



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
DEPARTAMENTO DE MORFOLOGIA E FISIOLOGIA ANIMAL  
CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ERASMO GUILHERME DOS SANTOS NETO

**FOLHAS DE *Syzygium malaccense* Linnaeus (MYRTACEAE):  
CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E EFEITOS SOBRE *Plutella xylostella*  
Linnaeus (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE)**

**Recife, 2019**

ERASMO GUILHERME DOS SANTOS NETO

**FOLHAS DE *Syzygium malaccense* Linnaeus (MYRTACEAE):  
CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E EFEITOS SOBRE *Plutella xylostella*  
Linnaeus (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado para o cumprimento parcial das exigências para obtenção do título de Bacharelado em Ciências Biológicas pela Universidade Federal Rural de Pernambuco.

Orientador: Prof. Dr. Emmanuel V. Pontual

Coorientadora: Msc. Isabella C. Vila Nova

Recife, 2019

ERASMO GUILHERME DOS SANTOS NETO

**FOLHAS DE *Syzygium malaccense* Linnaeus (MYRTACEAE):  
CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E EFEITOS SOBRE *Plutella xylostella*  
Linnaeus (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE)**

Área de concentração: Ciências Biológicas

Data de defesa: 28/06/2019

Resultado: \_\_\_\_\_

BANCA EXAMINADORA:

---

Prof. Dr. Emmanuel Viana Pontual (Presidente)

Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, UFRPE

---

Prof. Dr. Ardilles Juan Carlos Alves dos Santos (1° Titular)

Departamento de Nutrição, Universidade Federal do Piauí (UFPI)

---

Msc. Eva Luana Almeida da Silva (2° Titular)

Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, UFRPE

---

Msc. Welton Aaron de Almeida (3° Titular)

Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, UFRPE

---

Msc. Hanna Gracie Inez de Freitas Lima (Suplente)

Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, UFRPE

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)

---

- E55f Santos Neto, Erasmo Guilherme dos Santos Neto  
FOLHAS DE *Syzygium malaccense* Linnaeus (MYRTACEAE): CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E EFEITOS  
SOBRE *Plutella xylostella* Linnaeus (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) / Erasmo Guilherme dos Santos Neto Santos  
Neto . - 2019.  
50 f. : il.
- Orientador: Emmanuel Viana Pontual.  
Coorientadora: Isabella Coimbra Vila Nova.  
Inclui referências e apêndice(s).
- Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, , Recife, 2020.
1. Jambreiro. 2. lectinas. 3. inibidores de tripsina. 4. metabólitos secundários. 5. atividade lagarticida. I. , Emmanuel  
Viana, orient. II. Nova, Isabella Coimbra Vila, coorient. III. Título

CDD

---

## **DEDICATÓRIA**

Dedico esta monografia aos meus pais e família, sem o amor, carinho e paciência deles não teria conseguido chegar até aqui.

## AGRADECIMENTOS

A Deus primeiramente, por Ele ter me conduzido até aqui, pois foi uma luta enorme entre medos e incertezas, sorrisos e lágrimas, por Ele ter me dado paciência, sabedoria e humildade.

Aos meus pais, que mesmo distantes incentivaram sempre minha educação e me fizeram o que sou hoje.

A minha irmã, que sempre me deu apoio em tudo o que eu faço, me dando conselhos, onde a cada dia a gente se fortaleceu juntos, mesmo com todas as dificuldades.

Aos meus primos-irmãos, Manu, Bel, Lu, Rafa, Flávia, Dário, Gabi, Germando, Dada, Lucas e Léo, só tenho a agradecer pela infância maravilhosa regada de trelas, risadas e praias com Tia Márcia.

Aos meus avós maternos Maria de Lourdes e Floriano Paulo (*In memoriam*) e paternos Maria Campelo e Erasmo Santos, vocês são os meus amores, obrigado pela família linda que vocês formaram.

Aos meus tios e tias, sem o apoio de vocês não teria conseguido chegar até aqui, o meu obrigado a cada um.

Aos meus amigos do Colégio Adventista, Pedro, Landerson e Thamires, obrigado pela amizade sincera de vocês e que possamos nos reunir mais vezes, amo cada um.

As amigas do Ginásio Pernambucano, Débora, Jan Jan, Day, Rosa, Rayssa, Mayara, Maristella e Stela. Só tenho a agradecer a Deus por vocês estarem em minha vida, sei que cada uma seguiu caminhos diferentes, mas a amizade da gente vai durar por anos.

Aos meus químicos preferidos que a Rural me deu, Eliada, Faby, Rodrigo, Naida e Manu, obrigado por vocês existirem em minha vida. Agradeço a Deus por Ele ter colocado vocês no meu caminho. Os sofrimentos que nós tivemos, a cada prova e seminário, só fortaleceram mais nossas amizades, mas também houve momentos incríveis ao lado de vocês, em que até o Casa Amarela (Cabugá) tem histórias nossas, amo vocês!

Aos meus Ruralinhos mais lindos e futuros biólogos, Mari, Camila, Ana, Gio, Carol, Gleice, Luis e Lívia. Obrigado por fazer parte desses anos que passei pela UFRPE, vocês

fizeram um grande diferencial, os sorrisos, lágrimas, aflições, as calouradas e conselhos tudo isso vou levar comigo. Agradeço por me aguentarem com minhas ansiedades, choros e nervosismos por causa das provas e seminários. Amo cada um de vocês e sei que posso contar com cada um de vocês.

Ao meu orientador/amigo, por ter confiado a mim essa grande responsabilidade, agradeço a Deus por ter colocado em minha vida. Obrigado pelas reclamações, incentivos e sorrisos por cada vitória nossa. Só tenho a agradecer!

Aos meus cientistas favoritos Welton, Isabella, Camila e Pedro, obrigado por ter paciência comigo, pelas ajudas nos laboratórios e escritas de resumos.

Aos meus amigos das Paróquia São Judas Tadeu, São Vicente de Paulo, vocês só me fortaleceram a cada conselho e orações.

A Carlos Lima, que é uma das pessoas mais incríveis que conheci, agradeço a Deus por Ele ter colocado você em meu caminho, obrigado pela paciência e companheirismo, por ser essa pessoa tão amável e ao mesmo tempo bruto, obrigado meu sertanejo.

Ao LABTEC, por ter pessoas maravilhosas que me acolheu quando precisei.

Ao BIOPROT, em especial ao professor Thiago e a Robson, por ter me ajudado em alguns experimentos e dúvidas.

Às meninas Elaine e Francielle, que ajudaram e me acolheram no Laboratório de Biologia de Insetos na Fitossanidade do Departamento de Agronomia da UFRPE.

Todo mundo da minha turma SB3 (Biofalos), cada um vai estar no meu coração.

Agradeço a banca examinadora, por aceitar meu convite.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco, pela minha formação como pessoa e como profissional, também oferecendo a bolsa auxílio, o PIC e o PIBIC, e ao MELHOR R.U de todo o planeta, pelas comidas magníficas.

Ao CNPq (UNIVERSAL MCTI/CNPq 01/2016; Processo: 408789/2016-6) pelo fomento a esta pesquisa.

Agradeço a todos que fizeram parte de minha trajetória!

## **EPIGRAFE**

**“Sê humilde para evitar o orgulho, mas voa alto para alcançar a sabedoria.” (Santo Agostinho)**

**“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”. (Marthin Luther King)**



## RESUMO

*Plutella xylostella* (Plutellidae) é uma importante praga que ataca culturas de brassicas mundialmente. *Syzygium malaccense* (Myrtaceae), o jambeiro, é utilizada na medicina popular e seus frutos são consumidos como artigo alimentício. Lectinas (proteínas ligadoras de carboidratos) e inibidores de tripsina podem ter ação inseticida. Este trabalho caracterizou o extrato aquoso de folhas de *S. malaccense* quanto à presença de metabólitos secundários, lectinas e inibidor de tripsina e quanto à atividade inseticida contra *P. xylostella*. Análise por cromatografia em camada delgada revelou a presença de polifenóis (taninos hidrolisáveis), flavonóides, esteróides, saponinas e açúcares redutores no extrato de folhas, o qual também conteve lectinas (Atividade hemaglutinante de 64) e inibidor de tripsina. A lectina do extrato foi inibida pelos monossacarídeos glicose e N-acetilglicosamina e neutralizada pelas glicoproteínas fetuína e ovoalbumina. O extrato de folhas apresentou efeito deterrente alimentar e causou mortalidade de lagartas de *P. xylostella*. Foi registrada a taxa de mortalidade de  $80 \pm 15\%$  para o extrato a  $1\%$ . Efeito deterrente de oviposição foi também determinado para o extrato de folhas, uma vez que nos discos tratados foi detectada a presença de cerca de 37 ovos, contra 80 ovos registrados no controle. O aquecimento exaustivo do extrato de folhas alterou as atividades hemaglutinante e deterrente alimentar de forma semelhante, sugerindo que estas podem ser atribuídas à mesma proteína. A exposição do extrato de folhas às condições ambientais por 192 h neutralizou seu efeito deterrente alimentar. Em conclusão, o extrato de folhas de *S. malaccense* é fonte de metabólitos secundários, lectina e inibidor de tripsina, e constitui um agente inseticida contra *P. xylostella* por causar mortalidade das lagartas e alterar seus comportamentos de alimentação e oviposição.

**Palavra – Chave:** Jambeiro, lectinas, inibidores de tripsina, metabólitos secundários, atividade lagarticida, deterrente alimentar, deterrente de oviposição.

## ABSTRACT

*Plutella xylostella* (Plutellidae) is an important pest that attacks Brassicas cultures worldwide. *Syzygium malaccense* (Myrtaceae), or jambeyro, is used in popular medicine and its fruits are consumed as foodstuff. Lectins (carbohydrate-binding proteins) and trypsin inhibitors can be insecticidal agents. This work characterized the aqueous extract of *S. malaccense* for the presence of secondary metabolites, lectins and trypsin inhibitors, as well as for insidicidal activity against *P. xylostella*. Analysis by thin layer chromatography revealed the presence of polyphenols (hydrolyzed tannins), flavonoids, steroids, saponins and reducing sugars in the leaf extract, which also contained lectins (hemagglutinating activity of 64) and trypsin inhibitor. was inhibited by monosaccharides glucose and N-acetylglucosamine and neutralized by the glycoproteins fetuin and ovalbumin. The leaf extract exerted a detergent feed effect and induced mortality of *P. xylostella* caterpillars. The mortality rate of  $80 \pm 15\%$  for the 1% leaf extract was recorded. The oviposition detergent effect was also determined for the leaf extract, since the presence of about 37 eggs was detected in the treated discs against 80 eggs recorded in the control. Exhaustive heating of the leaf extract altered the hemagglutinating and detergent food activities in a similar manner, suggesting that these can be attributed to the same protein. Exposure of leaf extract to environmental conditions for 192 h neutralized its food-producing effect. In conclusion, leaf extract of *S. malaccense* is a source of secondary metabolites, lectin and trypsin inhibitor, and constitutes an insecticidal agent against *P. xylostella* for causing mortality of caterpillars and altering their feeding and oviposition behaviors.

**Keywords:** Malay apple, lectins, trypsin inhibitors, secondary metabolites, larvicidal activity, feeding deterrent, oviposition deterrent.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** - Ciclo de vida de *P. xylostella*. (A) Ovos, (B) Lagartas alimentando-se, (C) pupas e (D) inseto adulto. .... 16
- Figura 2** - Representação esquemática do aspecto microscópico do ensaio de atividade hemaglutinante para detecção de lectinas em determinada amostra. (A) Rede de hemaglutinação, onde a lectina liga os carboidratos da superfície dos eritrócitos. (B) Inibição da atividade hemaglutinante e não formação da rede de hemaglutinação. Fonte: O autor..... 20
- Figura 3** - Efeito da lectina inseticida no intestino do inseto. (A) entrada da lectina no intestino do inseto. (B) lectinas se ligando ao sítio de reconhecimento. (C) degradação das células que a lectina se ligou. Autor: Napoleão et al., 2018. .... 211
- Figura 4** - Morfologia externa da árvore de *S. malaccense*. (A) Árvore de *S. malaccense*, com sua forma piramidal. (B) Flor de *S. malaccense* (C) Fruto de *S. malaccense*, com forma oval e preso sobre os ramo.....232
- Figura 5** - Análise fitoquímica do extrato de folhas de *Syzygium malaccense* por cromatografia em camada delgada.....32
- Figura 6** - Atividade inibidora de tripsina do extrato de folhas de *Syzygium malaccense*. Concentrações do extrato de folhas: m/v. Controle: água destilada. Os asteriscos indicam diferença significativa entre os tratamentos com o extrato de folhas e o controle.....33
- Figura 7** - Efeito do extrato de folhas de *S. malaccense* (1%, m/v) sobre o comportamento de oviposição de *P. xylostella*. .... 35

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Classificação taxonômica de *P. xylostella*. Fonte: DIBELLI, 2014..... 14
- Tabela 2** - Nomenclatura vernácula de *P. xylostella* em diferentes países. Fonte: DIBELLI, 2014.  
..... 15
- Tabela 3** - Sistemas de desenvolvimento e reveladores e padrões utilizados para análise fitoquímica por cromatografia em camada delgada..... 27
- Tabela 4** - Atividade hemaglutinante do extrato de folhas de *S. malaccense* na presença de carboidratos e glicoproteínas..... 33
- Tabela 5** - Taxa de consumo das folhas de couve por larvas de *Plutella xylostella* tratadas com o extrato de folhas de *Syzygium malaccense* submetido ou não ao aquecimento (100 °C). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos determinadas pelo teste T de Student ( $p < 0,05$ )..... 34
- Tabela 6** - Atividade hemaglutinante do extrato de folhas de *Syzygium malaccense* submetido ou não ao aquecimento a 100 °C..... 36

## SUMÁRIO

1-INTRODUÇÃO .....	12
2-FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	14
2.1 – <i>Plutella xylostella</i> .....	224
2.2 - Inseticidas naturais.....	14
2.3 - Proteínas inseticidas.....	19
2.4 - <i>Syzygium malaccense</i> .....	22
3 - OBJETIVOS .....	26
3.1– Geral.....	26
3.2- Objetivos Específicos.....	26
4 - METODOLOGIA .....	26
4.1 - Material vegetal e obtenção do extrato de folhas.....	26
4.2- Análise do perfil fitoquímico.....	27
4.3 - Ensaio da atividade hemaglutinante.....	28
4.4-Ensaio da Inibição da Atividade Hemaglutinante.....	29
4.5-Investigação da presença de Inibidores de Proteases.....	29
4.6-Bioensaios.....	30
4.6.1-Avaliação do Efeito deterrente alimentar e ensaio lagartícida .....	29
4.6.2 – Efeito do extrato de folhas de <i>S. malaccense</i> sobre comportamento de oviposição de fêmeas de <i>P. xylostella</i> .....	27
4.6.3 – Avaliação da resitência do extrato de folhas de <i>S. malaccense</i> ao aquecimento e às condições ambientais .....	30
4.7 – Análise estatística.....	30
5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	31
6 - CONCLUSÃO .....	38
7 - REFERÊNCIAS.....	39

## 1. INTRODUÇÃO

*Plutella xylostella*, L. 1758 (Lepidoptera: Plutellidae), comumente conhecida como traça-das-crussíferas ou, mais atualmente, traça-das-brássicas, é originária provavelmente da região do Mediterrâneo, centro de origem das brássicas (FURLONG et al., 2013; GRZYWACZ et al., 2010). É considerada a principal praga de plantas da família Brassicaceae no Brasil e no mundo (MONNERAT et al., 2004). Essa espécie se encontra disseminada em todos os continentes acompanhando a disseminação das culturas da família vegetal (GRZYWACZ et al., 2010).

O ciclo de vida de *P. xylostella* compreende as fases de ovo, lagarta (quatro instares larvais), pupa e adulto. As lagartas possuem coloração verde, enquanto o inseto adulto possui uma cor parda, cada fêmea pode ovipositar, em média, 160 ovos durante seu ciclo biológico, o qual pode variar de 15 a 35 dias, dependendo da temperatura que é de 25 °C e os meses mais vistos são os da seca que fica entre Julho e Setembro. (VACARI et al., 2012; CASTELO BRANCO et al., 1997).

Os inseticidas sintéticos são muito utilizados em vários países, inclusive para controlar populações de *P. xylostella*, mas diversos problemas estão associados a esses compostos, tais como alta toxicidade para organismos não alvos e surgimento de populações de insetos resistentes, nesse sentido, a busca por novas fontes de agentes inseticidas tem crescido com o objetivo de amenizar os efeitos dos inseticidas sintéticos (DE BORTOLI et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2011; YU & NGUYEN, 1992)

Dentre os agentes inseticidas alternativos, os extratos vegetais têm se destacado devido à diversidade de compostos bioativos, muitos dos quais estão envolvidos em mecanismos de defesa contra insetos e herbívoros, a utilização dos extratos vegetais tem como vantagem principal a atuação através de diferentes mecanismos de ação, o que pode minimizar a seleção de populações resistentes (GUIMARÃES et al., 2014; RIBEIRO et al., 2009). Os extratos vegetais podem conter proteínas cujo potencial inseticida tem sido relatado, dentre elas destacamos as lectinas e os inibidores de proteases.

As lectinas são proteínas capazes de se ligar reversivelmente a carboidratos. Elas estão presentes em todos os tipos de organismos, como seres humanos, plantas e até os mais basais, como os vírus. Podem atuar como sítios de reconhecimento celular em

muitos processos biológicos. Assim apresentam diversas atividades biológicas, incluindo ação inseticida (PAIVA et al., 2013).

A tripsina é uma protease digestiva, ubiqüamente produzida no reino animal, inclusive no grupo dos insetos. Essa enzima tem sido relatada como um interessante alvo para ação de novos inseticidas (CAMAROTI et al., 2018; SOUZA et al., 2018). Os inibidores de tripsina bloqueiam o sítio ativo da enzima, prejudicando a digestão de proteínas e levando o inseto à morte por inanição (PONTUAL et al, 2014)

*Syzygium malaccense* (L.) Merr. & L.M. Perry, pertence à família *Myrtaceae*, sendo conhecida como jambo vermelho, jambo-roxo ou jambo-encarnado. É uma árvore que possui forma piramidal, podendo atingir entre 15 e 16 m de altura. Suas folhas possuem coloração verde brilhante e as flores róseo-purpúrea. Seu fruto é carnoso, indeiscente, do tipo bacóide, com forma ovoide, cor roxa e polpa suculenta (MELO et al, 2009; CRUZ et al., 2004; COSTA et al., 2006). Este fruto é considerado um alimento nutritivo por conter vitaminas A, B1 e B2 (MELO et al., 2009).

Nativa da Índia, *S. malaccense* foi inserida no Brasil, onde se adaptou e pode ser encontrada em estados das regiões Norte e Nordeste, bem como nos locais mais quentes da região Sudeste. Em várias partes do mundo, *S. malaccense* é empregada na medicina popular para tratamento de processos inflamatórios, febre, coceira, diabetes, secreção no pulmão, tosse, dores de cabeça, disenteria e como diurético (OLIVEIRA et al., 2006). A sua safra acontece na maioria das vezes em estações mais chuvosas, três meses após a floração, ocorrendo a coleta entre os meses de janeiro a maio (CRUZ et al., 2004; FARIA et al., 2011).

O desenho experimental descrito neste Trabalho de Conclusão de Curso foi motivado pelos prejuízos econômicos atrelados ao ciclo de *P. xylostella*, bem como pela importância popular de *S. malaccense*. Aqui, a caracterização do extrato de folhas de *S. malaccense* quanto à presença de metabólitos secundários, lectinas e inibidores de tripsina e quanto aos efeitos sobre embriões e lagartas de *P. xylostella* são relatados.

## 2-FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 - *Plutella xylostella*

*Plutella xylostella* (L. 1758), mais conhecida como traça-das-brássicas, tem sua taxonomia apresentada na (Tabela 1). Esta praga causa grandes prejuízos à agricultura no âmbito internacional, sendo os danos principais causados pelas lagartas jovens, que com o seu aparelho bucal do tipo mastigador atingem o tecido foliar deixando apenas a epiderme superior os prejuízos sobre as brássicas cultivadas são proporcionais à severidade do ataque, podendo ocasionar até mesmo a morte das plantas (FURLONG et al., 2013; CARDOSO et al., 2010). *P. xylostella* tem facilidade em se espalhar por grandes extensões territoriais, por isso ocorre em diferentes países do mundo, onde apresenta nomenclatura vernácula variada (Tabela 2) (CARPINEIRA et al., 2001).

<b>Categoria</b>	<b>Classificação taxonômica</b>
Reino	Animalia
Infra-reino	Protostomia
Superfilo	Ecdysozoa
Filo	Arthropoda
Subfilo	Hexapoda
Classe	Insecta
Subclasse	Pterygota
Superordem	Holometabola
Ordem	Lepidoptera
Subordem	Glossata
Infraordem	Heteroneura
Superfamília	Yponomeutoidea
Família	Plutellidae
Gênero	<i>Plutella</i>
Espécie	<i>P. xylostella</i>

**Tabela 1** - Classificação taxonômica de *P. xylostella*. **Fonte:** DIBELLI, 2014.



<b>País</b>	<b>Nome popular</b>
Brasil	Traça das brássicas
Portugal	Traça das couves
Estados Unidos da América e Inglaterra	Diamondback moth
México	Palomilla dorso de diamante
Itália	Tignola delle crucifere e tignola dei covali
Japão	Konaga
Holanda	Koolmotje
Turquia	Lahana guvesi
Israel	Ash hakruv
Finlândia	Kaalokoi
Dinamarca	Kalmoel
Noruega	Kalmoll
China	Syau tsai
Suécia	Kalmal

**Tabela 2** - Nomenclatura vernácula de *P. xylostella* em diferentes países. **Fonte:** DIBELLI, 2014.

*P. xylostella* apresenta um ciclo de vida rápido, possuindo alta fecundidade e aptidão para se adaptar aos mais variados climas e temperaturas. Essas características levaram a este inseto ser considerada praga principal do grupo das Brássicas. Esse grupo compreende vegetais como repolho (*Brassica oleracea* var. *capitata* Linnaeus), couve-de-bruxelas (*Brassica oleracea* var. *gemmifera* (DC.) Zenker), couve-flor (*Brassica oleracea* var. *botrytis* Linnaeus), brócolis (*Brassica oleracea* var. *italica* Plenck) e couve-manteiga (*Brassica oleracea* var. *acephala* DC.) (ULMER et al., 2002; AHMAD et al., 2005; DE OLIVEIRA et al., 2011; WARWICK et al., 2011).

O ciclo de vida de *P. xylostella* compreende as fases de ovo, lagartas (quatro instares larvais), pupa e adulto (DE BORTOLI, 2009). Os ovos medem menos de 1 mm, possuem forma oval e são encontrados geralmente isolados ou em grupos na parte superior ou inferior das folhas, possuindo uma cor amarelada (CASTELO BRANCO et al., 1997; THULER, 2009) (Figura 1A). O tempo estimado entre oviposição e eclosão das larvas é entre 3-5 dias (UJAGIR; BYRNE, 2009). Quando as lagartas eclodem, apresentam uma coloração esbranquiçada, logo após, se tornam verde-claras no instar dois (MOREIRA et al., 2011). As lagartas (Figura 2B) adquirem uma coloração verde-

escura instar quatro quando se alimentam em folhas de repolho, brócolos, couve-manteiga ou couve-flor. As lagartas são classificadas de acordo com o tamanho da cápsula cefálica, em que até 0,154 mm satisfaz ao primeiro instar, 0,250 mm ao segundo; 0,388 mm ao terceiro e 0,590 mm ao quarto instar (FERNÁNDEZ e ALVAREZ et al., 1988). Para alcançar o estágio de pupa, as lagartas de quarto instar constroem um casulo (Figura 2C) que irá abrigar as pupas. As pupas são do tipo obtecta e são inicialmente claras e, próximo à emergência dos adultos, escurecem (GALLO et al., 2002; THULER, 2009). Já os adultos são microlepidópteros e possuem uma cor marrom (Figura 2D). Os machos em pouso sobre as folhas exibem uma listra clara na parte dorsal (GALLO et al., 2002; VACARI et al., 2009). As fêmeas são bastante férteis e podem depositar até 350 ovos durante o seu ciclo de vida e o período de desenvolvimento de ovo a adulto com uma temperatura ambiental de 25 °C (EMBRAPA, 1997; CASTELO BRANCO et al., 1997; GALLO et al., 2002; THULE, 2009)



**Figura 1** - Ciclo de vida de *P. xylostella*. (A) Ovos, (B) Lagartas alimentando-se, (C) pupas e (D) inseto adulto.

<https://sites.google.com/site/defesafitossanitaria/pragas-exoticas/plutella-xylostella>. Acesso em 28/02/18 (A); Disponível em: <https://www.flickr.com/photos/66212368@N04/galleries/72157627429391332> (B).

Acesso em 02/05/18. Fonte: Disponível em: <http://bugguide.net/node/view/1172048>. Acesso em 02/05/18. Fonte: Disponível em: <http://www.naturespot.org.uk/species/diamond-back-moth>. Acesso em 02/05/18.

As lagartas recém-eclodidas penetram a folha e ficam por alguns dias, até passar para outro instar. Quando saem dos túneis, ferem o tecido da superfície foliar deixando apenas a epiderme superior transparente, onde, depois, aparecem furos (CARDOSO et al., 2010).

O controle de *P. xylostella* é principalmente realizado com o uso de inseticidas sintéticos (ZHANG et al., 2016), contudo, o uso abusivo ou não planejado desses produtos tem acarretado na seleção de populações resistentes (CASTELO BRANCO; GATEHOUSE 1997; CASTELO BRANCO et al., 2001). Alguns inseticidas causam danos ao meio ambiente, pois devido a sua baixa seletividade, afetam não somente *P. xylostella*, mas também a fauna e outros organismos, incluindo plantas, vertebrados, invertebrados e o agricultor, que aplica o agrotóxico (CASTELO BRANCO et al., 2003; PEREIRA et al., 2004).

O elevado uso destes inseticidas tem colocado a couve entre os produtos agrícolas com maior residual de pesticida (ANVISA 2016). Dentre os inseticidas sintéticos utilizados em larga escala para o controle de *P. xylostella*, destacam-se os teflubenzuron, chlorfenapyr, piretróides e fosforados (CZEPAK et al., 2005; VASQUEZ et al., 1995; CASTELO BRANCO & GATEHOUSE, 1997) e também organofosforados (MIYATA et al., 1982), cartap (proveniente do tiocarbamato), abamectin (derivado da Avermectina) (CASTELO BRANCO e MELO, 2002), a espinosinas (TROCZKA et al., 2012; LIN et al., 2013) e o Clorantraniliprole (WANG & WU 2012, RIBEIRO et al., 2013). No Brasil, foram descritas populações de *P. xylostella* com resistência aos inseticidas piretroides e as avermectinas no Espírito Santo e Pernambuco (OLIVEIRA et al., 2011).

Para reduzir a contaminação por esses inseticidas sintéticos seja no solo, lençol freático ou nos organismos, muitos agricultores utilizam controle biológico como uma medida alternativa. Fungos e bactérias entomopatogênicas estão sendo utilizados nesse sentido para amenizar a propagação de *P. xylostella*; são exemplos os fungos *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. e *Zoophthora radicans* (Brefeld) (VALDA et al., 2003). *B. bassiana* já foi confirmada contra diferentes lepidópteros, como *Plutella xylostella* L. (VANDENBERG et al., 1998), *Chilo partellus* Swinhoe (TEFERA & PRINGLE, 2003) e *Castnia licus* Drury (VILAS BÔAS & ALVES, 1988), ocorre no ambiente infectando insetos de diversas famílias e gêneros, como a broca-do-café (NEVES & HIROSE, 2005), *Atta sexdens sexdens* L.

(Hymenoptera: Formicidae) (LOREIRO & MONTEIRO, 2004) e mosca mexicana das frutas (*Anastrepha ludens* Loew) (Diptera: Tephritidae) (DE LA ROSA et al., 2002). Já o fungo *Zoophthora radicans* (Brefeld) Batko é um dos entomopatógenos mais promissores para o controle de insetos pragas, merecendo destaque no que se refere ao seu elevado potencial epizoótico e no Brasil, o patógeno tem sido avaliado para o controle de *Empoasca* sp., revelando alta eficiência (LEITE et al., 1996).

O fungo *Metarhizium anisopliae*, que causa a doença-verde em diversas espécies de insetos, é um dos mais ativos controladores biológicos das diferentes espécies de cigarrinhas que ocorrem na agricultura (Disponível em: <http://www.biocontrol.com.br/produtos-metarriz.php> Acesso em 27/02/19). Além dos fungos, a bactéria *Bacillus thuringiensis* é um forte agente para controle biológico de insetos praga, ela é gram-positiva, e normalmente habita os solos, mas também pode ser localizada no intestino de lagartas de espécies de borboletas ou ainda na superfície de um vegetal (MONNERAT et al., 2004; MEDEIROS et al., 2005; MEDEIROS et al., 2007). Em nosso país, são destacados alguns dos principais predadores contra a *P. xylostella*, incluindo *Discondon* sp. (Coleoptera: Cantharidae), *Lasiochilus* sp. (Hemiptera: Anthocoridae), *Pheidole* sp. (Hymenoptera: Formicidae), *Cheiracanthium inclusum* (Hentz, 1847) (Araneae: Miturgidae), e *Podisus nigrispinus* (Dallas, 1851) (Hemiptera: Pentatomidae) (BACCI et al., 2009; SILVA-TORRES et al., 2010).

## 2.2 – Inseticidas naturais

Existem mais de 2.000 espécies de plantas que têm características inseticidas, as famílias botânicas que mais têm sido pesquisadas incluem Meliaceae, Euphorbiaceae, Annonaceae, Apiaceae, Asteraceae, Lamiaceae Flacourtiaceae, Liliaceae, Solanaceae, Amaranthaceae, Rubiaceae e Fabaceae (GARCEZ et al. 2013; MORAIS & MARINHO-PRADO, 2014; HUSSAIN et al., 2017; PERES et al., 2017).

Os inseticidas naturais constituem uma alternativa interessante ao uso de compostos sintéticos, e as plantas destacam-se como fonte de compostos que podem ser utilizados como material de partida para o desenvolvimento de novos bioinseticidas (SPARKS et al., 2017), pois podem ser mais seletivos, menos nocivos ao ambiente e mais competentes (MAGALHÃES et al., 2014). Há relatos de espécies vegetais

produtoras de compostos que afetam o comportamento de oviposição ou alimentação dos insetos, atraindo ou afastando, ou causam mortalidade de fases imaturas ou de adultos (GALLO et al., 2002; KRINSKI et al., 2014). *Azadirachta indica* A. Juss (Nim), por exemplo, está sendo mais utilizada no controle caseiro de pragas e, na Índia, está sendo utilizado em culturas de arroz onde ocorrem mais de 400 espécies de insetos praga (MARTINEZ, 2002; VIDIGAL et al., 2007; MORDUE et al., 2010).

Millan et al. (2007) descreveram também a eficácia de algumas substâncias naturais no combate às pragas de armazenamento, as quais podem ser utilizadas em armadilhas do tipo de caladores em silos de cevada com os respectivos tratamentos (terra de diatomácea, deltametrina e fenitrothion). Um inseticida natural feito com açafreão (*Curuma longa* L) foi utilizado em grãos de milho mantendo suas propriedades inseticidas após armazenado por 8 meses (PREVIERO et al., 2006).

### 2.3 - Proteínas inseticidas

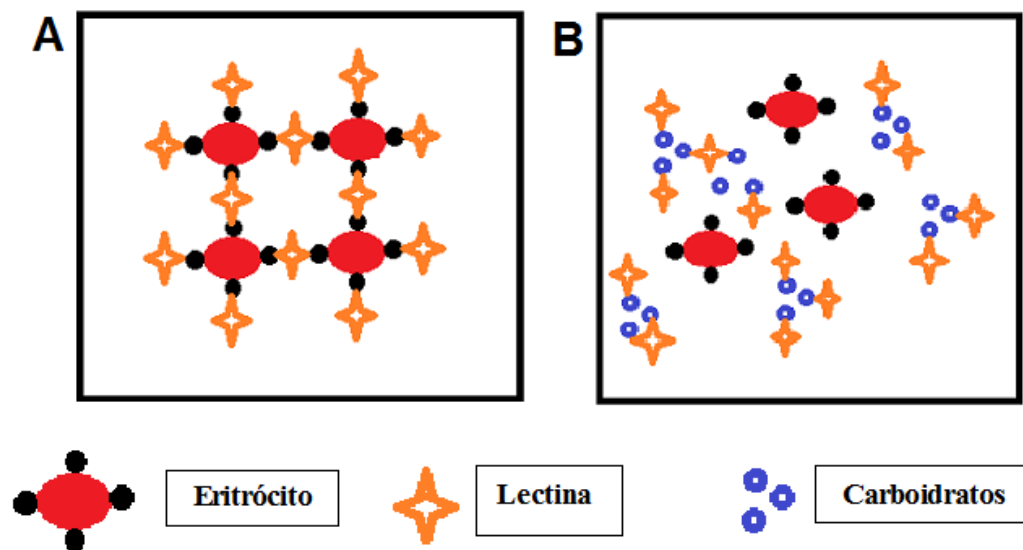
- **Lectinas**

Uma classe de proteínas que está sendo bastante investigada para atividade inseticida, é a das lectinas. Essas proteínas são largamente disseminadas na natureza, sendo descritas em microrganismos, animais e vegetais podendo ser isoladas de diversas partes da planta como cascas, cladódios, flores, folhas, rizomas, raízes e sementes (PAIVA et al., 2011). As lectinas se ligam a carboidratos ou glicoconjugados, de forma específica e reversível, através de pelo menos dois domínios de ligação; as interações envolvidas são ligações de hidrogênios, força de van der Waals e interações hidrofóbicas (PAIVA et al., 2010).

Para analisar a presença de lectinas em uma amostra, é realizado o ensaio de hemaglutinação utilizando eritrócitos humanos ou de coelho. Neste ensaio, é realizada uma diluição seriada da amostra que possa conter lectina e posteriormente uma incubação com a solução contendo eritrócitos. Assim, caso haja lectinas na amostra, uma ligação cruzada entre os eritrócitos e a proteína (rede de hemaglutinação) será formada (Figura 2A). Essa malha se deve à interação entre as lectinas e carboidratos da superfície celular dos eritrócitos, através de seus sítios de ligação a carboidratos.

No ensaio de inibição da atividade hemaglutinante (Figura 2B) em presença de carboidratos livres ou glicoconjugados, as lectinas tem seus sítios de interação a

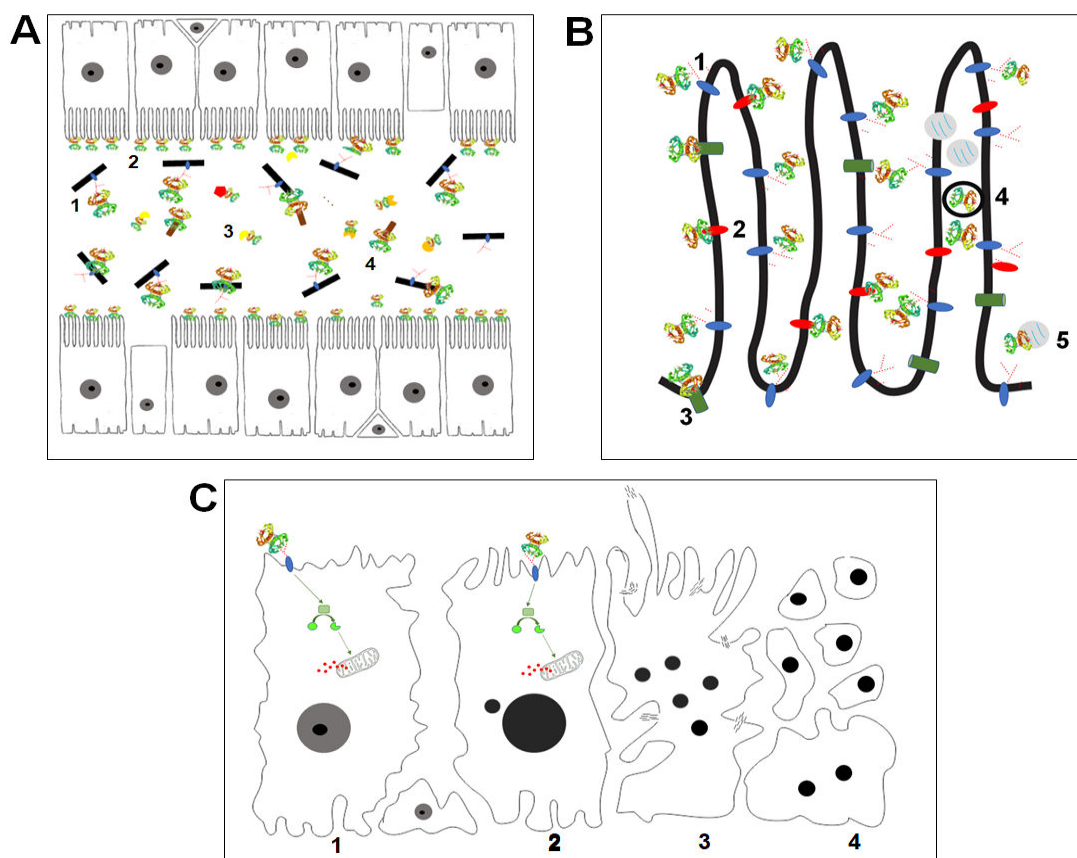
carboidratos bloqueados e, portanto, não ocorre a hemaglutinação (SANTOS et al., 2005; COELHO & SILVA, 2000). Este ensaio confirma que o padrão interpretado como hemaglutinação se deve à atividade lectínica da amostra avaliada e não à dispersão ou lise dos eritrócitos. O fenômeno da dispersão é comum para amostras vegetais com alto teor de taninos, por exemplo (PAIVA et al., 2010).



**Figura 2** - Representação esquemática do aspecto microscópico do ensaio de atividade hemaglutinante para detecção de lectinas em determinada amostra. (A) Rede de hemaglutinação, onde a lectina liga os carboidratos da superfície dos eritrócitos. (B) Inibição da atividade hemaglutinante e não formação da rede de hemaglutinação. Fonte: O autor.

Do ponto de vista biotecnológico, têm sido relatadas como agentes antitumorais, anti-inflamatórios, antimicrobianos e inseticidas nas plantas a expressão de lectinas pode ser potencializada por meio de estímulos externos, como o ataque de fitopatógenos e herbívoros (PROCÓPIO et al., 2017). Algumas lectinas de plantas apresentam ação inseticida, acarretando em toxicidade aguda principalmente para larvas, mas também podem ser tóxicas para outros estágios de vida ou prejudicar o desenvolvimento (efeito crônico) (MACEDO et al., 2007). Segundo Oliveira et al. (2011), as lectinas podem dificultar a absorção de nutrientes, levando o inseto à morte por inanição (figura 3). Ao serem ingeridas pelos insetos, as lectinas podem atuar no

intestino médio, ligando-se as proteínas glicosiladas levando à intoxicação (PEUMANS & VAN DAMME, 1995, SAUVION et al., 2004; MICHIELS et al., 2010).



**Figura 3** - Efeito da lectina inseticida no intestino do inseto. (A) entrada da lectina no intestino do inseto. (B) lectinas se ligando ao sítio de reconhecimento. (C) degradação das células que a lectina se ligou. Autor: Napoleão et al., 2018.

- **Inibidor de Tripsina**

Os inibidores de proteinases participam de um eficiente mecanismo de proteção das plantas que, no decorrer da evolução, passaram a fazer parte dos mecanismos de resistência ao ataque de pragas, herbívoros e/ou patógenos. Neste sentido, os inibidores foram produzidos em tecidos agredidos, incluindo folhas, frutos e órgãos de reserva, com a propriedade de bloquear ou reduzir a atividade de enzimas digestivas dos insetos, acarretando-lhes prejuízos à nutrição, desenvolvimento e até mesmo sobrevivência (BIRK et al., 2003; JÚNIOR et al., 2006; NAPOLEÃO et al., 2019). O papel fisiológico desses inibidores no vegetal inclui a regulação de proteases

endógenas, mobilização de proteínas de reserva e proteção contra enzimas proteolíticas de parasitas e insetos (PATRIOTA et al., 2016; HAQ et al., 2004).

A tripsina, junto com as quimotripsinas, são proteases fundamentais do sistema digestivo de insetos fitófagos, sendo responsáveis por cerca de 95% da proteólise. Segundo Ryan (1990), o intestino dos insetos das ordens Lepidoptera e Díptera têm pH entre 8,5 e 10, excelente para atividade desta classe de enzimas conhecidas como serino-proteinases. A influência mútua entre enzimas e inibidores vai ocorrer por meio de interações hidrofóbicas e eletrostáticas, bem como as ligações de hidrogênio que são estabelecidas entre o sítio ativo da protease e o sítio reativo na molécula inibidora (PAIVA et al., 2013).

É importante ressaltar que processos co-evolutivos entre inseto e planta podem levar o inseto ao aumento de respostas de defesa às toxinas presentes nos tecidos vegetais, gerando um processo de adaptação e contra-adaptação que diminui a eficiência dos inibidores e outro composto, protéico ou não, produzido pelo vegetal (LAWRENCE & KOUNDAL, 2002).

#### 2.4 – *Syzygium malaccense*

A família Myrtaceae é bastante numerosa, pois compreende plantas floríferas cujas sementes encontram-se abrigadas por um fruto. São registrados cerca de 142 gêneros e 5.500 espécies espalhadas pelo mundo; a grande maioria, lenhosas e arbustivas. De acordo com Limberger et al., (2004), esta família está dividida em duas subfamílias: Myrtoideae e Leptospermoideae, no Brasil, todos os representantes originários ter relação à subfamília Myrtoideae, a qual inclui o gênero *Syzygium*.

Possui uma grande importância econômica, uma vez que várias espécies desta família são cultivadas por causa de seus frutos saborosos, para fins ornamentais ou de comercialização de essências, ou ainda pelas suas propriedades medicinais. As Myrtaceae possuem uma importância ecológica muito grande, pois seus frutos suculentos e carnosos são fontes de alimento para fauna silvestre e para seres humanos (MORAIS et al., 2014) e muitos desses animais que consomem os frutos das *Myrtaceae* contribuem para a dispersão das sementes, favorecendo a sobrevivência e propagação das espécies (PIZZO, 2003; GRESSLER et al., 2006).



A família Myrtaceae possui como maiores gêneros: *Eucalyptus* (500 espécies), *Malaleuca* (100 espécies), *Eugenia* (600 espécies), *Myrcia* (300 espécies), *Syzygium* (200 espécies) e *Psidium* (100 espécies) (SOBRAL et al., 2015). De acordo com Gibbert et al., (2017), a família Myrtaceae contém diferentes espécies que são empregadas no consumo alimentício, sendo as principais: *Psidium guajava* L. (goiaba), *Eugenia uniflora* L. (pitanga), *Campomanesia xanthocarpa* O. Berg Kausel (gabiroba), *Plinia trunciflora* O. Berg Kausel (jabuticaba), *Eugenia jambolana* Lam (jambolão) e *Syzygium malaccense* (L.) Merr. & L. M. Perry (jambo vermelho). Bueno et al. (2005) afirmam que algumas *Myrtaceae* também são empregadas como plantas medicinais por tribos indígenas do Mato Grosso do Sul, a população indígena Kaiowá/Guarani, que vem encarando o prejuízo de suas terras habituais, faz uso de três espécies da família (*Eugenia uniflora* L., *Myrcianthes pungens* (O.Berg) D. Legrand, e *Psidium guajava* L.) com o objetivo de produzir medicamentos.

O gênero *Syzygium* é considerado um dos mais extensos da família *Myrtaceae*, com aproximadamente 500 espécies de árvores e arbustos, onde cerca de 400 distribuem-se no Brasil e adquirem ênfase especial, por sua utilização na medicina tradicional como antimicrobianos ou contra diabetes, problemas respiratórios, antiinflamatórios, hipoglicemiante e cardiotônicos (DE OLIVEIRA et al., 2005; HUSSEIN et al., 2003; VENDRUSCOLO et al., 2005; LAMOTHE et al., 2015).

As plantas do gênero *Syzygium* são citadas por serem tóxicas para insetos, como é o caso de *Syzygium cumini* (L.) Skeels (RANI & MURTHY, 2008) e *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry (SOARES et al. 2011; AFFONSO et al. 2012; KAFLE & SHIH 2013). A espécie *Syzygium malaccense*, conhecida popularmente no território Brasileiro como jambo vermelho, jambo roxo ou jambo encarnado, é um representante entre plantas medicinais, cujas folhas e frutos são mais utilizados como adstringentes e instigantes do apetite, como diuréticos e na ação contra as anemias, principalmente pelas populações de baixa renda (CAMPELO, 1988). Essa planta é exótica, pois foi originada da Índia e introduzida no Brasil ao longo dos últimos três séculos (FONSECA, 2012).

Árvore (Figura 4 A) abundante, de copa densa e com um formato piramidal, medindo aproximadamente entre 7 a 13 metros de altura, suas folhas possuem uma filotaxia de folhas simples, opostas cruzadas, com nervuras do tipo penínérveas; morfologia da folha é lanceolada a obovadas de cor verde-escuro brilhante e possuindo uma textura lisa em sua parte superior. Os frutos (Figura 4 C) que são piriformes,

carneiros, indeiscentes, do tipo bacóide, com 5 a 8 cm de comprimento e peso médio de 85g, com epicarpo fino, liso e de coloração que pode mudar de acordo com sua maturação, podendo ser rosa, vermelho, vermelho-escuro ou roxo. O seu mesocarpo e o endocarpo são quase brancos e bastante suculentos, constituindo assim a polpa, suas sementes são poliembriônicas, eurispérmicas, bitegmentadas, que possui uma coloração castanho-escuro. (COSTA et al., 2006; MELO et al., 2009). As flores (Figura 4 B) possuem cor rosa, e ficam localizadas inteiramente sobre os ramos. Possuem de 3 a 4 cm de tamanho e apresentam 4 sépalas e pétalas e abundantes estames com coloração branca e vermelha, dependendo da espécie (DONADIO et al., 1998).



**Figura 4** - Morfologia externa da árvore de *S. malaccense*. (A) Árvore de *S. malaccense*, com sua forma piramidal. (B) Flor de *S. malaccense* (C) Fruto de *S. malaccense*, com forma oval e preso sobre os ramos.

Fonte: <http://www.aplantadavez.com.br/2016/01/jambo-syzygium-malaccense-l-merr-lm.html> (Fotos/ 22/10/18 as 10:15).

Em geral, a floração ocorre entre agosto e fevereiro e a sua colheita nos meses de janeiro a maio. Mundialmente, *S. malaccense*, é utilizada, na medicina popular, e nos tratamentos de processos inflamatórios, febre, coceira, diabetes, catarro no pulmão, tosse, dores de cabeça, disenteria e ainda como diurético (DUNSTAN et al., 1997; NOREEN et al., 1998).

Estudos farmacológicos comprovaram a atividade antiviral seletiva do extrato aquoso da casca do caule frente aos vírus do Herpes Simplex-1 (HSV-1) e 2 (HSV-2), da estomatite vesicular e HIV-1 (LOCHER et al., 1995; 1996), enquanto, o extrato aquoso das folhas revelou forte inibição das bactérias *Staphylococcus aureus* e do *Streptococcus pyogenes* (LOCHER et al., 1995). Noreen e colaboradores (1998) realizaram diversos estudos fotoquímicos com as folhas de *S. malaccense* e conseguiram destacar quatro flavonóides: catequina, mearnsitrina, miricitrina e quercitrina. Oliveira e colaboradores (2006) analisaram a atividade inibitória de vários extratos de folhas de *S. malaccense* sobre o vetor da dengue *Aedes aegypti* e o hospedeiro intermediário da esquistossomose *Biomphalaria glabrata*. Os extratos etanólicos da casca do caule e das folhas não afetaram as larvas de *Aedes aegypti*, contudo, causaram mortalidade dos caramujos adultos da espécie *B. glabrata* com CL50 (concentração necessária para matar 50% os caramujos) de 42,53 (cascas do caule) e 41,90 (folhas)  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente. Uma lectina foi isolada da espécie *S. malaccense* com atividade cicatrizante sobre feridas cutâneas em camundongos (BRUSTEIN et al., 2012; PAIVA et al., 2010).

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1– Geral**

Este trabalho teve como objetivo caracterizar o extrato de folhas de *S. malaccense* quanto à presença de metabólitos secundários, lectinas e inibidor de tripsina e determinar seu efeito sobre diferentes fases de desenvolvimento de *P. xylostella*.

#### **3.2- Objetivos Específicos**

- Caracterizar o extrato de folhas de *S. malaccense* quanto ao perfil fitoquímico e à presença de lectinas e inibidores de tripsina.
- Determinar a especificidade da atividade de lectina presente no extrato de folhas frente a diferentes carboidratos e glicoproteínas.
- Avaliar o efeito do extrato de folhas na sobrevivência e comportamento alimentar de larvas de *P. xylostella*.
- Investigar o efeito do aquecimento exaustivo nas atividades hemaglutinante e deterrente alimentar do extrato de folhas.
- Determinar a resistência do potencial inseticida do extrato de folhas à exposição ao ambiente.
- Avaliar o efeito do extrato de folhas sobre o comportamento de oviposição de fêmeas de *P. xylostella*.

### **4. METODOLOGIA**

#### **4.1 - Material vegetal e obtenção do extrato de folhas**

Folhas de *S. malaccense* (jambeiro) foram coletadas em Recife e devidamente acondicionadas em sacos plásticos. O procedimento de coleta e demais avaliações foram registrados na plataforma SisGen (Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado) sob o protocolo AF99882. Em seguida, as folhas foram cortadas e homogeneizadas (10 min) com água destilada (na proporção

40g de folhas para 400 ml de água) utilizando liquidificador. Após filtração em gaze de algodão e centrifugação (3600 rpm, 5 min, 28 °C), o sobrenadante correspondeu ao extrato de folhas que foi então armazenado a -20 °C.

#### 4.2 - Análise do perfil fitoquímico

O extrato de folhas foi diluído com 2 mL de metanol e levado ao ultrassom durante 10 minutos para completa solubilização. Todos os padrões foram utilizados na concentração de 1 mg/mL.

O extrato de folhas e os padrões foram aplicados de forma manual em placas cromatográficas de sílica gel 60 - F<sub>254</sub> (Macherey-Nagel<sup>®</sup>, Germany). As placas foram desenvolvidas em cubas após saturação com a fase móvel (Tabela 3). A cuba foi saturada durante 15 minutos, aproximadamente, à temperatura ambiente.

Classe de Metabólito	Sistema	Revelador	Padrão
Polifenóis (Taninos Hidrolisáveis)	90:5:5	Cloreto férrico	Ác. Gálico
Taninos condensados	90:5:5	Vanilina clorídrica	Catequina
Flavonoides	90:5:5	Cloreto de alumínio	Quercetina e Rutina
Derivados Cinâmicos	90:5:5	Cloreto de alumínio	Ác. Cafeico e Ác. Clorogênico
Terpenos e Esteroides	70:30	Lieberman-Burchard + Δ	β-Sitosterol
Cumarinas	50:50:50	KOH + Δ	Cumarina
Saponinas	100:11:11:26	Lieberman-Burchard+ Δ	Escina
Açúcares redutores	50:20:10:10	Timol + H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 10% + Δ	D-frutose
Alcaloides	50:6,75:5	Dragendorf	Atropina
Antraquinonas	50:6,75:5	HNO <sub>3</sub> + KOH10%	Senosídeo A

**Tabela 3** - Sistemas de desenvolvimento e reveladores e padrões utilizados para análise fitoquímica por cromatografia em camada delgada. Δ: aquecimento; Sistemas:90:5:5 – Acetato de etila: ácido fórmico: água; 70:30 –Tolueno: acetato; 50:50:50 – Éter etílico: acetato de etila: ácido acético 10% (saturação); 100:11:11:26 - Acetato de etila: ácido acético: ácido fórmico: água; 50:20:10:10 - Acetato de etila: ácido acético: ácido fórmico: água; 50:6,75:5 – Acetato de etila: metanol: água.

As bandas foram aplicadas com largura de 5 mm e com uma distância entre elas e das bordas das placas de 5mm.O tamanho da largura e do comprimento das placas

cromatográficas foi de 5 cm. As amostras foram aplicadas a 5 mm da origem e com término 5 mm do final da placa.

Após a eluição das placas as mesmas foram secas à temperatura ambiente, e observadas sob luz ultravioleta de 254 e 365 nm e luz visível em seguida foram digitalizadas. Na seqüência foram reveladas com reagentes específicos para cada metabólito (Tabela 3). As bandas obtidas foram comparadas às bandas dos padrões correspondentes.

#### **4.3- Ensaio de atividade hemaglutinante**

A presença de lectinas no extrato de folhas foi avaliada em placas de microtitulação através do ensaio de atividade hemaglutinante, conforme descrito por Napoleão et al. (2012). O extrato de folhas foi diluído serialmente e colocado em presença de uma solução de eritrócitos de coelho tratados com glutaraldeído a 2,5%. O valor da atividade hemaglutinante correspondeu ao inverso da menor diluição da amostra que causou hemaglutinação. A atividade específica foi definida como a razão entre o título e a quantidade total de proteínas (mg) utilizadas no ensaio.

#### **4.4 - Ensaio de inibição da atividade hemaglutinante**

A especificidade de ligação a carboidratos e glicoproteínas foi investigada através de ensaio de inibição da atividade hemaglutinante. Para tanto, o extrato de folhas incubado com solução contendo os monossacarídeos glicose, galactose, Nacetilglicosamina ou manose (0,2 M) ou as glicoproteínas, fetuína e ovoalbumina (0,5mg/mL) por 15 min a 28°C antes da determinação da atividade hemaglutinante como descrito no item 4.2.

#### **4.5 - Investigação da presença de inibidores de proteases**

A atividade inibidora de tripsina do extrato de *S. malaccense* foi determinada em placa de microtitulação, de acordo com Pontual et al. (2012) utilizando a enzima

tripsina bovina de origem comercial. Solução de tripsina em tampão Tris-HCl 0,1 M, pH 8,0, contendo  $\text{CaCl}_2$  0,02 M (5  $\mu\text{L}$ , 0,1 mg/mL), com isso foi adicionado a 5  $\mu\text{L}$  do substrato N- $\alpha$ -benzoyl-DL-arginina-p-nitroanilida (BAPNA) e incubados com diferentes concentrações do extrato de folhas. O volume de cada poço foi ajustado para 200  $\mu\text{L}$  com tampão Tris-HCl 0,1 M, pH 8,0 contendo NaCl 0,15 M. Controles do substrato (ausência da enzima e extrato de folhas), da amostra (ausência de tripsina e BAPNA) e controle 100% (ausência do extrato de folhas) foi realizado. Após 30 min de incubação, a hidrólise do BAPNA foi acompanhada pela medida da absorbância a 405 nm. A inibição da tripsina foi determinada pela atividade residual da enzima e expressa em relação à hidrólise do substrato promovida no controle 100%.

#### **4.6-Bioensaios**

Lagartas de *P. xylostella* foram obtidas a partir de uma cultura mantida em folhas de couve, em condições controladas ( $26 \pm 1^\circ \text{C}$ ; foto período de  $11 \pm 0,5 \text{ h}$ ; 65-70% de umidade relativa), no Laboratório de Biologia de Insetos da Área de Fitossanidade do Departamento de Agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco

##### **4.6.1-Avaliação do efeito deterrente alimentar e ensaio lagartícida**

Para avaliação do efeito deterrente alimentar, discos de folhas de couve frescas (3 cm de diâmetro) foram perfurados com uma agulha e imersos no extrato de folhas de *S. malaccense* (1%, m/v) ou em água destilada (controle). Após secagem ao ar durante 40 min, um disco de folha tratado foi colocado numa placa de Petri e cinco lagartas de *P. xylostella* no terceiro instar (sem alimentação por 4 h) foram introduzidas em cada placa. Foram realizadas quintuplicatas e a taxa de consumo pelas lagartas após 24 h foi determinada subtraindo-se o peso dos discos antes e depois de oferecidos às lagartas. O resultado foi expresso como valor percentual, considerando 100% o peso inicial de cada disco.

O potencial larvicida do extrato de folhas foi investigado de acordo com Lingathurai et al. (2011). Discos de folhas de couve tratados como descrito

anteriormente contendo o extrato de folhas (0,5%, m/v) ou água destilada (controle) foram oferecidos às lagartas de *P. xylostella* no primeiro instar, durante 24 h em placas de Petri. Após esse tempo, as larvas foram continuamente mantidas alimentadas com folhas de couve não tratadas, trocadas a cada 24h. Cada tratamento recebeu 10 lagartas por placa e a sobrevivência das lagartas foi acompanhada até a emergência de adultos.

#### **4.6.2- Efeito do extrato de folhas de *S. malaccense* sobre o comportamento de oviposição de fêmeas de *P. xylostella***

Adultos de *P. xylostella* foram sexados e três casais foram separados para cada tratamento. Os experimentos foram realizados em gaiolas plásticas (14×11×5 cm), onde cada uma recebeu, para servir de sítio de oviposição, um disco de folha de couve (5 cm de diâmetro) previamente imerso no extrato de folhas a 1% (teste) ou em água destilada (solução controle) por 30 s. Durante o ensaio, os insetos foram alimentados *ad libitum* com solução de glicose (10%, p/v). A quantidade de ovos depositados sobre os discos de folhas foi registrada após 48 h de acordo com Pascual-Villalobos e Robledo (1998).

#### **4.6.3 - Avaliação da resistência do extrato de folhas de *S. malaccense* ao aquecimento e às condições ambientais**

O extrato de folhas de *S. malaccense* a 1% foi avaliado quanto às atividades hemaglutinante (conforme descrito no item 4.2) e deterrente alimentar (conforme descrito no item 4.5) após o aquecimento a 100 °C por 10, 20, 30, 40 ou 60 minutos.

O extrato de folhas a 1% foi também exposto por 192 h (28 de junho a 05 de julho de 2017, Recife, Pernambuco, Brasil) às condições ambientais (Índice UV variando entre 1 a 14, temperatura variando de 25 a 30 °C e umidade relativa variando de 69 a 92%; Ministério da Ciência e tecnologia do Brasil – CPTEC/INPE; cada unidade de índice UV corresponde a 25 mW/m<sup>2</sup> de energia). Após essa exposição, a atividade hemaglutinante e o efeito deterrente alimentar foram novamente avaliados.

#### **4.7-Análise estatística**



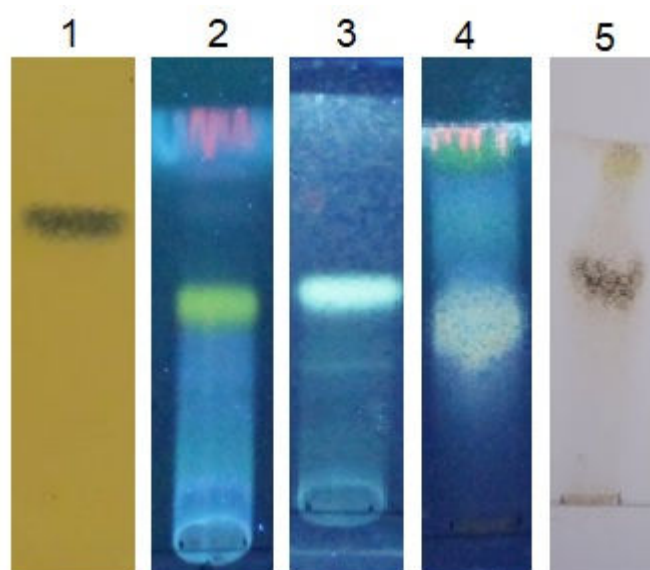
Todos os resultados foram expressos como média entre as replicatas  $\pm$  desvio padrão e as diferenças entre os tratamentos foram determinadas utilizando o teste T de Student, considerando significativos valores de  $p < 0,05$ .

## 5– RESULTADOS E DISCUSSÃO

Este trabalho foi motivado pelos graves prejuízos econômicos causados por *P. xylostella* no cenário internacional, bem como pela dificuldade em controlar populações dessa praga, considerada multirresistente. A escolha de *S. malaccense* foi baseada na importância popular dessa espécie e nos relatos prévios da presença de lectinas em seus tecidos, uma importante classe de proteínas, que pode apresentar atividade inseticida. Nesse sentido, as avaliações descritas a seguir foram baseadas na hipótese de que o extrato de folhas de *S. malaccense* contém metabólitos previamente reportados como agentes inseticidas e pode ser capaz de afetar o comportamento alimentar e a sobrevivência de larvas, bem como a oviposição por fêmeas de *P. xylostella*. Adicionalmente, foi investigado se os principais efeitos do extrato eram resistentes ao aquecimento e à exposição às condições ambientais.

A análise fitoquímica do extrato de *S. malaccense* por cromatografia em camada delgada revelou a presença dos metabólitos secundários polifenóis (taninos hidrolisáveis), flavonóides, esteróides, saponinas e açúcares redutores (Figura 4). Por outro lado, não foram detectados taninos condensados, derivados cinâmicos, cumarinas, alcalóides e antraconas no extrato de folhas.

O potencial inseticida de metabólitos secundários, incluindo as classes detectadas no extrato de folhas em nosso estudo, tem sido amplamente reportado. O extrato metanólico de bulbos de *Urginea maritima* contendo polifenóis e flavonóides foi tóxico por contato e por ingestão para o gorgulho do arroz *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). Os autores sugeriram que a toxicidade do extrato pode estar relacionada à inibição da acetilcolinesterase dos insetos (MAAZOUN et al., 2017). O extrato de flores de *Moringa oleifera* contendo flavonóides (quercetina e campferol) e esteróides ( $\beta$ -amirina) causou mortalidade de larvas de *Aedes aegypti*, provavelmente por inibir a tripsina do intestino das larvas (PONTUAL et al., 2012). Dolma et al. (2017) reportaram que larvas de segundo instar de *P. xylostella* são sensíveis ao tratamento com saponina ( $LC_{50}=2106,32$  mg/L) após 96 h de exposição.



**Figura 5** - Análise fitoquímica do extrato de folhas de *Syzygium malaccense* por cromatografia em camada delgada.

1. Banda correspondente à presença de polifenóis revelada utilizando cloreto férrico. 2. Banda correspondente à presença de flavonóides revelada utilizando cloreto de alumínio. 3. Banda correspondente à presença de esteróides revelada utilizando solução de Lieberman-Burchard sob aquecimento. 4. Banda correspondente à presença de saponinas revelada utilizando solução de Lieberman-Burchard sob aquecimento. 5. Banda correspondente à presença de açúcares redutores revelada utilizando solução de Timol e  $H_2SO_4$  (10%) a quente.

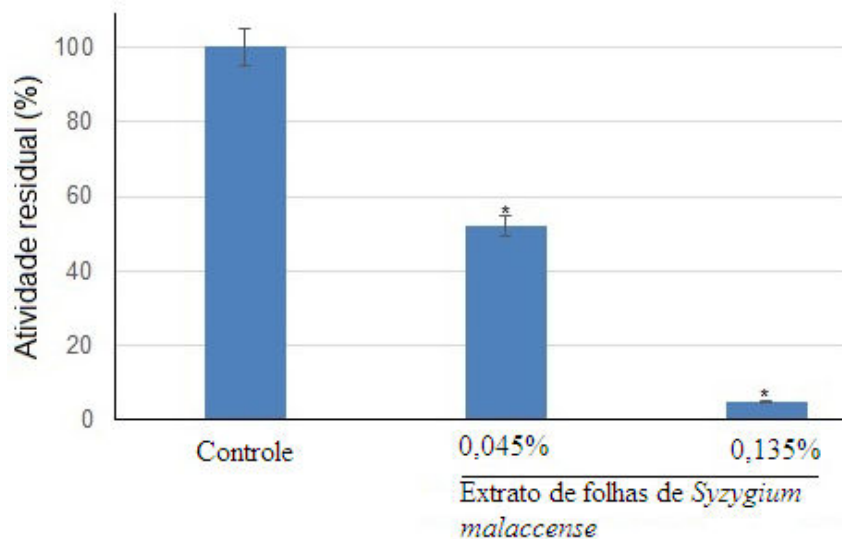
O extrato de folhas de *S. malaccense* foi capaz de aglutinar eritrócitos de coelho (atividade hemaglutinante = 64), sugerindo a presença de lectinas. Para confirmar se este resultado refletiu a ligação entre lectinas do extrato de folhas e glicoproteínas ou glicolípideos da membrana dos eritrócitos, foi realizado um ensaio de inibição da atividade hemaglutinante, onde carboidratos ou glicoproteínas livres foram adicionados ao extrato com o objetivo de ocupar os sítios de ligação presentes na estrutura das lectinas e impedir sua interação com os eritrócitos.

A atividade hemaglutinante do extrato foi inibida parcialmente por manose e N-acetilglicosamina e neutralizada na presença das glicoproteínas fetuína e ovoalbumina (Tabela 4), o que confirma que a aglutinação dos eritrócitos pelo extrato de folhas resultou da ação de lectinas. Adicionalmente, o ensaio demonstrou que as lectinas presentes no extrato têm maior afinidade por açúcares complexos do que por monossacarídeos.

Amostra	Atividade hemaglutinante
<b>Monossacarídeos</b>	
Glicose	64
Galactose	64
Manose	32
N-acetil-glicosamina	32
<b>Glicoproteínas</b>	
Fetuína	0
Ovoalbumina	0

**Tabela 4** - Atividade hemaglutinante do extrato de folhas de *S. malaccense* na presença de carboidratos e glicoproteínas. Atividade hemaglutinante do extrato na ausência de carboidratos: 64

Com o objetivo de investigar outra classe de proteínas que têm sido relatadas como potenciais agentes tóxicos para insetos, o presente estudo avaliou a presença de inibidores de proteases no extrato de folhas de *S. malaccense*. Os resultados indicaram que o extrato apresenta compostos com atividade inibidora de tripsina, uma vez que a hidrólise do BApNA foi reduzida na sua presença (Figura 5).



**Figura 6.** Atividade inibidora de tripsina do extrato de folhas de *Syzygium malaccense*. Concentrações do extrato de folhas: m/v. Controle: água destilada. Os asteriscos indicam diferença significativa entre os tratamentos com o extrato de folhas e o controle.

A toxicidade de inibidores de proteases para insetos tem sido relatada e os efeitos podem incluir prejuízos aos processos digestivos, acarretando na morte por inanição. O inibidor de tripsina de flores de *M. oleifera* promoveu mortalidade de larvas recém-eclodidas de *A. aegypti* com CL<sub>50</sub> de 0,3 mg/mL, inibiu o crescimento (CMI de 0,031 mg/mL) ou causou a morte (CMB de 1,0 mg/mL) de bactérias do intestino de L<sub>4</sub> (PONTUAL et al., 2014).

Uma vez que o potencial inseticida de lectinas e inibidores de proteases tem sido amplamente relatado (DE OLIVEIRA et al., 2016) e que nossos resultados revelaram a presença de proteínas dessas classes no extrato de folhas, essa preparação foi investigada quanto ao efeito no comportamento alimentar e na sobrevivência de larvas de *P. xylostella*.

A taxa de consumo das folhas de couve pelas larvas foi maior no grupo controle do que no grupo teste (Tabela 5). Este resultado indicou que o extrato de folhas exerceu efeito deterrente de alimentação. Este efeito é geralmente devido à ação de compostos fixos e exige o contato prévio das larvas com as amostras antes que haja a sua rejeição. Por outro lado, o efeito chamado de repelente, geralmente está associado à ação de compostos voláteis que as larvas podem detectar sem que haja a ingestão prévia da dieta contendo o tratamento.

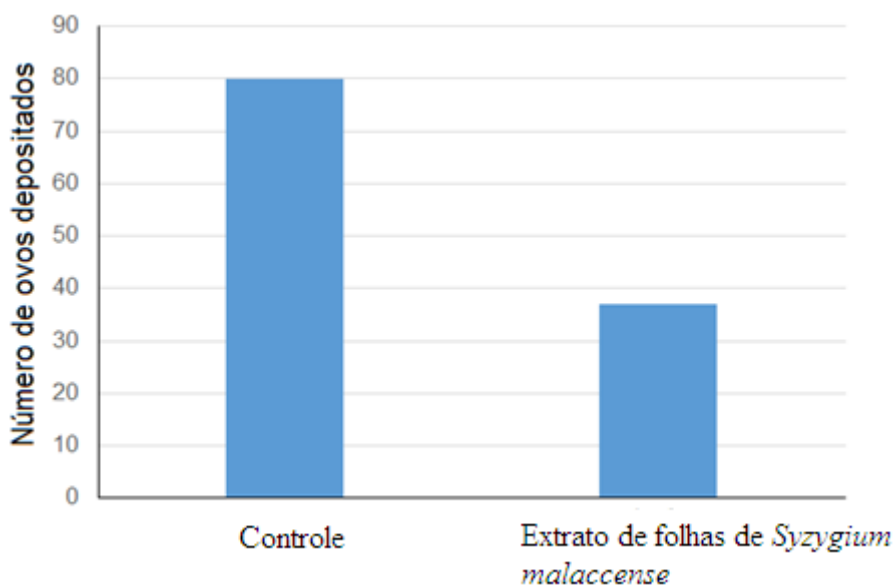
<b>Tratamento</b>	<b>Consumo (%)</b>
Controle	45,70 ± 2,51 <sup>a</sup>
Extrato de folhas	
1%	34,63 ± 0,02 <sup>b</sup>
1% aquecido por 10 min	23,95 ± 0,05 <sup>c</sup>
1% aquecido por 20 min	29,59 ± 0,41 <sup>d</sup>
1% aquecido por 30 min	29,70 ± 0,30 <sup>d</sup>
1% aquecido por 40 min	29,80 ± 0,05 <sup>d</sup>
1% aquecido por 60 min	38,90 ± 0,10 <sup>e</sup>

**Tabela 5-** Taxa de consumo das folhas de couve por larvas de *Plutella xylostella* tratadas com o extrato de folhas de *Syzygium malaccense* submetido ou não ao aquecimento (100°C). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos determinadas pelo teste T de Student (p < 0,05).

O extrato de folhas exerceu também toxicidade aguda por ingestão para as lagartas, causando uma mortalidade de 80 ± 15%, a qual foi considerada significativa (p

= 0,007) quando comparada à detectada no grupo controle ( $30 \pm 10\%$ ). Para o nosso conhecimento, este é o primeiro relato de uma amostra vegetal contendo lectinas que exerceu toxicidade para larvas de *P. xylostella*.

A investigação do efeito do extrato de folhas de *S. malaccense* sobre o comportamento de oviposição das fêmeas de *P. xylostella* mostrou um efeito também deterrente, uma vez que nos discos tratados com o extrato de folhas de *S. malaccense* foi detectada a presença de cerca de 37 ovos, menos que a metade registrados nos discos tratados com solução controle (Figura 6), que totalizaram 80 ovos.



**Figura 7.** Efeito do extrato de folhas de *S. malaccense* (1%, m/v) sobre o comportamento de oviposição de *P. xylostella*.

Tem sido reportado que outras preparações de origem vegetal são capazes de interferir no comportamento de oviposição dos insetos. A lectina de sementes de *M. oleifera* solúvel em água, por exemplo, foi atraente de oviposição para fêmeas de *A. aegypti* uma vez que estas colocaram seus ovos preferencialmente (73%) em recipientes contendo solução da lectina a 0,1 mg/mL, em comparação com recipientes contendo apenas água destilada (27%). Os autores mostraram que as amostras estavam livres de compostos voláteis (SANTOS et al., 2012). Selvaraj et al. (2017) reportaram que extratos de diferentes partes de *Strychnos nux-vomica* obtidos com diferentes solventes apresentaram efeito deterrente de oviposição, sendo o efeito máximo detectado (69,81%) quando sítios de oviposição contendo o extrato de frutos em clorofórmio foram oferecidos às fêmeas.

Com o objetivo de fornecer melhor compreensão sobre o princípio ativo do extrato, selecionamos o efeito deterrente alimentar e a atividade de lectinas. O aquecimento (100 °C) do extrato de folhas durante 10, 20, 30, 40 e 60 min e em seguida avaliamos as atividades deterrente alimentar e hemaglutinante. Os resultados revelaram que ao ser aquecido a 100 °C por 10 min, o extrato de folhas apresentou aumento tanto do efeito deterrente alimentar (Tabela 5), refletido pela redução na taxa de consumo pelas larvas, quanto da sua atividade hemaglutinante (Tabela 6). Juntos estes dados sugerem que o efeito deterrente de alimentação detectado pode envolver a participação da lectina do extrato de folhas.

<b>Amostra</b>	<b>Atividade Hemaglutinante</b>
Extrato de folhas	
1%	64
1% aquecido por 10 min	1024
1% aquecido por 20 min	256
1% aquecido por 30 min	256
1% aquecido por 40 min	256
1% aquecido por 60 min	256

**Tabela 6** - Atividade hemaglutinante do extrato de folhas de *Syzygium malaccense* submetido ou não ao aquecimento a 100°C.

Este resultado também sugere que o aquecimento do extrato pode ter resultado em um rearranjo estrutural da lectina potencializando suas atividades biológicas. Um comportamento semelhante entre as atividades hemaglutinante e deterrente alimentar foi também detectado após aquecimento do extrato de folhas de 20 a 60 min, corroborando com a idéia de serem ambas as atividades desenvolvidas pela mesma proteína. Quando o extrato de folhas foi aquecido a 100 °C durante 20 a 60 min, as atividades hemaglutinante e deterrente alimentar foram reduzidas em relação ao extrato aquecido por 10 min, mas ainda maiores que aquelas registradas para o extrato não aquecido, sugerindo que a lectina pode ter sofrido algum grau de desnaturação. Estudos empregando o extrato incubado com fetuína ou ovoalbumina, glicoproteínas que melhor inibiram a atividade hemaglutinante dessa preparação, podem ser realizados na tentativa de apontar a lectina como princípio ativo do extrato.

A resistência do extrato de folhas à exposição ao ambiente foi também avaliada. Os resultados mostraram que a taxa de consumo ( $43,53 \pm 3,00$ ) das larvas tratadas com o extrato de folhas exposto ao ambiente não diferiu significativamente ( $p = 0,09$ ) daquela determinada para as larvas do grupo controle ( $45,70 \pm 2,51$ ), indicando que o efeito deterrente alimentar do extrato de folhas foi anulado pela exposição ao ambiente (Tabela 5). De um ponto de vista ecológico, este resultado parece ser vantajoso para a aplicação dessa preparação na proteção de culturas de brássicas, uma vez que sugere que os componentes do extrato não irão persistir ou acumular no ambiente ao contrário do que acontece com os inseticidas sintéticos, que possuem uma grande persistência no ambiente, podendo acumular nos níveis tróficos (BRAGA et al., 2007; JUNIOR et al., 2012). Em resumo, os efeitos deletérios do extrato de folhas de *S. malaccense* para *P. xylostella* incluem até agora os efeitos: lagartícida, deterrente alimentar e deterrente de oviposição.

## 6- CONCLUSÃO

O extrato aquoso de folhas de *S. malaccense* contém metabólitos secundários, lectinas e inibidores de tripsina, bem como representa um agente para controle de populações de *P. xylostella* por causar mortalidade de lagartas ou interferir no seu comportamento alimentar ou de oviposição.

O efeito deterrente de alimentação reportado aqui parece envolver a ação da lectina presente no extrato. Em adição, a sensibilidade do extrato de folhas às condições ambientais pode ser vantajosa de um ponto de vista ecológico por garantir que este não irá acumular no ambiente.



## 7- REFERÊNCIAS

- AFFONSO, R. S.; RENNÓ, M. N.; SLANA, G. B. C. A. & FRANCA, T. C. C., 2012. **Aspectos Químicos e Biológicos de óleos essenciais de cravo da Índia**. Revista Virtual de Química, 4: 146-161.
- AHMAD, Mahmood. **Diamondback moth, *Plutella xylostella*: a review of its biology, ecology and control**. Journal of agricultural research, v. 43. p. 361-382, 2005.
- ANVISA, 2016. **Programa de Análise de Resíduos em Alimentos – PARA**. Relatório das amostras monitoradas no período de 2013 a 2015.
- BACCI, L.; PICANÇO, M. C.; SILVA, E. M.; MARTINS, J. C.; CHEDIK, M.; SENA, M. E. **Seletividade fisiológica de inseticidas aos inimigos naturais de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) em brássicas**. Ciência e Agrotecnologia, v. 33, Edição Especial, p. 2045-2051, 2009.
- BIRK, Y. **Plant Protease Inhibitors: Significance in Nutrition, Plant Protection, Cancer Prevention and Genetic Engineering**. Springer-Verlag, Berlin, p. 1-170, 2003.
- BRAGA, I. P.; VALLE, D. ***Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência**. 2007.
- BRUSTEIN, V. P. et al. **A novel antimicrobial lectin from *Eugenia malaccensis* that stimulates cutaneous healing in mice model**. Inflammopharmacology, v. 20, n. 6, p. 315- 322, 2012.
- BUENO, N. R., CASTILHO, R. O.; COSTA, R. B., POTT, A., POTT, V. J., Sheidt, G. N. & BATISTA, M. S. 2005. **Medicinal plants used by the Kaiowá and Guarani indigenous populations in the Caarapó Reserve, Mato Grosso do Sul, Brazil**. Acta Botanica Brasilica 19 (1): 39-44.
- CAMAROTI, J. R. S. L.; ALMEIDA, W. A.; BELMONTE, B. R.; OLIVEIRA, A. P. S.; LIMA, T. A.; FERREIRA, M. R. A.; PAIVA, P. M. G.; SOARES, L. A. L.; PONTUAL, E. V.; NAPOLEÃO, T. H. ***Sitophilus zeamais* adults have survival and nutrition affected by *Schinus terebinthifolius* leaf extract and its lectin (SteLL)**. Industrial Crops and Products, v. 116, p. 81-89, 2018.
- CAMPELO, C. R. 1988. **Contribuição ao estudo das plantas medicinais no Estado de Alagoas**. V. *Acta-Amazonica 18 (Supl)*: 305-312.
- CAPINERA, J.L. **Handbook of Vegetable Pests**. Academic Press, 2001, 729 p.
- CARDOSO, M. O.; PAMPLONA, A. M. S. R.; MICHEREFF FILHO, M. **Recomendações técnicas para o controle de lepidópteros-praga em couve e repolho no Amazonas**. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2010. 15 p. (Embrapa Amazônia Ocidental. Circular Técnica, 35).

CASTELO BRANCO, M.; FRANÇA, F. H.; VILLAS BÔAS, G. L. **Traca-das-crucíferas *Plutella xylostella*: artrópodes de importância econômica.** EMBRAPA-CNPQ. Comunicado Técnico da EMBRAPA Hortícolas, 1997.

CASTELO BRANCO, M.; FRANÇA, F. H.; MEDEIROS, M. A.; LEAL, J. G. T. **Uso de inseticidas para o controle da traça-do-tomateiro e traça-das-crucíferas: um estudo de caso.** Horticultura Brasileira, v.19, n.1, p.60-63, 2001.

CASTELO BRANCO, M.; FRANÇA, F. H.; PONTES, L. A. & AMARAL, P. S. T. 2003. **Avaliação da suscetibilidade a inseticidas em populações da traça-das-crucíferas de algumas áreas do Brasil.** Horticult. Bras. 21: 549-552.

CASTELO BRANCO, M.; GATEHOUSE, A. G. **Insecticide resistance in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae) in the Federal District, Brazil.** Anais da Sociedade Entomológica do Brasil, v. 26, n. 1, p.75-79, 1997.

CASTELO BRANCO, M.; MELO, C. A. (2002). **Resistência a abamectin e cartap em populações de traça-das-crucíferas.** Horticultura Brasileira, 20 (4): 541-543.

COELHO, L. C. B. B.; SILVA, M. B. R. **Simple method to purify milligram quantities of the galactose-specific lectin from the leaves of *Bauhinia monandra*.** Phytochemical Analysis. 11, p. 295-300, 2000.

COSTA, R. S.; OLIVEIRA, I. V. M.; MÔRO, F. V.; MARTINS, A. B. G. **Aspectos morfológicos e influencia de tamanho da semente na germinação de jambeiro vermelho.** Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, v. 28, n.1, p. 117-120, 2006.

CRUZ, A. V. de M.; KAPLAN, M. A. C. **Uso medicinal de espécies das famílias myrtaceae e melastomataceae no Brasil.** Floresta e Ambiente, Rio de Janeiro, v. 11, n. 1, p.47-52, dez. 2004.

CZEPAK, C.; FERNANDES, P. M.; SANTANA, H. G.; TAKATSUKA F. S.; ROCHA, C. L. **Eficiência de inseticidas para o controle de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: plutellidae) na cultura do repolho (brassica oleracea var. Capitata).** Pesquisa Agropecuária Tropical, 35 (2): 129-131, 2005.

DE BORTOLI, S.A. 2009. **Criação de insetos: da base à biofábrica.** Jaboticabal: Edição própria. p. 12-56.

DE BORTOLI, S. A., R. A. POLANCZYK, A. M. VACARI, C. P. DE BORTOLI & R. T. DUARTE. 2013. ***Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae): Tactics for integrated pest management in Brassicaceae.** Weed and Pest Control- Conventional and New Challenges. Rijeka: InTech. 31-51.

DE OLIVEIRA A. C. et al. **The potential use of shear viscosity to monitor polymer conditioning of sewage sludge digestates.** Water Research 105 (2016) 320 e 330.

DE OLIVEIRA, A.C. de et al. **Resistance of Brazilian diamondback moth populations to insecticides.** Scientia Agrícola, v. 68, n. 2, p. 154-159, 2011.

DE OLIVEIRA, C. F. R. et al. **Evaluation of seed coagulant *Moringa oleifera* lectin (cMoL) as a bioinsecticidal tool with potential for the control of insects.** *Process Biochemistry*, v. 46, n. 2, p. 498-504, 2001.

DE LA ROSA, W.; LOPEZ, F.L.; LIEDO, P. ***Beauveria bassiana* as a pathogen of the Mexican fruit fly (Diptera: Tephritidae) under laboratory conditions.** *Journal of Economic Entomology*, v. 95, p. 36-43, 2002.

DE OLIVEIRA, R. N.; DIAS, I. J. M.; CÂMARA, C. A. G. **Estudo comparativo do óleo essencial de *Eugenia punicifolia* (HBK) DC. de diferentes localidades de Pernambuco.** *Rev. Bras. Farmacogn.* (15): 39-43, 2005.

DIBELLI, W. **Desenvolvimento de *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) em Brassicaceae ao longo de gerações.** 2014. 66 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2014.

DONADIO, C. D.; NACHTGAL, J. C.; SACRAMENTO, C.K. **Frutas exóticas.** Jaboticabal: FUNEP, 1998. 279 p.

DUNSTAN, C. A.; NOREEN Y.; SERRANO, G.; COX, P. A.; PERERA, P.; BOHLIN, L. 1997. **Evaluation of some Samoan and Peruvian medicinal plants by prostaglandin biosynthesis and rat ear oedema assays.** *J Ethnopharmacol* 57: 35-56. *Electronic Journal of Biotechnology*. v. 5, p. 93-109, 2002.

EMBRAPA. **Proteases e Inibidores de Proteases na Defesa de Plantas Contra Pragas.** Célia Regina Tremacoldi, 2009.

EMBRAPA. **Traca-das-cruíferas *Plutella xylostella*: Artrópodes de importância econômica.** BRANCO, M. C.; FRANÇA, F. H.; BÔAS, Geni L. V. 1997.

FARIA, A. F.; MARQUES, M. C.; MERCADANTE, A. Z. **Identification of bioactive compounds from jambolão (*Syzygium cumini*) and antioxidant capacity evaluation in different pH conditions.** *Food Chemistry*, v. 126, p. 1571-1578, 2011.

FERNÁNDEZ, S.A.; ALVAREZ, C. **Biología de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae) polilla del repollo (Brassica oleraceae L.) en condiciones de laboratorio.** *Agronomía Tropical*, v. 38, n. 4-6, p. 17-28, 1988.

FONSECA, C. R. da; CARVALHO, F. A. **Aspectos florísticos e fitossociológicos da comunidade arbórea de um fragmento urbano de floresta atlântica (Juiz de Fora, MG, Brasil).** *Bioscience Journal*, Uberlândia, v. 28, n. 5, p. 820-832, out. 2012.

FREIRE, E. A. M. et al. **Isolation and partial characterization of a navel lectin from *Talisia esculenta* seeds that interferes with fungal growth.** *Plant Physiology and Biochemistry* v. 40. p. 61-68, 2002.

FURLONG, M. J.; WRIGHT, D.J. & DOSDALL, L.M.. 2013. **Diamondback moth ecology and management: problems, progress, and prospects.** *Annu Rev. Entomol.* 58: 517-541.

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

GARCEZ, W. S., F. R. GARCEZ, L. M. G. E. SILVA & SARMENTO, U. C.. 2013. **Substâncias de origem vegetal com atividade larvicida contra *Aedes aegypti***. Rev. Virtual Quim. 5: 363-393.

GIBBERT, L.; BERTIN, R.; KRUGER, C.H. **Breve revisão da espécie *Syzygium malaccense* (L.) Merr. & I.M. Perry como fonte de compostos bioativos**. Visão Acadêmica, Curitiba, v. 18, n. 4, Out. - Dez./2017 - ISSN 1518-8361.

GRESSLER, E. **Polinização e dispersão de sementes em Myrtaceae do Brasil**. Revista Brasileira de Botânica, São Paulo, v. 29, n. 4, p.509-530, out/dez. 2006.

GRZYWACZ, D, A.; ROSSBACH, A.R.; RUSSELL, D.; SRINIVASAN, R. & SHELTON, A. M. 2010. **Current control methods for diamondback moth and prospects for improved management with lepidopteran-resistant Bt vegetables brassicas in Asia and Africa**. Crop Prot. 29: 68-79.

GUIMARÃES, S. S.; POTRICH, M.; DA SILVA, L. R. E.; WOLF, J.; PEGORINI, S. C.; DE OLIVEIRA, M. T. **Ação repelente, inseticida e fagoicida de extratos de pimenta dedo-de-moça sobre o gorgulho do milho**. Arq Inst Biol, v. 81, n. 4, p. 322-328, 2014.

HAQ, S. K.; ATIF, S. M.; KHAN, R. H. (2004). **Protein inibidor genes in combat against insects, pests and pathogens: natural and engineered phytoprotection**. Archives of Biochemistry and Biophysics, 431, 145-159.

HUSSAIN, M.; QASIM, M.; BAMISILE, B.S.; WANG, L. **Role of saponins in plant defense against the Diamondback Moth, *Plutella xylostella* (L.)**. Preprints, v. 1, p. 1-28, 2017.

HUSSEIN, S.A.M.; HASHEM A.N.M.; SELIEM, M.A.; LINDEQUIST, U.; NAWWAR, M. A.M. **Polyoxygenated flavonoids from *Eugenia edulis***. Phytochemistry, (64): 883-889, 2003.

JÚNIOR, M. L. A.; LAZZARI, N. M. S.; JÚNIOR, P. R. A. **Inibidores de enzimas digestivas de insetos-praga**. Rev. Acad., Curitiba, v.4, n.1, p. 57-61, jan./mar. 2006.

JÚNIOR, S. B. E. et al. **Eficiência agrônômica de nova formulação de inoculante rizobiano para feijão-caupi**. Pesq. agropec. bras. Brasília, v. 47, n.1, p.138-141, jan. 2012.

KAFLE, L. & SHIH, C. J., 2013. **Toxicity and Repellency of Compounds from Clove (*Syzygium aromaticum*) to Red Imported Fire Ants *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae)**. Bio One Research Evolved, 106: 131-135.

KRINSKI, D.; MASSAROLI, A.; MACHADO, M. **Potencial inseticida de plantas da família Annonaceae**. Revista Brasileira de Fruticultura, v. 36, p. 225-242, 2014.

LAMOTHE, L. M. et al. **Quinoa (*Chenopodium quinoa* W.) and amaranth (*Amaranthus caudatus* L.) provide dietary fibres high in pectic substances and xyloglucans.** Food Chemistry, United States, v. 167, n. 1, p. 490-496, jul. 2014.

LAWRENCE, P. K.; KOUNDAL, K. R. **Plant protease inhibitors in control of phytophagous insects.** (2002).

LEITE, L. G.; ALVES, S. B.; WRAIGHT, S. P.; GALAINI-WRAIGHT, S.; ROBERTS, D. W. **Habilidade de Infecção de Isolados de *Zoophthora Radicans* sobre *Empoasca Kraemeri*.** Sci. agric. vol. 53 n. 1 Piracicaba Jan./Apr. 1996.

LIMBERGER RP, SOBRAL M, HENRIQUES AT, MENUT C, BESSIÈRE JM. 2004. **Óleos voláteis de espécies de *Myrcia* nativas do Rio Grande do Sul.** *Quim Nova* 27: 916-919.

LIN, Q.; JIN, F.; HU, Z.; CHEN, H.; YIN, F.; LI, Z.; DONG, X.; ZHANG, D.; REN, S.; FENG, X. (2013). **Transcriptome Analysis of Chlorantraniliprole Resistance Development in the Diamondback Moth *Plutella xylostella*.** Plos one, 8.

LINGATHURAI, S.; EZHIL, V. S.; GABRIEL, P. M.; IGNACIMUTHU, S. 2011. **Antifeedant and larvicidal activities of *Acalypha fruticosa* Forssk. (Euphorbiaceae) against *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Yponomeutidae) larvae.** J King Saud Univ-Sci. 23:11–16.

LOCHER, C.P.; BURCH, M.T.; MOWER, H.F.; BERESTECKY, J.; DAVIS, H.; VAN POEL, B.; LASURE, A.; VANDEN, B. D. A.; VLIETINCK, A.J. 1995. **Anti-microbial activity and anti-complement activity of extracts obtained from selected Hawaiian medicinal plants.** *J Ethnopharmacol* 49: 23-32.

LOCHER, C.P.; WITVROUW, M.; BETHUNE, M.P. BURCH, M.T.; MOWER, H. F.; DAVIS, H.; LASURE, A.; PAUWELS, R.; CLERCQ, E.; VLIETINCK, A.J. 1996. **Antiviral activity of Hawaiian medicinal plants against human immunodeficiency virus type-1 (HIV- 1).** *Phytomedicine* 2: 259-264.

LORENZI, H.; BACHER, L.; LACERDA, M.; SARTORI, S. **Frutas Brasileiras e Exóticas Cultivadas.** Instituto Plantarum: Nova Odessa, 2006.

LOUREIRO, E.S.; MONTEIRO, A.C. **Seleção de isolados de *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e *Paecilomyces farinosus*, patogênicos para operárias de *Atta sexdens sexdens* (Linnaeus, 1758) (Hymenoptera: Formicidae).** Arquivo do Instituto Biológico, v. 71, p.35-40, 2004.

MAAZOUN, M. M.; HLEL, B. T.; HAMDI, H. S.; BELHADJA, F.; JEMÂAB, J. M. B.; MARZOUKI, M. N. **Screening for insecticidal potential and acetylcholinesterase activity inhibition of *Urginea maritima* bulbs extract for the control of *Sitophilus oryzae* (L.).** Journal of Asia-Pacific Entomology 20 (2017) 752–760.

MACEDO, M. L. R. et al. **Insecticidal action of *Bauhinia monandra* leaf lectin (BmoLL) against *Anagasta kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae), *Zabrotes***

*subfasciatus* and *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). Comparative Biochemistry and Physiology A, v. 146, n. 4, p. 486-498, 2007.

MAGALHÃES, G. O., A. M. VACARI, V. L. LAURENTIS, S.A. DE BORTOLI & R. A. POLANCZYK. 2014. **Interactions of *Bacillus thuringiensis* bioinsecticides and the predatory stink bug *Podisus nigrispinus* to control *Plutella xylostella*.** J. Appl Entomol. 139: 123-133.

MARTINEZ, S.S. **O nim: *Azadirachta indica*: natureza, usos múltiplos, produção.** 2ª ed. Londrina: IAPAR, 2002. 142 p.

MEDEIROS, K.C.P. et al. **Effect of the activity of the Brazilian polyherbal formulation: *Eucalyptus globules* Labill, *Peltodon radicans* Pohl and *Schinus terebinthifolius* Radd in inflammatory models.** Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 17, n. 1, p. 23-28, 2007.

MEDEIROS, P. T. et al. **Seleção e caracterização de estirpes de *Bacillus thuringiensis* efetivas no controle da traça-das-crucíferas *Plutella xylostella*.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 40, n. 11, p. 1145-1148, 2005.

MELO, R. R.; ARAÚJO, É. R. S.; SILVA, A. A. L.; RANDAU, K. P. & XIMENES, E. C. P. A. **Características farmacobotânicas, químicas e biológicas de *Syzygium malaccense* (L.) Merr. & I. M. Perry.** Rev. Bras.R.e Fva. rBmr.a,s 9. 0F (a4r):m 2.,9 89-03(042),, 22000099. 2009.

METARRIZ BIOCONTROL. Disponível em: <http://www.biocontrol.com.br/produtos-metarriz.php> (Acesso 23/01/19 às 21:16)

MILLAN, M. M.; CRUZ, M. E. da S.; SOUZA, S. P. J.; FERREIRA G. da S. S.; FERREIRA, R. B. **Efeito inseticida da terra diatomácea em cevada armazenada.** Revista Brasileira de Agroecologia, Bahia, v. 2, n. 2, p. 1135-1139, 2007.

MIYATA, T.; KAWAI, H.; SAITO, T. (1982) **Insecticide resistance in the Diamondback Moth *Puitella xylostella* L. (Lepidoptera: Yponomeutidae).** Applied Entomology and Zoology, 17:539-542.

MICHIELS, K.; VAN DAMME, E. J. M. & SMAGGHE, G. 2010. **Plant-insect interactions: what can we learn from plant lectins?** Arch. Insect. Biochem. Physiol. 73: 193–212.

MONNERAT, R. G. et al. **Caracterização de populações geograficamente distintas da traça-das-crucíferas por susceptibilidade ao *Bacillus thuringiensis* Berliner e RAPD-PCR.** Horticultura Brasileira, v. 22, n. 3, p. 607-609, 2004.

MORAIS, L. A. S.; MARINHO-PRADO, J. S. **Plantas com Atividade Inseticida.** 2014.

MORDUE, A. J.; MORGAN, E. D.; NISBET, A. J. **Azadirachtin, a natural product in insect control.** In: LAWRENCE, I.G.; SARJEET, S.G. (Ed.). Insect control: biological and synthetic agents, 2010. p.185-197.

MOREIRA, L. F. **Preferência e performance de *Plutella xylostella* em relação às características bromatológicas e idade foliar de Brassicáceas.** 2011. 78 f. Tese (Doutorado Bioquímica Agrícola) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2011.

NAPOLEÃO, T. H.; DE ALBUQUERQUE, L. P.; DE LIMA SANTOS, N. D.; VILA NOVA, I. C.; DE ALBUQUERQUE LIMA, T.; PAIVA, P. M. G.; PONTUAL, E. V. **Insect midgut structures and molecules as targets of plant-derived protease inhibitors and lectins.** PEST MANAGEMENT SCIENCE, v. 75, p. 1212-1222, 2019.

NAPOLEÃO, T. H.; PONTUAL, E.V.; LIMA, T.A.; SANTOS, N.D.L.; SÁ, R.A.; COELHO, L.C.B.B.; NAVARRO, D.M.A.F.; PAIVA, P.M.G. **Effect of *Myracrodruon urundeuva* leaf lectin on survival and digestive enzymes of *Aedes aegypti* larvae.** Parasitology Research, v. 110, p. 609–616, 2012.

NAPOLEÃO, T. H.; ALBUQUERQUE, L. P.; SANTOS, N. D. L.; VILA NOVA, I. C.; LIMA, T. A.; PAIVA, P. M. G. & PONTUAL, E. V. **Insect midgut structures and molecules as targets of plant-derived protease inhibitors and lectins.** 2018 Society of Chemical Industry.

NEVES, P. M. O. J; HIROSE, E. **Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* para o controle biológico da broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae).** Neotropical Entomology, v. 34, p. 77-82, 2005.

NOREEN, Y.; SERRANO, G.; PERERA, P.; BOHLIN, L. 1998. **Flavan-3-ols isolated from some medicinal plants inhibiting COX1 and COX-2 catalysed prostaglandin biosynthesis.** Planta Med 64: 520-524.

OLIVEIRA, A. C.; SIQUEIRA, H. A. A.; OLIVEIRA, J. V.; SILVA, J. E.; MICHEREFF FILHO, M. **Resistance of Brazilian diamondback moth populations to insecticides.** Scientia Agrícola, Piracicaba, v. 68, n. 2, p. 154-159, 2011.

OLIVEIRA, A. M., HUMBERTO, M. M. S.; SILVA, J. M.; ROCHA, R. F. A.; SANT'ANA, A. E. G. **Estudo fotoquímico e avaliação das atividades moluscicida e larvicida dos extratos da casca do caule e folha de *Eugenia malaccensis* L. (Myrtaceae).** Ciênc. agrotec., Lavras, v. 32, n. 5, p. 1563-1567, set./out., 2006.

PAIVA, P. M. G.; GOMES, F. S.; NAPOLEÃO, T. H.; SÁ, R. A.; CORREIA, M. T. S.; COELHO, L. C. B. B. **Antimicrobial activity of secondary metabolites and lectins from plants.** In: Antonio Mendez Vilas. (Org.). Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology. : Formatex Research Center., 2010. 1:396-406.

PAIVA, P. M. G.; SANTANA, G. M. S.; SOUZA, I. F. A. C.; ALBUQUERQUE, L. P.; AGRA-NETO, A. C.; ALBUQUERQUE, A. C.; LUZ, L. A.; NAPOLEÃO, T. H. & COELHO, L. C. B. B.. 2011. **Effect of lectins from *Opuntia ficus indica* cladodes and *Moringa oleifera* seeds on survival of *Nasutitermes corniger*.** Int Biodeterior Biodegradation. 65 : 982-989.

PAIVA, P.M.G.; PONTUAL, E.V.; NAPOLEÃO, T.H.; COELHO, L.C.B.B. Lectins and trypsin inhibitors from plants: Biochemical characteristics and adverse effects on insect larvae. **Nova Science Publishers, Inc., New York, 2013.**

PASCUAL-VILLALOBOS, M. J.; ROBLEDO, A. Screening for antiinsect activity in Mediterranean plants. **Industrial Crops and Products**, v. 8, n. 3, p. 183-194, 1998.

PATRIOTA, L. L. S.; PROCÓPIO, T. F.; SOUZA, M. F. D.; OLIVEIRA, A. P. S.; CARVALHO, L. V. N.; PITTA, M. G. R.; REGO, M. J. B. M.; PAIVA, P. M. G.; PONTUAL, E. V.; NAPOLEÃO, T. H. **A Trypsin Inhibitor from *Tecoma stans* Leaves Inhibits Growth and Promotes ATP Depletion and Lipid Peroxidation in *Candida albicans* and *Candida krusei*.** *Frontiers in Microbiology* (Online) v. 7, p. 611, 2016.

PEREIRA, F.F., BARROS, R.; PRATISSOLI, D. & PARRA, J. R. P. 2004. **Biologia e exigências térmicas de *Trichogramma pretiosum* Riley e *T. exiguum* Pinto & Platner (Hymenoptera: Trichogrammatidae) criados em ovos de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae).** *Neotrop. Entomol.* 33: 231-236.

PERES, L. L. S.; SOBREIRO, A. I.; COUTO, I. F. S.; SILVA, R. M.; PEREIRA, F. F.; HEREDIA-VIEIRA, S. C.; CARDOSO, C. A. L.; MAUAD, M.; SCALON, S.P.Q.; VERZA, S.S.; MUSSURY, R.M. **Chemical compounds and bioactivity of aqueous extracts of *Alibertia* spp. in the control of *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae).** *Insects*, v. 8, n. 4, p. 1-13, 2017.

PEUMANS, W. J & VAN DAMME, E. J. M. 1996. **Prevalence, Biological Activity and Genetic Manipulation of Lectins in Foods.** *Trends Food Sci Technol.* 7: 132-138.

PIZZO, M. A. **Padrão de deposição de sementes e sobrevivência de sementes e plântulas de duas espécies de Myrtaceae na Mata Atlântica.** *Revista Brasileira de Botânica*, São Paulo, v. 26, p.3, p.371-377. Jul/set. 2003.

PONTUAL, E. V.; NAPOLEÃO, T. H. ; ASSIS, C. R. D. ; BEZERRA, R. S. ; XAVIER, H. S. ; NAVARRO, D. M. A. F. ; COELHO, L. C. B. B. ; PAIVA, P. M. G. **Effect of *Moringa oleifera* flower extract on larval trypsin and acetylcholinesterase activities in *Aedes aegypti*.** *Archives of Insect Biochem Physiol*, v. 79, p. 135-152, 2012.

PONTUAL, E.V., SANTOS, N.D.L., MOURA, M.C., COELHO, L.C.B. B., NAVARRO, D.M.A.F., NAPOLEÃO, T.H., PAIVA, P.M.G., 2014. **Trypsin inhibitor from *Moringa oleifera* flowers interferes with survival and development of *Aedes aegypti* larvae and kills bacteria inhabitant of larvae midgut.** *Parasitol Res*, 113, 727-733.

POONSRI, W., PLUEMPANUPAT, W., CHITCHIARACHAN, P., BULLANGPOTI, V. & KOUL, O., 2015. **Insecticidal alkanes from *Bauhinia scandens* var. *horsfieldii* against *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae).** *Industrial Crops and Products*, 65: 170-174.



PREVIERO, C. A. NOBREGA, S. L.; FERNANDEZ, G. A. V.; MARANHÃO, N. P.; SAMPAIO, C. P. **Avaliação do falso-açafrão na qualidade de sementes de milho (*Zea mays* L.) armazenado.** In: Congresso Brasileiro de Engenharia Agrícola, 35; Jornada de Iniciação Científica o Ceulp/ULbra, 9., 2006, João Pessoa. *Anais...* João Pessoa: ULBRA, 2006.

PROCÓPIO, Tamara F. et al. **Antibacterial lectins: action mechanisms, defensive roles and biotechnological potential.** *Antibacterials: Synthesis, properties and Biological Activities*, Nova Science Publishers Inc., New York, p. 69-89, 2017.

QU, Min et al. **Purification of a secreted lectin from *Andrias davidianus* skin and its antibacterial activity.** *Comparative biochemistry and physiology part C: Toxicology & Pharmacology*, v. 167, p. 140-146, 2015.

QUEIROZ, J. M. G; SUZUKI, M. C. M.; MOTTA, A. P. R.; NOGUEIRA, J. M. R.; DE CARVALHO, E. M. **Aspectos populares e científicos do uso de espécies de *Eugenia* como fitoterápico.** *Revista Fitos*, Rio de Janeiro, Vol. 9(2): 73-159, Abr-Jun 2015.

RANI, U.P. & MURTHY, J.M. 2008. **Botanical treatment for grain protection and their effects on seed germination and seedling performance of stored maize.** *Journal of Biopesticides*, 1: 74- 80.

RIBEIRO, L. do P.; DEQUECH, S.T.B.; RIGO, D.S.; FERREIRA, F.; SAUSEN, C.D.; STURZA, V.S.; CÂMERA, C. **Toxicidade de inseticidas botânicos sobre *Eriopsis connexa* (Coleoptera: Coccinellidae).** *Revista da FZVA*, v.16, p.246-254, 2009.

RIBEIRO, L. M. S.; WANDERLEY-TEIXEIRA, V.; FERREIRA, H. N.; TEIXEIRA, Á. A. C.; & SIQUEIRA, H. A. A.. 2013. **Fitness costs associated with field-evolved resistance to chlorantraniliprole in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae).** *Bull. Entomol. Res.* 104: 88-96.

RYAN, C. A. **Proteinase inhibitors in plants: genes for improving defenses against insects and pathogens.** *Annual Review of Phytopathology*. v. 28, p. 425–449, 1990.

SANTOS, A. F. S. et al. **Detection of water soluble lectin and antioxidant component from *Moringa oleifera* seeds.** *Water Research*, v. 39, p. 975–980, 2005.

SANTOS, N. D. L.; MOURA, K. S.; NAPOLEÃO, T. H.; SANTOS, G. K. N.; COELHO, L. C. B. B.; NAVARRO, D.M.A.F.; PAIVA, P. M. G. **Oviposition-stimulant and ovicidal activities of *Moringa oleifera* lectin on *Aedes aegypti*.** *Plos One*, v. 7, p. e44840, 2012.

SANTOS-NETO, E. G. **Investigação de potencial larvicida do extrato de folhas de *Eugenia malaccensis* sobre a traça-das-crucíferas *Plutella xylostella*.** Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), 2017. 12p. (Relatório de Iniciação Científica/PIC/UFRPE).

SAUVION, N. H.; CHARLES, G.; FEBVAY & RAHBÉ, Y. 2004. **Effects of jackbean lectin (ConA) on the feeding behavior and kinetics of intoxication of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*.** *Entomol. Exp. Appl.* 110: 31–44.

SELVARAJ, C.; KENNEDY, J.S.; SUGANTHY, M. **Oviposition deterrence effect of EC formulations of *Strychnos nux-vomica* L. plant extracts against *Plutella xylostella* Linn. under laboratory onditions.** Journal of Entomology and Zoology Studies. v. 5, n. 6, p. 180-184, 2017.

SILVA-TORRES, C. S. A.; PONTES, I. V. A.; BARROS, R. **New records of natural enemies of *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) in Pernambuco, Brazil.** Neotropical Entomology, v. 39, n. 5, p. 835-838, 2010.

SOARES, C.S.A., SILVA, M., COSTA, M.B. & BEZERRA, C. E. S., 2011. **Ação inseticida de óleos essenciais sobre a lagarta desfolhadora *Thyrinteina arnobia* (Stoll) (Lepidoptera: Geometridae).** Revista Verde, 6: 154-157.

SOBRAL, M. et al. **Myrtaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil.** Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB37162>>. Acesso em: 17 Nov. 2015.

SOUZA, C. S.; PROCÓPIO, T. F.; BELMONTE, B. R.; PAIVA, P. M. G.; ALBUQUERQUE, L. P.; PONTUAL, E. V.; NAPOLEÃO, T. H. **Effects of *Opuntia ficus-indica* lectin on feeding, survival, and gut enzymes of maize weevil, *Sitophilus zeamais*.** Applied Biological Chemistry, v. 61, p. 337-343, 2018.

SPARKS, T. C., HAHN, D. R., GARIZI, N. V. **Natural Products, their derivatives, mimics and synthetic equivalents: role in agrochemical discovery.** Pest Management Science. v. 73, p. 700-715, 2017.

TEFERA, T.; PRINGLE, K.L. **Effect of exposure method to *Beauveria bassiana* and conidia concentration on mortality, mycosis, and sporulation in cadavers of *Chilo partellus* (Lepidoptera: Pyralidae).** Journal of Invertebrate Pathology, v. 84, p. 90–95, 2003.

TROCZKA, B.; ZIMMER, C. T.; ELIAS J.; SCHORN, C.; BASS, C.; DAVIES, T. G. E.; FIELD, L. M.; WILLIAMSON, M. S.; SLATER, R.; NAUEN, R. (2012). **Resistance to diamide insecticides in diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) is associated with a mutation in the membrane spanning domain of the ryanodine receptor.** Insect Biochemistry and Molecular Biology, 42: 873-880.

THULER, R. T. Criação de *Plutella xylostella*. 2009. **Criação de insetos: da base à biofábrica.** Jaboticabal: p. 58-68.

ULMER, B. et al. **Diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.), feeding and oviposition preferences on glossy and waxy *Brassica rapa* (L.) lines.** Crop protection, v. 21, n. 4, p. 327-331, 2002.

UJAGIR, R.; BYRNE, O. Insect pests and their management. In: **The Lentil: Botany, Production and uses.** p. 282-305, 2009.

VACARI, A. M.; DE BORTOLI, S. A. & TORRES, J. B. 2012. **Relationship between predation by *Podisus nigrispinus* and developmental phase and density of its prey, *Plutella xylostella*.** Entomol. Exp. Appl. 145: 30-37.

VACARI, A. M. **Caracterização biológico-comportamental de *Podisus nigrispinus* (DALLAS, 1851) predando *Plutella xylostella* (L., 1758).** 2009. 102 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista “Julio De Mesquita Filho”, Jaboticabal. 2009.

VANDENBERG, J.D.; RAMOS, M.; ALTRE, J.A. **Dose-response and age and temperature related susceptibility of the diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) to two isolates of *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes: Moniliaceae).** Environmental Entomology, v. 27, p. 1017-1021, 1998.

VALDA, C. A.; SILVA, R. B.; EDMILSON, J. M.; e TORRES, J. B. **Suscetibilidade de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) aos Fungos *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok.** Neotropical Entomology 32 (4): 653-658 (2003).

VASQUEZ BL. 1995. **Resistance to most insecticides.** In: WALKER TJ (eds). University of Florida of Insect Records. Chapter 15: *Resistant to Most Insecticides*: Department of Entomology & Nematology. University of Flórida, Gainesville, Flórida 32611-0620.

VENDRUSCOLO, G. S.; RATES, S. M. K.; MENTZ, L. A. **Dados químicos e farmacológicos sobre as plantas utilizadas como medicinais pela comunidade do bairro Ponta Grossa, Porto Alegre, Rio Grande do Sul.** Rev. Bras. Farmacogn., (15): 361-372, 2005.

VIDIGAL, D. S.; BRASILEIRO, B. G.; DIAS, D. C. F. S.; ALVARENGA, E. M.; BHERING, M. C. **Germinação e morfologia do desenvolvimento pós-seminal de sementes de nim-indiano (*Azadirachta indica* A. Juss.- Meliaceae).** Revista Brasileira de Sementes, Brasília, v. 29, n. 3, p. 39-46, 2007.

VILAS BÔAS, A. M.; ALVES, S. B. **Patogenicidade de *Beauveria* spp. e seu efeito associado ao inseticida monocrotofós sobre *Castnia licus* (Drury, 1770) (Lepidoptera: Castniidae).** Anais da Sociedade Entomológica do Brasil, v. 17, p. 305-332, 1988.

WANG, X & Y.; WU. 2012. **High Levels of resistance to chlorantraniliprole evolved in Field populations of *Plutella xylostella*.** J Econ Entomol 105: 1019-1023.

WARWICK, S.I. **Brassicaceae in agriculture. In: Genetics and Genomics of the Brassicaceae.** Springer, New York, NY, 2011. p. 33-65.

ZHANG, S. et al. **Susceptibility of field populations of the diamondback moth, *Plutella xylostella*, to a selection of insecticides in Central China.** Pesticide biochemistry and physiology, v. 132, p. 38-46, 2016.

YU, S. J. & NGUYEN, S.N. 1992. **Detection of biochemical characterization of insecticide resistance in the diamondback moth.** Pestic. Biochem. Physiol. 44: 74-81