

ATIVIDADE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS *Piper aduncum* E *Piper marginatum* SOBRE A
COCHONILHA *Planococcus citri* (Risso, 1813) (HEMIPTERA: PSEUDOCOCCIDAE)

por

CARLA HELENA MACIEL DE LIMA

Sob Orientação do Professor Claudio Augusto Gomes da Camara

RESUMO

A cochonilha *Planococcus citri* (Risso, 1813) é considerada de difícil controle devido a proteção oferecida por sua camada cerosa, devido a isso a forma de controle mais utilizada é com inseticidas sistêmicos. A bioatividade dos óleos essenciais do gênero de *Piper* spp. têm sido investigada como alternativas promissoras aos inseticidas sintéticos. Portanto, este estudo teve como objetivo avaliar a atividade dos óleos essenciais de *Piper aduncum* e *Piper marginatum* sobre *P. citri*, através de bioensaios de toxicidade tópica em ninfas migratórias; toxicidade residual por contato em ninfas migratórias, segundo instar e fêmeas adultas; repelência; e ovicida. O Azamax[®] foi utilizado para comparação dos resultados. Os valores de CL's 50 estimadas através de curva de concentração-resposta para o óleo de *P. aduncum* foram 2,85 µl/mL para o bioensaio tópico em ninfas migratórias, e 1,83 e 1,50 µl/mL para o bioensaio residual por contato em ninfas migratórias e de segundo instar, respectivamente. As CL's 50 estimadas para o óleo de *P. marginatum* foram 2,36 µl/mL para o bioensaio tópico em ninfas migratórias, e 2,28 e 3,81 µl/mL para o bioensaio residual por contato em ninfas migratórias e segundo instar, respectivamente. As CL's 30 e 50 dos óleos estimadas através do teste tópico com ninfas migratórias causaram mortalidade de 23% e 35%; e 25% e 36% das fêmeas para *P. aduncum* e *P.*

marginatum, respectivamente. No teste ovicida, as CL's 30 e 50 reduziu em 13,33% em ambas CL's do óleo de *P. aduncum*; e 11% e 20,56% com óleo de *P. marginatum* a eclosão de ninfas de *P. citri*. No teste de repelência a CL₁₀ de *P. aduncum* foi mais repelente que a CL₁₀ de *P. marginatum*. Os óleos se mostraram promissores em ninfas de *P. citri*, porém é necessário estudos com mais peculiaridade para ovos e adultos desta espécie.

PALAVRAS-CHAVE: Piperaceae, Inseticida botânico, toxicidade, repelência, ovicida.

ESSENTIAL OIL ACTIVITY OF *Piper aduncum* AND *Piper marginatum* ON MEALY BUG

Planococcus citri (Risso, 1813) (HEMIPTERA: PSEUDOCOCCIDAE)

por

CARLA HELENA MACIEL DE LIMA

Sob Orientação do Professor Claudio Augusto Gomes da Camara

ABSTRACT

The mealybug *Planococcus citri* (Risso, 1813) they are considered difficult to control because of the protection offered by their waxy layer. The most used form of *P. citri* control is through the use of systemic insecticides. Bioactivity of essential oils of the *Piper* genus have been investigated as promising alternatives to synthetic insecticides. Therefore, this study aimed to evaluate the activity of *P. aduncum* and *P. marginatum* essential oils on *P. citri*, through bioassays of topical toxicity in migratory nymphs; residual toxicity in migratory, second instar nymphs and adult females; repellency; and ovicide. The commercial botanical insecticide Azamax® was used for comparison. The CL's50 values estimated through the concentration-response curve for *P. aduncum* oil were 2.85 µl/mL for the topical test in migratory nymphs, and 1.83 and 1.50 µl/mL for the residual test in nymphs migratory and second instar, respectively. The estimated CL's50 for *P. marginatum* oil were 2.36 µl/mL for the topical test on migratory nymphs, and 2.28 and 3.81 µl/mL for the residual test on migratory and second instar nymphs, respectively. The CL's 30 and 50 of the oils estimated through tests with migratory nymphs caused mortality of 23% and 35%; and 25% and 36% of females for *P. aduncum* and *P. marginatum*, respectively. In the ovicidal test, CL's 30 and 50 reduced by 13.33% in both CL's of

P. aduncum oil; and 11% and 20.56% with *P. marginatum* oil at the hatching of *P. citri* nymphs. In the repellency test, the CL₁₀ of *P. aduncum* was more repellent than the CL₁₀ of *P. marginatum*. The oils showed promise in *P. citri* nymphs, but more specific studies are needed for eggs and adults of this species.

KEY WORDS: Piperaceae, Botanical Insecticide, toxicity, repellent, ovicide.

ATIVIDADE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS *Piper aduncum* E *Piper marginatum* SOBRE A
COCHONILHA *Planococcus citri* (Risso, 1813) (HEMIPTERA: PSEUDOCOCCIDAE)

por

CARLA HELENA MACIEL DE LIMA

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.

RECIFE - PE

Fevereiro – 2022

ATIVIDADE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS *Piper aduncum* E *Piper marginatum* SOBRE A
COCHONILHA *Planococcus citri* (Risso, 1813) (HEMIPTERA: PSEUDOCOCCIDAE)

por

CARLA HELENA MACIEL DE LIMA

Comitê de Orientação:

Claudio Augusto Gomes da Camara – UFRPE

Wendel José Teles Pontes - UFPE

ATIVIDADE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS *Piper aduncum* E *Piper marginatum* SOBRE A
COCHONILHA *Planococcus citri* (Risso, 1813) (HEMIPTERA: PSEUDOCOCCIDAE)

por

CARLA HELENA MACIEL DE LIMA

Banca Examinadora:

Claudio Augusto Gomes da Camara - UFRPE

Vaneska Barbosa Monteiro– PNPd/CAPES

Kamilla de Andrade Dutra- EPACL

Carla Helena Maciel de Lima
Mestre em Entomologia

Prof. Claudio Augusto Gomes da
Camara – UFRPE
Orientador

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- C278a de Lima, Carla Helena Máciel
ATIVIDADE DOS OLEOS ESSENCIAIS *Piper aduncum* E *Piper marginatum* SOBRE A COCHONILHA
Planococcus citri (Risso, 1813) (HEMIPTERA: PSEUDOCOCCIDÆ) / Carla Helena Máciel de Lima. - 2022.
52 f.
- Orientadora: Claudio Augusto Gomes da .
Coorientadora: Wendel Jose Teles .
Inclui referências e anexo(s).
- Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Entomologia
Agrícola, Recife, 2022.
1. Piperaceae. 2. Inseticida Botânico. 3. Toxicidade. 4. Repelência. 5. Ovicida. I. , Claudio Augusto Gomes da,
orient. II. , Wendel Jose Teles, coorient. III. Título

CDD 632.7

DEDICATÓRIA

*Dedico este estudo
Aos meus pais Aldenira Helena e Carlos Alberto,
por todo apoio,
incentivo e paciência.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por tanto cuidado e amor, principalmente em meio a todo esse caos da pandemia Covid-19. A nossa senhora por sua intercessão e proteção. Pois se não fosse por eles eu não teria forças para concluir esse mestrado no tempo que me foi estipulado, devido a todos os contratemplos que passei no decorrer da minha pesquisa.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) e ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia, pela oportunidade de realização deste curso. A Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) pela concessão da bolsa de estudo.

Aos meus familiares que me acompanharam no decorrer de toda essa pesquisa, e sempre me incentivaram a continuar lutando pelos meus sonhos, meus pais Carlos Alberto e Aldenira Helena, minha irmã Lais Maciel, meu sobrinho e futuro cientista curioso Luiz Gustavo, meu tio Marco Antônio maior incentivador de seguir a vida acadêmica, minha vózinha Francisca Maria que está sempre comigo. Ao meu namorado Paulo Mota, que vibra junto comigo por minhas conquistas e sempre me incentiva a ser melhor, gratidão pela paciência com todos os meus estresses e falta de tempo.

Gratidão ao meu orientador Cláudio Camara e ao meu Co-orientador Wendel Pontes, pela confiança, orientação e incentivo no desenvolvimento desta pesquisa, e por acreditarem em mim.

A todos os meus professores do PPGE por todo conhecimento, formação e informações repassadas.

Aos meus companheiros de laboratório (Mayara Fernandes, Guilherme, Donald e Fernando), que me auxiliaram no início da pesquisa, esclarecendo algumas dúvidas e contribuindo para o meu crescimento quanto pesquisadora. E em especial a Pós-doc do LABIQIN Vaneska

Barbosa, que foi extremamente importante na minha formação me apoiando, direcionando e aconselhando, se tornando o tipo de pesquisadora na qual me espelho, por sua prudência e dedicação.

Aos meus amigos do Laboratório de Entomologia Aplicada da UFPE, Maria Luiza, Hugo, André, Matheus, Gabriel, Lauriano, Clara, Rafaella Lucena, Érica e VÍrginia, pela parceria, por sempre torcerem por mim e vibrar junto comigo a cada conquista.

Aos meus amigos que me acompanharam nessa jornada e sempre estiveram torcendo por mim, meu sexteto (Lucas Vitor, Yana, Lipe e Duda), aos amigos da igreja Vanessa Guimarães, Raquel Freitas, Jéssica Andrade, Ziih, Laissa, Ellen. Ao meu trio André e Deborah. Ao cafofo (amigos da graduação), Nayane, Lucas, Willy, Luiz e Stela. Aos amigos da pós: Aline Lira, Sara, Josival, Lídia, Catiane e Karol. Gratidão a todos pela parceria.

SUMÁRIO

	Página
AGRADECIMENTOS	vii
CAPÍTULOS	
1 INTRODUÇÃO	1
LITERATURA CITADA.....	7
2 TOXICIDADE, OVICIDA E REPELÊNCIA DE ÓLEOS ESSENCIAIS <i>Piper aduncum</i> E <i>Piper marginatum</i> SOBRE A COCHONILHA <i>Planococcus citri</i> (RISSO, 1813) (HEMIPTERA: PSEUDOCOCCIDAE).....	14
RESUMO	15
ABSTRACT	16
INTRODUÇÃO	17
MATERIAL E MÉTODOS	19
RESULTADOS	25
DISCUSSÃO	27
AGRADECIMENTOS.....	30
LITERATURA CITADA.....	30

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

As cochonilhas constituem um dos principais grupos de insetos-praga e estão inseridas na ordem Hemiptera, subordem Sternorrhyncha e superfamília Coccoidea, compreendendo cerca de 30 famílias, 258 gêneros e 2054 espécies (Gullan & Cook 2007, ScaleNet 2022). São insetos de tamanho e coloração variadas, com comprimento entre 0,5 a 35 mm, apresentando corpo “oval-arredondado”. Caracterizadas por serem espécies polífagas, as cochonilhas alimentam-se da seiva de plantas, exclusivamente do floema rico em açúcares (Silva *et al.* 2016, Garcia *et al.* 2016).

Dentre os insetos praga, elas são consideradas de grande importância econômica por atingir diferentes cultivares desde abacaxizeiro, bananeira, cafeeiro, cana-de-açúcar, citros, coqueiro, figueira, goiabeira, mangueira, macadâmia a plantas ornamentais (Gullan 2000), em todo o mundo e causar danos econômicos significativos (Daane *et al.* 2012, Mansour *et al.* 2018). Esses prejuízos são ocasionados pela excreção de um líquido rico em açúcar, produzido principalmente por ninfas dos últimos instares e fêmeas adultas, o chamado honeydew, que além de atrair outros insetos causam danos a cultura, resultando no desenvolvimento de fungos causadores da fumagina na superfície das plantas reduzindo a capacidade fotossintética provocando perda na produtividade, e reduzindo o valor comercial do produto (Douglas 2006, Silva *et al.* 2016, Reineke & Thiery 2016).

Aproximadamente 160 espécies de cochonilhas são conhecidas como pragas de plantas em todo o mundo (Mansour *et al.* 2018). Entre as espécies de cochonilhas existentes aquelas conhecidas popularmente como cochonilhas-farinhas frequentemente encontradas aqui no Brasil, atingindo principalmente a cultura da videira, são as espécies: *Pseudococcus maritimus*

(Ehrhorn 1900), *Pseudococcus longispinus* (Targioni-Tozzetti 1867), *Pseudococcus viburni* (Signoret 1875) e *Planococcus citri* (Risso, 1813) (Kishino *et al.* 2007). O gênero *Planococcus*, destaca-se na família por ser considerada como praga de importância econômica em agroecossistemas (Morandi Filho *et al.* 2008).

A espécie *Planococcus citri* (Risso, 1813) (Hemiptera, Pseudococcidae), popularmente conhecida como cochonilha dos citros, se encontra distribuída mundialmente adaptando-se a climas variados e diferentes hospedeiros como cafeeiro, citros, figueira, e em plantas ornamentais (Gullan 2000, Morandi *et al.* 2008, Polat *et al.* 2008, Santa-Cecília *et al.* 2017). Esta cochonilha pode ser encontrada também em regiões tropicais, subtropicais e temperadas (Santa Cecília & Souza, 2005), e podem atacar vários órgãos da planta, como raízes, folhas e frutos (González & Volosky 2004).

Na fase adulta espécies de cochonilhas apresentam dimorfismo sexual com machos alados e de vida livre, fêmeas ápteras, sésseis e encontradas fixadas nas estruturas das plantas onde habitam e se alimentam (Pellizzari & Germain 2010).

As fêmeas adultas de *P. citri* são ovais, planas e de coloração variando entre amarelo e marrom-amarelada, com linha dorsal pouco visível na superfície cerosa branca, os ovos possuem coloração amarelada, já as ninfas apresentam uma cor amarelo-limão (Costa *et al.* 2009). Apresenta ciclo de vida curto, variando entre 20 à 40 dias, dependendo da planta hospedeira e das condições ambientais como a temperatura (Santa- Cecília *et al.* 2017). Uma fêmea pode ovipositar entre 150 à 300 ovos, eles se encontram protegidos por um ovissaco construído com fios de cera secretado pelas fêmeas, eclodindo entre 3 à 6 dias após a postura (Entwistle 1972, Rao *et al.* 2006).

Existem diferença na quantidade de instares entre machos e fêmeas, as fêmeas são compostas por 3 instares, no primeiro, elas apresentam coloração amarelada e corpo sem pulverulência cerosa (Corrêa *et al.* 2005) neste instar elas se movimentam intensamente, dispersando-se mais rápido e

recebem o nome de ninfas migratórias (Kerns *et al.* 2004). Do segundo instar em diante, as ninfas e adultos possuem coloração rosada, corpo oval coberto por uma camada serosa branca e 18 pares de filamentos cerosos ao redor de seu corpo (Corrêa *et al.* 2005, Costa *et al.* 2009).

O macho adulto de *P. citri* diferentemente da fêmea é alado, com tamanho reduzido, corpo alongado, e ao final do dorso apresenta dois filamentos longos. Vivem de dois a quatro dias após saída do casulo para adulto (Costa *et al.* 2009). Possuem apenas 2 instares onde no último se forma um pupário ceroso, a partir desse momento, seu aparelho bucal é atrofiado e eles não se alimentam nesta fase, por este motivo vivem apenas de 2 a 4 dias após a emersão (Morandi Filho *et al.* 2008) com isso, se tornam menos prejudiciais as culturas em sua fase adulta (Santa- Cecília *et al.* 2017).

Em regiões quentes, *P. citri* consegue obter normalmente 4 ou 5 gerações no ano (Correa *et al.* 2008) podendo-se obter o dobro desse número em condições de laboratório (Gray 1954), onde é facilmente estabelecida, podendo usar como hospedeiros, brotos de batata (Onazi 1969), limões (Samways & Mapp 1983) e abóboras (Lepage 1942, Correa *et al.* 2011).

Os danos relacionados a altas infestações de *P. citri* em culturas como café e citrus, podem causar redução no crescimento da cultura e alteração no seu tamanho, bem como a degradação da mesma e queda principalmente de frutos novos, desfolhamento (Fornazier *et al.* 2015, Mansour *et al.* 2018), além do crescimento fuliginoso, causando a senescência precoce da folha devido a sua saliva tóxica (Heinz *et al.* 2004).

Populações de *P. citri* são encontradas frequentemente em plantas do gênero *Citrus* e em cafeeiros (Martinez & Suris 1987, Santa-Cecília *et al.* 2009). Em cafeeiros, elas são vistas sugando a seiva dos botões florais e frutos, a infestação pode ser observada desde o período de floração até a ocasião da colheita, sua alta incidência acarreta em prejuízos próximos a 100% nas lavouras (Santa-Cecília *et al.* 2020). Sendo assim, considerada como uma das pragas mais importantes nos

pomares de citrus (*Citrus spp.*) (Uygun & Satar 2008) soja (*Glycine max* (L.) Merr.), goiabeira, manga e videira (Willians & Granara de Willink, 1992).

As cochonilhas, geralmente, são consideradas de difícil controle, especialmente pela proteção obtida por sua camada cerosa, além da alta fertilidade e rapidez no deslocamento de ninfas do primeiros instar, conhecidas como ninfas migratórias (Rajagopal & Gowda 2000). O controle das cochonilhas é difícil devido ao hábito de se fixarem nas raízes e/ou sob a casca o que dificulta a visualização da praga e o contato com inseticidas (Castillo *et al.* 2002).

Atualmente, a forma de controle químico mais utilizado é através do uso de inseticidas sintéticos sistêmicos, no entanto, o uso desses produtos podem elevar os custos de produção (Corrêa & Salgado 2011). Esse tipo de controle é realizado através da aplicação direta nos ramos, raízes ou solos, depois de aplicado, o inseticida é absorvido e conduzido pela seiva os diversos órgãos e tecidos da planta, o inseto terá contato com o produto por ingestão em caso de insetos sugadores e mastigadores, podendo obter atividade bastante eficiente principalmente em insetos sugadores, que são de difícil localização devido aos locais em que se alojam (Gallo *et al.* 2002).

Para prevenir e/ou reduzir o número de perdas econômicas geradas por essa espécie, existe uma série de estratégias para a realização do controle e manejo da praga, desde o controle biológico, controle químico e uso de semioquímicos como feromônios (Mansour *et al.* 2018). No entanto, o os produtos registrados junto ao Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) para controle de *P. citri* resume-se a organofosforado e óleo mineral (Agrofit 2022), o que resulta, por sua vez, na utilização de produtos não registrados, que por sua vez, pode resultar no aparecimento de novas pragas e persistência no ambiente (Brito *et al.* 2004, Holtz *et al.* 2016).

Como alternativa ao uso de inseticidas químicos, uso de formulações tendo como princípio ativo, derivados de plantas, como por exemplo, óleos essenciais (OEs), têm sido amplamente investigado devido à sua ação sobre diferentes tipos de artrópodes, baixa toxicidade aos

mamíferos, e por serem biodegradáveis, evitando a contaminação do meio ambiente, quando comparados aos inseticidas sintéticos (Isman 2020). OEs são misturas complexas de compostos voláteis, que são o resultado do metabolismo secundário das plantas (Garcia & Carril 2009, Gobbo-Neto & Lopes 2007). Constituintes como terpenóides (monoterpenos e sesquiterpenos) (Zapata & Smagghe 2010, Chu *et al.* 2010) e fenilpropanóides compõem os óleos essenciais e atuam no combate contra a herbívora (Lahlou & Berrada 2003, Regnault-Roger *et al.* 2012). Estes metabólitos são produzidos e armazenados em diferentes órgãos ou tecidos das plantas, como os pelos glandulares ou cavidades secretoras da parede celular vegetal da casca, flores, frutos, folhas, raízes e caules (Dev & Rowe 1989, Zapata & Smagghe 2010, Chu *et al.* 2010).

As principais classes de compostos químicos encontradas nos óleos essenciais são de monoterpenos, fenilpropanóides e sesquiterpenos. Estas substâncias apresentam ampla atividade biológica, que podem atuar como inseticidas contra vários artrópodes (Saad *et al.* 2019, Pang *et al.* 2020, Abdelgaleil *et al.* 2020), através de seus modos de atuação que são: contato (Fazolin *et al.* 2007, Araújo *et al.* 2012), fumigação (Estrela *et al.* 2006, Araújo *et al.* 2012) repelente (Ansari *et al.* 2000).

A família Piperaceae é bastante estudada quanto a sua bioatividade, ela apresenta aproximadamente 3600 espécies amplamente distribuídas. No Brasil os gêneros mais encontrados são: *Peperomia* e *Piper*, juntamente com *Ottonia*, *Pothomorphe* e *Sarcorrhachis* (Yuncker 1972, 1973). O gênero *Piper* L. possui maior diversidade concentra-se nos tópicos americanos (Ulloa Ulloa *et al.* 2017), seguidos pelos trópicos do sudeste asiático (Sen *et al.* 2019), e Pacífico sul (Asmarayani 2018).

O uso de *Piper* spp. foi relatado na medicina popular com o tratamento de diversas doenças através de suas atividades antioxidantes, sendo usadas para combater doenças como: febre, asma,

tosse, diarreia entre outras (Wan Salleh *et al.* 2014). As propriedades bioinseticidas de *Piper* spp. tem sido investigada e apresenta resultados promissores mostrando efeitos larvicida em *Aedes aegypti* (Autran *et al.* 2009), antialimentar (Andrés *et al.* 2017) e repelência (Mamood *et al.* 2017), por exemplo (Melirmau 2020).

Piper aduncum L. é uma planta de porte arbustivo conhecida popularmente como “pimento-de-macaco” ou “aperta-ruão”, sendo encontrada em diversas regiões brasileiras (Fazolin *et al.* 2006, Sousa *et al.* 2008). Esta espécie se destaca por apresentar compostos com ação inseticida comprovada em diferentes ordens de insetos, como em *Aedes aegypti* (L.), *A. albopictus* Skuse (Diptera: Culicidae) (Misni *et al.* 2011), em coleópteras como o *Sitophilus zeamais* Motsch (Coleoptera: Curculionidae) (Estrela *et al.* 2006) e no percevejo marrom da soja (Piton *et al.* 2014). A toxicidade e ação repelente como em *Aedes albopictos* (Misni *et al.* 2009) e *Tetranychus urticae* (Araújo *et al.* 2012).

Piper marginatum também apresenta porte arbustivo de até 5m de altura, aromática e cresce abundantemente nas bordas das florestas da mata atlântica. No Brasil, é encontrada facilmente nos estados do Amazonas, Pará, Ceará, Paraíba e Pernambuco, conhecida popularmente por “malvíscio” no nordeste brasileiro (Autran *et al.* 2009). Estudos com OEs de *P. marginatum*, vem sendo testado com foco em atividades biológicas, como ação larvicida em *Aedes aegypti* (Autran *et al.* 2009), inseticida em *Tenebrio molitor* (Fazolin *et al.* 2007), *Sitophilus zeamais* (Estrela *et al.* 2006) bem como, em insetos sugadores da ordem hemíptera, como *Macrosiphum euphorbiae* (Soares *et al.* 2011), *Triatoma infestans* (Gomes & Favero 2011), *Dysmicoccus brevipes* (Martis *et al.* 2017), também como acaricida em *Tetranychus urticae* Koch e *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Ribeiro *et al.* 2016) e como antimicrobiano em *Crinipellis pernicioso*, *Phytophthora palmivora* e *Phytophthora capsici* (Silva & Bastos 2007).

Dessa forma, óleos de *P. aduncum* e *P. marginatum* apresentarão atividade biológica e comportamental em *Planococcus citri*? Diante desse questionamento levantamos a hipótese de que os óleos essenciais de *P. aduncum* e *P. marginatum* devem causar mortalidade via testes residuais e tópicos, e repelência sobre *P. citri*. Com isso, temos como objetivo geral, analisar os efeitos desses óleos essenciais sobre a espécie em estudo, em diferentes estágios de seu ciclo de vida. Verificamos, no teste de toxicidade dos óleos essenciais de *P. aduncum* e *P. marginatum* em ninfas migratórias e de segundo instar, bem como em fêmeas adultas de *P. citri*, assim como, avaliar repelência no estágio caminhante que tem grande poder de dispersão. Por fim, avaliação do efeito ovicida.

Literatura Citada

- Abdelgaleil, S.A. & A.M. El-Sabroul. 2018.** Anti-nutritional, antifeedant, growth-disrupting and insecticidal effects of four plant essential oils on *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Crop Prot.* 7: 135-150.
- Andrés, M.F., G.E. Rossa, E. Cassel, R.M.F. Vargas, O. Santana, C.E. Díaz & A. González-Coloma. 2017.** Biocidal effects of *Piper hispidinervum* (Piperaceae) essential oil and synergism among its main components. *Food Chem. Toxicol.* 109: 1086-1092.
- Autran, E.S., I.A. Neves, C.S.B. Da Silva, G.K.N. Santos, C.A.G. Da Câmara & D.M.A.F. Navarro. 2009.** Chemical composition, oviposition deterrent and larvicidal activities against *Aedes aegypti* of essential oils from *Piper marginatum* Jacq. (Piperaceae). *Bioresour. Technol.* 100: 2284-2288.
- Ansari, M.A., P. Vasudevan, M. Tandon & R.K. Razdan. 2000.** Larvicidal and mosquito repellent action of peppermint (*Mentha piperita*) oil. *Bioresour. Technol.* 71: 267-271.
- Araújo, M. J., C.A. Câmara, F.S. Born, M.M. Moraes & C.A. Badji. 2012.** Acaricidal activity and repellency of essential oil from *Piper aduncum* and its components against *Tetranychus urticae*. *Exp. Appl. Acarol.* 57: 139-155.
- Asmarayani, R. 2018.** Phylogenetic relationships in Malesian-Pacific *Piper* (Piperaceae) and their implications for systematics. *Taxon.* 67: 693–724.

- Brito, G.G., E.C. Costa, H. Maziero, A.B. Brito & F.A. Dörr. 2004.** Preferência da broca-das-cucurbitáceas [*Diaphania nitidalis* Cramer, 1782 (Lepidoptera: Pyralidae)] por cultivares de pepineiro em ambiente protegido. *Ciência Rural*, Santa Maria. 34:577-579.
- Castillo, A.A.F., J.L.M. Blanco, G.O. Acosta & J.L. Carrillo. 2004.** Control químico de piojo harinoso *Planococcus ficus* Signoret (Homoptera: Pseudococcidae) en vid de mesa. *Agric. Téc. Méx.* 30:101-105.
- Chu, S.S, S.L. Liu, G.H. Jiang & Z.L. Liu. 2010.** Composition and toxicity of essential oil of *Illicium simonsii* Maxim (Illiciaceae) fruit against the maize weevils. *Rec. Nat. Prod.* 4: 205-210.
- Corrêa, L.R.B., J.P. Bonani, L.V.C. Santa Cecília & B. Souza. 2005.** Aspectos biológicos da cochonilha-branca [*Planococcus citri* (Risso, 1813)] em citros. *Revista Laranja.* 2: 265-271.
- Costa, J. N. M., C.A.D. Teixeira, L.A.P. Sallet & F.C. Gama. 2009.** Cochonilhas ocorrentes em cafezais de Rondônia, Porto Velho, RO, Embrapa 6 p. (Circular Técnica, 110).
- Correa, L. R. B., B. Souza, L.V.C. Santa-Cecilia & E. Prado. 2011.** Especificidade hospedeira e análises morfométricas de cochonilhas do gênero *Planococcus* (Hemiptera: Pseudococcidae). *Arq. Inst. Biol.* 78.
- Corrêa, J. C. R. & H.R.N. Salgado. 2011.** Atividade inseticida das plantas e aplicações: revisão. *Rev. Bras. de Plantas Medicinai*s.13: 500-506.
- Daane K.M., R.P.P. Almeida, V.A. Bell, M. Botton, M. Fallahzadeh, M. Mani, J.L. Miano, R. Sforza, V.M. Walton & T. Zaviezo. 2012.** Biology and management of mealybugs in vineyards, p. 271–308 In: Bostanian NJ, Isaacs R, Vincent C (eds) *Arthropod management in vineyards*. Springer, Dordrecht.
- Douglas, A. 2006.** Phloem-sap feeding by animals: problems and solutions. *J. exp. bot.* 57: 747-754.
- Dev, S. 1989.** Terpenoids. In: Rowe J.W. (eds) *Natural products of woody plants*. Springer-Verlag, Berlin. 691–807p.
- Entwistle, P. F. 1972.** *Pests of Cocoa*. Longman, London, 779 p.
- Estrela, J.L.V., M. Fazolin, V. Catani, M.R. Alecio & M.S. Lima. 2006.** Toxicidade de oleos essenciais de *Piper aduncum* e *Piper hispidinervum* em *Sitophilus zeamais*. *Pesqui. Agropecu. Bras.* 41: 217-222.

- Fazolin, M., J.L.V. Estrela, V. Catani, M.R. Alecio & M.S. Lima. 2007.** Propriedade inseticida dos óleos essenciais de *Piper hispidinervum* C. DC.; *Piper aduncum* L. e *Tanaecium nocturnum* (Bbarb. Rodr.) Bur. & K. Shum sobre *Tenebrio molitor* L., 1758. Cienc. e Agrotecnologia. 31:113-120.
- Fazolin, M., J.L.V. Estrela, V. Catani & C.R. da Costa. 2006.** Potencialidades da pimenta-de-macaco (*Piper aduncum* L.): características gerais e resultados de pesquisa. Embrapa Acre-Documentos, 50p. (INFOTECA-E).
- Fornazier M.J., D.S. Martins & D. Pratissoli. 2015.** Manejo Integrado de Pragas. In: Fonseca A.F.A., Sakyama N.S., Borém A. (eds.). Café conilon: do plantio à colheita. Viçosa, MG: Editora UFV. 138-161.
- 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.
- García, A.A. & E.P.U. Carril. 2009.** Metabolismo secundário de plantas. Reduca (Biología). Serie Fisiologia Vegetal. 2: 119.
- Gobbo-Neto, L & N.P. Lopes. 2007.** Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. Quím. Nov. 30: 374.
- García M.M., B.D. Denno, D.R. Miller, G.L. Miller, Y. Ben-Dov & N.B. Hardy. 2016.** ScaleNet: a literature-based model of scale insect biology and systematics.
- Gray, H.E. 1954.** The development of the citrus mealybug. J. Econ. Entomol. 47: 174-176.
- Gullan, P.J. 2000.** Identification of the immature instars of mealybugs (Hemiptera: Pseudococcidae) found on citrus in Australia. Aust. J. Entomol. 39:160-166.
- Gullan, P.J. & L.G. Cook. 2007.** Phylogeny and higher classification of the scale insects (Hemiptera: Sternorrhyncha: Coccoidea). Zootaxa. 1168: 413-425.
- González, R.H. & C. Volosky. 2004.** Chanchitos blancos y polillas de la fruta: problemas cuarentenarios de la fruticultura de exportación. Revista Frutícola. 25: 41-62.
- Gomes, S.P. & S. Favero. 2011.** Avaliação de óleos essenciais de plantas aromáticas com atividade inseticida em *Triatoma infestans* (Klug, 1834)(Hemiptera: Reduviidae). Acta Sci. Health Sci. 33: 147-151.
- Holtz, A. M., M.L. Franzin, H.H.D. Paulo, J.M.C. Botti, J.J.D.P. Marchiori & É.G. Pacheco. 2016.** Controle alternativo de *Planococcus citri* (Risso, 1813) com extratos aquosos de pinhão-mansão. Arq. Inst. Biol. 83: 1-6.

- Heinz, K.M., R.G.V. Driesche & M.P. Parrella. 2004.** Bio-Control in Protected Culture. Ball Publishing, Batavia, 552p.
- Isman M.B. 2020.** Botanical insecticides in the twenty-first century—fulfilling their promise?. *Annu. Rev. Entomol.* 65: 233-249.
- Kerns, D., G. Wright & J.C. Loghry. 2004.** Citrus Mealybug (*Planococcus citri*), Citrus Arthropod Pest Management in Arizona. The University of Arizona, Arizona.
- Kishino, A.Y., S.L.C. Carvalho & S.R. Roberto. 2007.** Viticultura tropical o sistema de produção do Paraná. Londrina: IAPAR, 366p.
- Lahlou M., R. & R. Berrada. 2003.** Composition and niticidal activity of EOs of three chemotypes of *Rosmarinus officinalis* L. acclimatised in Morocco. *Flav. Frag. J.* 18:124–127.
- Lepage, H. S. 1942.** Abóboras, cobaias para o estudo das pragas dos vegetais. *O Biológico.* 8: 221-224.
- Mamood, S.N.H., O. Hidayatulfathi, S.B. Budin, G.A. Rohi & M.H. Zulfakar. 2017.** The formulation of the essential oil of *Piper aduncum* Linnaeus (Piperales: Piperaceae) increases its efficacy as an insect repellent. *Bull. Entomol. Res.* 107: 49-57.
- Mansour, R., L.P. Belzunces, P. Suma, L. Zappalà, G. Mazzeo, K. Grissa-Lebdi, A. Russo & A. Biondi. 2018.** Vine and citrus mealybug pest control based on synthetic chemicals. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 38:1-20.
- Martínez, M. A. & M. Surís. 1987.** Ciclo de desarrollo de *Planococcus citri* en cafeto. *Rev. Prot. Veg.* 2: 32-36.
- Martins, G.D.S.O., H.B. Zago, A.V. Costa, L.M. de Araujo Junior & J.R. de Carvalho. 2017.** Caracterização química e toxicidade de óleos essenciais cítricos sobre *Dysmicoccus brevipes* (Hemiptera: Pseudococcidae). *Rev. Caatinga.* 30: 811-817.
- MAPA/AGROFIT. 2022.** Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. Coordenação- Geral de Agrotóxicos e Afins. Disponível em: <https://www.agrolink.com.br/agrolinkfito/produto/azamax_7627.html>. Acesso em: 09 jan. 2022.
- Merlimau, M. 2020.** Essential oil from Piperaceae as a potential for biopesticide agents: a review. *Food Res.* 4: 1-10.

- Misni, N., S. Sulaiman, H. Othman & B. Omar. 2009.** Repellency of essential oil of *Piper aduncum* against *Aedes albopictus* in the laboratory. J. Am. Mosq. Control Assoc. 25: 442-447.
- Misni, N., H. Othman & S. Sulaiman. 2011.** The effect of *Piper aduncum* Linn.(Family: Piperaceae) essential oil as aerosol spray against *Aedes aegypti* (L.) and *Aedes albopictus* Skuse. Trop. Biomed. 28: 249-258.
- Morandi Filho, W. J., A.D. Grützmacher, M. Botton & A. Bertin. 2008.** Biologia e tabela de vida de fertilidade de *Planococcus citri* em diferentes estruturas vegetativas de cultivares de videira. Pesqui. Agropecu. Bras. 43: 941-947.
- Onazi, O. C. 1969.** The infestation of stored potatoes (*Solanum tuberosum*) by *Planococcus citri* (Risso) (Homoptera: Pseudococcidae) on the Jos Plateau, Nigeria. Nigerian Entomologists' Magazine. 2:17-18.
- Pang X., B. Almaz, X.J. Qi, Y. Wang, Y.X. Feng, Z.F. Geng, C. Xi & S.S. Du. 2020.** Bioactivity of essential oil from *Atalantia buxifolia* leaves and its major sesquiterpenes against three stored-product insects. J. Essent. Oil-Bear Plants. 23: 38-50.
- Polat, F., S. Ulgenturk & M.B. Kaydan. 2008.** Developmental biology of citrus mealybug, *Planococcus citri* (Risso)(Hemiptera: Pseudococcidae), on ornamental plants. In: Proceedings of the International Symposium on Scale Insect Studies. 11: 177-184.
- Pellizzari, G. & Germain, Jean-François. 2010.** Scales (Hemiptera, Superfamily Coccoidea). Chapter 9.3. BioRisk. 4: 475.
- Piton, L.P., L.M. Turchen, A.R. Butnariu & M.J.B. Pereira. 2014.** Inseticida natural a base de extrato de folha de *Piper aduncum* (Piperaceae) no controle do percevejo marrom da soja. Ciência Rural. 44: 1915-1920.
- Rajagopal, B.K. & K.N.M. Gowda. 2000.** Biology of citrus mealybug, *Planococcus citri* (Risso) (Hemiptera: Pseudococcidae). Crop Researc (Hisar). 20:130-133.
- Rao, C.N., V.J. Shivankar & S. Singh. 2006.** Citrus mealy bug *Planococcus citri* Risso management-a review. Agric. rev. 27: 142-146.
- Ribeiro, N., C. Camara & C. Ramos. 2016.** Toxicity of essential oils of *Piper marginatum* Jacq. against *Tetranychus urticae* Koch and *Neoseiulus californicus* (McGregor). Chil. J. agric. res.76: 71-76.
- Reineke A. & D. Thiéry. 2016.** Grapevine insect pests and their natural enemies in the age of global warming. J. Pest. Sci. 89: 313–328.

- Reganult-Roger, C., C. Vincent & J.T. Arnason. 2012.** Essential oils in insect control: low-risk products in a high-stakes world. *Annu. Rev. Entomol.* 57: 405-424.
- Saad M.M.G., D.A. El-Deeb & S.A.M. Abdelgaleil. 2019.** Insecticidal potential and repellent and biochemical effects of phenylpropenes and monoterpenes on the red flour beetle, *Tribolium castaneum* Herbst. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 26: 6801-6810.
- Santa-Cecília, L.V.C. & B. Souza. 2005.** Controle biológico de cochonilhas-farinhentas em cultivos protegidos. *Informe Agropecuário, Belo Horizonte.* 26: 24- 30.
- Santa-Cecília, L.V.C., L.R.B. Correa, B. Souza, E. Prado & E. Alcantra. 2009.** Desenvolvimento de *Planococcus citri* (Risso, 1813) (Hemiptera: Pseudococcidae) em cafeeiros. *Acta Sci. Agron.* 31:13-15.
- Santa-Cecília, L.V.C., E. Prado, B. Pereira, B. Souza & L. Sales. 2017.** *Planococcus citri* Risso (Hemiptera: Pseudococcidae): relações macho-fêmea e influências na biologia reprodutiva. *Coffee Sci.* 12: 336-343.
- Santa-Cecília, L.V.C., E. Prado, B. Souza & K.H. Silva. 2020.** Cochonilhas do cafeeiro no Brasil e seus inimigos naturais: uma síntese. Belo Horizonte, EPAMIG. 72p.
- ScaleNet. 2022.** Pseudococcidae. Disponível em: <scalenet.info/fams/Pseudococcidae>. Acesso em: 10 de jan. de 2022.
- Sen, S., S. Dayanandan, T. Davis, R. Ganesan, M.R. Jagadish, P.J. Mathew & G. Ravikanth. 2019.** Origin and evolution of the genus *Piper* in Peninsular India. *Mol. Phylogenet. Evol.* 138: 102– 113.
- Silva, V.C.P., M. Botton, E. Prado & J.E.M. Oliveira. 2016.** Bioecologia, Monitoramento e Controle de Cochonilhas Farinhentas (Hemiptera: Pseudococcidae) na Cultura da Videira. Embrapa Uva e Vinho, 20p. (Circular Técnica 125).
- Silva, D.M.M. & C.N. Bastos. 2007.** Atividade antifúngica de óleos essenciais de espécies de *Piper* sobre *Crinipellis pernicioso*, *Phytophthora palmivora* e *Phytophthora capsici*. *Fitopatol. Bras.* 32: 143-145.
- Samways, M. & J. Mapp. 1983.** Laboratory culture of the mealybug *Planococcus citri* (Risso) on lemons and butternuts. *Phytophylactica.* 15: 163-164.
- Sousa, P.J., C.A. Barros, J.C.S. Rocha, D.S. Lira, G.M. Monteiro & J.G.S. Maia. 2008.** Avaliação toxicológica do óleo essencial de *Piper aduncum* L. *Ver. Brasi. Farmacogn.* 18: 217-221.

- Soares, C.S.A., M.B. Costa, A.H.V. Soares, C.E.S. Bezerra & L.M. Carvalho. 2011.** Avaliação da atividade inseticida do óleo essencial de mentrasto, *Ageratum conyzoides* L., sobre o pulgão *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas, 1878), Hemiptera, Aphididae, em roseira. *Rev. Verde Agroecologia e Desenvol. Sustent.* 6: 42.
- Ulloa Ulloa, C., P. Acevedo-Rodríguez, S. Beck, M.J. Belgrano, R. Bernal, P.E. Berry, L. Brako, M. Celis, G. Davidse, R.C. Forzza, S.R. Gradstein, O. Hokche, B. León, S. León-Yáñez, R.E. Magill, D.A. Neill, M. Nee, P.H. Raven, H. Stimmel, M.T. Strong, J.L. Villaseñor, J.L. Zarucchi, F.O. Zuloaga & P.M. Jørgensen. 2017.** An integrated assessment of the vascular plant species of the Americas. *Sci.* 358: 1614–1617.
- Uygun, N. & S. Satar. 2008:** The current situation of citrus pests and their control methods in Turkey. *IOBC-WPRS Bulletin.* 38: 2-9.
- Wan Salleh, W.M., N.A. Hashim, F. Ahmad & K.H. Yen. 2014.** Anticholinesterase and Antityrosinase Activities of Ten *Piper* Species from Malaysia. *Adv. Pharm. Bull.* 4: 527-531.
- Yuncker, T.G. 1972.** The Piperaceae of Brazil. *Hoehnea.* 2: 19-366.
- Yuncker, T.G. 1973.** The Piperaceae of Brazil. II. Piper-group V; *Ottonia*; *Pothomorphe*; *Sarcorrhachis*. *Hoehnea.* 3: 29-284.
- Williams, D.J. & M.C. Granara De Willink. 1992.** Mealybugs of Central and South America. C.A.B. International: Wallingford. 635p.
- Zapata, N. & G. Smagghe. 2010.** Repellency and toxicity of essential oils from the leaves and bark of *Laurelia sempervirens* and *Drimys winteri* against *Tribolium castaneum*. *Ind. Crops Prod.* 32: 405-410.

CAPÍTULO 2

TOXICIDADE, OVICIDA E REPELÊNCIA DE ÓLEOS ESSENCIAIS *Piper aduncum* E *Piper marginatum* SOBRE A COCHONILHA *Planococcus citri* (RISSO, 1813) (HEMIPTERA: PSEUDOCOCCIDAE)¹

CARLA H. M. LIMA²; VANESKA B. MONTEIRO²; MAYARA F. SANTOS²; WENDEL J. T. PONTES³; CLAUDIO A. G. CAMARA⁴

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

³ Departamento de Zoologia – Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, 135 – Cidade Universitária, 50670-901, Recife, PE, Brasil.

⁴ Departamento de Química – Produtos Naturais, Av. Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos 52171-900, Recife, PE, Brasil.

¹Lima, C. H. M., Monteiro, V. B., Santos, M. F., Pontes, W.J.T., Camara, C.A.G. Atividade dos óleos essenciais de *Piper adundum* e *Piper marginatum* sobre a cochonilha *Planococcus citri* (Risso, 1813) (Hemiptera: Pseudococcidae). A ser submetido.

RESUMO – A cochonilha *Planococcus citri* (Risso, 1813) é uma importante praga de diversas culturas. No entanto, o controle é dificultado por causa da camada cerosa que protege o corpo, por isso, agricultores recorrem a inseticidas sistêmicos o que elevam os custos de produção. Portanto, objetivo deste estudo foi avaliar a atividade dos óleos essenciais de *Piper aduncum* e *Piper marginatum* sobre *P. citri*, através de bioensaios de toxicidade tópica em ninfas migratórias; bioensaio residual por contato em ninfas migratórias, de segundo instar e em fêmeas adultas; repelência e ovicida. O Azamax[®] foi utilizado para comparação dos resultados. Os valores de CL's₅₀ estimadas para os testes com óleo de *P. aduncum* foram 2,85 µl/mL tópico em ninfas migratórias, e 1,83 e 1,50 µl/mL para residual por contato em ninfas migratórias e de segundo instar, respectivamente. As CL's₅₀ estimadas para o óleo de *P. marginatum* foram 2,36 µl/mL para o teste tópico em ninfas migratórias, e 2,28 e 3,81 µl/mL para residual por contato em ninfas migratórias e de segundo instar, respectivamente. As CL's 30 e 50 (teste tópico) testadas em fêmeas causaram mortalidade de 23% e 35%; e 25% e 36% para *P. aduncum* e *P. marginatum*, respectivamente. Já no teste ovicida, removeu a inviabilidade dos ovos em 13,33% em ambas concentrações do óleo de *P. aduncum*; e 11% (CL₃₀) e 20,56% (CL₅₀) com óleo de *P. marginatum*. A CL₁₀ de *P. aduncum* foi mais repelente que *P. marginatum*. Os óleos foram promissores para *P. citri*, contudo são necessários mais estudos.

PALAVRAS-CHAVE: Piperaceae, Inseticida botânico, Ninfas migratórias, Residual por contato.

TOXICITY, OVICIDAL AND REPELLENCE OF ESSENTIAL OILS *Piper aduncum* AND
Piper marginatum ON THE MEALY BUG *Planococcus citri* (RISSO, 1813) (HEMIPTERA:
PSEUDOCOCCIDAE)

ABSTRACT – The mealybug *Planococcus citri* (Risso, 1813) is an important pest of several crops. However, control is difficult because of the waxy layer that protects the body, so farmers resort to systemic insecticides, which increases production costs. Therefore, this study aimed to evaluate the activity of *P. aduncum* and *P. marginatum* essential oils on *P. citri*, through bioassays of topical toxicity in migratory nymphs; residual toxicity in migratory, second instar nymphs and adult females; repellency; and ovicide. Azamax® was used to compare the results. The CL's50 values estimated through the concentration-response curve for *P. aduncum* oil were 2.85 µl/mL for the topical test in migratory nymphs, and 1.83 and 1.50 µl/mL for the residual test in nymphs migratory and second instar, respectively. The estimated CL's50 for *P. marginatum* oil were 2.36 µl/mL for the topical test on migratory nymphs, and 2.28 and 3.81 µl/mL for the residual test on migratory and second instar nymphs, respectively. The CL's30 and 50 (topical test) tested in females caused mortality of 23% and 35%; and 25% and 36% of females for *P. aduncum* and *P. marginatum*, respectively. In the ovicidal test, CL's 30 and 50 reduced by 13.33% in both CL's of *P. aduncum* oil; and 11% (CL₃₀) and 20.56% (CL₅₀) with *P. marginatum* oil at the hatching of *P. citri* nymphs. In the repellency test, it was possible to verify that the CL₁₀ of *P. aduncum* was more repellent than the CL₁₀ of *P. marginatum*. The oils were promising for *P. citri*, however further studies are needed.

KEY WORDS: Piperaceae, Botanical Insecticide, migratory nymphs, Residual per contact.

Introdução

O uso de inseticidas sintéticos é uma das principais alternativas utilizadas para controlar insetos-praga, porém, o uso excessivo deste tipo de controle pode favorecer a contaminação do ambiente, eliminação de artrópodes benéficos e desenvolvimento da resistência de pragas a inseticidas (Whalon *et al.* 2008). Dessa forma, a busca por alternativas eficazes e sustentáveis direcionados ao controle de pragas tem aumentado nos últimos anos como, por exemplo, a utilização de inimigos naturais e inseticidas botânicos (Pavela & Benelli 2016).

Os inseticidas botânicos são substâncias ativas extraídas de plantas (Isman & Grieneisen 2014, Pavela 2015, Fiaz *et al.* 2018). Dentre os inseticidas botânicos, os óleos essenciais (OEs) apresentam em sua composição uma mistura de compostos que tornam o processo de desenvolvimento da resistência da praga alvo mais lento (Koul *et al.* 2008, Pavela & Benelli 2016).

As substâncias encontradas em OEs podem agir em atividades biológicas específicas nos insetos, afetando ações comportamentais como a repelência, impedir a alimentação ou a oviposição, ou mesmo atuar fisiologicamente, com inibição do crescimento ou até mesmo alteração no desenvolvimento do inseto (Isman 2014).

No Brasil, estudos sobre óleos essenciais tem se intensificado para descobrir substâncias potencialmente úteis na agricultura. OEs de *Piper* apresentam atividades antimicrobianas (Oliveira *et al.*, 2016), acaricidas (Araújo *et al.* 2012), inseticidas (Santana *et al.* 2015) anticolinesterásicas, antitumorais e anti-inflamatórias de forma a serem úteis em tratamentos de doenças (Takeara *et al.* 2017).

Piper aduncum é uma espécie na qual se destaca por possuir compostos de ação inseticidas comprovadas em diferentes ordens de insetos. Existem relatos de sua toxicidade em *Aedes aegypti* (L.) e o *Aedes albopictus* Skuse (Diptera: Culicidae) (Misni *et al.* 2011), em

coleópteras como o *Sitophilus zeamais* Mostsch (Coleoptera: Curculionidae) (Estrela *et al.* 2006), em Hemipteras como a *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) com atividades larvicidas e em adultos (Volpe *et al.* 2016) e no percevejo-do-abacaxi, *Thlastocoris laetus* Mayr (Hemiptera: Coreidae) (Fazolin *et al.* 2006), no controle de larvas da broca-do-fruto-do-abacaxi, *Strymon megarus* (Godart) (Lepidoptera: Lycaenidae) reduzindo em até 87% o número de plantas atacadas por esta praga (Fazolin *et al.* 2011).

Estudos com OEs de *P. marginatum*, vem sendo testado com foco em atividades biológicas, como exemplo, a ação inseticida realizada em larvas de mosquitos da espécie *Aedes aegypti* (Autran *et al.* 2009), em outros insetos como inseticida por exemplo, *Tenebrio molitor* (Fazolin *et al.* 2007), *Sitophilus zeamais* (Estrela *et al.* 2006) acaricida em *Tetranychus urticae* Koch e *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Ribeiro *et al.* 2016) e como antimicrobiano em *Crinipellis pernicioso*, *Phytophthora palmivora* e *Phytophthora capsici* (Silva & Bastos 2007). Os resultados promissores dos óleos essenciais das plantas do gênero *Piper* contra diferentes insetos abre margem para investigação da atividade desses óleos em insetos de difícil controle, como as cochonilhas.

Muitas espécies de cochonilhas possuem uma camada cerosa que recobre seu corpo, dificultando o contato do inseticida com o tegumento do inseto (Afzal *et al.* 2015). Como as cochonilhas são insetos sugadores (Picanço *et al.* 2010, Gullan & Cranston 2012), a aplicação tradicional de inseticidas dificilmente penetrará nos tecidos de transporte da planta e portanto não deve alcançar o inseto através de via oral. Desta forma, os componentes dos OEs com características apolares podem permitir que parte de seus princípios ativos atravesse a camada cerosa e seja parcialmente absorvida pelo inseto.

Planococcus citri (cochonilha dos citros) é uma cochonilha polífaga e de distribuição cosmopolita. Se encontra principalmente na parte aérea das planta, porém em baixas temperaturas

pode se alojar nas raízes (Cid & Fereres 2010). Sua dispersão em videiras ocorre principalmente por ninfas de primeiro ínstar (ninfas migratórias) quando deslocam-se pelo tronco e ramos da mesma planta, sendo dificilmente encontradas nas partes verdes. A dispersão entre plantas é lenta pela reduzida mobilidade do inseto. O vento e os implementos agrícolas são provavelmente os principais meios de dispersão dentro do vinhedo (Cid *et al.* 2010).

Dessa forma, por causa dos resultados promissores obtidos de estudos de bioatividade dos óleos essenciais de *P. aduncum* e *P. marginatum*, mostrando sua eficiência em insetos, se faz necessária a investigação sobre pragas de difícil controle. Portanto, esta pesquisa teve como objetivo avaliar a bioatividade dos óleos essenciais de *P. aduncum* e *P. marginatum* através de bioensaios de toxicidade inseticida, repelente e ovicida sobre a cochonilha *Planococcus citri*, de forma a reduzir o uso de inseticidas sintéticos em seu controle.

Material e Métodos

Os experimentos foram desenvolvidos no laboratório de Investigação Química de Inseticidas Naturais (LABIQIN) do Programa de Pós-graduação em Entomologia do departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco. No período de Janeiro de 2021 à Dezembro de 2021.

Este trabalho foi conduzido em diferentes etapas, utilizando-se de insetos provenientes da criação de laboratório. Para o desenvolvimento da pesquisa, os óleos essenciais de *Piper aduncum* e *Piper marginatum* foram extraídos no Laboratório de Produtos Naturais Bioativos da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

Criação de *Planococcus citri*. As cochonilhas utilizadas na pesquisa foram criadas em abóboras jacarezinho (*Curcubita moschata*) de acordo com a metodologia de Sanches & Carvalho (2010).

As abóboras foram adquiridas no Centro de abastecimento e Logística de Pernambuco (CEASA), no laboratório elas foram higienizadas com água corrente e sabão. Após esse procedimento elas foram alocadas em bandejas plásticas (30 cm x 22 cm) forradas com papel toalha com vaselina na borda da bandeja, afim de evitar que as cochonilhas se dispersem, cada bandeja comportou duas abóboras infestadas, as ninfas de *P. citri* passaram de uma abóbora infestada para a não infestada através da aproximação entre elas dentro da bandeja. Para a manutenção da criação, a cada três dias os papéis das bandejas são trocados e a vaselina recolocada nas bordas de cada bandeja.

Obtenção do Material Vegetal e Óleos Essenciais de *P. aduncum* e *P. marginatum*. As espécies vegetais selecionadas para investigação foram *P. aduncum* e *P. marginatum*. Elas foram coletadas no Campus da UFRPE (8° 01'08" S 34°56'43" W) com previa autorização da Agência Estadual de Meio Ambiente (CPRH) do estado de Pernambuco e do Instituto Chico Mendes (ICMBio) no campus da UFRPE, e armazenadas sob refrigeração para posteriormente realizar as extrações dos respectivos óleos. Amostras das espécies vegetais coletadas foram enviadas para identificação pela Dra. Maria Rita Cabral Sales de Melo do Departamento de Biologia da UFRPE. Uma exsicata de cada espécie foi depositada no herbário Vasconcelos Sobrinho, da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Os Óleos Essenciais (OEs) foram obtidos das folhas *P. aduncum* e *P. marginatum* submetidas à técnica de hidrodestilação por 2h em aparelho tipo Clevenger modificado, separados da água por diferença de densidade e então secos com sulfato de sódio anidro. Os rendimentos dos OEs foram realizados em triplicatas e calculados com base na massa do material fresco. Cada óleo foi armazenado sob refrigeração (-5°C) em frascos de vidros âmbar vedados antes dos estudos.

Obtenção do Inseticida Registrado. O inseticida para a realização do teste utilizado como controle positivo foi o azamax[®] com ingrediente ativo (i.a.) azadiractina (Azamax[®] 12 g i.a./L

C.E., E.I.D. Parry) adquirido em loja especializada em produtos de agropecuária da cidade do Recife/PE.

Análise e Identificação Química dos Constituintes dos Óleos Essenciais. A análise química por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG/EM) dos OEs foram realizadas de acordo com a metodologia descrita por Adams (2017). Este procedimento foi realizado na Central Analítica do Departamento de Química da UFRPE. Os óleos essenciais foram analisados com auxílio do CG/EM Varian 220-MS It Mass Spectrometer equipado com coluna de capilaridade com sílica fundida (30m x 0,25mm x 0,25µm). Um volume de 1 µL de uma solução de 1mg mL⁻¹ de cada óleo foi injetada no equipamento em split 1:30 com temperatura da coluna programada para 60°C até 240 à 3°C min⁻¹. As temperaturas do injetor e detector foram de 240°C e 260°C, respectivamente e o carreador gasoso foi o hélio, fluxo de 1,0 mL min⁻¹, sendo o espectro 14 de massa obtido à 70 eV. A identificação dos constituintes dos óleos essenciais foi realizada com base na comparação dos índices de retenção calculados, segundo a equação de Van den Dool & Kratz (1963), para cada componente do óleo com os disponíveis na literatura (Adams 2017), seguida pela comparação do fragmentograma de padrões de massas gerados no relatório dos óleos para cada componente com aqueles fragmentogramas de massas disponíveis na biblioteca do computador e os reportados na literatura (Wiley 2014, com 250.000 compostos). Para obtenção dos índices de retenção foi coinjetado uma amostra do óleo essencial com a mistura de hidrocarbonetos lineares C7-C40.

Bioensaio Tópico Sobre Ninfas Migratórias de *Planococcus citri*. Com o objetivo de avaliar a toxicidade dos óleos essenciais de *P. aduncum* e *P. marginatum* em ninfas migratórias, foram realizados ensaios preliminares para definir as concentrações utilizadas no bioensaio obtendo-se assim, as concentrações de 0,31 à 20 µl/mL para o óleo de *P. aduncum*, e para *P. marginatum* as concentrações de 0,78 à 50 µl/mL. No controle positivo as concentrações de Azamax[®] foram 0,31

à 20 µl/mL. As concentrações foram diluídas em 4 mL de água destilada com os solventes etanol (1%) e wilfix (0,1%), o tratamento controle foi feito apenas com os solventes diluídos em água destilada. Em seguida, foram pipetados 0,5 µl de cada concentração em cima de cada ninfa e, posteriormente, transferidas com o auxílio de um pincel de cerda macia para a placa de petri (5,0 cm x 1,0 cm) contendo esponjas úmidas cobertas com papel filtro e disco foliar (5cm) de *Coffea arábica* L. (Rubiaceae). Foram utilizadas 20 ninfas por placa de petri (5,0 cm x 1,0 cm), o bioensaio foi realizado em triplicata e repetido duas vezes em dias diferentes, totalizando 120 ninfas por concentração. A avaliação foi realizada com 24h após a aplicação das concentrações, onde foram contabilizadas a mortalidade de ninfas migratórias.

Bioensaio de Contato Residual Sobre Ninfas Migratórias e Ninfas de Segundo Instar de *Planococcus citri*. Para o bioensaio de contato residual, a partir de ensaios preliminares, foram definidas sete concentrações, sendo elas: 0,31 à 20 µl/mL para ninfas migratórias (N=60) em ambos os óleos; para ninfas de 2ª instar (N=60): 0,07 à 5 µl/mL para o óleo de *P. aduncum*, e em *P. marginatum*: 0,46 à 30 µl/mL. No controle positivo utilizou-se Azamax® nas concentrações de 0,31 à 20 µl/mL em ninfas migratórias. E em ninfas de segundo instar as concentrações de 0,62 à 40 µl/mL. As concentrações para todos os óleos foram diluídas em 10 mL de água destilada com os solventes etanol (1%) e wilfix (0,1%), o tratamento controle foi feito apenas com os solventes diluídos em água destilada. O Bioensaio de contato residual para ninfas foram realizados mergulhando discos foliares (5cm) de *Coffea arábica* em cada concentração e colocados para secar por 30 minutos à temperatura ambiente. Foram utilizadas 20 ninfas por placa de petri (5,0 cm x 1,0 cm), o bioensaio foi realizado em triplicata e repetido duas vezes em dias diferentes, totalizando 120 ninfas por concentração. As avaliações deste teste eram realizadas 24h após a exposição das ninfas migratórias aos discos foliares tratados e 48h em ninfas de segundo instar, onde foram contabilizadas o número de indivíduos mortos.

Bioensaio de Contato Residual com Doses Subletais em Fêmeas Adultas de *Planococcus citri*.

Testes de toxicidade com diferentes concentrações foram realizados com o objetivo de avaliar o efeito letal através das curvas de concentração-resposta dos óleos de *P. aduncum* e *P. marginatum* para fêmeas adultas de *P. citri*. Para avaliar possíveis efeitos de subdosagens dos óleos sobre fêmeas adultas de *P. citri*, foram utilizadas a CL's 30 e 50 estimadas de cada óleo no bioensaio tópico realizado para ninfas migratórias. As CL's utilizadas foram: *P. marginatum* (CL₃₀ = 1,17µl/mL e CL₅₀ = 2,36µl/mL); *P. aduncum* (CL₃₀ = 0,17µl/mL e CL₅₀ = 2,85µl/mL); e Azamax[®] (CL₃₀ = 1,50µl/mL e CL₅₀ = 3,08µl/mL). O controle era realizado com o solvente etanol (1%) e WIL FIX[®] (0,1%), diluídos em água destilada. Devido à dificuldade causada pela camada cerosa das fêmeas os bioensaios foram realizados mergulhando discos foliares de *Coffea arábica* em cada concentração, após ser colocado para secar por 30 minutos à temperatura ambiente, 20 fêmeas adultas foram transferidas para cada placa de petri (5,0 cm x 1,0 cm) contendo um disco foliar (5cm) de *Coffea arábica*. O experimento foi realizado em triplicata e repetido duas vezes, em dias diferentes. A avaliação foi realizada 96h após a transferência das fêmeas, contabilizando o número de indivíduos mortos.

Bioensaio Ovicida. Ovos de *P. citri* foram transferidos para uma placa de Petri (5,0 cm x 1,0 cm), e colocado sobre um papel de filtro (com o mesmo diâmetro da placa) umedecido. Foram distribuídos 20 ovos por placa. Sobre cada ovo foi colocado um volume de 0,5 µl da CL₃₀ e CL₅₀ estimadas nos bioensaios tópicos dos óleos sobre ninfas migratórias, para *P. marginatum*, CL₃₀= 1,17 µl/mL e CL₅₀= 2,36 µl/mL; *P. aduncum*, CL₃₀= 0,17 µl/mL e CL₅₀= 2,85 µl/mL; e Azamax[®]: CL₃₀= 1,50µl/mL e CL₅₀= 3,08µl/mL. O tratamento controle era realizado com o solvente etanol (1%) e WIL FIX[®] (0,1%), diluídos em água destilada. A avaliação foi realizada diariamente por sete dias, contabilizando a emergência de ninfas. Este bioensaio foi realizado em triplicata e repetido duas vezes em dias diferentes.

Repelência em Ninfas Migratórias de *Planococcus citri*. Para determinar a atividade repelente foi realizado o método por meio do teste chance de escolha, onde discos foliares de *Coffea arabica* de 3,5 cm de diâmetro foram imersos durante 10s em 10 ml de soluções contendo as CL₁₀ e CL₃₀ do teste de contato residual por contato em ninfas de segundo instar dos óleos essenciais determinados. Após ser colocado para secar por 30 minutos à temperatura ambiente, um disco tratado foi colocado a uma distância de 2,0 cm de um disco não tratado (controle imerso em água destilada mais os solventes por 10s) em placa de Petri (90 x 15mm) (Fig. 1), nessas placas foram colocadas esponjas umidecidas com água e acima delas papel filtro. Após 1, 3 e 6h de exposição das ninfas migratórias (N= 15), o número de insetos em cada metade da unidade experimental foi registrado, e os dados foram submetidos a porcentagem de repelência (PR) calculada pela seguinte fórmula: $PR = [(NC - NT)/(NC + NT)] \times 100$, onde NC é o número de indivíduos na área controle, NT é o número de indivíduos na área do tratamento.

Análise Estatística. Os dados de mortalidade foram analisados pelo modelo Probit (Finney, 1971) por meio do programa estatístico PoloPlus que estimou os valores de CL₅₀ e CL₉₀, com intervalos de confiança de 95%. Os dados do teste ovicida e mortalidade adulta das concentrações diagnosticadas foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$), quando as médias não atingia igualdade de variância os dados foram submetidos ao teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, por meio do Sistema SAS para Windows versão 9.00 (SAS Institute, 2001). O resultados da repelência foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e o teste de Tukey ($P < 0,05$) para comparação de médias e determinar a significância entre os tratamentos, através do software SAS. Para evitar o desvio da normalidade, os dados percentuais foram transformados para a raiz quadrada do arco seno antes da análise.

Resultados

Análise e Identificação Química dos Constituintes dos Óleos Essenciais: Os compostos químicos majoritários encontrados nos óleos essenciais de *P. aduncum* e *P. marginatum* estão demonstrados na Tabela 1. *P. aduncum* apresentou como componente majoritário o fenilpropanoide Dilapiol com concentração de 73,65%, seguido pelo sesquiterpeno γ -muurolene com 6,07% e o monoterpeneo α -ocimeno com 5%. Enquanto que o óleo de *P. marginatum* apresentou como componentes majoritários os fenilpropanoide Z-asarona na concentração de 24,49%, seguido por E- asarona com 14,55%, exalatacina com 12,26% e o Biciclogermacreno com 9,57%.

Bioensaio Tópico Sobre Ninfas Migratórias de *Planococcus citri*. Os óleos essenciais de *Piper* testados se mostraram tóxicos a *P. citri* (Tabela 2). O óleo de *P. aduncum* apresentou CL₅₀ de 2,85 μ l/mL e CL₉₀ de 67,70 μ l/mL. O óleo de *P. marginatum* apresentou CL₅₀ de 2,36 μ l/mL e CL₉₀ de 53,22 μ l/mL. O inseticida Azamax[®] apresentou CL₅₀ de 3,08 μ l/mL e CL₉₀ de 25,82 μ l/mL, mostrando que não houve diferença estatística entre os óleos testados e o produto registrado.

Bioensaio de Contato Residual Sobre Ninfas Migratórias e Ninfas de Segundo Instar de *Planococcus citri*. Os óleos de *Piper* apresentaram toxicidade de contato residual sobre ninfas migratórias e de segundo instar (Tabelas 3 e 4). Sobre migratórias para o óleo de *P. aduncum* apresentou CL₅₀ de 1,83 μ l/mL e CL₉₀ de 22,71 μ l/mL, já *P. marginatum* apresentou CL₅₀ de 2,28 μ l/mL e CL₉₀ de foi 22,80 μ l/mL, mostrando que não houve diferença estatística entre os óleos testados e o produto registrado. Em ninfas do segundo instar para o óleo de *P. aduncum* apresentou CL₅₀ de 1,50 μ l/mL e CL₉₀ de 17,35 μ l/mL, e *P. marginatum* a CL₅₀ foi de 3,81 μ l/mL e a CL₉₀ de 68,40 μ l/mL, mostrando que houve diferença estatística entre o óleo de *Piper aduncum* e o produto registrado. O Azamax[®] em ninfas migratórias apresentou CL₅₀ de 1,48 μ l/mL e CL₉₀ de 19,0 μ l/mL.

Enquanto que em ninfas de 2ª instar as concentrações letais obtidas foram CL_{50} 7,47 μ l/mL e CL_{90} 18,90 μ l/mL.

Bioensaio de Contato Residual com Doses Subletais em Fêmeas Adultas de *Planococcus citri*.

Não foi possível obter as curvas de concentração-resposta para as fêmeas de *P. citri*, no bioensaio de toxicidade por contato, pois não foi observada mortalidade na máxima concentração administrada no ensaio preliminar (100 μ l/mL), além de ser observada fitotoxicidade nas folhas de *Coffea arábica* tratadas com os óleos de *Piper* spp. nessa concentração. A CL_{50} e CL_{30} dos óleos de *P. aduncum* e *P. marginatum* estimadas para ninfas migratórias no bioensaio tópico causaram mortalidade das fêmeas adultas de *P. citri*. A CL_{30} de *P. aduncum* e *P. marginatum* alcançou uma mortalidade percentual de 23 e 25%, respectivamente; enquanto que para CL_{50} foi de 35 e 36%, nessa ordem (Fig. 2). Houve diferença entre a mortalidade da CL_{50} e o controle para o óleo de *P. marginatum* ($F_{2,24} = 3,80$; $P=0,037$); não houve diferença significativa entre as médias de mortalidade entre as CL 's e o controle do óleo de *P. aduncum* ($F_{2,24} = 2,77$; $P= 0,083$); e houve diferença estatística significativa entre a mortalidade da CL_{50} e do controle para Azamax® ($P=0,002$). A diferença estatística também não ocorreu quando comparadas as CL 's₃₀ ($F_{2,21}=0,38$; $P= 0,6883$) e as CL 's₅₀ ($F_{2,21}=2,69$; $P= 0,0909$) entre os óleos e Azamax (Tabela 5).

Bioensaio Ovicida. As CL 's₅₀ dos óleos de *P. aduncum* e *P. marginatum* estimadas no bioensaio tópico para ninfas migratórias causaram inviabilidade dos ovos de *P. citri*. Assim 13,33% dos ovos testados com *P. aduncum* e 20,56% dos ovos testados com *P. marginatum* não foram viáveis. Enquanto que as CL 's₃₀ promoveram inviabilidade dos ovos de 13,33 e 11%, para óleos de *P. aduncum* e *P. marginatum*; respectivamente (Fig. 5). Não houve diferença significativa entre as médias de ovos não viáveis entre as CL 's e o controle do óleo de *P. marginatum* ($F_{2,6} = 1,13$; $P=0,3827$), e para o óleo de *P. aduncum* ($F_{2,6} = 0,90$; $P= 0,4539$); apenas o Azamax® houve diferença estatística significativa entre a média de ovos não viáveis da CL_{50} e do controle

($F_{2,6}=11,41$; $P= 0,0090$). A diferença estatística também não ocorreu quando comparadas as CL's₃₀ ($F_{2,6}=0,10$; $P= 0,9083$) e as CL's₅₀ ($F_{2,6}=1,04$; $P= 0,4103$) entre os óleos e Azamax (Tabela 6).

Repelência em Ninfas Migratórias de *Planococcus citri*. Com base no teste t, não houve diferença estatística entre o percentual de repelência das CLs₃₀ de *P. marginatum* e *P. aduncum* nos tempos de 1h ($t_{16,6} = -0,72$; $P = 0,47$), 3h ($t_{18} = -0,18$; $P=0,85$) e 6h ($t_{12,8} = 0,27$; $P = 0,79$) (Tabela 7). No entanto, houve diferença estatística entre as CLs₁₀ dos óleos testados, sendo o mais repelente *P. aduncum*.

Discussão

A análise e identificação química dos constituintes dos óleos essenciais mostraram que o óleo essencial de *P. aduncum* tem como componentes majoritários o Dilapiol e o γ -muurolene. O Dilapiol é um metabólito secundário, pertencente ao grupo dos fenilpropanoides (Rali *et al.* 2007), pesquisas têm mostrado sua eficácia no controle de pragas agrícolas como em *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) (Volpe *et al.* 2016) *Thlastocoris laetus* Mayr (Hemiptera: Coreidae) (Fazolin *et al.* 2006) e *Strymon megarus* (Godart) (Lepidoptera: Lycaenidae) (Fazolin *et al.* 2011), através de atividades larvicida e inseticida (Fazolin *et al.* 2006). Este constituinte, pode ser encontrado em plantas de diversas regiões do Brasil, como no Amazonas (Almeida *et al.* 2009), Amapá, Pará e Acre (Maia *et al.* 1998), assim como em outras regiões da América do Sul e Central (Guerrini *et al.* 2009).

Compostos como, β -ocimeno, α -ocimeno, Terpinen-4-ol, β -cariofileno e α -cariofileno apresentam atividade inseticida conhecidas (Gunasena *t al.* 1988, Li *et al.* 2015, Kang *et al.* 2018 Liu *et al.* 2010), com isso, podemos explicar os resultados de toxicidade apresentados por *P. aduncum*. Mesmo em menores proporções, eles apresentam maior capacidade de penetração na cutícula (Stock & Holloway, 1993). Nos testes residuais, a locomoção das ninfas migratórias sobre

a superfície tratada aumenta sua exposição às substâncias presentes no substrato via contato pelas extremidades das pernas e pelo esternito.

Os componentes β -cariofileno, α -cariofileno, α -pineno e o Limoneno foram encontrados em nossa análise. Esses componentes apresentam atividade na inibição da Acetilcolinesterase (Jankowska 2018). A Acetilcolinesterase é responsável por hidrolisar o neurotransmissor acetilcolina, dessa forma, melhora a transmissão colinérgica (Fazolin *et al.* 2017). Já os Terpenóides possuem atividades como inibição ou retardação do crescimento, efeitos na maturação, redução da capacidade reprodutiva, supressão do apetite, levando-os a morte por inanição ou toxicidade direta (Godfrey 1994, Vieira & Fernandes 1999).

Um estudo realizado em *Cerotoma tingomarianus* Bechyné (Coleoptera: Chrysomelidae) avaliou a toxicidade desse óleo através do teste de contato e tópico resultados desse estudo mostrou que o teste de contato causou mortalidade em quase 100% dos insetos nas concentrações de 1% e no tópico 5% a 30%, porém houve diminuição gradativa no consumo foliar diário (Fazolin *et al.* 2005).

As fêmeas adultas apresentaram mortalidade consideravelmente baixa entre as CL's aplicadas dos óleos testados e com Azamax[®]. A ausência de toxicidade na aplicação tópica dos OE diretamente sobre as fêmeas deve-se provavelmente à proteção dada pela camada cerosa ao redor do seu corpo, fato este que é sabidamente conhecido por dificultar o controle químico de cochonilhas através da aplicação de inseticidas por pulverização (Afzal *et al.* 2015, Holtz *et al.* 2019). Porém, os bioensaios residuais mostraram que os óleos de *P. aduncum* e *P. marginatum* exercem algum efeito sobre as fêmeas. Observou-se uma dissolução moderada da camada cerosa após o contato inicial com o óleo (Fig.3) e na superfície ventral das fêmeas apresentaram mudanças significativas na sua coloração (Fig.4).

Através dos resultados observados no teste ovicida foi possível observar que os óleos apresentaram baixa toxicidade, não afetando o desenvolvimento do embrião havendo emergência de ninfas em grande parte dos ovos tratados. De acordo com Smith & Salked (1966) essa característica do ovo pode ser justificada através das diferenças nas estruturas, como a permeabilidade do córion e o número de camadas existentes na membrana vitelínica. Apenas o Azamax[®] mostrou efeito ovicida inviabilizando aproximadamente 45% dos ovos diferentemente dos óleos. Azamax[®] é um produto reconhecidamente ovicida em lepidópteros (Zhong *et al.* 2017).

Os óleos testados se mostraram repelentes nas CL's aplicadas contudo, é possível notar a diferença entre o percentual de repelência do óleo de *P. aduncum* entre as CL's, onde a CL₁₀ apresenta um potencial de repelência bem maior que a CL₁₀ de *P. marginantum*.

Com isso, o presente artigo demonstrou que no quesito toxicidade o OE de *P. aduncum* obteve melhor CL₅₀ para o teste residual de contato em ninfas de segundo instar, fase que é considerada de grande deslocamento de *P. citri*. *P. aduncum* também apresentou melhor atividade de repelência para cochonilha com a CL₁₀ do teste de contato residual em ninfas de segundo instar. Ambos os óleos promoveram efeito subletal em *P. citri* promovendo a redução da camada cerosa de fêmeas adultas, podendo atuar como aplicação prévia para um outro inseticida de efeito para esta praga. Porém se faz necessários mais pesquisas com os compostos majoritários dos óleos em fêmeas adultas e em ovos afim de avaliar com mais peculiaridade seus efeitos.

Agradecimentos

O presente estudo foi realizado com o apoio da Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco – Nº do Processo: IBPG-0571-5.01/20 e ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia (PPGE).

Literatura Citada

- Adams RP. 2017.** Identification of essential oil components by gas chromatography-mass spectrometry, 4.1th ed., Allured Publishing Corporation, Carol Stream, Illinois, USA. 456: 544-545.
- Afzal, M. B., S.A. Shad, N. Abbas, M. Ayyaz & W.B. Walker. 2015.** Cross-resistance, the stability of acetamiprid resistance and its effect on the biological parameters of cotton mealybug, *Phenacoccus solenopsis* (Homoptera: Pseudococcidae), in Pakistan. *Pest Manag. Sci.* 71: 151–158.
- Almeida R.R.P., R.N.P. Souto, C.N. Bastos, M.H.L. Silva & J.G.S. Maia. 2009.** Chemical variation in *Piper aduncum* and biological properties of Its dillapiole-rich essential oil. *Chem. Biodivers* 6: 1427–1434.
- Autran, E. S., Neves, I. A., Da Silva, C. S. B., Santos, G. K. N., Da Câmara, C. A. G., & Navarro, D. M. A. F. 2009.** Chemical composition, oviposition deterrent and larvicidal activities against *Aedes aegypti* of essential oils from *Piper marginatum* Jacq.(Piperaceae). *Bioresour. Technol.* 100: 2284-2288.
- Araújo, M. J., C.A. Câmara, F.S. Born, M.M. Moraes & C.A. Badji. 2012.** Acaricidal activity and repellency of essential oil from *Piper aduncum* and its components against *Tetranychus urticae*. *Exp. Appl. Acarol.* 57: 139-155.
- Cid, M., S. Pereira, C. Cabaleiro & A. Segura. 2010.** Citrus mealybug (Hemiptera: Pseudococcidae) movement and population dynamics in an arbor-trained vineyard. *J. Econ. Entomol.* 103: 619-630.
- Cid, M., & A. Fereres. 2010.** Characterization of the probing and feeding behavior of *Planococcus citri* (Hemiptera: Pseudococcidae) on grapevine. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 103: 404-417.
- Dev, S. 1989.** Terpenoids. In: Rowe J.W. (eds) *Natural products of woody plants*. Springer-Verlag, Berlin. 691–807.
- Estrela, J.L.V., M. Fazolin, V. Catani, M.R. Alecio & M.S. Lima. 2006.** Toxicidade de óleos essenciais de *Piper aduncum* e *Piper hispidinervum* em *Sitophilus zeamais*. *Pesqui. Agropecu. Bras.* 41: 217-222.
- Fazolin, M., J.L.V. Estrela, V. Catani, M.R. Alecio, & M.S. Lima. 2007.** Propriedade inseticida dos oleos essenciais de *Piper hispidinervum* C. DC.; *Piper aduncum* L. e *Tanaecium nocturnum* (Bbarb. Rodr.) Bur. & K. Shum sobre *Tenebrio molitor* L., 1758. *Cienc. e Agrotecnologia.* 31:113-120.

- Fazolin, M., J.L. Estrela, V. Catani, M.S.D. Lima & M.R. Alécio. 2005.** Toxicidade do óleo de *Piper aduncum* L. a adultos de *Cerotoma tingomarianus* Bechyné (Coleoptera: Chrysomelidae). Neotrop. Entomol. 34: 485-489.
- Fazolin, M., J.L.V. Estrela, V. Catani & C.R. da Costa. 2006.** Potencialidades da pimenta-de-macaco (*Piper aduncum* L.): características gerais e resultados de pesquisa. Embrapa Acre-Documentos, 50p. (INFOTECA-E).
- Fazolin, M., C.R. da Costa & J.L.V. Estrela. 2011.** Proteção dos frutos do abacaxi ao ataque de *Strymon megarus* (Godt., 1824) utilizando óleo essencial rico em dilapiol. In Embrapa Acre-Resumo em anais de congresso (ALICE). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE DEFENSIVOS AGRÍCOLAS NATURAIS, 5., 2011, Jaguariúna.[Anais...]. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2011. 1 CD-ROM.
- Fazolin, M., J.L.V. Estrela, A.F.M. Monteiro, I. M. da Silva & L.P. Gomes. 2017.** Sinérgico alternativo para inseticidas inibidores de acetilcolinesterase. Embrapa Acre-Artigo em periódico indexado (ALICE). Revista agr@mbiente On-line.11: 232-240.
- Fiaz, M., L.C. Martínez, M. da Silva Costa, J.F.S. Cossolin, A. Plata-Rueda, W.G. Gonçalves & J.E. Serrão. 2018.** Squamocin induce histological and ultrastructural changes in the midgut cells of *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Noctuidae). Ecotoxicol. Environ. saf. 156: 1-8.
- Finney, D.J. 1971.** Probit Analysis, 3rd ed. Cambridge University Press, 333.
- Godfrey, C. R. A. 1994.** Agrochemical from Natural Products, Marcel Dekker Inc., New York. 311-340.
- Gunasena, G.H., S.B. Vinson, H.J. Williams & R.D. Stipanovic. 1988.** Effects of caryophyllene, caryophyllene oxide, and their interaction with gossypol on the growth and development of *Heliothis virescens* (F.)(Lepidoptera: Noctuidae). J. Econ. Entomol. 81:93-97.
- Guerrini A., G. Sacchetti, D. Rossi, G. Paganetto, M. Muzzoli, E. Andreotti, M. Tognolini, M.E. Maldonado & R. Bruni. 2009.** Bioactivities of *Piper aduncum* L. and *Piper obliquum* Ruiz & Pavon (Piperaceae) essential oils from Eastern Ecuador. Environ. Toxicol. Pharmacol. 27:39-48
- Gullan P.J.E & P.S. Cranston. 2012.** Os Insetos um resumo de entomologia. 4ª Edição, São Paulo: Roca. 5:109-111.

- Holtz, A.M., J.R. de Carvalho, M. da Silva Gomes, V.B. Neto, A.B.M. Piffer & R.L. Aguiar. 2019.** Toxicity Aqueous Extract of Castor Bean (*Ricinus communis*) to *Maconellicoccus hirsutus* (Green)(Hemiptera: Pseudococcidae). *J. Exp. Agric. Int.* 38: 1-6.
- Isman, M. B. 2014.** Botanical insecticides: a global perspective. In *Biopesticides: State of the art and future Opportunities*. American Chemical Society. 21-30
- Isman M.B. & M.L. Grieneisen. 2014:** Botanical insecticide research: many publications, limited useful data. *Trends in Plant Science.* 19: 140–145.
- Jankowska, M., J. Rogalska, J. Wyszowska & M. Stankiewicz. 2018.** Molecular targets for components of essential oils in the insect nervous system—a review. *Molecules.* 23:34.
- Kang, Z. W., F.H. Liu, Z.F. Zhang, H.G. Tian & T.X. Liu. 2018.** Volatile β -ocimene can regulate developmental performance of peach aphid *Myzus persicae* through activation of defense responses in Chinese cabbage *Brassica pekinensis*. *Front. Plant. Sci.* 9:708.
- Koul, O., S. Walia & G.S. Dhaliwal. 2008.** Essential oils as green pesticides: potential and constraints. *Biopestic. int.* 4: 63-84.
- Li, L., X. Xiong, S. Ma, Z. Ma & X. Zhang. 2015.** Comparison of the insecticidal activities of terpinen-4-ol optical isomers and racemate against the housefly, *Musca domestica*. *Acta Entomologica Sinica.* 58: 761-766.
- Liu, Y.Q., M. Xue, Q.C. Zhang, F.Y. Zhou & J.Q. Wei. 2010.** Toxicidade de β -caryophyllene de *Vitex negundo* (Lamiales: Verbenaceae) a *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae) e seu mecanismo de ação. *Acta Entomologica Sinica.* 53: 396-404.
- Maia J.G.S, M.G.B. Zohhbi, E.H.A. Andrade, A.S. Santos, M.H.L. Silva, A.I.R. Luz & C.N. Bastos. 1998.** Constituents of the essential oil of *Piper aduncum* L. growing wild in the Amazon region. *Flav. Fragr. J.* 13:269–272.
- Misni, N., H. Othman & S. Sulaiman. 2011.** The effect of *Piper aduncum* Linn.(Family: Piperaceae) essential oil as aerosol spray against *Aedes aegypti* (L.) and *Aedes albopictus* Skuse. *Trop. Biomed.* 28: 249-258.
- Oliveira, A.M.A.D. L.A.M. Assis, J.L. Silva, F.F. Andrioli & Oliveira. 2016.** Chemical profile and antimicrobial activity of essential oil of *Piper ilheusense*, *Chem. Nat. Compd.* 52: 331-333.
- Pavela R. 2015:** Essential oils for the development of eco-friendly mosquito larvicides: a review. *Ind. Crops Prod.* 76: 174–187.

- Pavela, R., & G. Benelli. 2016.** Essential oils as ecofriendly biopesticides? Challenges and constraints. *Trends plant Sci.* 21:1000-1007.
- Picanço, M.C., A.H.R. Gonring & I.D. Oliveira. 2010.** Manejo integrado de pragas. Viçosa, MG: UFV.
- Rali, T., S.W. Wossa, D.N. Leach, P.G. Waterman. 2007.** Volatile chemical constituents of *Piper aduncum* L and *Piper gibbilimum* C. DC (Piperaceae) from Papua New Guinea. *Molecules.* 12: 389-94.
- Ribeiro, N., C. Camara & C. Ramos. 2016.** Toxicity of essential oils of *Piper marginatum* Jacq. against *Tetranychus urticae* Koch and *Neoseiulus californicus* (McGregor). *Chil. J. agric. res.*76: 71-76.
- Santana, F.T.T. Trindade, R.G. Stabeli, A.A.E. Silva, J.S.L.T. Militão & V.A. Facundo. 2015.** Essential oils of leaves of *Piper* species display larvicidal activity against the dengue vector, *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae), *Rev. Bras. Pl. Med.* 17, 105-111.
- Sanches, N.F. & R.D.S. Carvalho. 2010.** Procedimentos para manejo da criação e multiplicação do predador exótico *Cryptolaemus montrouzieri*. Embrapa Mandioca e Fruticultura, 5p. (Circular Técnica 99).
- SAS Institute. 2002.** SAS user's guide: statistics, ver. 9.0, 7th edn. SAS Institute, Cary.
- Smith, E.H. & E.H. Salkeld. 1966.** The use and action of ovicides. *Ann. Rev. Entomol.* 11:331-368.
- Stock, D., & P.J. Holloway. 1993.** Possible mechanisms for surfactant-induced foliar uptake of agrochemicals. *Pestic. Sci.* 38:165-177.
- Silva, D.M.M.H. & C.N. Bastos. 2007.** Atividade antifúngica de óleos essenciais de espécies de *Piper* sobre *Crinipellis pernicioso*, *Phytophthora palmivora* e *Phytophthora capsici*. *Fitopatol. Bras.* 32: 143-145.
- Takeara, R., R. Gonçalves, V.F.S. Ayres & A.C. Guimarães. 2017.** Biological properties of essential oils from the *Piper* species of Brazil: a review. In: El-Shemy HA. *Aromatic and Medicinal Plants - Back to Nature.* 4: 81-93.
- Van Den Doll, H. & P.D.J.A. Kratz. 1963.** Generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *J. Chromatogr.* 11: 463-471.

Vieira, P. C. & J.B. Fernandes. 1999. Em Farmacognosia: da Planta ao Medicamento; Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Gosmann, G.; de Mello, J. C. P.; Mentz, L. A.; Petrovick, P. R., eds.; 1a . ed., Ed. UFSC e UFRGS, Florianópolis/Porto Alegre.

Volpe, H. X., M. Fazolin, R.B.Garcia, R.F. Magnani, J.C. Barbosa & M.P. Miranda. 2016. Efficacy of essential oil of *Piper aduncum* against nymphs and adults of *Diaphorina citri*. Pest Manag. Sci. 72: 1242-1249.

Whalon, M. E., D. Mota-Sanchez, & R.M. Hollingworth. 2008. Global pesticide resistance in arthropods. Cambridge, CABI editora, 169p.

Zhong, B., C. Lu & W. Qin. 2017. Effectiveness of the botanical insecticide azadirachtin against *Tirathaba rufivena* (Lepidoptera: Pyralidae). Fla. Entomol. 100: 215-218.

Tabela 1. Componentes identificados nos óleos essenciais de *Piper aduncum* e *Piper marginatum*.

<i>P. aduncum</i>				<i>P. marginatum</i>			
Compostos	RI ^a	RI ^b	(%)	Compostos	RI ^a	RI ^b	(%)
β -Ocimeno	1027	1032	2,27	Santolina trieno	837	906	0,48
α -Ocimeno	1037	1044	5,00	Triciclono	837	921	0,45
Terpinen-4-ol	1172	1174	0,67	α -Pinenno	925	932	1,23
Piperitona	1244	1249	1,44	Limoneno	1026	1024	0,44
α -Copaeno	1362	1374	0,60	Z- β -Ocimeno	1030	1032	0,72
β -Cariofileno	1404	1417	2,76	E- β -Ocimeno	1041	1044	1,18
α -Cariofileno	1440	1452	0,94	δ -Elemeno	1325	1335	2,65
γ -Muurolene	1466	1478	6,07	α -Ilangene	1369	1373	2,21
n-Pentadecano	1489	1500	2,67	β -Bourboneno	1376	1387	0,25
δ -Amorfeno	1502	1511	1,15	β -Elemeno	1383	1389	1,32
Miristicina	1505	1517	0,86	α -Cariofileno	1414	1408	0,20
Dilapiol	1604	1620	73,65	β -Cariofileno	1415	1417	6,10
Total			98,08	4(12)-Miltaileno	1437	1445	0,33
				α -Humuleno	1447	1452	0,96
				Crocina	1452	1457	0,49
				Ishwarano	1463	1465	2,53
				Cumacreno	1467	1470	1,34
				Biciclogermacreno	1490	1500	9,57
				δ -Cadieno	1510	1522	0,36
				Elemol	1541	1548	1,00
				Elemicina	1544	1555	0,28
				γ -Asarona	1556	1561	6,92
				Guaiol	1591	1600	2,76
				Z-Asarona	1618	1616	24,49
				Exalatacina	1649	1655	12,26
				Valerianol	1662	1656	0,46
				E-asarona	1673	1675	14,55
				Fenilpropanoide I	1663	-	2,08
				Total			97,61

RI^a = índice de retenção calculado a partir co-injeção de série homóloga de n-alcanos C₀₇-C₄₀,
 RI^b = índice de retenção obtido na literatura.

Tabela 2. Bioensaio Tópico Sobre Ninfas Migratórias de *Planococcus citri*

Tratamentos	N	CL ₅₀ (μl/mL) (95% IC)	CL ₉₀ (μl/mL) (95% IC)	Inclinação ± E.P	X ²	GL
<i>P. aduncum</i>	669	2,85 (0,64 - 6,9)	67,70 (22,56 - 1094,20)	0,93 ± 0,15	7,76	5
<i>P. marginatum</i>	613	2,36 (1,35 - 3,47)	53,22 (33,06 - 109,99)	0,95 ± 0,12	0,70	4
Azamax®	563	3,08 (0,51 - 6,22)	25,82 (12,02 - 285,09)	1,39 ± 0,20	14,86	5

Tabela 3. Bioensaio de Contato Residual Sobre Ninfas Migratórias de *P.citri*

Tratamentos	N	CL ₅₀ (μl/mL) (95% IC)	CL ₉₀ (μl/mL) (95% IC)	Inclinação ± E.P	X ²	GL
<i>P. aduncum</i>	626	1,83 (0,55 - 3,75)	22,71 (9,78 - 161,9)	1,173 ± 0,129	15,19	5
<i>P. marginatum</i>	600	2,28 (1,48 - 3,21)	22,80 (15,22 - 40,30)	1,282 ± 0,150	4,38	5
Azamax®	564	1,48 (0,66 - 2,52)	19,0 (10,1 - 56,4)	1,154 ± 0,130	7,35	5

Tabela 4. Bioensaio de Contato Residual Sobre de segundo instar de *P. citri*

Tratamentos	N	CL ₅₀ (µl/mL)	CL ₉₀ (µl/mL)	Inclinação ± E.P	X ²	GL
		(95% IC)	(95% IC)			
<i>P. aduncum</i>	741	1,50 (0,90 – 2,33)	17,35 (8,72 – 63,60)	1,205 ± 0,150	5,95	5
<i>P. marginatum</i>	998	3,81 (1,57 – 7,10)	68,40 (29,95 – 361,82)	1,022 ± 0,099	13,11	5
Azamax®	761	7,47 (4,33 -1 0,00)	18,90 (14,04 – 33,67)	3,180 ± 0,392	11,11	5

Tabela 5. Número médio de mortalidade de fêmeas adultas de *P. citri* submetidas a CL₃₀ e CL₅₀ (µl/mL) dos óleos essenciais de *Piper* spp.obtidas das curva de concentração-resposta do bioensaio tópcico na fase de ninfas migratórias

Tratamentos	Média de mortalidade ± erro padrão		
	<i>Piper aduncum</i>	<i>Piper marginatum</i>	Azamax®
Controle	2,11 ± 0,98 aA	2,11 ± 0,97 aA	1,00 ± 0,34 aA
CL ₃₀	5,44 ± 1,35aA	5,00 ± 1,38 abA	6,88 ± 1,25 baA
CL ₅₀	6,44 ± 1,66aA	7,22 ± 1,51bA	12,33 ± 1,86bA

Valores seguidos pelas mesmas letras minúsculas na coluna, e letras maiúsculas na linha não são significativamente diferentes (p< 0,05).

Tabela 6. Número médio de ovos não viáveis de *P. citri* submetidos a CL₃₀ e CL₅₀ (µl/mL) dos óleos de *Piper* spp. obtidas das curva de concentração-resposta da fase de ninfas migratórias no bioensaio tópico

Tratamentos	Média de ovos não viáveis ± erro padrão		
	<i>Piper aduncum</i>	<i>Piper marginatum</i>	Azamax®
Controle	3,00 ± 0,94aA	3,00 ± 0,94 aA	1,33 ± 0,70 bA
CL ₃₀	8,00 ± 0,31aA	7,00 ± 3,21aA	8,33 ± 1,11 abA
CL ₅₀	8,00 ± 2,70aA	12,33 ± 6,69aA	18,66 ± 2,05 aA

Valores seguidos pelas mesmas letras minúsculas na coluna, e letras maiúsculas na linha não são significativamente diferentes (p < 0,05).

Tabela 7. Atividade repelente das CL₁₀ e CL₃₀ dos óleos de *Piper* spp. obtidos do bioensaio de contato residual sobre ninfas migratórias de *P. citri*

Concentração (µl/mL)	Tempo	Repelência (%) ± erro padrão	
		<i>Piper aduncum</i>	<i>Piper marginatum</i>
CL ₁₀	1h	78,04 ± 7,47Aa	41,55 ± 10,87 Bab
	3h	77,13 ± 8,48 Aa	34,28 ± 11,17 Bb
	6h	72,56 ± 7,29 Aa	43,22 ± 12,06 Bab
CL ₃₀	1h	82,94 ± 3,09 Aa	85,84 ± 3,46 Aa
	3h	62,07 ± 8,00 Aa	70,76 ± 6,81 Aab
	6h	67,40 ± 4,59 Aa	62,13 ± 9,62 Aab

Valores seguidos pelas mesmas letras minúsculas em uma coluna não são significativamente diferentes (p < 0,05) pelo teste de Tukey, e mesmas letras maiúsculas dentro de uma linha, não são significativamente diferentes (p < 0,05) pelo teste t-student.

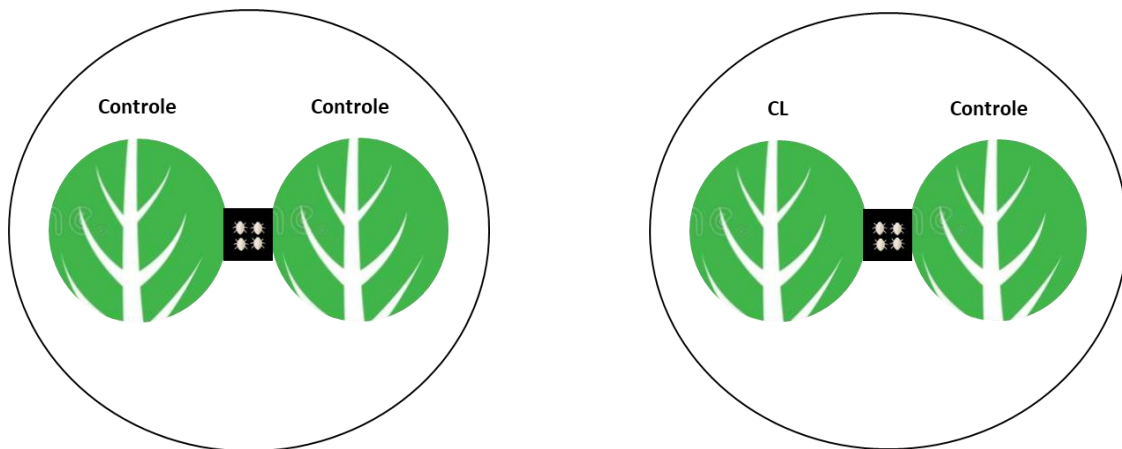


Figura 1. Modelo de método utilizado para o teste de repelência em ninfas migratórias de *P. citri*

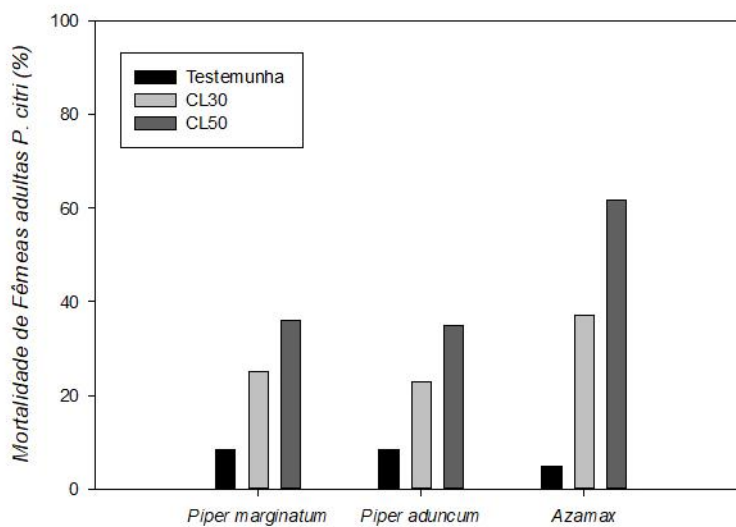


Figura 2. Percentual de mortalidade de fêmeas adultas de *P. citri* para o bioensaio de contato com doses subletais para ninfas migratórias.



Figura 3. Quebra da camada cerosa de fêmeas adultas de *P. citri* após contato com o óleo essencial no bioensaio de contato com doses subletais.



Figura 4. Alteração na coloração ventral da Fêmea adulta de *P. citri*. A) Fêmea adulta sem contato com óleo essencial. B) Fêmea adulta após contato com óleo essencial. No bioensaio de contato com doses subletais.

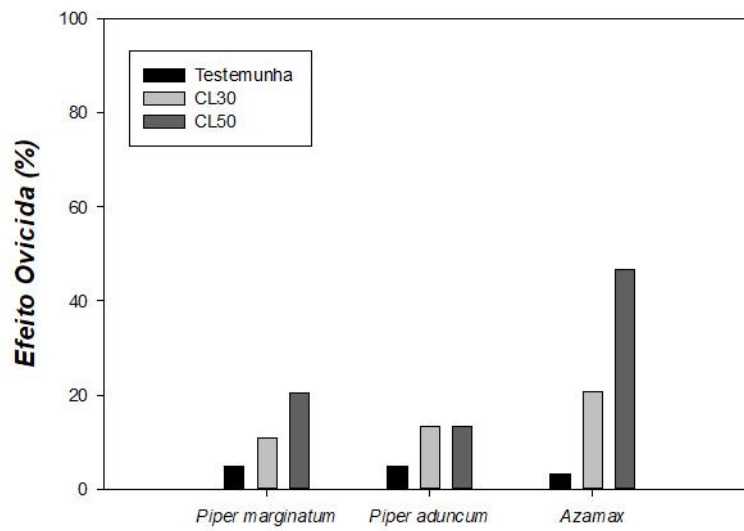


Figura 5. Percentual Ovicida dos óleos essenciais de *Piper* spp. em *P. citri*