) b ⁴	14,95 e (11,03 – 19,22)	3,44	0,4858	-
	Caule	400	Y = -2,138 + 1,314log _{conc.} (1,075 – 1,552) b	42,40 d (32,89 – 55,56)	3,78	0,1510	2,83
<i>C. jacobinensis</i>	Folha	600	Y = -2,896 + 1,278log _{conc.} (1,073 – 1,485) b	183,85 c (148,47 – 224,63)	6,80	0,1468	12,30
	Caule	600	Y = -1,531 + 0,741log _{conc.} (0,606 – 0,877) c	116,21 c (78,30 – 164,15)	6,86	0,1432	10,78
<i>C. sellowii</i>	Folha	500	Y = -4,853 + 1,671log _{conc.} (1,378 – 1,965) b	801,36 b (670,23 – 951,21)	2,91	0,4062	53,60
	Caule	400	Y = -8,1417 + 2,6283 _{conc.} (2,211 – 3,045) a	1252,00 a (1064,00 – 1446,00)	0,21 1	0,8990	83,75
<i>C. micans</i>	Folha	700	Não assumiu PROBIT				

¹ Número de insetos testados

² Intervalo de confiança à 95% de probabilidade para o coeficiente angular

³ Razão de Toxicidade entre os extratos

⁴ Equações seguidas de mesma letra minúscula nas colunas não diferem estatisticamente entre si

Tabela 3. Porcentagem de mortalidade de larvas (\pm EP) e mortalidade total (larvas e pupas) (\pm EP) de *Plutella xylostella* alimentada com discos de folhas de couve tratados com diferentes concentrações ($\mu\text{g mL}^{-1}$) de extratos etanólicos de espécies de *Croton*.

Espécie	Parte	Concentrações	Mortalidade de larvas	Mortalidade total
<i>Croton jacobinensis</i>	Folha	25	18,0 \pm 0,23	32,0 \pm 4,67
		50	30,0 \pm 0,30	39,0 \pm 3,79
		100	35,0 \pm 0,32	46,0 \pm 3,40
		200	45,0 \pm 0,36	55,0 \pm 2,69
		400	62,0 \pm 0,426	71,0 \pm 5,67
		800	84,0 \pm 0,49	88,0 \pm 3,60
		1600	91,0 \pm 0,51	95,0 \pm 3,07
	Caulo	25	32,0 \pm 0,29	40,0 \pm 7,88
		50	45,0 \pm 0,37	55,0 \pm 8,72
		100	48,0 \pm 0,37	53,0 \pm 5,78
		500	47,0 \pm 0,367	61,0 \pm 7,29
		1000	70,0 \pm 0,45	82,0 \pm 6,63
		2000	79,0 \pm 0,475	100,0
		4000	93,0 \pm 0,52	100,0
<i>Croton rhamnifolius</i>	Folha	5	24,0 \pm 0,26	40,0 \pm 4,22
		25	67,0 \pm 0,44	77,0 \pm 3,67
		50	77,0 \pm 0,47	85,0 \pm 3,73
		100	82,0 \pm 0,48	87,0 \pm 3,35
		200	91,0 \pm 0,51	95,0 \pm 1,67
		400	97,0 \pm 0,53	100,0 \pm 0,00
		800	84,0 \pm 0,51	100,0
	Caulo	5	15,0 \pm 0,21	32,0 \pm 3,89
		25	32,0 \pm 0,31	44,0 \pm 10,24
		50	53,0 \pm 0,39	59,0 \pm 5,26
		100	48,0 \pm 0,37	72,0 \pm 5,54
		200	57,0 \pm 0,40	74,0 \pm 5,62
		400	67,0 \pm 0,42	75,0 \pm 6,19
		800	84,0 \pm 0,51	100,0
<i>Croton sellowii</i>	Folha	250	17,0 \pm 0,23	30,0 \pm 6,15
		500	41,0 \pm 0,343	65,0 \pm 4,54
		1000	59,0 \pm 0,41	75,0 \pm 4,28
		2000	70,0 \pm 0,52	100,0
		4000	74,0 \pm 0,46	100,0
		6000	82,0 \pm 0,48	100,0
		8000	96,0 \pm 0,52	100,0
	Caulo	25	7,0 \pm 0,14	32,0 \pm 5,13
		500	15,0 \pm 0,21	27,0 \pm 5,18
		1000	23,0 \pm 0,24	75,0 \pm 5,82
		2000	67,0 \pm 0,45	90,0 \pm 4,3
		4000	90,0 \pm 0,51	96,0 \pm 1,63
		6000	97,0 \pm 0,53	98,0 \pm 1,33
		8000	97,0 \pm 0,53	98,0 \pm 1,33
<i>Croton micans</i>	Folha	250	12 \pm 0,19	23,0 \pm 4,23
		500	16 \pm 0,22	26,0 \pm 4,27
		1000	15 \pm 0,21	27,0 \pm 4,95
		2000	21 \pm 0,25	33,0 \pm 7,62
		4000	40 \pm 0,34	53,0 \pm 4,48
		6000	73 \pm 0,46	88,0 \pm 5,12
		8000	93 \pm 0,52	95,0 \pm 2,69

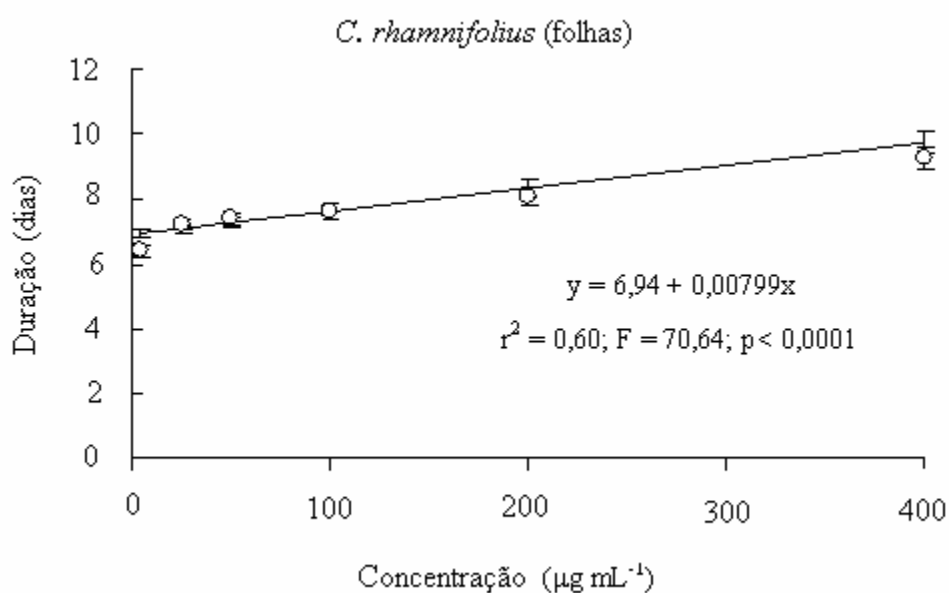
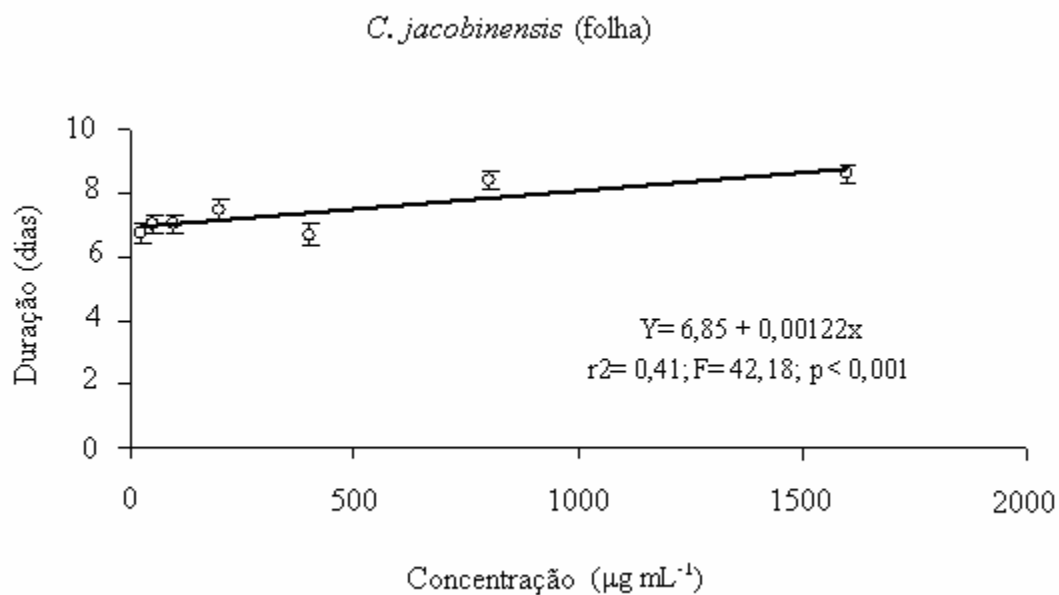


Figura 1. Duração em dias (\pm EP) da fase larval de *P. xylostella* em função do tratamento com diferentes concentrações ($\mu\text{g mL}^{-1}$) dos extratos de *C. jacobinensis* (folha), *C. rhamnifolius* (folha).

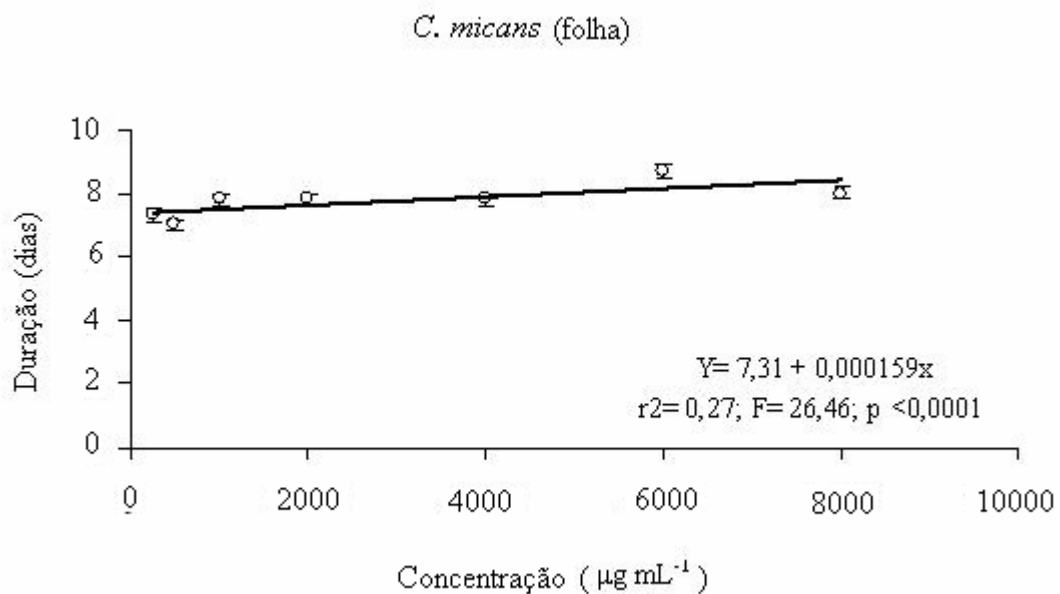
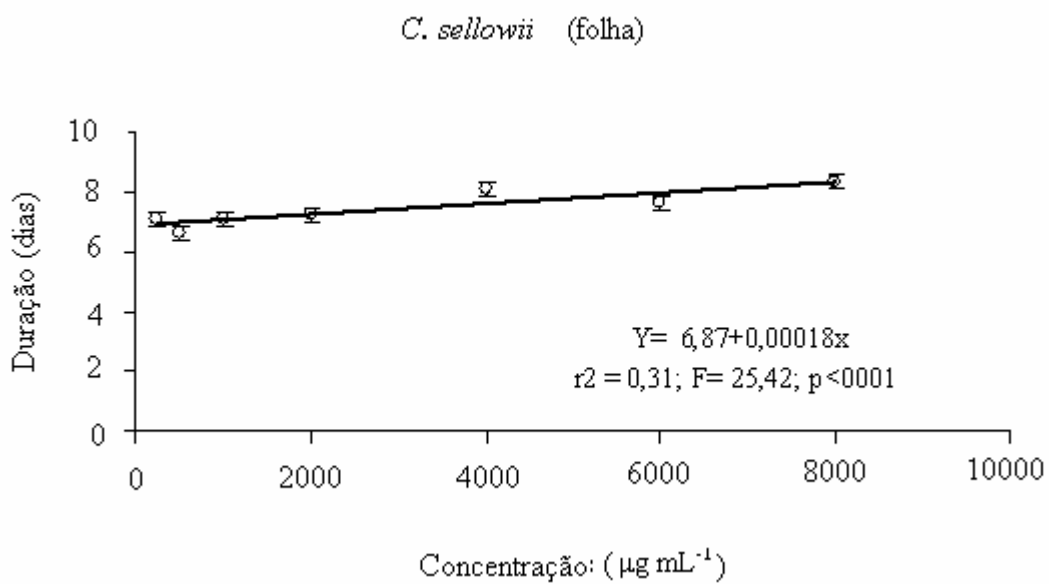


Figura 2. Duração em dias (\pm EP) da fase larval de *P. xylostella* em função do tratamento com diferentes concentrações ($\mu\text{g mL}^{-1}$) dos extratos de *C. sellowii* (folha), *C. micans* (folha).

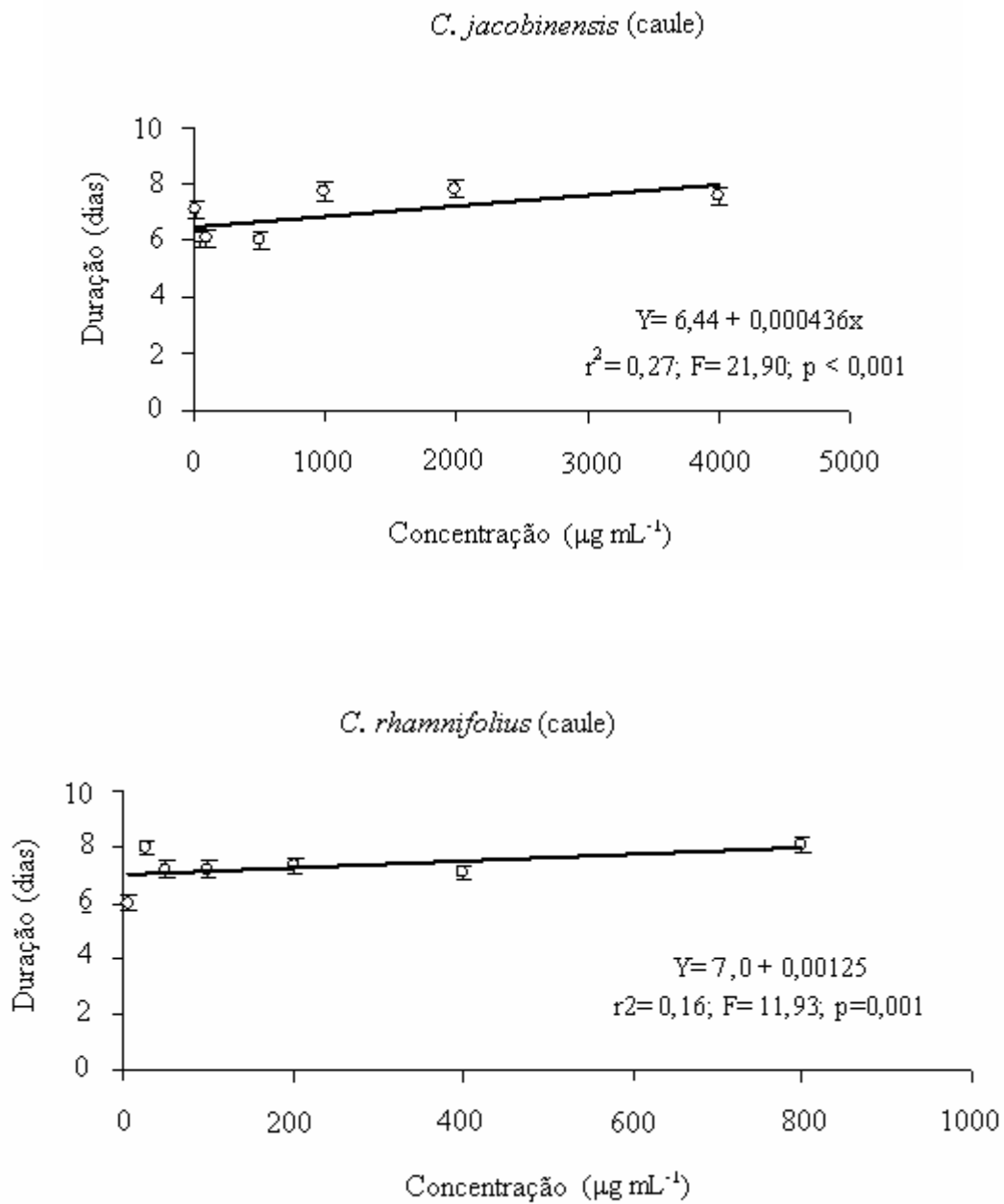


Figura 3. Duração em dias (\pm EP) da fase larval de *P. xylostella* em função do tratamento com diferentes concentrações ($\mu\text{g mL}^{-1}$) dos extratos de *C. jacobinensis* (caule) e *C. rhamnifolius* (caule).

CAPÍTULO 3

COMPOSIÇÃO QUÍMICA E AÇÃO INSETICIDA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Croton grewoides* (Baill) SOBRE *Zabrotes subfasciatus* (Boheman)¹

CLEIA G. V. SILVA² & CLÁUDIO A.G. DA CÂMARA³

²Departamento de Agronomia – Entomologia, Av. Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife, PE, Brasil, cgvs@hotmail.com.

³Laboratório de Produtos Naturais Bioativos, Departamento de Química – UFRPE, Av. Dom Manoel de Medeiros, s/n , 52171-900- Recife-PE, Brasil, camara@ufrpe.br.

¹Silva, C.G.V., H.B. C.A.G. Câmara. Composição e atividade inseticida do óleo essencial de *Croton grewoides* (Baill) sobre *Zabrotes subfasciatus* (Boheman). Journal Essential Oil Research

RESUMO – O óleo essencial do caule e folhas de *Croton grewoides* Baill. da Região do Agreste de Pernambuco, Brasil, foi obtido por hidrodestilação e analisado por CG/EM. 22 compostos foram identificados, os quais representaram 98,6% e 99,8% do total de constituintes nos óleos de caule e folhas respectivamente. *C. grewoides* produz um óleo com predominância de Fenilpropanóides, cujo principal componente é (E)-anetol (65,5% nas folhas e 47,8% no caule). Outros componentes majoritários foram encontrados nas folhas: metil eugenol (10,6%) e (E)-metil iso-eugenol (4,7%). Foram identificados no óleo de caule (E)-metil iso-eugenol (30,0%), cadaleno (8,4%) e metil eugenol (4,6%). A atividade inseticida do óleo essencial de *C. grewoides* foi avaliada sobre o caruncho do feijão *Zabrotes subfasciatus* (Boheman) sendo a CL₅₀ para o óleo essencial de folhas 3,4 vezes menor do que a estimada para o óleo essencial do caule.

PALAVRAS-CHAVE: Euphorbiaceae, (E)-anetol, (E)-metil iso-eugenol, metil eugenol, ação fumigante, caruncho

Composition and Insecticidal Activity of the Essential Oil of *Croton grewoides* Baill. against Mexican Bean Weevil (*Zabrotes subfasciatus* Boheman).

ABSTRACT: The essential oils of leaves and stems of *Croton grewoides* Baill. of the “agreste” region of Pernambuco, Brazil, were obtained by hydrodistillation and analyzed by GC and GC/MS. Twenty-two components were identified, which represented 99.8 % and 98.6 % of the total constituents in the leaf and stem oil, respectively. *Croton grewoides* produced an oil with predominance of phenylpropanoid compounds, whose principal component was (E)-anethole (65.5% in the leaf and 47.8% in the stem). Other major components found in the leaf oil were methyl eugenol (10.6%) and (E)-methyl isoeugenol (4.7%). Other components identified in the stem oil were (E)-methyl isoeugenol (30.0%), cadalene (8.4%) and methyl eugenol (4.6%). The insecticidal activity of *C. grewoides* was evaluated against Mexican bean weevils, *Zabrotes subfasciatus* (Boheman) resulting in a LC_{50} for the leaf oil, which was 3.4 times less than that obtained from the stem oil.

KEY WORD: Euphorbiaceae, (E)-anethole, (E)-methyl iso-eugenol, methyl eugenol, fumigant action, mexican bean weevil

Introdução

O bioma Caatinga é característico da flora do Nordeste do Brasil. A vegetação é composta principalmente por árvores e espécies arbustivas de pequeno porte que são bem adaptadas às drásticas condições climáticas (Sampaio, 1995). Tais florestas são ricas em arbustos aromáticos e árvores pertencendo a vários gêneros, como: *Eugenia* (Oliveira *et al.* 2005), *Piper* (Oliveira 2006a), e *Cordia* (Oliveira 2006b), as quais possuem espécies que foram anteriormente investigadas pelo nosso grupo de pesquisa. Outras espécies amplamente distribuídas na restinga e região do semi-árido são aquelas pertencentes ao gênero *Croton* (Euphorbiaceae), que é um dos maiores gêneros de plantas com aproximadamente 1.300 espécies, das quais 300 ocorrem no Brasil (Heywood *et al.* 1993). Espécies de *Croton* são relatadas como ricas em terpenóides (óleo essencial e diterpenos) e alcalóides. Devido à grande diversidade das propriedades biológicas apresentadas por esses constituintes químicos, o gênero *Croton* está entre os mais ricos da família Euphorbiaceae como fonte de compostos bioativos (Guerrero, *et al.* 2004). No Brasil, especificamente na região de caatinga, no agreste de Pernambuco, espécies do gênero *Croton* são conhecidas popularmente por velame ou marmeleiro e são utilizadas para os mais variados fins (Farnsworth *et al.* 1996).

A busca por propriedades inseticidas em plantas medicinais tem crescido bastante nos últimos anos, tornando-se numa forma promissora na descoberta de novas espécies vegetais como agentes fumigantes contra pragas de grãos armazenados (Tewary *et al.* 2005). Uma das espécies que tem se revelado como excelente fonte de compostos inseticidas são as que pertencem ao gênero *Croton* (Bandara *et al.* 1990, Alexander *et al.* 1991, Kubo *et al.* 1991). Essas espécies, em geral são aromáticas e, portanto, se caracterizam pela produção de óleos essenciais, os quais devido à sua alta volatilidade e possível ação fumigante, podem ser testados no controle de pragas de produtos armazenados como alternativa ao fumigantes comumente usados, como fosfina e

brometo de metila, os quais apresentam efeitos indesejáveis aos inimigos naturais, ao meio ambiente e à saúde humana.

Insetos-praga são os maiores problemas na produção mundial de feijão (Gallo *et al.* 2002). O aumento do cultivo tem resultado no aumento de incidência de pragas, incluindo os bruquídeos, que atacam várias sementes de importância econômica. Dentre os bruquídeos, *Zabrotes subfasciatus*, (Boheman), comumente conhecido como caruncho do feijão é a maior praga de feijões armazenados, sendo responsável por consideráveis prejuízos durante a estocagem de sementes no Nordeste brasileiro. Estima-se que as perdas de feijão com esta praga são superiores a 35% no Nordeste, e entre 7 e 17% no Brasil (Gallo *et al.* 2002).

Apesar do fato de *Z. subfasciatus* estar amplamente distribuído regiões tropicais e ser uma importante praga para as sementes de feijão, as informações na literatura referente ao uso de óleos essenciais no seu controle são escassas (Weaver *et al.* 1991, Oliveira & Vendramim 1999). O levantamento de informações na literatura revelou que poucas plantas, de diferentes famílias, têm sido estudadas quanto ao seu potencial inseticida contra *Z. subfasciatus*. Materiais obtidos a partir dessas espécies têm sido usados para limitar os danos causados por essa praga em grãos armazenados, como por exemplo: óleos essenciais (Oliveira & Vendramim 1999, Weaver *et al.* 1991), óleos fixos (Schoonhoven 1981, Hall & Harman 1991), e pós e extratos de diferentes partes das plantas (Weaver *et al.* 1994a, Weaver *et al.* 1994b, Paranhos *et al.* 2005).

Entre as espécies de plantas aromáticas que são abundantes na Caatinga de Pernambuco está *Croton grewoides* Baill. Esta planta constitui um arbusto de 1,5 m de altura, que cresce naturalmente nas áreas de pastagens naturais entremeadas por matas e afloramentos rochosos na zona do agreste pernambucano a uma altitude de 740 m. Na caatinga, essa planta se caracteriza pelo cheiro agradável proveniente principalmente de suas folhas. Até o presente momento, o óleo essencial desta espécie não teve a composição química investigada, bem como seu potencial

inseticida avaliado. Assim, como parte do estudo sistemático da composição química e potencial inseticida das plantas aromáticas do bioma Caatinga do Estado de Pernambuco, este trabalho estudou a composição química dos óleos essenciais do caule e folhas de *C. grewoides* Baill. e seu potencial fumigante contra *Z. subfasciatus* Boheman, uma importante praga de feijões armazenados no Nordeste do Brasil.

Material e Métodos

Seleção e coleta do material. Folhas e caules frescos de *C. grewoides* Baill. foram coletados na Região de Caatinga do município de Bezerros, Pernambuco, Brasil à uma altitude de até 740m. A planta foi identificada pela especialista M.sc. Maria de Fátima de Araújo Lucena - UFPE e registrada sob o número 42193 e uma exsicata foi depositada sob o número 42193 no Herbário Professor Geraldo Mariz da Universidade Federal de Pernambuco.

Criação de *Z. subfasciatus*. Os insetos utilizados nos bienssaio foram obtidos no Laboratório de Entomologia Agrícola da UFRPE e criados em recipientes de vidro de 0,3L à temperatura de $27^{\circ} \pm 0,5^{\circ}$ C, umidade relativa de $75 \pm 5\%$ e fotofase de 12h. Os recipientes de vidro foram tampados com *voil* e grãos do feijão, *Phaseolus vulgaris* L. cv. Carioca, foram utilizados como substrato alimentar.

Obtenção dos óleos essenciais. Os óleos essenciais do caule e folhas frescas (cerca de 100 g, para cada parte) foram obtidos usando um aparelho Clevenger modificado pela técnica de hidrodestilação por duas horas. As frações dos óleos obtidas foram separadas e secas com sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4) e armazenadas em recipientes de vidro hermeticamente fechados a temperatura inferior à 8° C. O cálculo do rendimento foi realizado através da relação do volume de óleo volátil recolhido do aparelho de Clevenger modificado com a massa de material vegetal utilizado na extração.

Cromatografia gasosa (CG) e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG/EM). Os óleos obtidos do caule e folhas de *C. grewoides* Baill. foram analisados por cromatografia gasosa acoplada à espectroscopia de massas utilizando um cromatógrafo HP 5890B SERIES II, acoplado a um espectrômetro de massas HP-5971, equipado com uma coluna capilar de sílica fundida J & W Scientific DB5 (30 m x 0.25 mm x 0,25 µm).

A análise por Cromatografia Gasosa (CG) foi obtida utilizando um aparelho Hewlett Packard 5890 SERIES II equipado com um detector de ionização de chama (FID) e com uma coluna capilar de sílica fundida J & W Scientific DB-5 (30 m x 0.25 mm x 0.25µm). As temperaturas do injetor e detector foram, respectivamente, 220°C e 285°C. Usou-se o hélio como gás de arraste, a uma vazão de 1 mL/min; o programa de temperatura da coluna foi 40°C (1 minuto) até 220°C a 4°C/min; 220°C até 280°C a 20°C/min. Os espectros de massas foram obtidos com um impacto eletrônico de 70 eV, 0,84 scan/seg de m/z 40 a 550. O hidrogênio foi usado como gás de arraste, com velocidade de fluxo 1,5 mL/ min, modo split (1:10). Uma solução de 1,5µL com 10mg de óleo em acetato de etila foi injetada. Os índices de retenção foram obtidos pela co-injeção do óleo com uma mistura de hidrocarbonetos lineares C₁₁-C₂₄ e calculados de acordo com a equação de Van den Dool & Kratz (1963).

Os compostos foram identificados com base na comparação dos índices de retenção calculados com os disponíveis na literatura (Adams, 1995), seguida pela comparação do fragmentograma de padrões dos massas reportados na literatura (Adams, 1995), bem como pela comparação direta das sugestões dos massas disponíveis na biblioteca do computador (Wiley, com 250.000 compostos), contemplando apenas as similaridades entre os fragmentogramas.

Bioensaio de Fumigação. O método para avaliar a toxicidade dos vapores dos óleos do caule e folhas foi baseado na metodologia proposta por (Aslan *et al.* 2004) com modificações. Os testes foram conduzidos à temperatura de $25 \pm 2^\circ$, umidade relativa de $70 \pm 8\%$ e fotofase de 12h. Recipientes de vidro com volume de 2,5L foram usados como câmara de fumigação. Cada repetição consistiu de 10 casais de *Z. subfasciatus* com idade variando entre 0 e 24h. Para cada dose, três repetições foram utilizadas. Os óleos foram aplicados em refis confeccionados com tiras de papel de filtro medindo 2x1 cm, os quais foram fixados na superfície interna da tampa da câmara de fumigação. Foram testadas cinco doses de cada óleo, 5; 7,5; 10; 12,5 e 15 μ L, correspondendo às seguintes concentrações: 2, 3, 4, 5 e 6 μ L L⁻¹ de ar, de acordo dados preliminares. Para evitar o contato direto dos insetos com o refil impregnado com o óleo, um pedaço de filó foi acoplado à superfície superior do recipiente. Procedimento semelhante foi utilizado para a testemunha, na qual, não foi aplicada nenhuma substância no refil. Decorrido um período de 24 h avaliou-se o número de insetos mortos. Foram considerados mortos os insetos que não apresentaram mobilidade após serem tocados com a extremidade de um estilete.

Os dados de mortalidade foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey (P=0,05) utilizando-se o programa SANEST 3.0. Os dados foram submetidos também à análise de Probit (SAS Institute 2000) para estimar a concentração letal média (CL₅₀) responsável pela mortalidade de 50% da população de, *Z. subfasciatus*, com intervalo de confiança de 95%.

Resultados e Discussão

O rendimento dos óleos de caule e folhas de *C. grewoides* foi 0,5 e 2,4% (v/m), respectivamente. O índice de retenção e a percentagem de compostos identificados em cada óleo constam na Tabela 1.

Um total de 22 compostos foi identificado, perfazendo 98,6 e 99,9 % dos óleos de caule e folha, respectivamente. Dos 22 compostos, somente (E)-anetol, metil eugenol, (E)-metil isoeugenol, β -cariofileno, δ -cadineno e óxido de carifileno foram encontrados simultaneamente nos óleos de caule e folhas. Ambos os óleos mostraram predominância de benzenóides (92,2% no caule e 90,2% nas folhas), enquanto que os terpenóides representaram somente 9,6% nas folhas e 6,4% no caule. O estudo do óleo essencial de *C. grewioides* revelou fenilpropanóides como a principal classe de compostos benzenóides encontrados tanto nas folhas quanto no caule. Mas, enquanto que todos os componentes benzenóides identificados no óleo da folha pertencem à classe dos fenilpropanóides, no óleo do caule, além de fenilpropanóides, outros compostos benzenóides foram encontrados, como p-anisalaldeído (1,4%) e cadaleno (8,4%) (Tabela 1).

O (E)-anetol foi o principal constituinte identificado no óleo de folhas (65,5%) e do caule (47,8%). Por outro lado, outros componentes presentes no óleo de folhas, em menor percentual são: metil-eugenol (10,6%), β -cariofileno (4,5%), (Z)-anetol (4,7%) e (E)-metil-isoeugenol (4,7%) foram outros componentes do óleo das folhas identificados em menor quantidade.

O óleo essencial de várias espécies de *Croton* tem sido caracterizado pela predominância de constituintes químicos da classe dos monoterpenos e sesquiterpenos como principais componentes (Meccia *et al.*, 2000). Fenilpropanóides, como anetol e derivados do eugenol, são mais comuns nos óleos de erva-doce, cravo e mangericão e têm sido relatados como os principais componentes dos óleos essenciais de outras espécies de *Croton* encontradas em diferentes partes do mundo, como por exemplo, *C. zehntneri* and *C. nepetaefolius*, no Brasil (Morais *et al.*, 2006); *C. molambo* e *C. cuneatus* na Venezuela (Suárez *et al.* 2005); *C. pseudoniveus* e *C. suberosus* no México. (Perez-Amador *et al.* 2007).

Ambos os óleos foram tóxicos para o caruncho do feijão, cuja mortalidade variou com o aumento da concentração aplicada. De fato, *Z. subfasciatus* mostrou-se mais suscetível ao óleo

das folhas do que do caule. Após 24h de exposição à maior dose do óleo de folhas ($15\mu - 6\mu\text{L L}^{-1}$ de ar) obteve-se uma eficiência de 95% de mortalidade, enquanto a mesma dose e tempo de exposição para o óleo de caule induziu 70% de mortalidade (Tabela 2).

Comparando o potencial dos óleos testados, o de folha revelou maior ação fumigante sobre *Z. subfasciatus*. O valor da CL_{50} do óleo de folhas ($4,0 \mu\text{L L}^{-1}$ de ar) foi 3,4 vezes menor do que o valor estimado para o óleo de caule ($CL_{50} = 13,7 \mu\text{L L}^{-1}$ de ar) (Tabela 2). Investigações prévias em relação ao potencial inseticida de óleos essenciais têm mostrado, em geral, que essa toxicidade, constatada para os óleos essenciais de diferente de plantas, sobre pragas de grãos armazenados está relacionada aos componentes majoritários (Aslan *et al.* 2004). Portanto, a toxicidade observada neste trabalho, para os óleos de essenciais de *C. grewoides* pode está relacionada aos fenilpropanóides, componentes principais identificados no óleo das folhas: (E)-anetol (65,5% na folha e 47,8% no caule), metil-eugenol (10,6% na folha), e (E)-metil iso-eugenol (30,0%) no caule. Na mesma linha de raciocínio, pode-se sugerir que a maior toxicidade observada para o óleo das folhas pode ser atribuída ao seu componente principal, que está presente em maior quantidade, cerca de 1,4 vezes mais no óleo da folha do que no caule, e devido à sua comprovada atividade inseticida (Ho *et al.*, 1997, Huang *et al.*, 2002, Chang & Anh 2002 Morais *et al.*, 2006), sem deixar de levar em consideração o provável efeito sinérgico ou antagônico resultante de outros componentes, presentes no óleo em menor percentagem. De fato, fenilpropanóides identificados no óleo de *C. grewoides* como componentes principais, como (E)-anetol, metil eugenol e seus derivados são conhecidos por apresentarem propriedades inseticidas. Alguns estudos, que reportam as propriedades inseticidas de óleos essenciais de algumas plantas, inclusive do gênero *Croton* são relacionadas à presença, no óleo, de fenilpropanóides, por exemplo: *C. zenhtneri*, que mostra alta atividade contra larvas de *Aedes aegypti*, cujo constituinte bioativo foi o anetol (Morais *et al.* 2006). Em outro estudo, Ho *et al.*, (1997) também mostraram

que (E)-anetol apresentou ação fumigante contra *Blatella germanica*, Ho *et al.* (1997) e Huang *et al.* (2002) mostram que os fenilpropanóides: (E)-anetol, eugenol, iso-eugenol e metil-eugenol, compostos identificados no óleo de *Illicium verum* revelam propriedades inseticidas contra duas pragas de grãos armazenados, *Tribolium castaneum* e *Sitophilus zeamais*.

Com base no exposto acima, e de acordo com os resultados obtidos nesse trabalho pode-se inferir que os óleos essenciais de *C. grewioides* apresentam potencial como agente fumigante, e que podem vir a ser usados de forma sistemática para limitar as perdas causadas por pragas de grãos armazenados incluindo o controle de *Z. subfasciatus*. Conseqüentemente, a possibilidade do uso deste fumigante natural para o controle requer maiores investigações à cerca do custo/benefício desta prática e novos e mais aprofundados estudos são necessários antes de seu uso sistemático.

Agradecimentos

Os autores Agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo ao primeiro autor e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo suporte financeiro.

Literatura citada

- Adams, R.P. 1995.** Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy. Allured Publ. Corp., Carol Stream, IL .
- Aslan İ., H. Ozbek, O. Çalmaşur & F. ŞahİN. 2004.** Toxicity of essentail oil vapours to two greenhouse pests, *Tetranychus urticae* Koch and *Bemisia tabaci* Genn. Ind. Crop Prot., 19, 167-173.
- Alexander, I. C., K.O. Pascoe, P. Manchard & L.A.D. Williams.1991.** An insecticidal diterpene from *Croton linearis*. Phytochemistry, 30:1801-1803.
- Bandara, B.M.R., W.R. Wimalasiri, W.A. Wickremasinghe and K.A.N.P. Bandara. 1990.**

Cyperenoic acid and (-)-hardwickiic acid from the chloroform extract of the roots of *Croton aromaticus*: Isolation and insecticidal properties. J. Natl. Sci. Counc. Sri Lanka, 18: 119-126.

Chang K. S. & Y. J. Ahn. 2002. Fumigant activity of (*E*)-anethole identified in *Illicium verum* fruit against *Blattella germanica*. Pest. Manag. Sci. 58: 161-166.

Farnsworth, N.R., R.N. Blomster, W.M. Messmer, J.C. King, G.J. Persinos & J.D. Wilkes. 1969. A phytochemical and biological review of the genus *Croton*. Lloydia 32: 1-28.

Finney, D.J. 1971. *Probit Analysis*, A statistical Treatment of the Sigmoid Response Curve. University Press, Cambridge. 333p.

Gallo D., O. Nakano, S. Silveira-Neto, R.P.L. Carvalho, G.C. Batista, E. Berti-Filho, J.R.P. Parra, R.A. Zucchi, S.B. Alves, J.D. Vendramin, L.C. Marchini, J.R.S. Lopes & C. Omoto. 2002. Entomologia Agrícola. FEALQ, Piracicaba 912p.

Guerrero, M.F., P. Puebla, R. Carrón, M.L. Martín & L. San Román. 2004. Vasorelaxant effect of new *neo*-clerodane diterpenoids isolated from *Croton schiedeanus*. J. Ethnopharmacol. 94:185-189.

Hall, J.S. & G.E. Harman. 1991. Protection of stored legume seeds against attack by storage fungi and weevils: Mechanism of action of lipoidal and oil seed treatments. Crop Prot. 10: 375-80.

Hernandez, C.R. & Vendramim, J.D. 1997. Avaliação da bioatividade de extratos aquosos de Meliaceae sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). Rev. Agric., 72: 305-318.

Heywood, V.H. 2004. Flowering Plants of the World Oxford University Press, New York.

Ho, S.H., Ma, Y. & Huang, Y. 1997. Anethole, a potential insecticide from *Illicium verum* Hook f., against two stored product insects. Int. Pest Control 39: 50-51.

Huang, Y., S. H. Ho, H. C. Lee & Y. C. Yap. 2002. Insecticidal properties of eugenol, isoeugenol and methyleugenol and their effects on nutrition of *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae) J. Stored Prod. Res., 38:403-412.

Kubo, I., Y. Asaka & K. Shibata. 1991. Insect growth inhibitory nor-diterpenes, *cis*-dehydrocrotonin and *trans*-dehydrocrotonin, from *Croton cajucara*. Phytochemistry, 30:2544-2546.

Meccia, G., L.B. Rojas, C. Rosquete & A. San Feleciano. 2000. Essential oil of *Croton ovalifolius* Vahl from Venezuela. J. Flavour Fragr. J., 15: 144-146.

Morais, S.M.L., E.S.B. Cavalcanti, L.M. Bertini, C.L.L. Oliveira, J.R.B. Rodrigues & J.H.L. Cardoso. 2006. Larvicidal activity of essential oils from Brazilian *Croton* species against *Aedes aegypti*. J. Am. Mosq. Control Assoc. 22: 161-164.

- Oliveira, J.C.S., I.J.M. Dias, M.O.E. Schwartz & C.A.G. da Câmara. 2006a.** Volatile constituents of the leaf oils of *Piper aduncum* L. from different region of Pernambuco (Northeast of Brazil). *J. Essent. Oil Res.*, 18: 557-559.
- Oliveira, J.C.S., C.A.G. da Câmara & M.O.E. Schwartz. 2006b.** Volatile constituents of the stem and leaves of *Cordia* species from mountain forests of Pernambuco (North-eastern Brazil). *J. Essent. Oil Res.*, no prelo.
- Oliveira, J.V. & J.D. Vendramim.1999.** Repelência de óleos essenciais e pós-vegetais sobre adultos de *Zabrotes subfasciatus* (Boh.) (Coleoptera: Bruchidae) em sementes de feijoeiro, *An. Soc. Entomol. Bras.* 28: 549-555.
- Oliveira, R.N., I.J.M. Dias & C.A.G. da Câmara. 2005.** Estudo comparativo do óleo essencial de *Eugenia punicifolia* (HBK) DC. de diferentes localidades de Pernambuco. *Rev. Bras. Farmacogn.* 15: 45-46.
- Paranhos, B.A.J., C.C. Custódio, N.B.M. Neto & A.S. Rodrigues. 2005.** Extrato de neem e cravo da Índia no controle de *Zabrotes Subfasciatus* (Boheman) (Coleoptera: Bruchidae) em sementes de feijão armazenado. *Colloq. Agrariae.* 1:1-7.
- Perez-Amador M.C., M.A. Monroy & G. Bustamante. 2003.** Essential oil in leaves of *Croton pseudoniveus* & *C suberosus* (Euphorbiaceae) species. *Phyton.* 53: 109-112
- Sampaio, E.V.S.B. 1995.** Overview of the Brazilian Caatinga. In: Seasonally dry tropical forests. Edits. S.H. Bullock, H.Mooney & E. Medina. Cambridge University Press, Cambridge 35-63.
- Schoonhoven, J.H. 1981.** Effectiveness of vegetable oil fractions in controlling the Mexican bean weevil on stored beans. *J. Econ. Entomol.* 74: 478-479.
- Suárez, A.I., L.J. Vásquez, M.A. Manzano & R.S. Compagnone. 2005.** Essential oil composition of *Croton cuneatus* and *Croton malambo* growing in Venezuela. *J. Flavour Fragr.* 20: 611-614.
- Tewary, D.K., A. Bhardwaj & A. Shanker. 2005** Pesticidal activities in five medicinal plants collected from mid hills of western Himalayas. *Ind. Crops Prod.* 22: 241-247.
- van den Dool, H. & P.H. Kratz. 1963.** A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *J. Chromatogr.* 11: 463-471.
- Weaver, D.K., F.V. Dunkel, R.C. Potter, L. Ntezurubanza, L.L. Jackson & D.T. Stock. 1991.** The efficacy of linalool, a major component of freshly-milled *Ocimum canum* Sims (Lamiaceae), for protection against postharvest damage by certain stored product coleopteran. *J. Stored Prod. Res.*, 27:213-220.

Weaver, D.K., F.V. Dunkel, R.C. Potter & L. Ntezurubanza. 1994a. Contact and fumigant efficacy of powdered and intact *Ocimum canum* Sims (Lamiales: Lamiaceae) against *Zabrotes subjasciatus* (Boheman) adults (Coleoptera: Bruchidae). J. Stored Prod. Res. 30: 243-252.

Weaver D.K., C.D. Wells, F.V. Dunkel, W. Bertsch, S.E. Sing & S. Sriharan. 1994b. Insecticidal activity of floral, foliar and root extracts of *Tagetes minuta* (Asterales: Asteraceae) against adult Mexican bean weevils (Coleoptera: Bruchidae). J. Econ. Entomol. 87: 1718-1725.

Tabela 1. Percentagem relativa dos constituintes químicos dos óleos essenciais do caule e folhas de *C. grewoides* Baill.

Composto	RI ¹	Folha	Caule	Composto	RI ¹	Folha	Caule
1,8-cineol	1031	0,1	-	β -cariofileno	1423	4,5	0,2
linalool	1103	-	0,2	α - <i>trans</i> -bergamoteno	1439	0,3	-
cânfora	1145	-	1,5	(<i>Z</i>)-metil iso-eugenol	1458	2,9	-
α -terpineol	1192	-	0,9	germacreno D	1484	0,4	-
metil chavicol	1201	1,9	-	(<i>E</i>)-metil iso-eugenol	1497	4,7	30,0
(<i>Z</i>)-anetol	1254	4,6	-	cubebol	1518	0,5	-
<i>p</i> - anisalaldeído	1256	-	1,4	δ -cadineno	1528	1,3	0,2
(<i>E</i>)-anetol	1287	65,5	47,8	spatulenol	1579	1,6	-
α -copaeno	1379	0,1	-	óxido de cariofileno	1585	0,8	0,5
β -elemeno	1396	-	0,3	β -acorenol	1636	-	2,6
metil eugenol	1405	10,6	4,6	cadaleno	1679	-	8,4
		----- Total				98,8	98,6

¹ Índices de retenção. Os valores do tempo de retenção foram calculados em função do tempo dos n-alcenos em coluna DB-5.

Tabela 2. Mortalidade (médias \pm DP) de adultos do caruncho do feijão, *Z. subfaciatus*, expostos por 24h aos óleos essenciais de caule e folhas de *C. grewoides* e concentração letal estimada para cada óleo.

Concentração (μ L)	Mortalidade			
	Folha	Eficiência (%)	Caule	Eficiência (%)
Testemunha	0,3 \pm 0,47 aA ¹	-	1,0 \pm 0,81 aA	-
2	12,3 \pm 1,24 bA	61,5	1,3 \pm 0,47 aB	7,7
3	14,0 \pm 1,63 bA	70,0	2,3 \pm 0,47 abB	11,7
4	15,6 \pm 1,24 bcA	78,4	4,3 \pm 0,94 bcB	21,7
5	16,0 \pm 2,16 bcA	80,0	6,7 \pm 0,94 c B	33,3
6	19,00 \pm 1,41 cA	95,0	14,0 \pm 0,81 dA	70,0
CL ₅₀	4,0 μ L/L ar (1,98-5,26) ²	-	13,7 μ L/L ar (10,43-58,75)	-

¹Médias (\pm DP) seguidas por pelo menos uma letra minúscula na coluna ou maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo teste de Tukey (P > 0,05).

²Intervalo de confiança a 95% de probabilidade para o coeficiente angular.