

INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA – INPA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS – UFAM
Programa Integrado de Pós-Graduação em Biologia Tropical e Recursos
Naturais da Amazônia – PIPG-BTRN
Mestrado em Agricultura no Trópico Úmido – ATU

**TOXICIDADE DO EXTRATO DE *Derris amazonica* KILLIP A ADULTOS DE *Cerotoma*
arcuatus OLIVIER, 1791 (COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE)**

MÁRCIO RODRIGO ALÉCIO

Manaus, Amazonas
Julho, 2007

MÁRCIO RODRIGO ALÉCIO

TOXICIDADE DO EXTRATO DE *Derris amazonica* KILLIP A ADULTOS DE *Cerotoma arcuatus* OLIVIER, 1791 (COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE)

JOANA D'ARC RIBEIRO, Dr^a.

Orientadora (*in memoriam*)

ROSALEE A. COELHO NETTO, Dr^a.

Orientadora

MURILO FAZOLIN, Dr.

Co-orientador

Dissertação apresentada ao PIPG-BTRN como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biologia Tropical e Recursos Naturais da Amazônia área de concentração em Agricultura no Trópico Úmido.

Manaus, Amazonas
Julho, 2007

A366 Alécio, Márcio Rodrigo
Toxicidade do extrato de *Derris amazonica* Killip a adultos de *Cerotoma arcuatus* Olivier, 1791 (Coleoptera: Chrysomelidae) / Márcio Rodrigo Alécio

Manaus: [s.n.], 2007.
55 p.: il.

Dissertação (mestrado)-- INPA/UFAM, Manaus, 2007
Orientador (*in memoriam*): Ribeiro, Joana D'Arc.
Orientador: Coelho Netto, Rosalee, A.
Co-Orientador: Fazolin, Murilo.
Área de concentração: Agricultura no Trópico Úmido

1. Timbó. 2. Inseticida botânico. 3. Vaquinha-do-feijoeiro. 4. Rotenona.
I. Título.

CDD 633.898

Sinopse:

Estudou-se a toxicidade do timbó (*Derris amazonica* Killip) sobre a vaquinha-do-feijoeiro (*Cerotoma arcuatus* Olivier) pelas vias de intoxicação por ingestão de folhas tratadas, superfície tratada (papel-filtro) e aplicação tópica. A CL₅₀, DL₅₀, TL₅₀ e o consumo foliar médio de *C. arcuatus* foram avaliados.

Palavras-chave:

Timbó, Inseticida botânico, Vaquinha-do-feijoeiro, Rotenona.

Dedicatória

A toda minha família, em especial aos meus pais (Sergio Alécio e Izabel Alécio), irmãos (Jean Alécio e Renata Kariny Alécio), cônjuge (Suziane B. Alves) e filho (João Victor B. Alécio) que compartilharam dos meus planos, tornando seus os meus ideais e sempre me incentivaram a prosseguir nessa jornada;

A mestre, orientadora e amiga Dr^a. Joana D`Arc Ribeiro (*in memorian*) pelos ensinamentos valiosos e espírito guerreiro, que deixou saudades.

Agradecimentos

A Deus, ser superior que intervém por nós, dando-nos segurança e força para prosseguir a vida;

Ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia e a Universidade Federal do Amazonas pela oportunidade de desenvolver este estudo;

As mestres e orientadoras Dr^a. Joana D`Arc Ribeiro (*in memorian*) e Dr^a. Rosalee A. Coelho Netto pelos ensinamentos, amizade, críticas e sugestões valiosas para realização deste trabalho;

Ao mestre e orientador Dr. Murilo Fazolin pela amizade, conselhos, ensinamentos, críticas, correções e sugestões essenciais para a conclusão deste estudo;

A Dr^a. Joelma Lima Vidal pela valiosa colaboração;

Ao Dr. Valdomiro Catani pelo desenvolvimento da metodologia de análise cromatográfica da rotenona e sugestões oferecidas;

Aos docentes que foram responsáveis pelos preciosos conhecimentos adquiridos;

Ao Coordenador do Curso ATU, Dr. Rogério de Jesus, pelo esforço e contribuição disponibilizados;

A todos meus familiares, em especial aos meus pais (Sergio e Izabel), irmãos (Jean e Renata), tios (Airton, Flávio, Jean, Lenir e Olinda), avôs (Albina, Ivanilde e Izídio) e primos (Alícia, Andressa, Aniele, Fabiana e Fagner) que sempre contribuíram para as minhas conquistas;

A Suziane B. Alves pela atenção, compreensão, amor, carinho e sugestões oferecidas;

A João Victor B. Alécio que chegou trazendo mais alegria e brilho para minha vida;

A todos os amigos e colegas de Mestrado, em especial a Adriana, Cajueiro, Cibele, Darci, Estefania, Henrique, Júnior, Karina, Socorro, Wilson e Vanessa pela amizade e companheirismo;

Aos amigos de república: Euler, Francis, João Victor, Geraldo, Luciano e Raimundo Junior pela amizade e companheirismo;

Aos amigos John Lennon, Robson Galvão, Marcio Garcia, Rodrigo Guedes, Lauro Lessa, Ricardo Amaral, Raquelzinha, Ribamar Silva, Lya Silva, Ana Suzette, Tayane Duarte, Giovana,

Teiamar, Liciane, Kazuko, Jerfferson, Felipe Camacho, Vitor, Kinji, Edson, Maurício, Cíntia e Tavares pela amizade e ajuda oferecida;

A Banca Avaliadora, composta pelos Professores Doutores: Arlindo Leal Boica Junior (UNESP), José Djair Vandramim (USP), José Vargas de Oliveira (UFRPE), Neliton Marques de Silva (UFAM) e Raul Narciso Carvalho Guedes (UFV), pelas correções e sugestões oferecidas;

Ao Dr. Hiroshi Noda e Dr. Francisco Manoares Machado, que gentilmente cederam a área para plantio de feijão-caupi e coleta dos insetos usados no desenvolvimento dos bioensaios;

A CAPES pela concessão da bolsa de estudo;

A FAPEAM pelo financiamento de parte da pesquisa;

A todos que contribuíram para realização deste estudo, **o meu muito obrigado.**

Resumo

A abundância e a reconhecida atividade inseticida de *Derris amazonica* e a necessidade de controle de *Cerotoma arcuatus* estimularam a realização deste estudo, que teve como objetivo determinar a toxicidade do extrato de *D. amazonica* a adultos de *C. arcuatus*. Os bioensaios foram desenvolvidos pelas vias de intoxicação de ingestão de folhas tratadas, contato em superfície tratada (papel-filtro) e contato por aplicação tópica. Os valores de mortalidade e de consumo foliar dos insetos foram submetidos à análise de regressão e, para determinação das CL_{50} , da DL_{50} e dos TL_{50} , foi utilizada a análise de Probit. O extrato de *D. amazônica*, contendo 3,7% de rotenona, é tóxico para *C. arcuatus* via ingestão de folhas tratadas ($CL_{50} = 15,14 \mu\text{l}$ do extrato. ml^{-1} de água), superfície tratada ($CL_{50} = 0,45 \mu\text{l}$ do extrato. cm^{-2}) e aplicação tópica ($DL_{50} = 1,44 \mu\text{l}$ do extrato. g^{-1} do inseto). Mortalidades superiores a 80% dos insetos e os menores tempos letais médios foram obtidos pela concentração de 5% (v.v⁻¹) do extrato, em todos os bioensaios. Os valores de consumo foliar efetuado por *C. arcuatus* no bioensaio de ingestão de folhas tratadas foram menores que os obtidos, para as mesmas concentrações do produto, por aplicação tópica. Em ambos os bioensaios, quanto maior a concentração extrato, menor foi o valor médio de consumo foliar dos insetos, sendo que, inibição da alimentação dos indivíduos foi observada a partir da concentração de 1%. O extrato de *D. amazonica* é tóxico para *C. arcuatus* e inibe a alimentação dos insetos, sendo a intoxicação por ingestão de folhas tratadas a via mais efetiva.

Abstract

The abundance and recognized insecticidal activity of *Derris amazonica* in addition to the need of controlling *Ceratomyza arcuatus* led to the present study, whose objective was to assess the toxicity of the extract of *D. amazonica* to adults of *C. arcuatus*. The concentration-response bioassays were carried out using three distinct methodologies – Ingestion of treated leaves, contact in treated surface (filter paper) and topical application. Mortality and leaf – consumption results were subjected to regression analyses and probit analyses was used to estimate the median lethal values (i.e., LC_{50} , LT_{50} and LD_{50}). The extract of *D. amazonica* contains 3.7% of rotenone and was toxic to *C. arcuatus* when exposed to treated leaves ($LC_{50} = 15.14 \mu\text{l.ml}^{-1}$), treated surface ($LC_{50} = 0.45 \mu\text{l.cm}^{-2}$) or subjected to topical exposure ($LD_{50} = 1.44 \mu\text{l.g}^{-1}$). Mortality levels higher than 80% and lower times were obtained with 5% (v.v⁻¹) of the extract. Leaf consumption by *C. arcuatus* in the leaf-ingestion bioassay was smaller than in the topical bioassay. In both cases though higher extract concentration led to lower leaf consumption with phagoinhibition taking place at concentrations as low as leaf 1% (v.v⁻¹). The extract of *D. amazonica* was toxic to *C. arcuatus* and inhibit its feeding with higher efficiency with ingestion of treated leaves.

Sumário

1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	4
2.1 Geral	4
2.2 Específicos.....	4
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
3.1 Cultura do feijão-caupi	5
3.1.1 Pragas do feijão-caupi	9
3.1.1.1 Vaquinha-do-feijoeiro (<i>Cerotoma arcuatus</i> Olivier, 1791).....	10
3.2 Histórico do uso de plantas inseticidas para o controle de pragas na agricultura	13
3.3 Os timbós.....	14
3.3.1 Caracterização botânica	16
3.3.2 Os timbós no controle de pragas	17
3.3.3 Ocorrência e sistema de cultivo	20
3.3.4 Princípio ativo dos timbós.....	21
4 MATERIAL E MÉTODOS	25
4.1 Coleta e processamento das raízes de timbó	25
4.2 Obtenção do extrato de raízes de timbó	26
4.3 Montagem dos bioensaios	29
4.3.1 Bioensaios preliminares	29
4.3.2 Bioensaios definitivos	30
4.3.2.1 Superfície tratada (papel-filtro)	31
4.3.2.2 Ingestão de folhas tratadas	32
4.3.2.3 Aplicação tópica	33
4.3.2.4 Análise dos dados	34
5 RESULTADOS	35
6 DISCUSSÃO	40
7 CONCLUSÃO	44
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45

Lista de Figuras

- Figura 1. Cultivar de feijão-caupi ereto, determinado e precoce (A); cultivar de feijão-caupi semi-ereto, indeterminado e médio (B) e cultivar de feijão-caupi prostrado, indeterminado e tardio (C).....07
- Figura 2. Classe branco (A); preto (B); mulato (C); sempre-verde (D); carioca (E); brancão (F) e misturado (G e H)08
- Figura 3. Adulto de vaquinha-do-feijoeiro (*Cerotoma arcuatus* Olivier) (A); larva (B) e sistema radicular do feijão-caupi atacado por larvas (C).....11
- Figura 4. Sintomas do mosaico severo transmitido por larvas e adultos de vaquinhas às partes vegetativas aéreas de planta de feijão-caupi12
- Figura 5. Danos foliares provocados pela vaquinha logo após a emissão dos primeiros folíolos do feijão-caupi (A); folhas (B e C) e órgãos tenros reprodutivos (D)13
- Figura 6. Plantas de timbó encontradas as margens da BR 17415
- Figura 7. Formula estrutural da rotenona (A); deguelina (B) e tefrosina (C).....21
- Figura 8. Coleta das raízes de timbó no município de Presidente Figueiredo–AM, Ramal da Morena (A) e exsicata (B)25
- Figura 9. Pesagem de pó de raízes de timbó (A); Pó de raízes de timbó depositado em filtro de papel para café(B); álcool etílico 95% p.a. (C) e sistema extrator Soxhlet (D).....26
- Figura 10. Evaporador rotativo MA 120 (A) e extrato de raízes de timbó acondicionado em recipiente de vidro âmbar hermeticamente fechado (B).....27
- Figura 11. Cromatograma do padrão da rotenona (A) e do extrato bruto de *D. amazonica* (B) ...28
- Figura 12. Placas de Petri protegidas por estrutura telada e mantidas sobre a bancada do laboratório de Entomologia Agrícola do CPCA/INPA.....30
- Figura 13. Impregnação de papel-filtro em diferentes concentrações do extrato de *D. amazonica* (A); secagem do disco de papel-filtro sobre estrutura de isopor (B) e infestação das placas de Petri com cinco insetos adultos (C).....31

- Figura 14. Lavagem das folhas de feijão-caupi em água clorada (A); deposição das folhas de feijão-caupi sobre papel toalha (B); pulverização das folhas de feijão-caupi nas faces adaxial (C) e abaxial (D); folhas de feijão-caupi acondicionadas em placas de Petri e infestadas com cinco vaquinhas adultas (E) e mensuração da área foliar em integrador ADC AM 200 (F).....33
- Figura 15. Imobilização dos insetos por congelamento em freezer (A); aplicação tópica na face ventral dos indivíduos (B) e placa de Petri com uma folha de feijão-caupi infestada com cinco vaquinhas adultas (C).....34
- Figura 16. Consumo foliar de adultos de *C. arcuatus* submetidos ao extrato de *D. amazonica* em diferentes concentrações, pelas vias de aplicação tópica e ingestão de folhas tratadas..37

1 INTRODUÇÃO

Os inseticidas naturais foram largamente utilizados para o controle de pragas até a década de 40, quando, devido ao incremento das pesquisas em agrotóxicos, os produtos sintéticos passaram a ganhar espaço, a partir da II Guerra Mundial (Pires, 1978).

Nas décadas de 50 e 70 ocorreu uma explosão no desenvolvimento da síntese orgânica, inclusive de produtos com atividade inseticida. Os inseticidas naturais, até então utilizados para o controle de pragas agrícolas, foram quase totalmente substituídos (Soderlund, 1995) pelos inseticidas sintéticos como o HCH (hexacloroexano), DDT, aldrin, dieldrin e clordano (Vieira & Fernandes, 1999).

Todavia, a contínua utilização do controle químico, com agrotóxicos não seletivos e sem rotação de produtos, passou a causar desequilíbrios populacionais de insetos pragas, mediante a eliminação de insetos benéficos, explosões populacionais de pragas e, principalmente, perda de eficácia de inseticidas com a seleção de populações resistentes (Merville, 1959; Gravena, 1984, Kay & Collins, 1987; Campanhola, 1990; Guedes, 1999; Guedes & Fragoso, 1999). Adicionalmente, os inseticidas sintéticos podem contaminar o ambiente (solo, água, atmosfera e seres vivos) por persistirem na natureza como resíduos tóxicos muito além do tempo desejado (Ndumu, 1999).

Uma das alternativas adotada nas últimas décadas para amenizar esses problemas é o manejo integrado de pragas (MIP). Segundo Kogan (1998), MIP é definido como um sistema de tomada de decisão para o uso de táticas de controle, isoladamente ou associadas harmoniosamente, numa estratégia de manejo baseada em análises de custo/benefício que levam em consideração o interesse e/ou impacto dos produtos, sociedade e ambiente.

Dentro do MIP a utilização de inseticidas botânicos apresenta-se como uma alternativa promissora para o controle de pragas. Estes inseticidas são produzidos a partir de vegetais (Hirata, 1995) e podem atender aos requisitos de eficácia, segurança e seletividade (Viegas Júnior, 2003).

Diversas plantas produzem compostos com propriedades inseticidas e isso tem estimulado muitos cientistas a identificar e testar esses compostos, buscando táticas mais racionais para

controle de pragas, a partir deste método (Mariconi, 1981; Klocke *et al.*, 1991; Wrba *et al.*, 1992; Marr & Tang, 1992; Hu *et al.*, 1993; Janprasert *et al.*, 1993; Ahn *et al.*, 1998; Oberlies *et al.*, 1998; Khambay *et al.*, 1999; Luitgards-Moura *et al.*, 2002; Maia *et al.*, 2002; Silva, 2003; Pereira & Famadas, 2004; Alécio *et al.*, 2005; Fazolin *et al.*, 2005; Batista Júnior *et al.*, 2006; Estrela *et al.*, 2006; Fazolin *et al.*, 2007).

Villalobos (1996) ressalta que estes compostos com propriedades inseticidas são resultantes do metabolismo secundário das plantas, que são acumulados, normalmente, em pequenas proporções nos tecidos dos vegetais. Alguns desses compostos são bem conhecidos (Yoshida & Toscano, 1994; Hare & Morse, 1997) e têm sido demandados continuamente pela indústria, principalmente, nesta última década.

Neste sentido a diversidade da flora brasileira apresenta um imenso potencial para a produção desses compostos secundários, pois, cerca de 16% das 500.000 espécies de plantas que se estima existirem no mundo, encontram-se na floresta Amazônica e destas, menos de 10% foram estudadas quimicamente e poucos ainda são os estudos a respeito de suas atividades biológicas (Pletsch & Sant'ana, 1995).

No Brasil, a cultura do feijão é uma das mais importantes, não apenas por fazer parte da dieta alimentar da população, mas, sobretudo por envolver uma grande área de produção cultivada, na sua maior parte, por pequenos agricultores. A produção do feijão no Brasil é assim distribuída: 77% proveniente do gênero *Phaseolus* e 23% do gênero *Vigna* (Yokoyama *et al.*, 2000).

Deste modo, as áreas cultivadas com feijão *Vigna* no País são de aproximadamente um milhão de hectares. Destes, estima-se que 900 mil (90%) estejam situados nas Regiões Nordeste e Norte (Frota & Pereira, 2000). O Brasil contribui com 26% da produção mundial e com 82% da produção do continente americano (Araújo & Watt, 1988) o que o destaca como terceiro maior produtor do mundo (Quin, 1997).

A cultura, entretanto, ainda apresenta baixa produtividade em todo território brasileiro, principalmente, devido ao ataque direto de diversas pragas. Dentre estas, destacam-se as vaquinhas (*Cerotoma arcuatus* Olivier e *Diabrotica speciosa* Germar) como os insetos desfolhadores de maior importância econômica (Araújo & Watt, 1988; Santos & Quinderé, 1988; Quintela, *et al.*, 1991; Freire Filho *et al.*, 2000; Gallo *et al.*, 2002; Nava *et al.*, 2003; Freire *et al.*, 2005).

Na região Amazônica, representantes do gênero *Cerotoma* tem sido relatado como as principais pragas dos feijoeiros, destacando-se a espécie *C. arcuatus* como a principal praga do feijão-caupi, por atacá-lo desde a semeadura até a colheita, reduzindo sua produtividade (Brandão *et al.*, 1980; Nogueira, 1981; Fazolin, 1986; Fazolin, 1993; Fazolin & Gomes, 1993; Stone & Sartorato, 1994).

Diante das perdas de produção, provocadas pelo ataque de insetos, o produtor agrícola do Estado do Amazonas se depara com a necessidade de recorrer ao controle químico, pois até o momento não existe nenhum produto alternativo registrado para o controle de *C. arcuatus* (Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento-MAPA, 2007). Desse modo, devem ser estimuladas as ações de pesquisa que visem à oferta de produtos alternativos, mais seguros para o ambiente, para os usuários e para os consumidores.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Determinar a toxicidade do extrato de *Derris amazonica* (timbó) à *Cerotoma arcuatus* (vaquinha-do-feijoeiro).

2.2 Específicos

Determinar a CL_{50}^* do extrato de *D. amazonica* para *C. arcuatus* pelas vias de ingestão de folhas tratadas e superfície tratada (papel-filtro);

Determinar a DL_{50}^* do extrato de *D. amazonica* para *C. arcuatus* por aplicação tópica;

Determinar a TL_{50}^* das concentrações tóxicas do extrato de *D. amazonica* para *C. arcuatus* pelas vias de ingestão de folhas tratadas, superfície tratada (papel-filtro) e aplicação tópica;

Verificar o efeito do extrato de *D. amazonica* sobre o consumo foliar de *C. arcuatus* pelas vias de ingestão de folhas tratadas e aplicação tópica;

Verificar qual via de intoxicação do extrato de *D. amazonica* apresenta maior toxicidade para *C. arcuatus*.

* CL_{50} , DL_{50} e TL_{50} : Concentração, dose e tempo letal médio com probabilidade de causar 50% de mortalidade de *C. arcuatus*, respectivamente.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Cultura do feijão-caupi

Originário do continente africano (Steele & Mehra, 1980), o feijão-caupi é uma planta dicotiledonea, que pertence à ordem Fabales, família Fabaceae, subfamília Faboidae, tribo Phaseoleae, subtribo Phaseolina, gênero *Vigna*, espécie *Vigna unguiculata* (L.) Walp (Freire Filho *et al.*, 2005). O feijão-caupi é conhecido também como: feijão-macáçar, feijão-macaça e feijão-de-corda no Nordeste; feijão-da-colônia, feijão-de-praia e feijão-de-estrada no Norte; feijão miúdo no Sul; feijão-catador e feijão-gurutuba em algumas regiões da Bahia e do Rio de Janeiro (Cavalcante & Atroch, 1995).

A cultura foi introduzida no Brasil por volta do século XVI por colonizadores portugueses e espanhóis (Krutman *et al.*, 1968; Freire Filho *et al.*, 2000) e hoje contribui com cerca de 23 % do total de grãos de feijão produzidos pelo País (Yokoyama *et al.*, 2000). Desempenha importante papel na composição agrícola brasileira, sendo cultivado principalmente por pequenos produtores das Regiões Norte e Nordeste, onde se constitui num alimento básico de subsistência, principalmente, para a população de baixa renda (Araújo & Watt, 1988).

A área ocupada com esta cultura, no mundo, está em torno de 12,5 milhões de ha, com 8 milhões (64% da área mundial) na parte oeste e central da África. A outra parte da área está localizada na América do Sul, América Central e Ásia, com pequenas áreas espalhadas pelo sudoeste da Europa, sudoeste dos Estados Unidos e na Oceania. Entre todos os países, os principais produtores mundiais são Nigéria, Níger e Brasil (Quin, 1997).

No Brasil, a área cultivada com feijão-caupi é de, aproximadamente, 1 milhão de hectares, dos quais cerca de 900 mil (90%) estão situados no Nordeste e Norte (Frota & Pereira, 2000). Estima-se que o Brasil contribua com 26% da produção mundial e 82% da produção do continente americano (Araújo e Watt, 1988).

A produtividade desta cultura é baixa, sendo de 250 kg/ha a 300 kg/ha na África, 400 kg/ha a 500 kg/ha na América Latina e Ásia e 600 kg/ha a 800 kg/ha nos Estados Unidos (Cavalcante & Atroch, 1995). No Brasil, a produtividade varia entre 280 kg/ha a 450 kg/ha,

dependendo da região. Contudo, cultivares melhorados vêm alcançando produtividade entre 1.000 e 1.200 kg/ha (Freire Filho *et al.*, 2005).

É uma espécie dotada de alto conteúdo protéico (23-25%, em média), boa capacidade de fixar nitrogênio atmosférico e pouco exigente em fertilidade do solo. Contém todos os aminoácidos essenciais ao ser humano e apresenta excelente valor calórico (média de 62%). É rico em vitaminas e minerais, fibras dietéticas e possui baixa quantidade de gordura (teor de óleo de 2%, em média) (Cavalcante & Atroch, 1995, Freire Filho *et al.*, 2005). Trata-se de um alimento básico para a população por estar presente nas regiões tropicais, subtropicais e amplamente distribuído pelo mundo (Araújo & Watt, 1988).

O feijão-caupi, devido a sua grande variabilidade genética, é versátil e pode ser usado para várias finalidades, em diversos sistemas de produção. Pode ser usado como forragem verde, feno, ensilagem, farinha para alimentação animal, adubação verde e proteção do solo. Quando comparado a outras culturas, tem seu potencial genético pouco explorado. Entretanto, já foram obtidas, em condições experimentais, produtividades de grãos secos acima de 3 t/ha, tendo-se a expectativa de que seu potencial genético ultrapasse 6 t/ha (Freire Filho *et al.*, 2005).

A cultura adapta-se bem em vários tipos de solos, merecendo destaque os Latossolos Amarelos, Latossolos Vermelho-Amarelos, Argissolos Vermelho-Amarelos e Neossolos Flúvicos. Contudo, desenvolve-se melhor em solos com teor regular de matéria orgânica, soltos, leves e profundos, arejados e dotados de média a alta fertilidade (Id., *Ibid.*). Em relação às condições climáticas, pode ser cultivada entre temperaturas de 18 a 34 °C e tolera grandes variações de umidade (300 a 2000 mm/ano). Entretanto, na medida em que se afasta destes limites, o desenvolvimento da espécie fica prejudicado, tendo sua produtividade reduzida (Araújo & Watt, 1988).

Além disso, ao contrário do feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) e da maioria de outras fabáceas, o feijão-caupi pode ser cultivado no Brasil, tanto no clima seco do Nordeste, como no clima úmido do Norte, abrangendo as latitudes de 5° N a 18° S (Araújo *et al.*, 1984).

No Estado do Amazonas, o feijão-caupi é cultivado por produtores familiares, principalmente para a produção de grãos, secos ou verdes, em áreas de várzea e/ou terra firme, visando o consumo humano *in natura*, na forma de conserva ou desidratado (Aidar *et al.*, 2002).

Deste modo, muitas são as cultivares de feijão-caupi adaptadas as mais diversas condições edafoclimáticas, que são classificadas quanto ao ciclo produtivo, arquitetura da planta (porte),

reação a pragas e doenças e ao tipo de produção (grãos secos ou feijão verde) (Freire Filho *et al.*, 2000). Em relação ao ciclo (Figura 1), as cultivares de feijão-caupi são classificadas como superprecoce: maturação em até 60 dias; precoce: 61-70 dias; médio: 71-90 dias; médio-precoce: 71-80 dias; médio-tardio: 81-90 dias; e tardio: maturação em mais de 90 dias. De acordo com o porte (Figura 1) são classificadas em ereto (ramos principal e secundários curtos, com estes formando um ângulo de agudo a reto com o ramo principal); semi-ereto (ramo principal e secundários curtos a médios, com estes formando um ângulo reto com o ramo principal); semi-prostrado (ramo principal e secundários médios, com estes segundos tocando o solo); e prostrado (ramo principal e secundários longos, com estes últimos tocando o solo) (Freire Filho *et al.*, 2005).



Figura 1. Cultivar de feijão-caupi ereto, determinado e precoce (A); cultivar de feijão-caupi semi-ereto, indeterminado e médio (B) e cultivar de feijão-caupi prostrado, indeterminado e tardio (C). Fotos: Alécio, M. R. (2006).

Devido à existência de inúmeros cultivares e variedades regionais, estes vegetais recebem nomes, geralmente em função das características como cor e/ou forma dos grãos. Diante disto, cultivares e/ou variedades diferentes que possuem uma mesma característica marcante geralmente recebem o mesmo nome (Araújo e Watt, 1988).

Para melhor diferenciar estes cultivares e variedades, Freire Filho *et al.* (2005) propuseram uma classificação, que leva em consideração somente às características dos grãos. Nesta classificação, os autores incluíram algumas subclasses nas classes branco (brancão, branca

e fradinho) e cores (mulato, canapu, sempre-verde, vinagre, corujinha, azulão, manteiga, verde e carioca), bem como, melhor diferenciaram as classes preto e Misturado (Figura 2).



Figura 2. Classe branco (A); preto (B); mulato (C); sempre-verde (D); carioca (E); brancão (F) e misturado (G e H). Fotos: Alécio, M. R. (2006).

Na região Amazônica, as cultivares mais utilizadas são as conhecidas como Ipean, Manteiguinha, Branco, Pretinho, Garoto, Bola de Ouro e Central, que produzem, predominantemente, grãos de cor: Mulata, Sempre-Verde e Branco. Dessas, os feijões branco e sempre-verde, em toda a cadeia comercial, são mais valorizados e obtêm os melhores preços, tanto no atacado como no varejo (Araújo & Watt, 1988; Freire Filho *et al.*, 2000).

Em relação ao plantio, a melhor época para as cultivares de ciclo médio corresponde à metade do período chuvoso de cada região. Para as cultivares de ciclo superprecoce, o ideal é plantar cerca de dois meses antes de terminar o período chuvoso. Com isto evita-se que a colheita seja feita em períodos com maior probabilidade de ocorrência de chuvas (Freire Filho *et al.*, 2005).

Essa cultura pode ser explorada tanto em monocultivo como em associação com outras culturas, tais como algodão (*Gossypium hirsutum* L.), milho (*Zea mays* L.), mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), arroz (*Oryza* sp.), cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.), palma forrageira (*Opuntia ficus* Mill), café (*Coffea* sp.), cajueiro (*Artocarpus heterophyllus* L.), seringueira (*Hevea* sp.), pimenta do reino (*Piper nigrum* L.), entre outras. A escolha do sistema depende da finalidade do cultivo (Araújo *et al.*, 1984).

A colheita desse grão é realizada, pela maioria dos produtores, de forma manual e sua frequência é determinada pelo tipo de maturação da cultivar (Id., *ibid.*). Segundo Silva (2000), essa etapa se constitui numa das mais importantes do processo de produção, pois, quando realizada de forma correta, reduz as perdas de grãos e contribui, de maneira decisiva, para a obtenção de um produto de boa qualidade e de alto valor comercial.

3.1.1 Pragas do feijão-caupi

Apesar do feijão-caupi ser extremamente adaptado as diferentes condições de clima e solo, os problemas fitossanitários são frequentes e afetam consideravelmente a produção (Araújo *et al.*, 1984; Freire Filho *et al.*, 2000; Gallo *et al.*, 2002). Dentre os problemas fitossanitários, as pragas têm maior destaque, por provocarem reduções significativas na produtividade da cultura em todo Brasil (Araújo & Watt, 1988; Zimmermam *et al.*, 1988; Stone & Sartorato, 1994; Aidar *et al.*, 2002; Gallo *et al.*, 2002; Freire Filho *et al.*, 2005).

Os danos causados por pragas à cultura do feijão-caupi podem ocorrer desde a semeadura até após a colheita, principalmente devido à diversidade de espécies que ocorre. Todas as estruturas das plantas têm se mostrado suscetíveis ao ataque de pragas (Frota & Pereira, 2000; Hohmann & Martinez, 2000; Teixeira *et al.*, 1996; Nava *et al.*, 2003).

Os principais insetos-praga que ocorrem no cultivo do feijão-caupi no Brasil são: vaquinhas (*Diabrotica speciosa* Germar e *Cerotoma arcuatus* Olivier), lagarta elasm (*Elasmopalpus lignosellus* Zeller), cigarrinha verde (*Empoasca kraemeri* Ross & Moore), pulgão preto (*Aphis craccivora* Koch), mosca branca (*Bemisia tabaci* Gennadius), minador (*Liriomyza sativae* Blanchard), manhoso (*Chalcodermus bimaculatus* Fiedler), percevejos (*Crinocerus sanctus* Fabricius, *Piezodorus guildini* Westwood, *Acrosternum* sp.) e o caruncho (*Callosobruchus* sp.) (Quintela *et al.*, 1981; Araújo & Watt, 1988; Gallo *et al.*, 2002; Freire Filho *et al.*, 2005).

Entre estes, as vaquinhas se destacam como as pragas de maior importância econômica, por estarem distribuídas por todas as regiões de cultivo do feijão-caupi no País (Nakano *et al.*, 1981; Sartorato *et al.*, 1983; Layton & Boethel, 1987; Riley *et al.*, 1987; Vieira, 1988; Hohmann

& Carvalho, 1989; Teixeira *et al.*, 1996, Vargas & Hungria, 1997; Nava *et al.*, 2003; Freire Filho *et al.*, 2005).

No Estado do Amazonas, a espécie *C. arcuatus* tem sido relatada como a principal praga do feijão-caupi (Brandão *et al.*, 1980; Nogueira, 1981; Quintela, *et al.*, 1991; Fazolin, 1993; Fazolin & Gomes, 1993; Fazolin & Silva, 1996), podendo reduzir a produtividade da cultura em até 63,4 % (Fazolin, 1986).

3.1.1.1 Vaquinha-do-feijoeiro (*Cerotoma arcuatus* Olivier, 1791)

A vaquinha *Cerotoma arcuatus* é um coleóptero da família Chrysomelidae, que causa prejuízos a muitos vegetais, tais como o feijão-caupi (Stone & Sartorato, 1994; Fazolin, 1995; Freire Filho *et al.*, 2005), soja [*Glycine max* (L.)] (Link & Costa, 1978) e feijão comum (Teixeira *et al.*, 1996; Gallo *et al.*, 2002).

Os adultos são insetos de coloração preta com manchas amarelas nos élitros e medem de 4 a 6 mm de comprimento (Figura 3A). Os ovos são elípticos e amarelados e cada fêmea põe, em média, 1200 destes no solo, próximos à base das plantas (Nava *et al.*, 2003). As larvas (Figura 3B) eclodem cerca de sete dias após a postura, passam por três ínstaes, em aproximadamente nove dias e são de coloração branco leitosas, alongadas, com cerca de 10 mm de comprimento, possuindo a cabeça e o último segmento abdominal escuros (Quintela *et al.*, 1991).

Segundo Stone & Sartorato (1994), as larvas vivem no solo e alimentam-se de raízes e nódulos de partes subterrâneas do caule (Figura 3C). Em populações elevadas, deixam marcas ou perfurações no local do ataque (Sartorato *et al.*, 1983), limitando a fixação do nitrogênio atmosférico em até 45% (Layton & Boethel, 1987, Teixeira *et al.*, 1996). Em altas infestações podem também provocar danos às sementes em germinação, prejudicando a emergência e o desenvolvimento das plantas (Salas *et al.*, 1999; Hohmann & Martinez, 2000; Aidar *et al.*, 2002). Nesta fase, os insetos atacam as folhas cotiledonares e os danos são semelhantes àqueles provocados pelos adultos (Sartorato *et al.*, 1983).

As plantas, com o sistema radicular severamente danificado pelas larvas, atrofiam e as folhas basais tornam-se amareladas, com envelhecimento prematuro (Sartorato *et al.*, 1983; Stone & Sartorato, 1994).

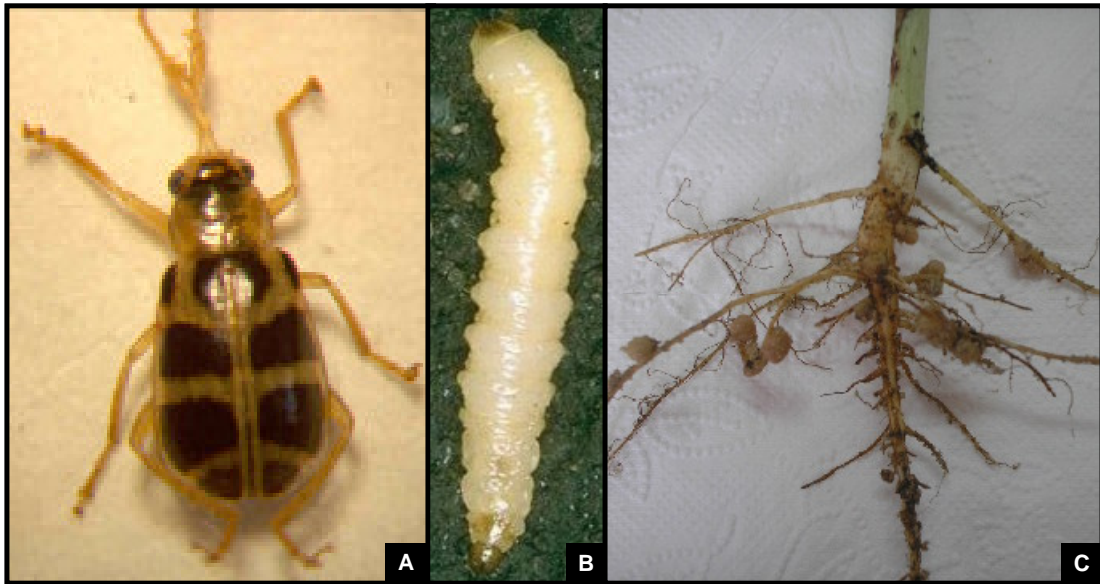


Figura 3. Adulto de vaquinha-do-feijoeiro (*Cerotoma arcuatus* Olivier) (A); larva (B) e sistema radicular do feijão-caupi atacado por larvas (C). Fotos: Alécio, M. R. (2006).

Segundo Nava *et al.* (2003), as larvas provocam as maiores injúrias, principalmente nos primeiros dias após a emergência das plantas. Isso porque nesses primeiros dias, o crescimento das plântulas depende da utilização das reservas nutricionais armazenadas nos cotilédones e somente com o crescimento, a planta desenvolve o sistema radicular, passando a assimilar os nutrientes. Além disso, de acordo com Vargas & Hungria (1997), a associação com bactérias fixadoras de nitrogênio atmosférico está sendo iniciada nesta época, já que os primeiros nódulos nitrificadores são visíveis apenas aos oito dias após a germinação.

Porém, alguns autores relatam que as plantas podem compensar o ataque nas raízes por meio de diversos mecanismos, entre eles, o aumento do crescimento radicular e/ou aumento do número de nódulos nitrificadores (Riley, 1986; Riley *et al.*, 1987). Outros pesquisadores acreditam que essa compensação pode não ocorrer com o aumento da infestação larval da praga, devido ao grande decréscimo na matéria seca das raízes e dos nódulos (Nava *et al.*, 2003) afetando a assimilação e absorção de água, de nutrientes e oxigênio, a assimilação de N_2 e a translocação de seiva, além de facilitar a atuação patógenos, provocar redução da área foliar, altura e produtividade das plantas (Schroeder *et al.*, 1992). As larvas e adultos, ao se alimentarem, podem transmitir o vírus causador do mosaico severo do feijão-caupi (*Cowpea*

severe mosaic virus – CPSMV) (Figura 4) (Rajnauth *et al.*, 1987; Hohmann & Carvalho, 1989; Salas *et al.*, 1999; Freire Filho *et al.*, 2005).



Figura 4. Sintomas do mosaico severo transmitido por larvas e adultos de vaquinhas às partes vegetativas aéreas de planta de feijão-caupi. Fotos: Hickel, P. (2006).

Entretanto, é na fase adulta que as vaquinhas provocam os danos mais severos às plantas de feijão-caupi. Atacam preferencialmente a parte aérea, iniciando essa atividade logo após a emissão dos primeiros folíolos (Figura 5A), consumindo folhas (Figura 5B e 5C), cotilédones e órgãos reprodutivos tenros (Figura 5D). Em altas populações, consomem até a gema apical, o que provoca a morte das plantas (Nogueira, 1981; Salas, 1998; Salas *et al.*, 1999; Gallo *et al.*, 2002; Freire Filho *et al.*, 2005).

Segundo Sartorato *et al.* (1983) e Zimmermann *et al.* (1988), a cultura suporta certo nível de desfolhamento sem perdas significativas na produção. Contudo, níveis de desfolha iguais ou superiores a 25% na fase vegetativa (Gallo *et al.*, 1988), no florescimento e no enchimento de vagens (Vieira, 1981; Hohmann & Carvalho, 1983; Sartorato *et al.*, 1983) causam prejuízos economicamente significativos.

O controle desta praga, tanto na fase adulta como na fase de larva, é feito exclusivamente pelo uso de inseticidas convencionais, uma vez que inexistem produtos alternativos registrados para o manejo da praga (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento–MAPA, 2007).

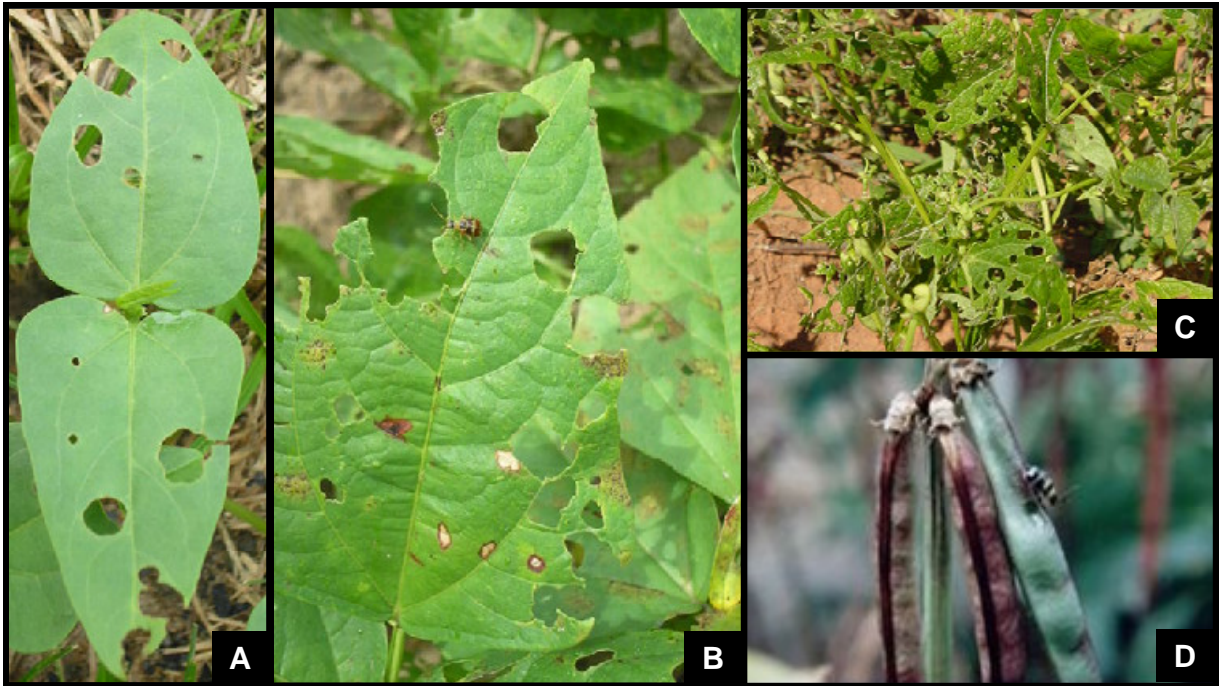


Figura 5. Danos foliares provocados pela vaquinha logo após a emissão dos primeiros folíolos do feijão-caupi (A); folhas (B e C) e órgãos tenros reprodutivos (D). Fotos: Alécio, M. R. (2006).

3.2 Histórico do uso de plantas inseticidas para o controle de pragas na agricultura

Plantas inseticidas para o controle de pragas na agricultura vêm sendo utilizadas pelo homem há vários séculos. Os primeiros inseticidas botânicos utilizados foram a nicotina extraída do fumo *Nicotiana tabacum* L, a piretrina extraída do piretro *Chrysanthemum cinerariifolium* Calli, a rotenona obtida de *Derris* spp. e *Lonchocarpus* spp., a sabadina e outros alcalóides extraídos da sabadila *Schoenocaulon officiale* Lind e a rianodina obtida de *Rhyania* sp. (Gallo *et al.*, 2002)

Durante os primeiros 50 anos do século XX predominaram, para o controle de pragas agrícolas, os produtos inseticidas naturais de origem orgânica e inorgânica (Mariconi, 1963; Vieira & Fernandes, 1999). Os inorgânicos mais utilizados foram os arseniatos de cálcio e chumbo (verde paris), cupratos (calda bordalesa), enxofre em pó, vários sulfatos, cal, fluorsilicato de bário, aminosselenossulfito de potássio (criolite) e óleos minerais. Destes, os arseniatos

mostravam-se extremamente tóxicos ao homem, animais superiores e ambiente (Vieira & Fernandes, 1999).

Dentre os orgânicos de origem natural foram muito utilizados os alcalóides como a nicotina (Mariconi, 1963), nor-nicotina (Mariconi, 1981), os piretróides como a piretrina (Larini, 1979), os rotenóides, tendo a rotenona (Corbett, 1940) como principal exemplo, e, em menor escala, alguns quassinóides como a quassina (Klocke *et al.*, 1991).

Nas décadas de 50 e 70 ocorreu uma explosão no desenvolvimento da síntese orgânica, inclusive de produtos com atividade inseticida, e passaram a ser utilizados o HCH (hexacloroexano), DDT, aldrin, dieldrin e clordano (Vieira & Fernandes, 1999).

A partir da década de 60, a proteção ao meio ambiente começou a preocupar cientistas, usuários e consumidores e estudos sobre o processo de interação inseto-planta se iniciaram, buscando entender os mecanismos de adaptação da natureza (Campanhola, 1990). O efeito dessa filosofia refletiu-se nas décadas seguintes, quando novos produtos passaram a ser planejados e sintetizados, buscando maior seletividade aos insetos alvo. Procurou-se preservar os demais animais do mesmo habitat, incluindo predadores naturais dos insetos indesejados (Vieira & Fernandes, 1999). A biodegradabilidade dos produtos passou a ser um requisito importante, até fundamental, nas novas avaliações e planejamento de agentes inseticidas (Mariconi, 1981). Com isso, devido à necessidade de se dispor de novos compostos para o efetivo controle de pragas sem os problemas de contaminação, as pesquisas com inseticidas botânicos ressurgiram e passaram a adquirir grande importância nas últimas décadas (Viegas Júnior, 2002).

3.3 Os timbós

A palavra timbó é de origem tupi: ti = sumo, suco e mbo = cobra, significado, portanto, sumo de cobra, suco venenoso, suco que mata (Corbett, 1940). Trata-se de uma planta conhecida pela sua toxicidade, principalmente para insetos e peixes. Segundo Tozzi (1998), esse vegetal é amplamente encontrado na região Amazônica, tanto em floresta primária como em áreas já desbravadas (Figura 6).



Figura 6. Plantas de timbó encontradas as margens da BR 174. Fotos: Alécio, M. R. (2006).

O conhecimento da toxicidade dos timbós para insetos não é recente. Essas plantas já eram usadas para o controle de pragas e em pescarias pelos indianos e chineses desde o século VIII. Outras referências remontam os tempos de Anchieta, Piso, Castelnau, Wallace, Spruce e Martius (séculos X a XIII) (Corbett, 1940).

De acordo com Lima (1987), os timbós já eram cultivados ou apenas explorados pelos nativos, mesmo antes do descobrimento da América por Cristóvão Colombo. No Brasil, sabe-se que os indígenas de diversas regiões, particularmente da Amazônia, fazem suas pescas com o uso dessas plantas, principalmente em ocasiões de grandes festas, quando necessitam de maiores quantidades de alimentos. Provavelmente, foi isto que Anchieta se referia ao falar das “pescarias fantásticas”, que presenciou nas adjacências de São Vicente (Id., Ibid.).

Nessas pescarias, os indígenas empregam raízes frescas dos timbós que, batidas e agitadas na água, produzem um líquido leitoso, com cheiro muito forte e peculiar. Sob a ação desse suco, mesmo muito diluído, os peixes perdem o equilíbrio, sobem aturdidos à superfície e nadam descontrolados para as margens dos rios e se deixam apanhar facilmente. Em águas paradas a mortalidade é total (Corbett, 1940; Lima, 1987).

De acordo com Pires (1978), na região Amazônica, é frequente encontrar plantações de timbó em fundos de quintal ou em locais onde existiram antigas habitações de índios ou de

caboclos. Este autor relatou que os habitantes dessa região usavam raízes de timbó para a pesca e, eventualmente, para matar os piolhos dos animais domésticos.

3.3.1 Caracterização botânica

As plantas conhecidas como timbós pertencem a vários gêneros, como: *Derris*, *Lonchocarpus*, *Thephrosia*, *Millettia*, *Serjania* etc., pertencendo, inclusive, a famílias diversas, como: Fabaceae, Papilionaceae, Sapindaceae, Compositae, Cariocaraceae etc. (Corbett, 1940; Lima, 1987). Na América do Sul, essas plantas são conhecidas por diversos nomes: na Amazônia brasileira, por timbó, tinguí e cunambi; no Peru e na Colômbia, por cube e barbasco; na Guiana, por haiari e em Suriname, por nekoe (Pires, 1978).

Fusée-Aublet, em 1775, fez a descrição botânica de um timbó nativo da América do Sul e lhe deu o nome de *Robina nicou* (Lecoinge, 1936 *apud* Corbett, 1940). Em 1930, o botânico E. P. Killip descreveu as duas espécies de *Lonchocarpus* mais usadas para o controle de pragas. O barbasco originário do Peru foi identificado como *Lonchocarpus nicou* e o timbó vermelho ou timbó urucu, do baixo Amazonas, foi classificado como *Lonchocarpus urucu* (Roark, 1936 *apud* Corbett, 1940).

Segundo Lima (1987), há muitas espécies de timbó, mas as de uso mais generalizado na Amazônia são o timbó vermelho, *Derris urucu* (Killip et Smith) Macbride e o timbó branco, *Derris nicou* (Killip et Smith) Macbride. Essas duas espécies pertenciam ao gênero *Lonchocarpus*, e passaram para o gênero *Derris*, em revisão feita por Francis Macbride, que as colocou na família das fabáceas.

Essas duas espécies de timbó apresentam diferenças em relação à fecundidade, rusticidade, arquitetura da planta e produtividade. No timbó vermelho, as hastes se tornam escandentes, desde novas, e entrelaçam-se, formando um teto compacto que cobre o solo. Já o timbó branco mantém suas hastes eretas e, só depois de muitos anos, estas se tornam escandentes. O timbó vermelho apresenta produção de até quatro vezes mais raízes e melhor proteção ao solo do que o timbó branco (Lima, 1987).

Outra espécie de timbó usada como planta inseticida é a *Derris elliptica*, estudada primeiramente por Kazuo Nagai, em 1902, foi levada da Ásia Tropical para o Japão. Nagai

observou que o princípio ativo desta planta era um produto cristalino, ao qual foi dado o nome de rotenona (Corbett, 1940). Posteriormente, essa espécie conhecida como tubá, toeba ou timbó asiático, foi introduzida em Parintins-AM, por imigrantes japoneses, possivelmente, para uso como inseticida e adubo verde (Lima & Costa, 1991).

3.3.2 Os timbós no controle de pragas

Entre os anos de 1880 a 1940 o controle de pragas com o uso de extratos e óleos de plantas atingia seu apogeu. Os timbós apresentavam-se como um dos grupos mais importantes para essa finalidade (Caminha Filho, 1940; Corbett, 1940). Estes autores apresentam em seus trabalhos uma grande quantidade de experiências realizadas com extratos de raízes de timbó, por diversos pesquisadores da época, em vários países.

Com isso, devido a grande disponibilidade dessas plantas na Amazônia e a enorme procura do mercado, a região Amazônica passou a exportar raízes dos timbós, em 1939, através do porto de Belém-PA para vários países e Estados brasileiros. No mercado interno, os Estados do Rio Grande do Sul, São Paulo e Rio de Janeiro eram os principais compradores e no mercado externo, os Estados Unidos e a França destacavam-se entre os países que importavam as maiores quantidades deste agrotóxico natural (Lima, 1947).

Nessa época, havia vários moinhos em operação em Manaus-AM e Belém-PA (Id., *ibid.*) e o produto exportável era o pó das raízes dos timbós, que era utilizado para a extração da rotenona, com a qual preparavam diversos produtos de largo emprego no controle de pragas das lavouras e aos insetos de hábitos domésticos, além de roedores e ectoparasitos de animais domésticos (Lima, 1987). Passava ainda, pelos portos brasileiros, o pó de timbó vindo do Peru, embarcado pelo porto de Iquitos (Lima, 1947).

Após a II Guerra Mundial, com o surgimento dos inseticidas sintéticos, o comércio do pó das raízes dos timbós entrou em colapso; os moinhos fecharam e a atividade de pesquisa com a cultura foi completamente desativada (Pires, 1978). Entretanto, face aos grandes problemas causados pelos inseticidas sintéticos ao ambiente e ao homem, muitos cientistas reiniciaram, nas últimas décadas, pesquisas com plantas inseticidas buscando novas alternativas de controle dos

insetos que apresentem segurança, seletividade, biodegradabilidade, viabilidade econômica e aplicabilidade em programas integrados de controle de pragas (Viegas Júnior, 2002).

Deste modo, diversos cientistas voltaram a pesquisar a aplicabilidade dos timbós para o controle de pragas, nas últimas décadas (Costa *et al.*, 1986; Lima, 1987; Nawnot *et al.*, 1987; Maini & Morallo, 1993; Lima & Costa, 1998; Mascaro *et al.*, 1998; Tozzi, 1998; Costa *et al.*, 1999a; Costa *et al.*, 1999b; Tokarnia *et al.*, 2000; Fazolin *et al.*, 2002; Luitgards-Moura *et al.*, 2002; Pereira & Famadas, 2004; Alécio *et al.*, 2005; Azevedo *et al.*, 2005; Correa, 2006).

Costa *et al.* (1986) estudaram o efeito do extrato aquoso das raízes de timbó (*Derris urucu*) no controle de piolhos (*Haematopinus tuberculatus* Burmeister) em búfalos e verificaram que, quando aplicado por meio de pulverizações, o extrato foi eficiente em controle dos piolhos, apresentando a mesma eficácia em uma amplitude de 0,25 a 2%, pelo menos até sete dias após a aplicação. Concluíram que a eficiência do timbó pode ser comparada a dos melhores produtos químicos utilizados no controle deste inseto, com a vantagem de poder ser cultivado na própria fazenda, a baixo custo, estando, por conseguinte, prontamente disponível para uso.

Mascaro *et al.* (1998) determinaram a dose letal 50% (DL₅₀) do extrato alcoólico do pó de raízes de *Derris* spp para três espécies de peixes filogeneticamente diferentes, *Collosoma macropomum* Curvier (Tambaqui), *Oreochromis niloticus* Niloticus (Tilápia), *Plecostomus* sp (cascudo) e um mamífero roedor (*Rattus norvegicus* Berkenhout). As DL₅₀ para as três primeiras espécies foram de 2,6, 4,8 e 14,2 µg do extrato por ml de água, respectivamente. Já para o mamífero, a DL₅₀ foi de 100 mg do extrato por kg do roedor. Segundo estes autores, as diferenças entre os valores das DL₅₀, principalmente entre os peixes e os ratos são devido a fatores farmacocinéticos que se relacionam com as diferentes barreiras textuais gástricas encontradas pelos rotenóides quando administrados por via oral em mamíferos, que dificultam a ocorrência de concentrações plasmáticas capazes de produzirem efeitos sistêmicos tóxicos significativos.

Maini & Morallo (1993) estudaram o efeito de *D. elliptica* aplicado em pulverização sobre caracóis e lesmas e verificaram que, o extrato aquoso da raiz foi tóxico a 2.000 ppm (v.v⁻¹), enquanto que, o extrato do caule proporcionou 30% de mortalidade a 10.000 ppm (v.v⁻¹).

Azevedo *et al.* (2005) testaram o efeito de diversos produtos naturais para controle de adultos de *Bemisia tabaci* Gennadius biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae) na cultura do meloeiro (*Cucumis melo* L), em condições de casa de vegetação e campo, e identificaram que o extrato de

timbó foi mais eficiente no controle de adultos desses insetos no início de cultivo e para ninfas, no final do ciclo.

Correa (2006) avaliou a toxicidade do extrato de *Lonchocarpus floribundus* Benth em *Toxoptera citricidus* Kirkald (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aphidoidea) por meio de pulverização e encontrou o valor para CL₅₀ de 1,75% e 5,75% (v.v⁻¹), respectivamente para os extratos alcoólico e aquoso. Neste trabalho, a autora considerou as referidas concentrações promissoras para o controle da praga.

Alécio *et al.* (2005) avaliaram o potencial inseticida do extrato de raízes de *Derris rariflora* Macbride sobre o gorgulho-do-milho (*Sitophilus zeamais* Mots) em condições de laboratório. Os autores determinaram a concentração letal de 0,82 µl do extrato por cm² de superfície tratada (papel-filtro) e concluíram que o extrato apresentou-se promissor para o controle da referida praga.

Luitgards-Moura *et al.* (2002) determinaram o efeito em superfície tratada (papel-filtro) do extrato alcoólico de *D. amazonica* para larvas de *Lutzomyia longipalpis* Lutz (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) e obtiveram a concentração letal média (CL₅₀) de 21,2% (m.v⁻¹).

Pereira & Famadas (2004) realizaram testes laboratoriais para avaliar a eficiência do extrato alcoólico de raízes do timbó *Dahlstedtia pentaphylla* (Taub.) Burk. sobre o carrapato de bovinos *Boophilus microplus* Canestrini da região do Vale do Paraíba. Os experimentos foram efetuados sobre teleóginas (fêmeas ingurgitadas) e larvas de sete a dez dias não alimentadas. As CL₅₀ determinadas foram de 1,65% e 2,87% (m.v⁻¹), respectivamente, para teleóginas e larvas.

Costa *et al.* (1999a) avaliaram a diferença entre espécies de timbó (*D. nicou*, *D. urucu* e *D. elliptica*) coletadas em diferentes Regiões da Amazônia no controle de larvas da *Musca domestica* L. e observaram uma grande variação de eficiência na mortalidade dos insetos dentro de cada espécie de timbó, com resultados de mortalidades que variaram desde praticamente nulos até altamente letais para o inseto.

Segundo Costa *et al.* (1999b) esta diferença na mortalidade dos indivíduos testados foi devido aos diferentes teores de rotenona contido nos pós das raízes de cada planta, conforme observado por meio da análise de correlação, que foi significativa entre os teores deste princípio ativo e a capacidade de controle de *M. domestica*. Os diferentes teores de rotenona, encontrado em plantas de mesma espécie de timbó originadas de regiões diferentes, pode ser devido ao

isolamento que as populações foram submetidas durante o período do quaternário, formando assim os chamados “refúgios florestais” (Costa *et al.*, 1999a).

3.3.3 Ocorrência e sistema de cultivo

Tozzi (1998) realizou coletas de plantas de timbó de dois gêneros (*Derris e Lonchocarpus*) em vários países da América do Sul. A autora verificou que as espécies de timbós podem ser encontradas tanto em áreas de floresta densa, como em capoeiras, clareiras ou em locais sombreados próximos às margens de riachos, em solos argilosos ou não, neutros a muito ácidos. Na natureza, as plantas de timbós, principalmente as do gênero *Derris e Lonchocarpus*, são bastante semelhantes entre si. Além disso, o solo, insolação, sombreamento, umidade, idade e posição de ramos (se nas partes apicais, intermediárias ou basais) podem alterar a morfologia das plantas, que podem levar a equívocos taxonômicos ou dificultar a correta identificação dos exemplares no campo.

De acordo com Lima (1987), os timbós são amplamente encontrados na região Amazônica e podem ser cultivados com facilidade, o que viabiliza ainda mais o seu uso como inseticida natural. Para este autor, plantas de timbó se desenvolvem bem em ambientes que apresentam entre 1.900 mm a 3.500 mm de precipitação anual.

A principal forma de propagação é a vegetativa e deve ser feita no início da estação chuvosa, onde se consegue mais de 90% de pegamento. A rebrota ocorre em mais ou menos uma semana e aos três anos de idade, o rendimento de uma plantação de timbó, com espaçamento de 3m x 2m, pode atingir nove toneladas por hectare de raízes frescas (Id., Ibid.).

Entretanto, plantas multiplicadas somente vegetativamente podem perder a capacidade de reprodução por semente. As plantas floridas são encontradas somente em áreas de floresta densa. Isso pode ser constatado pela quase total ausência de material reprodutivo encontrado nos herbários das instituições de pesquisa de todo mundo (Tozzi, 1998).

Os timbós, quando cultivados em espaçamento de 2,0 m x 2,0 m ou 2,0 m x 3,0 m, formam sobre o solo uma manta vegetal de boa espessura, que proporciona grande proteção ao solo, por evitar a incidência direta do sol e da chuva. Debaxo desta manta, as radículas se apresentam ricas em nodosidades, resultantes da simbiose com a bactéria *Rhizobium spp.* (Lima, 1947).

3.3.4 Princípio ativo dos timbós

A maioria dos autores que desenvolveram estudos utilizando extratos de timbós (*Derris e Lonchocarpus*) para o controle de insetos pragas atribuiu a toxicidade destas plantas à rotenona (Caminha Filho, 1940; Corbett, 1940; Pinto, 1953; Cravero *et al.*, 1976; Pires, 1978; Lima, 1987; Crombie & Whiting, 1998; Luitgards-Moura *et al.*, 2002; Fazolin *et al.*, 2002; Pereira & Famadas, 2004; Azevedo *et al.*, 2005; Correa, 2006).

Entre as plantas conhecidas como timbó, as que possuem os maiores teores de rotenona (Figura 7A) são as pertencentes aos gêneros *Derris e Lonchocarpus*. A maior concentração dessa substância se encontra nas raízes e seu teor pode variar de 5 a 13%, dependendo da espécie (Costa, 1996; Lima & Costa, 1998).

A rotenona é biossintetizada pela via do metabolismo secundário e se constitui na principal substância tóxica encontrada nas raízes dos timbós para insetos e peixes (Mors, 1978). É um isoflavonóide cristalino, inodoro e insípido que aparece sempre acompanhado de outros compostos flavonoídicos rotenóides como deguelina (Figura 7B) e tefrosina (Figura 7C), que também apresentam atividade inseticida (Corbett, 1940; Cravero *et al.*, 1976; Lima, 1987; Silva *et al.*, 2002). Contudo, a deguelina e a tefrosina apresentam, respectivamente, três e sete vezes menor toxicidade para insetos do que a rotenona (Lima, 1987).

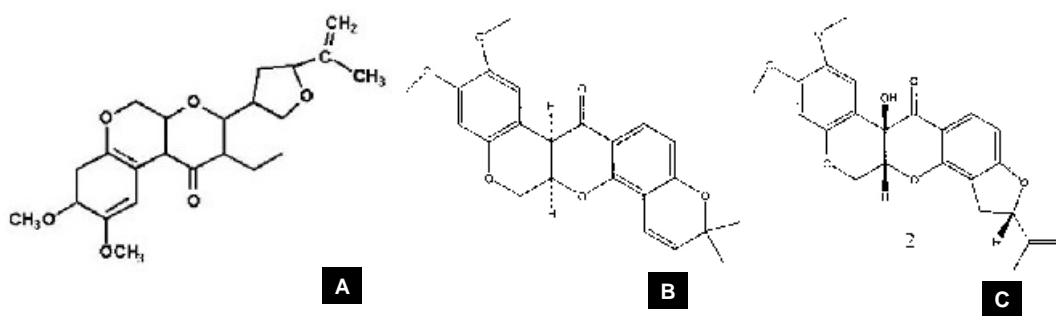


Figura 7. Formula estrutural da rotenona (A); deguelina (B) e tefrosina (C).

Além da rotenona, Mors (1978) isolou de raízes de *Derris urucu* outros princípios ativos, entre eles uma saponina de alto poder espumífero, denominada de derrisídio. Este autor destaca que, no complexo tóxico dos timbós, esta saponina parece desempenhar ação de agente dispersivo da rotenona.

A rotenona causa morte dos animais por meio da inibição da cadeia respiratória mitocondrial, bloqueando a fosforilação do ADP a ATP, sendo peixes e insetos altamente sensíveis (Mascaro *et al.*, 1998). Os sintomas que os insetos intoxicados apresentam são: diminuição do consumo de oxigênio, redução da respiração e ataques que provocam convulsões e conduzem finalmente a paralisias e morte por parada respiratória (Silva *et al.*, 2002).

Apesar de a rotenona ser pouco solúvel em água, apresenta excelente solubilidade em clorofórmio, éter, acetona, tetracloreto de carbono e nos derivados do etileno (Corbett, 1940).

Silva *et al.* (2002) relatou que a rotenona é tóxica para insetos pelas vias de ingestão (estomacal e traqueal) e contato, reunindo, de acordo com Cravero *et al.* (1976), três formas de intoxicação usadas para controlar pragas (contato, envenenamento e asfixia). Segundo Roark (1933) *apud* Corbett (1940) a rotenona é 30 vezes mais tóxica que o arseniato de chumbo para o bicho-da-seda e 13 vezes mais tóxica que a nicotina, usada como inseticida para afídeos.

De acordo com Caminha Filho (1940), este isoflavonóide apresenta grande valor como inseticida contra as pragas dos vegetais, como: cochonilhas e pulgões (Hemiptera), piolhos (Anoplura), vespas (Hymenoptera), mariposas e borboletas (Lepidoptera), etc., tanto no estágio adulto como em diversos períodos de desenvolvimento dos insetos (ovos, larvas, lagartas, crisálidas e pupas). É também eficiente para os ectoparasitas de animais domésticos e do homem, tais como: pulgas (Siphonaptera), piolhos (Anoplura), carrapatos (Acari) e bernes (Diptera).

Em relação aos peixes, Caminha Filho (1940) relatou que a rotenona é tóxica a uma concentração de 0,00001% (0,001g de rotenona por ml de água), enquanto Corbett (1940) verificou a toxicidade desse princípio ativo na concentração de 0,0012 g por litro de água para peixes acarás (*Geophagus brasiliensis*). Em seu experimento, Corbett (1940) observou que os peixes morreram meia hora após a aplicação da rotenona na água e que a morte ocorreu aparentemente por paralisia respiratória, embora os batimentos cardíacos continuassem por algum tempo, depois de sustados os movimentos respiratórios.

Pinto (1937) empregou, com sucesso, a rotenona como carrapaticida sob a forma de pó das raízes em solução de sabão em água, como também recomendou o seu uso no tratamento de pediculose e no controle de bernes e piolhos.

Saito & Luchini (1998) relatam que a rotenona é eficaz para o controle de besouros e lagartas, porém sua toxicidade pode ser mais ou menos ativa de acordo com a espécie de inseto e, sua ação, pode demorar um pouco para se manifestar.

Ware (1993) verificou que a rotenona tem uma dose letal (DL₅₀) em ratos, de aproximadamente 350 mg/kg de peso vivo. Lapa *et al.* (1978) concluíram que a rotenona, quando injetada em ratos, induz a bradicardia, hipotensão e parada respiratória.

Nawnot *et al.* (1987) verificaram a atividade anti-alimentar de diversos agrotóxicos contra várias pragas de produtos armazenados e concluíram que, contra a *Homogyne alpina* L, a rotenona de *Derris elliptica* foi a substância mais efetiva.

Turner (1932) *apud* Corbett (1940), trabalhando com extratos de timbó na proporção de 1:25000 a 1:75000 e diluídos em 0,5 a 2,0% de óleo sulfonado, obteve mortalidade entre 96,4 a 100% de *Glapholitha molesta* Busck, *Dialeurodes citri* Ashmead, *Aspidiotus perniciosus* Cockerell e *Chionaspis pinifoliae* Fitch. Com rotenona diluída em óleo mineral a 1:25000 ocorreu 78% de mortalidade em larvas do besouro da batata do colorado (*Leptinotarsa decemlineata* Say), em seis dias.

Fazolin *et al.* (2002) obtiveram resultados satisfatórios quando avaliaram o potencial inseticida de diferentes concentrações de rotenona extraída de *Derris urucu* sobre *Cerotoma tingomarianus* Bechyné em casa de vegetação. No estudo, os autores avaliaram o efeito sobre a mortalidade e consumo foliar dos insetos e concluíram que a concentração de 0,13% de rotenona foi eficiente para o controle da praga, provocando mortalidades significativas e inibição de alimentação dos insetos.

Muitos são os fatores que destacam a rotenona para o controle de pragas. Não apresenta fitotoxicidade (Reynolds, 1989), é biodegradável e foto sensível, pois quando exposta à luz, degrada-se em até três dias (Moreira *et al.*, 2005). Quando aplicada na natureza, decompõe-se mais rapidamente do que a nicotina e a piretrina (Mariconi, 1981).

Para Tokarnia *et al.* (2000) a rotenona, apesar de ser muito tóxica para peixes, é de baixa toxicidade para animais de sangue quente e, experimentalmente, plantas produtoras deste princípio ativo (timbós) não tem se revelado tóxicas para bovinos e outros animais domésticos.

Entretanto, cuidados devem ser tomados quanto à utilização da rotenona para o controle de pragas, uma vez que trabalhos realizados em ratos e coelhos confirmaram a toxicidade desta substância para mamíferos (Lapa *et al.*, 1978; Hayes, 1982; Ellenhorn & Barceloux, 1988; Ware, 1993) e há relatos na literatura de diversos casos de morte de humanos, intoxicados (acidental ou suicídio) por este princípio ativo em todo mundo (Ambrose & Haag, 1936 *apud* Corbett, 1940; Hayes, 1982; Windholz, 1983; Gosselin, 1984; Wilde *et al.*, 1986).

Deste modo, há um grande interesse ecológico e econômico nesses princípios ativos como agentes controladores de insetos na agricultura ou em certas relações planta/inseto (Crombie & Whiting, 1998), bem como em interações tritróficas (planta – inseto – inimigo natural).

4 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), laboratório de Entomologia Agrícola da Coordenação de Pesquisas em Ciências Agronômicas (CPCA), em Manaus, AM.

4.1 Coleta e processamento das raízes de timbó

O material vegetal foi coletado no município de Presidente Figueiredo–AM Ramal da Morena (Figura 8A) e acondicionado em sacos plásticos escuros, devidamente etiquetados, contendo o nome do coletor, local e a data da coleta. Este material foi encaminhado ao laboratório de Entomologia Agrícola do INPA/CPCA para identificação, processamento e análise. Para a identificação e catalogação da espécie, foram preparadas exsicatas do material vegetal e enviadas ao herbário do INPA (Figura 8B).



Figura 8. Coleta das raízes de timbó no município de Presidente Figueiredo–AM, Ramal da Morena (A) e exsicata (B). Fotos: Alécio, M.R. (2006).

As raízes de timbó foram lavadas, reduzidas a pedaços menores e secas em estufa com circulação de ar forçado, à temperatura de 42 °C por sete dias, até atingir peso constante. O material seco foi triturado em moinho tipo faca até ser reduzido a pó, que foi acondicionado em sacos plásticos escuros para posterior obtenção dos extratos.

4.2 Obtenção do extrato de raízes de timbó

Para obtenção do extrato, 40 g de pó de raízes de timbó (Figura 9A) foram colocados em filtro de papel para café (Melita® n°103) (Figura 9B) e, juntamente com 200 ml de álcool etílico 95% p.a. (Figura 9C) foram levados ao sistema extrator Soxhlet (Figura 9D). Este sistema foi aquecido à temperatura de refluxo do solvente ($72\pm 2^\circ\text{C}$) por um período de cinco horas consecutivas. Para evitar perdas por degradação da rotenona, as luzes do laboratório foram apagadas e as cortinas estendidas durante todo o processo de obtenção do extrato, com o objetivo de reduzir substancialmente a luminosidade ambiente.

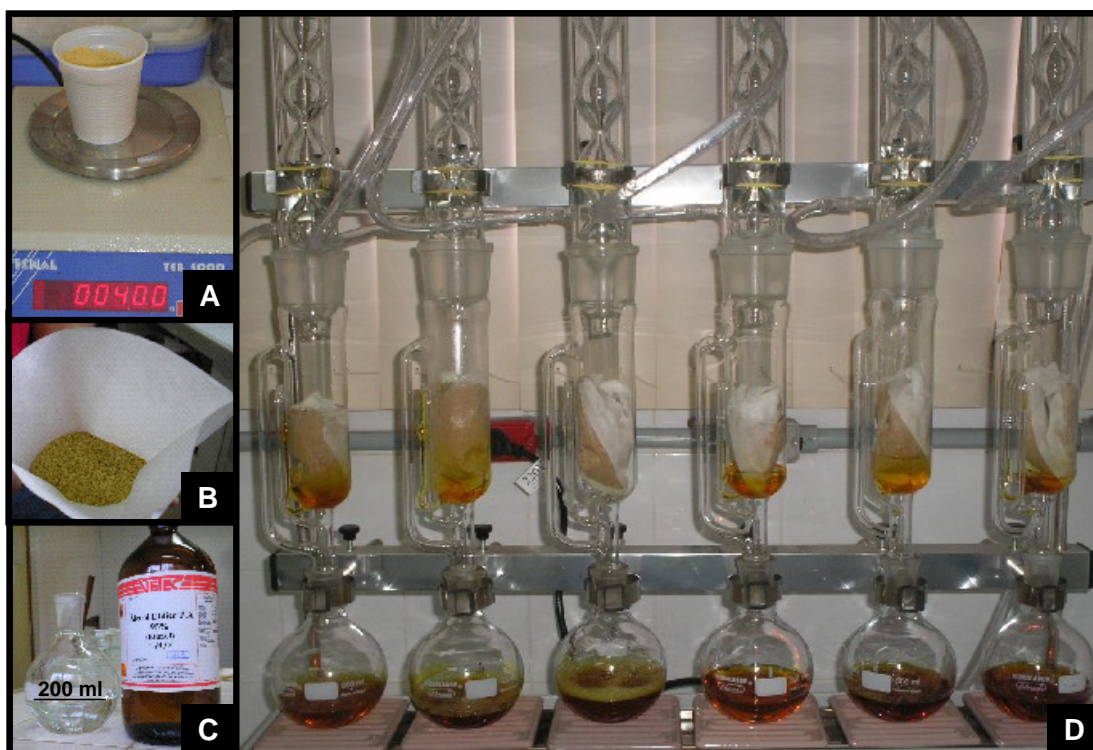


Figura 9. Pesagem de pó de raízes de timbó (A); Pó de raízes de timbó depositado em filtro de papel para café(B); álcool etílico 95% p.a. (C) e sistema extrator Soxhlet (D). Fotos: Alécio, M.R. (2006).

Em seguida, a solução etanólica foi retirada do sistema Soxhlet e levada ao evaporador rotativo para eliminação do solvente (Figura 10A). Este aparelho foi aquecido à temperatura de refluxo do álcool etílico p.a. (72°C). O tempo para eliminação do solvente do extrato bruto foi de aproximadamente quarenta minutos. Posteriormente o extrato foi acondicionado em recipiente de vidro âmbar devidamente fechado (Figura 10B) e protegido, com auxílio de saco plástico escuro, contra a incidência direta de luminosidade. O vidro foi mantido em geladeira a uma temperatura média de 5°C, até a utilização do extrato nos bioensaios.



Figura 10. Evaporador rotativo MA 120 (A) e extrato de raízes de timbó acondicionado em recipiente de vidro âmbar hermeticamente fechado (B). Fotos: Alécio, M.R. (2006).

O rendimento do extrato, em relação à massa vegetal seca das raízes de timbó, foi de 5,86 %. A análise cromatográfica do extrato foi realizada na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), Laboratório de Alimentos e Plantas Bioativas (LAPB), em Rio Branco, AC, utilizando-se um cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE) Shimadzu® (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão), equipado com bomba de alta pressão LC-10ATVP, válvula de gradiente quaternário, degaseificador de membrana a vácuo, câmara de mistura para alta e baixa pressão, amostrador automático, detector de ultravioleta com fonte de deutério e comprimento de onda fixado a 295 nm, máximo de absorção da rotenona.

A coluna de análise foi a de fase reversa C-18 modelo Shim-pack VP-ODS com 4,6 mm x 25 cm e diâmetro da partícula de 5 µm, mantida a temperatura constante de 25 °C durante toda a análise, em forno de colunas. Para as análises, utilizou-se, como fase móvel, uma mistura de acetonitrila (Merck-LiChrosolv® Darmstadt, Alemanha) e água ultrapura obtida em aparelho

Millipore® (Millipore Corporation, MA, EUA) a um fluxo constante de 1 ml por minuto com o seguinte gradiente: início com acetonitrila e água na proporção de 25/75 v.v⁻¹ chegando em 15 minutos a proporção de 80/20 v.v⁻¹, sendo mantida constante por 10 minutos. Antes de cada corrida o sistema foi estabilizado por 10 minutos com acetonitrila/água na proporção de 25/75 (v.v⁻¹).

Os padrões com 0,1 a 0,5 mg/l foram preparados por diluição de uma solução estoque de rotenona (1 mg/l em acetonitrila) em fase móvel (acetonitrila/água 1:1 v.v⁻¹). As amostras para análise foram preparadas por agitação (10 minutos) de 3 ml de uma solução de 1 mg.ml⁻¹ do extrato bruto com 200 mg de poliamida-6 (Fluka, 0,25 g.ml⁻¹, tamanho de partícula de 50-160 µm) seguida de filtração em filtro de amostra de 2,5 µm. Todas as amostras foram preparadas protegidas de luminosidade. O cromatograma do padrão de rotenona e do extrato bruto do timbó é mostrado na Figura 11.

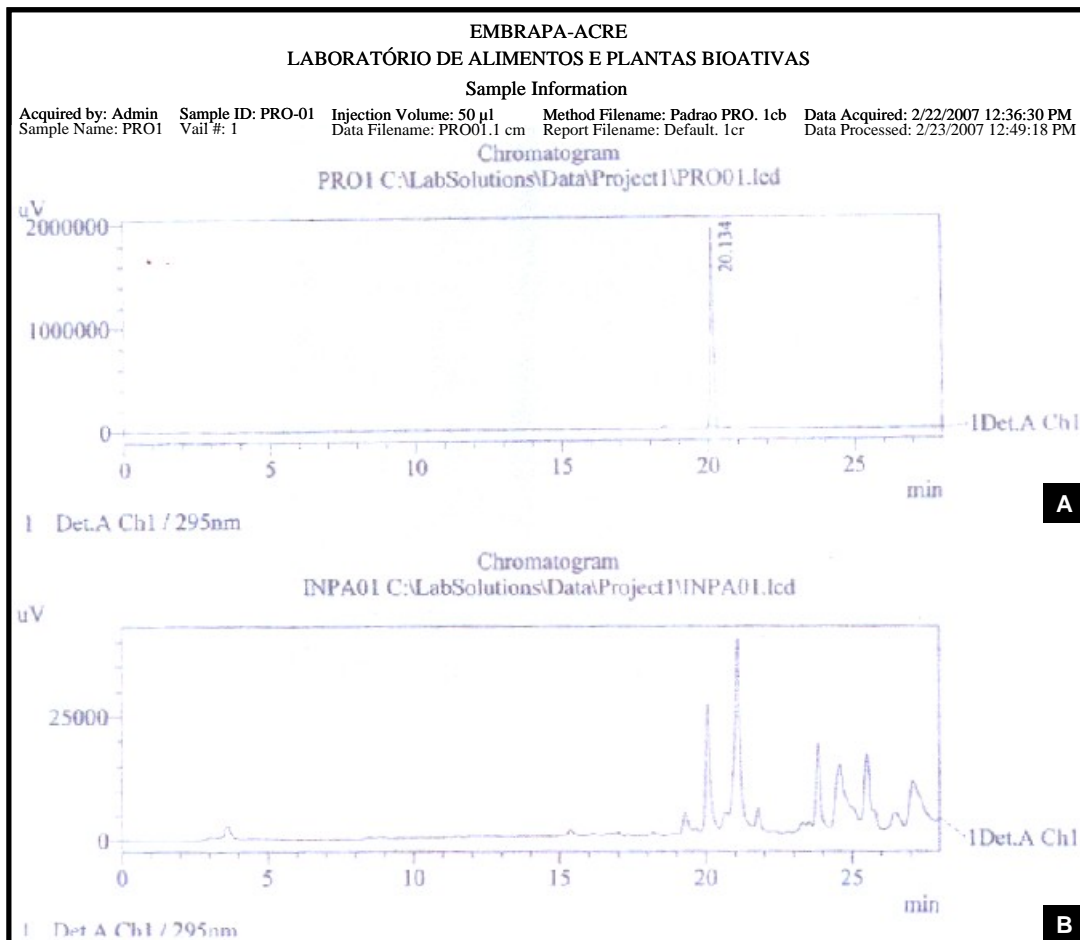


Figura 11. Cromatograma do padrão da rotenona (A) e do extrato bruto de *D. amazonica* (B).

4.3 Montagem dos bioensaios

Foram adotadas, como referência, as metodologias descritas por Fazolin *et al.* (2002) e Fazolin *et al.* (2005), que desenvolveram estudos similares a este, com a finalidade de avaliar produtos de origem botânica para o controle da vaquinha-do-feijoeiro *Cerotoma tingomarianus* Bechyné (Coleoptera: Chrysomelidae).

Para todos os bioensaios, os insetos adultos foram coletados no campo, com rede entomológica, em áreas cultivadas com feijão-caupi na Estação Experimental Alejo van der Pahlen do INPA, localizada na rodovia AM 010, km 14, município de Manaus, Amazonas. Esses insetos foram padronizados de acordo com o tamanho (5 ± 1 mm) e expostos ao extrato de *D. amazonica* por ingestão de folhas tratadas, contato sobre superfície tratada (papel-filtro) e aplicação tópica.

4.3.1 Bioensaios preliminares

Primeiramente foram realizados testes de ajustes metodológicos para as três vias de intoxicação, com o propósito de determinar padrões ideais para as seguintes variáveis: número de insetos por placa de Petri, tempo de exposição dos insetos ao produto, volume de produto a ser utilizado, tempo ideal de paralisação dos movimentos por congelamento (-16°C) dos insetos.

Os parâmetros considerados mais adequados foram: A) 5 insetos por placa de Petri para todos os bioensaios; tempo de exposição ao produto de 72, 48 e 72 horas, respectivamente para as vias de intoxicação por ingestão de folhas tratadas, superfície tratada (papel-filtro) e aplicação tópica; B) volume de 2 ml para pulverização (ingestão de folhas tratadas), 0,7 ml para cada papel-filtro de 7 cm de diâmetro (superfície tratada) e 1 μl aplicado na face ventral do pronoto de cada inseto e C) tempo de três minutos para paralisação dos insetos por congelamento (aplicação tópica) sem o comprometimento de suas funções vitais.

Para determinação das concentrações do extrato de *D. amazonica* utilizadas nos bioensaios definitivos, foram realizados bioensaios preliminares para obtenção de uma ampla faixa resposta de mortalidade dos insetos, ou seja, foram determinadas quais as concentrações do extrato que provocaram baixa (próximo a 0%) e alta (próximo a 100%) mortalidade dos

indivíduos, segundo as três formas de exposição dos insetos ao produto (ingestão de folhas tratadas, superfície tratada e aplicação tópica).

Para isso, 10 ml da solução-estoque foram diluídos em 40 ml de álcool etílico p.a. e essa solução foi diluída em água destilada (ingestão de folhas tratadas e superfície tratada (papel-filtro)) e acetona p.a. (aplicação tópica) nas proporções de 0:80, 1:79, 1:39, 1:19, 1:9, 1:5, 1:3 e 1:1 que corresponderam, aproximadamente, às concentrações de 0% (controle), 0,25%, 0,5%, 1%, 2%, 3,3%, 5% e 10%, respectivamente. Dentro desta ampla faixa de concentrações foram adotadas seis concentrações do extrato de *D. amazonica* (0,5%, 1%, 2%, 3%, 4% e 5%) que, juntamente com um controle (solvente), formaram os sete tratamentos utilizados nos bioensaios definitivos.

4.3.2 Bioensaios definitivos

Todos os bioensaios foram realizados em placas de Petri de 7 cm de diâmetro, protegidas por estrutura telada, confeccionada com garrafas tipo PET. As placas foram mantidas sobre a bancada do laboratório de Entomologia do CPCA/INPA (Figura 12), com fotofase de 12 horas e temperatura e umidade relativa de aproximadamente 25 °C e 70%, respectivamente.



Figura 12. Placas de Petri protegidas por estrutura telada e mantidas sobre a bancada do laboratório de Entomologia Agrícola do CPCA/INPA. Foto: Alécio, M.R. (2006).

4.3.2.1 Superfície tratada (papel-filtro)

Pela via de contaminação por contato com superfície tratada, os bioensaios foram desenvolvidos utilizando-se discos de papel-filtro de 7 cm de diâmetro, impregnados com 0,7 ml das diferentes concentrações do extrato de *D. amazônica* (Figura 13A). Estes discos foram depositados sobre uma estrutura de isopor (Figura 13B), e após a evaporação do solvente foram colocados nas placas de Petri e infestados com cinco adultos de *C. arcuatus* (Figura 13C).

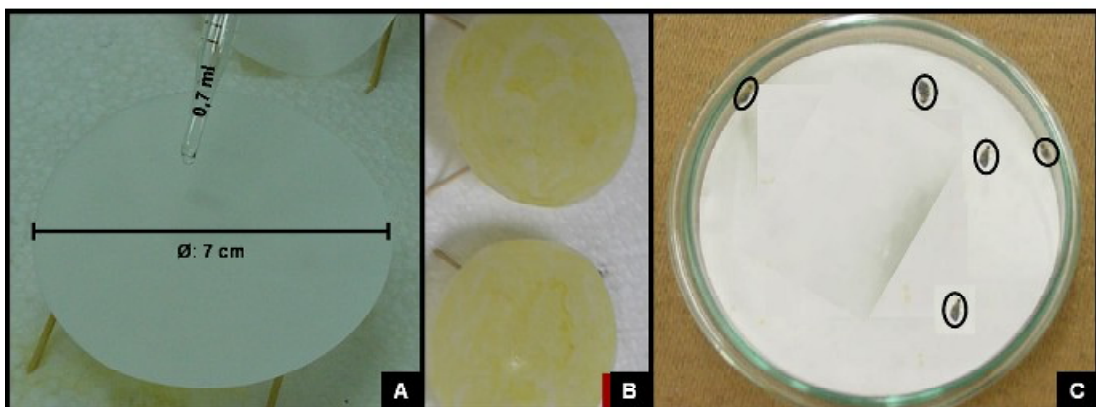


Figura 13. Impregnação de papel-filtro em diferentes concentrações do extrato de *D. amazônica* (A); secagem do disco de papel-filtro sobre estrutura de isopor (B) e infestação das placas de Petri com cinco insetos adultos (C). Fotos: Alécio, M. R. (2005).

Os insetos foram mantidos nas placas de Petri, sem alimentação. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com sete tratamentos (seis concentrações do extrato e um controle (água destilada)) e quatro repetições. Cada placa constituiu uma parcela experimental e todos os bioensaios foram repetidos por três vezes consecutivas, avaliando-se a mortalidade dos indivíduos a cada oito horas, durante dois dias consecutivos.

Com os dados de mortalidade foram determinadas a concentração letal (CL_{50}) e o tempo letal (TL_{50}), com probabilidade de causar 50% de mortalidade dos insetos, de acordo com a metodologia descrita por Finney (1971).

4.3.2.2 Ingestão de folhas tratadas

Para o desenvolvimento desses bioensaios, as folhas de feijão-caupi (Cultivar Branquinho ou Praia), livre de pesticidas, foram coletadas no Campus III do INPA, em Manaus, e levadas ao laboratório de Entomologia Agrícola.

No laboratório, as folhas foram padronizadas, de acordo com o tamanho (9 ± 1 cm de comprimento) e coloração (verde claro), e mergulhadas em água clorada (solução aquosa contendo hipoclorito de sódio a 1%) por aproximadamente cinco segundos, posteriormente lavadas com água destilada (Figura 14A) e depositadas, sobre papel toalha, para eliminação da solução desinfetante (Figura 14B). Em seguida, utilizando-se pulverizadores manuais com capacidade para 500 ml, ajustados para liberação uniforme do produto, quatro folhas utilizadas para cada concentração foram pulverizadas a uma distância média de 35 cm, com 2 ml das diferentes concentrações do extrato de *D. amazonica*, distribuídos nas duas faces das folhas (Figura 14C e 14D). No tratamento controle, as folhas foram pulverizadas com água destilada.

Posteriormente, cada folha foi transferida para uma placa de Petri e infestada com cinco vaquinhas adultas (Figura 14E). Para evitar o ressecamento das folhas, cada pecíolo foi envolvido com um chumaço de algodão umedecido em água destilada.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com sete tratamentos (seis concentrações do extrato e um controle (água destilada)) e quatro repetições. Cada placa constituiu uma parcela experimental e todos os bioensaios foram repetidos por três vezes. A mortalidade dos insetos foi avaliada a cada 12 horas, durante três dias consecutivos. De posse desses dados foram determinadas a concentração letal (CL_{50}) e o tempo letal (TL_{50}), com probabilidade de causar 50% de mortalidade dos insetos, de acordo com a metodologia descrita por Finney (1971).

Ao final do experimento foi determinado o consumo foliar médio das vaquinhas, medindo-se a área foliar remanescente com um integrador de área foliar modelo ADC AM 200 (ADC BioScientific Ltd) (Figura 14F).

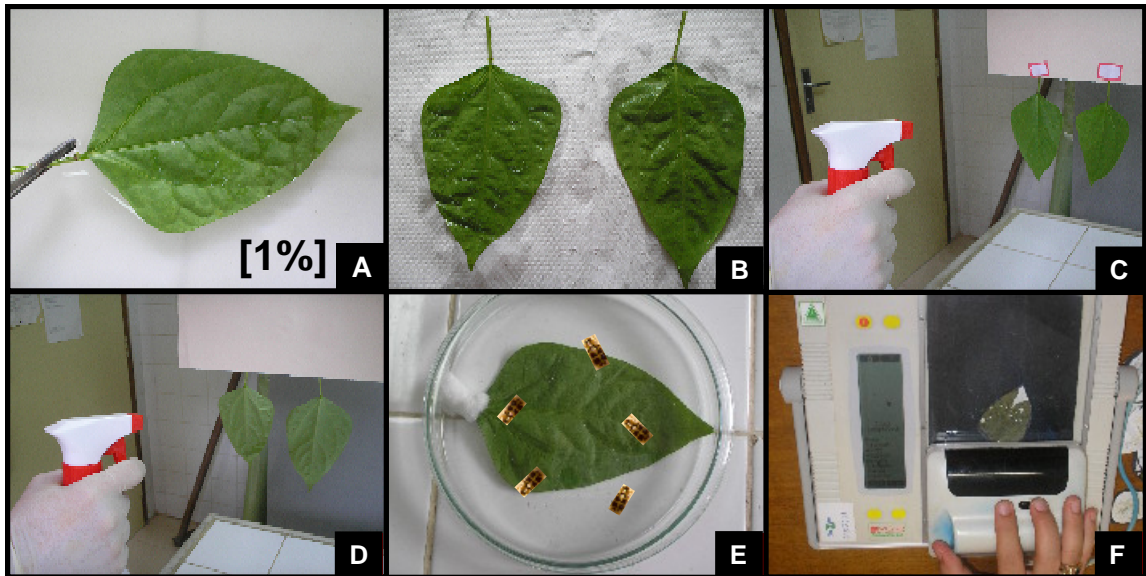


Figura 14. Lavagem das folhas de feijão-caupi em água clorada (A); deposição das folhas de feijão-caupi sobre papel toalha (B); pulverização das folhas de feijão-caupi nas faces adaxial (C) e abaxial (D); folhas de feijão-caupi acondicionadas em placas de Petri e infestadas com cinco vaquinhas adultas (E) e mensuração da área foliar em integrador ADC AM 200 (F). Fotos: Alécio, M. R. (2006).

4.3.2.3 Aplicação tópica

Para o desenvolvimento dos bioensaios de aplicação tópica, os insetos capturados no campo foram imobilizados por congelamento, expondo-se os indivíduos a uma temperatura média de -16°C , em freezer, durante três minutos (Figura 15A).

Em seguida, com o auxílio de uma micro-seringa graduada, foi aplicado $1\mu\text{l}$ do extrato de *D. amazonica*, nas diferentes concentrações, na face ventral do pronoto de cada indivíduo (Figura 15B). No tratamento controle foi aplicado em cada inseto o solvente (acetona). Em cada placa de Petri foram mantidos cinco insetos adultos, que receberam como alimento, diariamente por placa, uma folha de feijão-caupi (Cultivar branquinho ou praia) livre de pesticidas (Figura 15C).

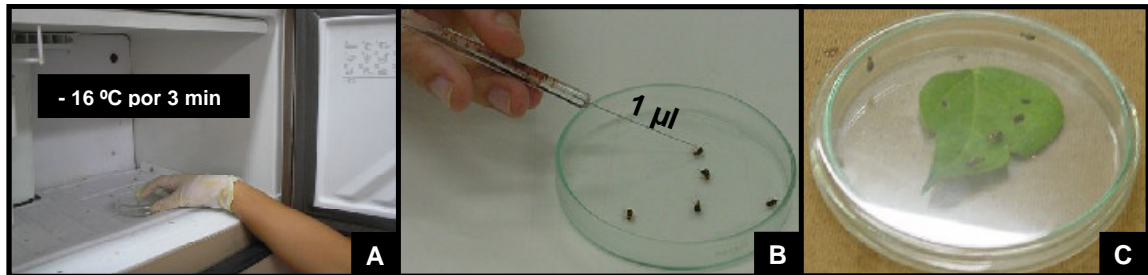


Figura 15. Imobilização dos insetos por congelamento em freezer (A); aplicação tópica na face ventral dos indivíduos (B) e placa de Petri com uma folha de feijão-caupi infestada com cinco vaquinhas adultas (C). Fotos: Alécio, M. R. (2006).

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com sete tratamentos (seis concentrações do extrato e um controle (acetona)) e quatro repetições. Cada placa constituiu uma parcela experimental e todos os bioensaios foram repetidos por três vezes consecutivas. Avaliou-se a mortalidade dos insetos a cada 12 horas, durante três dias de duração dos experimentos, realizando-se análise conjunta dos resultados. De posse dos dados de mortalidade, foram determinadas a concentração letal (CL_{50}) e o tempo letal (TL_{50}), com probabilidade de causar 50% de mortalidade dos insetos, de acordo com a metodologia descrita por Finney (1971). O consumo foliar médio das vaquinhas foi determinado, adotando-se a mesma metodologia descrita no item anterior.

4.3.2.4 Análise dos dados

Os valores de mortalidade dos tratamentos foram corrigidos com base na mortalidade natural da testemunha, segundo a fórmula de Abbott (1925), e submetidos à análise de Probite, utilizando-se o programa de análises estatísticas SAS (SAS Institute, 1993), para determinação das concentrações, dose e tempos letais do extrato de *D. amazonica* com probabilidade de causar 50% de mortalidade a adultos de *C. arcuatus*. Utilizou-se o mesmo programa para realização das análises de regressão dos valores do consumo foliar nos bioensaios por ingestão de folhas tratadas e aplicação tópica.

5 RESULTADOS

A mortalidade de adultos de *C. arcuatus* por aplicação tópica do extrato de *D. amazonica* foi inferior a 10% nas concentrações de 0,5% e 1% (v.v⁻¹). As concentrações de 2%, 3% e 4% (v.v⁻¹) causaram mortalidade dos insetos de 25,7%, 48,3% e 62,7%, respectivamente, sendo que a concentração de 5% (v.v⁻¹) apresentou mortalidade de 80,7%..

Quando o extrato de *D. amazonica* foi avaliado pela via de contato com superfície tratada (papel-filtro), nas concentrações de 0,5%, 1% e 2% (v.v⁻¹) os valores de mortalidade de *C. arcuatus* permaneceram abaixo de 40%. Na concentração de 3% (v.v⁻¹) obteve-se 51% de mortalidade e nas maiores concentrações 4% e 5% (v.v⁻¹) os valores de mortalidade observados foram de 64%, 67% e 84%, respectivamente.

No bioensaio de intoxicação por ingestão de folhas tratadas obtiveram-se valores de 8% e 31% de mortalidade de *C. arcuatus* nas concentrações de 0,5% e 1% (v.v⁻¹) do extrato, respectivamente. A concentração de 2% (v.v⁻¹) ocasionou valores médios de 50% de mortalidade dos insetos. Mortalidades superiores a 83% foram verificadas a partir da concentração de 3% (v.v⁻¹) do extrato e na concentração de 5% (v.v⁻¹) observou-se 96,7% de mortalidade dos indivíduos.

Os maiores valores de mortalidade foram obtidos no bioensaio de ingestão de folhas tratadas, seguido pelas vias de superfície tratada e aplicação tópica. Essas tendências se confirmaram nos valores das concentrações e dose letais (Tabela 1), calculadas pelas vias de intoxicação por ingestão de folhas tratadas (CL₅₀ = 15,14 µl do extrato.ml⁻¹ de água), superfície tratada (papel-filtro) (CL₅₀ = 0,45 µl do extrato.cm⁻²) e aplicação tópica (DL₅₀ = 1,44 µl do extrato.g⁻¹ do inseto), indicando que o extrato de *D. amazônica* foi tóxico para *C. arcuatus*.

Tabela 1. Toxicidade do extrato de *D. amazonica* para adultos de *C. arcuatus* intoxicados por ingestão de folhas tratadas, superfície tratada (papel-filtro) e aplicação tópica.

Intoxicação	GL	n	Inclinação ± EPM	CL ₅₀ (IC 95%)	DL ₅₀ (IC 95%)	χ ²	Prob.
Ingestão de folhas tratadas	6	420	0,95±0,04	15,14* (11,46 – 19,03)	–	7,79	0,10
Superfície tratada (papel filtro)	6	420	0,72±0,05	0,45** (0,39 – 0,53)	–	6,11	0,19
Aplicação tópica	6	420	1,03±0,06	–	1,44*** (1,28 – 1,6)	2,89	0,41

GL: graus de liberdade; n: número de insetos usados no bioensaio; EPM: erro-padrão da média; CL₅₀ e DL₅₀: concentração e dose letal, respectivamente; IC 95%: intervalo de confiança a 95% de probabilidade; X²: qui-quadrado; Prob.: probabilidade; *CL₅₀: µl do extrato.ml⁻¹ de água; **CL₅₀: µl do extrato.cm⁻²; ***DL₅₀: µl do extrato.g⁻¹ do inseto.

As concentrações equivalentes às CL₅₀ foram de 1,51% (v.v⁻¹) (ingestão de folhas tratadas) e 2,47% (v.v⁻¹) (superfície tratada) e para DL₅₀ de 2,92% (v.v⁻¹) (aplicação tópica), apontando a intoxicação por ingestão de folhas tratadas como a de maior toxicidade para *C. arcuatus*, seguida pelas vias de contato com superfície tratada (papel-filtro) e aplicação tópica.

Por outro lado, os valores das inclinações das curvas de concentração-mortalidade das vias de intoxicação por ingestão de folhas tratadas e superfície tratada (papel-filtro) foram menores que o valor calculado para a intoxicação por aplicação tópica (Tabela 1), evidenciando que adultos de *C. arcuatus* respondem de forma mais homogênea ao extrato de *D. amazonica* quando recebem a aplicação do produto diretamente no corpo. Valores altos de inclinação da curva indicam que pequenas variações na dose do extrato promovem grandes variações na mortalidade dos insetos, resultando em resposta homogênea da população (Atkins *et al.*, 1973).

Quanto às médias de consumo foliar por *C. arcuatus*, os valores mensurados no bioensaio de ingestão de folhas tratadas foram menores que os obtidos, para as mesmas concentrações do extrato de *D. amazonica*, no bioensaio desenvolvido por aplicação tópica (Figura 16).

Nestes bioensaios, quanto maior a concentração do extrato, menor foi o valor médio de consumo foliar dos indivíduos. Em ambos os experimentos, com exceção da concentração de 0,5%, todos os valores de consumo foliar de *C. arcuatus*, nas diferentes concentrações do extrato, diferiram dos respectivos tratamentos controle (Figura 16).

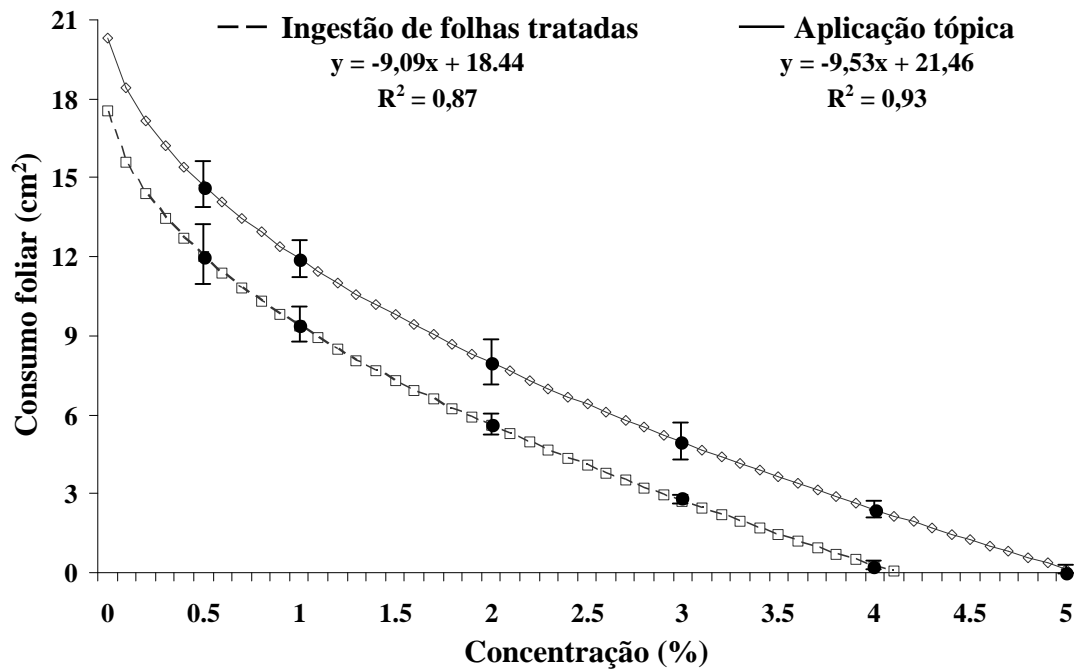


Figura 16. Consumo foliar de adultos de *C. arcuatus* submetidos ao extrato de *D. amazonica* em diferentes concentrações, pelas vias de aplicação tópica e ingestão de folhas tratadas.

Pela via de contato por aplicação tópica (Figura 16), observaram-se diferenças entre os valores de consumo foliar dos insetos de 20,15 cm², 18,52 cm², 11,36 cm², 5,27 cm² e 2,73 cm², respectivamente, nas concentrações de 0% (controle), 0,5%, 1%, 2% e 3% (v.v⁻¹) do extrato. Nesta condição, os menores valores de consumo, 2,0 cm² e 1,79 cm², foram observados nas concentrações 4% e 5% (v.v⁻¹) do produto, respectivamente.

Pela via de intoxicação por ingestão de folhas tratadas (Figura 16), maiores diferenças nos valores de consumo foliar (17,67 cm², 17,43 cm², 7,25 cm² e 2,83 cm²) foram observadas nas menores concentrações do extrato (0,5%, 1% e 2% (v.v⁻¹), respectivamente). Já nas maiores concentrações (3%, 4% e 5% (v.v⁻¹)) obtiveram-se os menores valores de consumo foliar neste estudo (0,63 cm², 0,48 cm² e 0,35 cm², respectivamente).

Em ambos bioensaios, os adultos de *C. arcuatus* consumiram os maiores valores de área foliar nas primeiras 24 horas dos experimentos, sendo que os indivíduos sobreviventes reduziram gradativamente o consumo do alimento até o final das avaliações. Reduções bruscas no consumo foliar foram observadas no bioensaio de ingestão de folhas tratadas, principalmente com as

maiores concentrações do extrato (3%, 4% e 5% (v.v⁻¹), onde os indivíduos chegaram a praticamente não se alimentar nas últimas 12 horas dos experimentos.

Nessas duas vias de intoxicação, quanto maior a concentração do extrato de *D. amazonica*, maior foi o percentual de redução do consumo de folhas de feijão-caupi, por de *C. arcuatus*, quando comparadas aos respectivos tratamentos controle.

Por aplicação tópica, a redução no consumo foliar dos insetos contaminados com as concentrações de 1%, 2%, 3%, 4% e 5% (v.v⁻¹) foram, respectivamente, de 43,6%, 73,8%, 86,4%, 90% e 91,1%. Já pela via de intoxicação por ingestão de folhas tratadas, nas mesmas concentrações, os percentuais de redução no consumo foram ainda maiores: 59%, 84%, 96,5%, 97,5% e 98%, respectivamente. Observou-se a ocorrência de inibição da alimentação de *C. arcuatus*, a partir da concentração de 1% (v.v⁻¹) do extrato de *D. amazonica*, em ambos os bioensaios.

Os tempos letais médios (TL₅₀) do extrato de *D. amazonica* para *C. arcuatus*, pelas vias de contato com superfície tratada (papel filtro), aplicação tópica e ingestão de folhas tratadas foram lineares, com coeficientes angulares positivos (Tabela 2), indicando acréscimos nos valores de mortalidade, com o tempo de exposição, nos três bioensaios.

Na exposição dos insetos pela via de contato com superfície tratada, os valores dos tempos letais médios foram de 40,21; 27,20 e 13,73 horas e por aplicação tópica de 47,68; 32,44 e 22,15 horas, respectivamente para as concentrações de 3%, 4% e 5% (v.v⁻¹), em ambos os experimentos. Já por ingestão de folhas tratadas, esses valores foram de 64,54; 31,06; 19,33 e 14,93 horas, nas respectivas concentrações de 2%, 3%, 4% e 5% (v.v⁻¹) (Tabela 2).

Os menores tempos letais foram obtidos pela ingestão de folhas tratadas, seguido pelo contato em superfície tratada e aplicação tópica.

Tabela 2. Tempo letal médio (TL₅₀) (horas) do extrato de *D. amazonica* a adultos de *C. arcuatus* em diferentes concentrações, expostos pelas vias de superfície tratada (papel-filtro), aplicação tópica e ingestão de folhas tratadas.

Intoxicação	Concentração	Inclinação ± EPM	TL₅₀ (IC 95%)	χ²	Prob.
Superfície tratada (papel-filtro)	3%	0,48±0,04	44,07 (34,37 – 68,63)	1,07	0,90
	4%	0,64±0,05	29,32 (24,68 – 35,86)	0,20	0,99
	5%	0,65±0,06	13,95 (10,46 – 16,96)	0,99	0,91
Aplicação tópica	3%	0,61±0,07	48,91 (38,54 – 78,26)	0,15	0,93
	4%	0,62±0,07	33,63 (26,85 – 46,60)	1,58	0,45
	5%	0,70±0,05	22,46 (17,31 – 27,09)	0,60	0,89
Ingestão de folhas tratadas	2%	0,51±0,04	68,52 (54,32 – 102,37)	0,22	0,99
	3%	0,92±0,05	31,78 (27,74 – 35,92)	3,95	0,41
	4%	0,74±0,05	20,00 (15,72 – 23,78)	3,80	0,43
	5%	0,70±0,05	15,17 (11,53 – 18,34)	4,24	0,37

EPM: erro-padrão da média; TL₅₀: tempo letal; IC 95%: intervalo de confiança a 95% de probabilidade; X²: qui-quadrado; Prob.: probabilidade.

6 DISCUSSÃO

Os maiores valores de mortalidade de *C. arcuatus* foram obtidos por ingestão de folhas tratadas, sendo a CL_{50} para esta via de intoxicação de 1,51% (v.v⁻¹) e para o contato com superfície tratada 2,47% (v.v⁻¹), indicando que adultos de *C. arcuatus* são mais sensíveis ao extrato de *D. amazonica* quando ingerem folhas tratadas.

Resultados semelhantes foram obtidos por Pereira & Famadas (2004) que realizaram avaliações laboratoriais da toxicidade do extrato do timbó *Dahlstedtia pentaphylla* sobre o carrapato de bovinos *Boophilus microplus*. Os experimentos foram realizados utilizando teleóginas (fêmeas ingurgitadas) e larvas de sete a dez dias, não alimentadas. As CL_{50} determinadas foram de 1,65% e 2,87% (m.v⁻¹), respectivamente, para teleóginas e larvas.

Alécio *et al.* (2005) obtiveram CL_{50} de 1,77% (v.v⁻¹) quando avaliaram o potencial inseticida do extrato de *Derris rariflora* sobre *Sitophilus zeamais* pela via de intoxicação de superfície tratada (papel-filtro). Correa (2006) determinou a toxicidade do extrato de *Lonchocarpus floribundus* em *Toxoptera citricidus* (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aphidoidea) por meio de pulverização e a CL_{50} determinada foi de 1,75% (v.v⁻¹).

Luitgards-Moura *et al.* (2002) também determinaram o efeito do contato com superfície tratada do extrato de *D. amazonica* para larvas de *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). No estudo, os autores obtiveram CL_{50} de 21,2% (m.v⁻¹), sendo este valor muito acima dos encontrados para essa planta no presente trabalho (1,51% v.v⁻¹ – ingestão de folhas tratadas e 2,47% v.v⁻¹ – superfície tratada).

O extrato de *D. amazonica* apresentou elevada toxicidade para *C. arcuatus*, em todas as vias de intoxicação avaliadas, confirmando o potencial inseticida dos timbós (*Derris*) relatado por diversos pesquisadores nas últimas décadas (Pinto, 1937; Caminha Filho, 1940; Corbett, 1940; Lima, 1947; Pinto, 1953; Costa *et al.*, 1986; Maini & Morallo, 1993; Lima & Costa, 1998; Costa *et al.*, 1999; Luitgards-Moura *et al.*, 2002; Pereira & Famadas, 2004; Azevedo *et al.*, 2005; Ribeiro & Correa, 2005; Correa, 2006).

Segundo Costa (1996), Lima & Costa (1998) e Silva (2002), este efeito tóxico dos timbós está relacionado principalmente ao teor de rotenona, que teve uma concentração, determinada

pela análise cromatográfica, de 3,7% no extrato utilizado no presente estudo. A atividade tóxica deste princípio ativo foi relatada para várias espécies de insetos (Pinto, 1953; Cravero *et al.*, 1976; Pires, 1978; Nawnot *et al.*, 1987; Crombie & Whiting, 1998; Saito & Luchini, 1998; Fazolin *et al.*, 2002).

A rotenona é um isoflavonóide cristalino, inodoro e insípido (Cravero *et al.*, 1976; Lima, 1987) que provoca a morte dos animais por meio da inibição do transporte de elétrons, a nível mitocondrial, bloqueando a fosforilação do ADP a ATP (Aragão & Valle, 1973; Hayes, 1975; Goodman, 1985; Mascaro *et al.*, 1998).

Segundo os trabalhos de Goodman & Gilman (1985) e Silva (2002), os insetos intoxicados por rotenona apresentam diminuição do consumo de oxigênio, redução da respiração e ataques que provocam convulsões e conduzem, finalmente, a paralisias e morte por parada respiratória. Sintomas semelhantes a convulsões (tremores), paralisias e morte dos insetos foram observadas em todos os bioensaios deste estudo, principalmente quando utilizadas maiores concentrações do extrato (3%, 4% e 5% - v.v⁻¹), sugerindo ser este princípio ativo o principal constituinte tóxico do extrato de *D. amazonica* para *C. arcuatus*.

Nos bioensaios de ingestão de folhas tratadas e aplicação tópica observaram-se, respectivamente, a maior e a menor toxicidade para *C. arcuatus*. Isso porque, no primeiro caso, os insetos ficaram expostos, simultaneamente, ao contato tarsal, ingestão e inalação do extrato de *D. amazonica*. Segundo Gosselin (1984) estes três efeitos, progressivamente, são os principais modos de ação pelo qual a rotenona causa toxidez para insetos.

Silva (2002) relatou que a rotenona é tóxica para insetos por ingestão e contato, reunindo, de acordo com Cravero *et al.* (1976), três formas de intoxicação usadas para controlar insetos-praga (contato, ingestão e inalação). Desse modo, a presença desta substância no extrato de *D. amazonica* justificaria os maiores valores de mortalidade de *C. arcuatus* obtidos com a intoxicação de ingestão de folhas tratadas.

De acordo com Goodman & Gilman (1985), aparentemente, a vitamina K3 (menadiona) ativa, uma rota metabólica alternativa que evita o sítio bloqueado pela ação da rotenona na respiração, o que permite a retomada do transporte de elétrons e respiração celular dos insetos. Provavelmente seja esse o motivo pelo qual a intoxicação por aplicação tópica tenha apresentado a menor toxicidade do extrato de *D. amazonica* para *C. arcuatus*, uma vez que os insetos receberam para alimentação folhas de feijão-caupi, livres de contaminantes, e a presença desta

vitamina no alimento pode ter aumentado a capacidade de destoxificação dos indivíduos, principalmente nas menores concentrações do extrato de *D. amazonica* (1%, 2% e 3% v.v⁻¹). Nestas concentrações, poucas horas após o início dos experimentos, observaram-se significativas reduções na mortalidade dos insetos, o que poderia justificar a hipótese levantada.

Por outro lado, na exposição dos insetos ao contato com a superfície tratada, sem oferta de alimento, pode ter ocorrido uma redução da capacidade de destoxificação dos insetos, pois mortalidade foi observada durante todo o período de avaliação, em todas as concentrações do extrato. Esta incapacidade do inseto pode ser atribuída à ausência de alimento e consequentemente de vitamina K3.

Essa tendência dos resultados foi reforçada com a mensuração dos valores médios de consumo foliar de *C. arcuatus* em folhas de feijão-caupi. Os resultados apontaram a intoxicação por ingestão de folhas tratadas como a via causadora dos menores valores de consumo foliar, em todas as concentrações do extrato de *D. amazonica*, quando comparadas às mesmas concentrações da intoxicação por aplicação tópica.

Deve ser ressaltado que tanto na exposição dos insetos por via tópica como pela via ingestão de folhas tratadas ocorreu a inibição de alimentação dos insetos a partir da concentração de 1% do extrato de *D. amazonica*, semelhantemente aos efeitos causados pela rotenona, extraída dos timbós *Derris elliptica* e *Derris urucu*, respectivamente, relatadas nos trabalhos de Nawnot *et al.* (1987) e Fazolin *et al.* (2002).

A inibição da alimentação de adultos de *C. arcuatus* observada no presente estudo pode estar relacionada à ocorrência de distúrbios fisiológicos, resultante da toxicidade da rotenona presente no extrato de *D. amazonica*, uma vez que, nas concentrações de 2%, 3%, 4% e 5% - v.v⁻¹ (ingestão de folhas tratadas) e 3%, 4% e 5% - v.v⁻¹ (aplicação tópica) foram obtidos valores diários de consumo menores que 1,4 cm², abaixo dos determinados por Fazolin & Estrela (2004) para outra vaquinha do gênero *Ceratomyza* (*C. tingomarinus* Bechyné), em feijoeiro cv. Pérola.

O efeito inseticida da rotenona (Figura 7A) para *C. arcuatus* pode ter sido potencializado pela ação conjunta de outros rotenóides bioativos presentes em menores concentrações, no extrato de *D. amazonica*, como deguelina (Figura 7B) e tefrosina (Figura 7C) (Cravero *et al.*, 1976). Entretanto, segundo Lima (1987), estes dois compostos são bem menos tóxicos para insetos do que a rotenona.

A complexidade dos compostos secundários está entre as principais vantagens do uso de extratos/óleos de vegetais para o controle de insetos praga (Viegas Júnior, 2003). Neste sentido, estudos mais aprofundados devem ser realizados sobre a composição do extrato de *D. amazonica*, para se identificar, além da rotenona, outros princípios ativos que também apresentem atividade inseticida, podendo inclusive, ser verificada a ocorrência de sinergismo e/ou antagonismo entre a rotenona e as demais moléculas presentes no extrato dessa espécie.

Quando se compararam os valores dos tempos letais médios (TL₅₀), das diferentes concentrações do extrato de *D. amazonica*, nas três vias de intoxicação avaliadas, observou-se que os menores valores foram obtidos nos bioensaios de ingestão de folhas tratadas, seguido pelos de superfície tratada e aplicação tópica. Na maior concentração do extrato (5%) esses valores variaram entre 13,95 a 22,46 horas, em todas as vias de intoxicação.

Resultado semelhante foi obtido por Ribeiro & Correa (2005), que encontraram o valor de TL₅₀ de 15 horas para concentração tóxica (3,1% - v.v⁻¹) do extrato de *Lonchocarpus floribundus* para *Aethalion* sp. (Hemiptera: Aethalionidae).

Por ter apresentado os maiores valores de mortalidade e os menores valores de consumo foliar, além dos menores tempos letais médios (TL₅₀), pode-se inferir que a intoxicação por ingestão de folhas tratadas com extrato de *D. amazonica* causou maior toxicidade para *C. arcuatus*.

Plantas deste vegetal são abundantes na região Amazônica, tradicionalmente conhecidas por seus moradores (Tozzi, 1998), facilmente cultivadas e chegam a produzir, três anos após o plantio, 9 ton./ha/ano de raízes frescas (Lima, 1987). Além disso, a obtenção, manipulação e aplicação do extrato é relativamente simples e de baixo custo (Costa *et al.*, 1999), o que viabiliza ainda mais o seu uso como inseticida natural.

Neste sentido, por ter sido tóxico pelas três formas de exposição testadas, o extrato de *D. amazonica* apresenta-se como uma alternativa promissora para ser incluído, pelos produtores de feijão-caupi, no manejo integrado de *C. arcuatus*.

7 CONCLUSÃO

O extrato de *D. amazonica* é tóxico para *C. arcuatus* pelas três vias de intoxicação, sendo que a ingestão de folhas tratadas é mais efetiva, seguida pelo contato com superfície tratada (papel-filtro) e aplicação tópica;

O extrato de *D. amazonica* inibe a alimentação de *C. arcuatus*, a partir da concentração de 1%, por ingestão de folhas tratadas e aplicação tópica.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbott, W.S. 1925. A Method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*. 18: 265-267.
- Ahn, Y. J.; Lee, S. B.; Lee, H. S.; Kim, G. H. 1998. Insecticidal and acaricidal activity of carvacrol and beta-thujaplicine derived from *Thujopsis dolabrata* var. *hondai* sawdust. *Journal of Chemical Ecology*. 24: 81-90.
- Aidar, H.; Kluthcouski, J.; Stone, L. F. 2002. *Produção do feijoeiro em várzeas tropicais*. Goiânia: Embrapa Arroz e Feijão. 326 pp.
- Alecio, M. R., Alves, S. B., Gonzaga, A. D., Ribeiro, J. D., Correa, R. S. 2005. Avaliação do potencial inseticida “in vitro” do extrato aquoso de raízes de timbó (*Derris rariflora*) sobre *Sitophilus zeamais* Mots In: I Jornada Amazonense de Plantas medicinais. Manaus. *Anais da I Jornada Amazonense de Plantas medicinais*. p. 42.
- Aragão, J. A; Valle, J. R. 1973. Ictiotoxicidade de timbós dos gêneros *Serjania*, *Derris* e *Tephrosia*. *Ci Cult*. 25: p 649.
- Araújo, J.P.P.; Rios, G.P.; Watt, E.E.; Neves, B. P. de; Fageria, N.K.; Oliviera, I. P.; Guimarães, C.M.; Silveira Filho, A. 1984. *A cultura do caupi, Vigna unguiculata (L.) Walp.: descrição e recomendações técnicas de cultivo*. Goiânia: EMBRAPA-CNPAF. 82 pp. (EMBRAPA-CNPAF. Circular Técnica, 18).
- Araújo, J. P. P.; Watt, E. E. 1988. *O Caupi no Brasil*. Brasília: IITA, EMBRAPA. 722 pp.
- Atkins, E.L.; Greywood, E.A.; Macdonald, R.L. 1973. Toxicity of pesticides and other agricultural chemicals to honey bees: laboratory studies. *Davis: University of California*. 36pp.
- Azevedo, F. R.; Guimarães, J. A.; Braga Sobrinho, R.; Lima, M. A. A. 2005. Eficiência de produtos naturais para o controle de *Bemisia tabaci* Biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae) em meloeiro. *Arq. Inst. Biol. São Paulo*. 72(1): 73-79.
- Batista Junior, J. M.; Lopes, A. A.; Regasini, L. O.; Ambrósio, D. L.; Cicarelli, Regina M. B.; Bolzani, V. S.; Kato, M. J.; Furlan, M. 2006. Potencial anti-chagásico de cromenos naturais e

- análogos semisintéticos de *Piper aduncum* e *P. gaudichaudianum* (Piperaceae). *Anais da 28ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química*. p. 78
- Bernard, C.B.; Krishanmurty, H.G.; Chauret, D.; Durst, T.; Philogène, B.J.R.; Sánchez-Vindas, P.; Hasbun, C.; Poveda, L.; San román, L.; Arnason, J.T. 1995. Insecticidal defenses of Piperaceae from the neotropics. *Journal of Chemical Ecology*. 21: 801-814.
- Brandão, J. N.; Teixeira, L. B.; Nogueira, O. L.; Bastos, J. B.; César, J.; Canto, A. C. 1994. *Sistema de produção intercalado em lavouras permanentes*. Recomendações da pesquisa. Manaus: EMBRAPA, EMBRAPA-UEPAE. 14 pp. (EMBRAPA-UEPAE. Circular técnica, 2).
- Caminha Filho, A. 1940. *Timbó e rotenona: uma riqueza nacional inexplorada*. Serviço de Informação Agrícola, Rio de Janeiro. 2. ed. 14 pp.
- Campanhola, C. 1990. *Resistência de insetos a inseticidas: importância, características e manejo*. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA, 45 pp.
- Cavalcante, E. S.; Atroch, A.L. 1995. *Cultivares de feijão Caupi (Vigna unguiculata (L.) Walp) recomendadas para o Amapá*. Amapá-MA. 3 p. (Comunicado técnico, 10)
- Corbett, C. E. 1940. *Plantas ictiotóxicas: farmacologia da rotenona*. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. São Paulo, 157 pp.
- Correa, R. S. 2006. Toxicidade de extratos de *Lonchocarpus floribundus* Benth (timbó) sobre *Toxoptera citricida* Kirkald (pulgão preto do citros) (Sternorrhyncha: Aphididae). Master's Thesis, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Fundação Universidade do Amazonas, Manaus, Amazonas. 71pp.
- Costa, N. A.; Nascimento, C. N. B.; Moura Carvalho, L. O. D.; Pimentel, E. S. 1986. *Uso do timbó urucu (Derris urucu) no controle do piolho (Haemotopinus tuberculatus) em bubalinos*. Belém: EMBRAPA-CPATU, Belém. 16 pp. (Boletim de Pesquisa, 78).
- Costa, R.C.L.; Cardoso, B.B.; Silva, J.T.; Gomes Filho, J.G.F.; Silveira, J.A.G. 1996. O estresse hídrico diminui intensamente a assimilação do nitrato e a nodulação em feijão-de-corda (*Vigna unguiculata*, (L.) Walp.). In: *Reunião Nacional de Pesquisa de Caupi, 4. Resumos*. Teresina: Embrapa-CPAMN. p. 78-79.
- Costa, J. P. C.; Alves, S. M.; Belo, M. 1999 (a). Teores de rotenona em clones de timbó (*Derris* spp., Fabaceae) de diferentes regiões da Amazônia e os seus efeitos na emergência de imagos em *Musca domestica* L. *Acta Amazônica*. 29(4): 563-573.

- Costa, J. P. C.; Alves, S. M.; Belo, M. 1999 (b). Diferença entre as espécie de timbó de timbó (*Derris* spp., Fabaceae) de diferentes regiões da Amazônia no controle de *Musca domestica* L. *Acta Amazônica*. 29(4): 573-583.
- Cravero, E. S.; Guerra, M de S., Silveira, C. P. D. 1976. *Manual de inseticidas e acaricidas: aspectos toxicológicos*. Pelotas: Aimara Ltda. 229 pp.
- Crombie, L.; Whiting, A. D. 1998. Biosynthesis in the rotenoid group of natural products: applications of isotope methodology. *Phytochemistry*, Oxford. 49(6): 1479-1507.
- Ellenhorn, M. J.; Barceloux, D. G. 1988. *Medical Toxicology: Diagnosis and treatment of human poisoning*. New York. p. 242-256.
- Estrela, J. L. V.; Fazolin, M; Catani, V.; Alécio, M. R.; Lima, M. S. 2006. Toxicidade de óleos essenciais de *Piper aduncum* e *Piper hispidinervum* em *Sitophilus zeamais*. *Pesq. agropec. bras.* Brasília. (41) 2: 56-61
- Fazolin, M. 1986. Efeito de diferentes níveis populacionais de *Cerotoma* sp. no rendimento do caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp). EMBRAPA-UEPAE, Rio Branco. 7pp. (Comunicado Técnico, 49).
- Fazolin, M. 1993. Descrição de danos e dinâmica populacional das pragas e inimigos naturais que ocorrem na cultura do caupi (*Vigna unguiculata* (L.). Rio Branco. p. 1-10. (Comunicado técnico, nº 58).
- Fazolin, M.; Gomes, T.C.A. 1993. Dinâmica populacional de *Cerotoma tingomarianus* Bechyné em caupi e puerária em Rio Branco, Acre. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*. 3(22): 491-495.
- Fazolin, M. 1995. Levantamento dos insetos e flutuação populacional das pragas que ocorrem na cultura do caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp., em Rio Branco (AC). *Turrialba* 45: 137-142.
- Fazolin, M.; Silva, W.S. 1996. Comportamento de pragas de importância econômica em culturas anuais, componentes de sistemas agroflorestais, Rio Branco, AC: EMBRAPA-CPAFAC. 26pp. (Boletim de pesquisa, 14).
- Fazolin, M. 2002. Avaliação de plantas com potencial inseticida no controle da vaquinha-do-feijoeiro- Rio Branco: EMBRAPA Acre 42pp. (Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 37).
- Fazolin, M. & J.L.V. Estrela. 2004. Determinação do nível de dano econômico de *Cerotoma tingomarianus* Bechyné (Coleóptera: Chrysomelidae) em *Phaseolus vulgaris* L. cv. Pérola. *Neotrop. Entomol.* 33: 1-7.

- Fazolin, M.; Estrela, J. L. V.; Catani, V.; Lima, M. S.; Alécio, M. R. 2005. Toxicidade do óleo de *Piper aduncum* L. a adultos de *Cerotoma tingomarianus* Bechyné (Coleóptera: Chrysomelidae). *Neotrop. Entomol.* Londrina. (3) 34: 17-24
- Fazolin, M.; Estrela, J. L. V.; Catani, V.; Alécio, M. R.; Lima, M. S. 2007. Propriedade inseticida dos óleos essenciais de *Piper hispidinervum* C. DC.; *Piper aduncum* L. e *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. & K. Shum sobre *Tenebrio molitor* L., 1758. *Ciênc. agrotec.* Lavras. (1) 31: 113-120
- Finney, D. J. 1971. *Probit analysis*. 3. th. New Delhi: Cambridge University Prees. 333pp.
- Freire Filho, F. R.; Ribeiro, V. Q.; Santos, A. A. 2000. Cultivares de caupi para a região Meio-Norte do Brasil. In: Cardoso, M. J. (Org.). *A cultura do feijão caupi no Meio-Norte do Brasil*. Teresina: Embrapa Meio-Norte. 264pp. (Embrapa Meio-Norte. Circular Técnica, 28).
- Freire Filho, F. R.; Lima, A. A. L.; Ribeiro, V. Q. 2005. *Feijão-caupi: avanços tecnológicos*. Brasília: Embrapa Meio-Norte. 519pp.
- Frota, A. B.; Pereira, P. 2000. Caracterização da produção do caupi na Região Meio-Norte do Brasil. In: Cardoso, M. J. (Org.). *A cultura do feijão caupi no Meio-Norte*. Teresina: Embrapa Meio Norte. p. 28-40
- Gallo, D.; Neto, S. S.; Carvalho, R. P.; Batista, G. C.; Filho, E. B.; Zucchi, R. H.; Alves, S. B.; Vendramim, J. D. 1988. *Manual de Entomologia Agrícola*. São Paulo: Ed.Agronômica Ceres. 649 pp.
- Gallo, D.; Nakano, O.; Silveira Neto, S.; Carvalho, R. P. L.; Batista, G. C. de; Berti Filho, E.; Parra, J. R. P.; Zucchi, R. A.; Alves, S. B.; Vendramin, J. D.; Marchini, L. C.; Lopes, J. R. S.; Omoto, C. 2002. *Entomologia Agrícola*. Piracicaba: Fealq. 920 pp. (Biblioteca de Ciências Agrárias Luiz de Queiroz, 10).
- Goodman, L. S. 1985. Study of pesticide genotoxicity. *Basic Life Sci.* 21: 275 - 326.
- Goodman, L. S.; Gilman, A. G. 1985. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 7th ed. New York, Toronto, London: Macmillan. p. 1839-1856.
- Gosselin, R. E. 1984. *Clinical Toxicology of Commercial Products*. 5th ed. Baltimore/London: Williams & Wilkins. p.111-367.
- Gravena, S. 1984. Estratégias de manejo integrado do bicho-mineiro-do-cafeeiro *Leucoptera coffeella* (Guérin-Ménéville). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*. 13: 117-129.

- Guedes, R.N.C. 1999. Resistência de insetos a inseticidas. In: ZAMBOLIM, L. *I Encontro sobre manejo de doenças e pragas*. Viçosa: UFV. p.101-107.
- Guedes, R. N. C.; Fragoso, D. B. 1999. Resistência a inseticidas: Bases gerais, situação e reflexões sobre o fenômeno em insetos-praga do cafeeiro. In: *Encontro sobre produção de café com qualidade*. Viçosa. Resumos. UFV. p. 99-120.
- Hare, J. D.; Morse, J. G. 1997. Toxicity, persistence, and potency of sabadilla alkaloid formulations to citrus trips (Thysanoptera: Thripidae). *Journal of Economic Entomology*. (90): 326-332.
- Hayes, J. R. 1975. *Toxicology of pesticides*. Baltimore: Williams & Wilkins. p. 271.
- Hayes, J. R. 1982. *Pesticides studied in man*. Baltimore/London: Williams & Wilkins. p. 81-6.
- Hirata, R. 1995. Estrutura química-atividade biológica. *Química Nova*. 4 (18): 368-374.
- Hohmann, C.L. & Carvalho, S.M. 1983. Efeito da redução foliar sobre o rendimento do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*. Itabuna. 12 (1): 3-9.
- Hohmann, C.L., S.M. de Carvalho. 1989. *Pragas e seu controle*. In: O feijão no Paraná: Fundação Instituto Agrônômico do Paraná, Londrina, PR. p. 217-246.
- Hohmann, C.L.; Martinez, S.S. 2000. *Feijão: Tecnologia de produção*. Londrina, PR. 115pp. (Informe de pesquisa, 135)
- Hu, M.; Klocke, J. A.; Chiu, S. F.; Kubo, I. 1993. Response of 5 insect species to a botanical insecticide, rhodojaponin-iii. *Journal of Economic Entomology*. 86: 706-711.
- Janprasert, J.; Satasook, C.; Sukumalanand, P.; Champagne, D. E.; Kay, I. R.; Collins, P. J.; 1993. The Problem of resistance to insecticides in tropical insect pests. *Insect Science and its Applications*. 8: 715-721.
- Kay, I. R.; Collins, P. J. 1987. The Problem of resistance to insecticides in tropical insect pests. *Insect Science and its Applications*. 8: 715-721.
- Khambay, B. P. S.; Batty, D.; Cahill, M.; Denholm, I.; Mead-Briggs, M.; Vinall, S.; Niemeyer, H.M.; Simmonds, M. S. J. 1999. Isolation, characterization, and biological activity of naphthoquinones from *Calceolaria andina* L. *Journal of Agricultural And Food Chemistry*. 47: 770-775.
- Klocke, J. A.; Hu, M.; Chiu, S. F.; Kubo, I. 1991. Grayanoid diterpene insect antifeedants and insecticides from *rhododendron-molle*. *Phytochemistry*. 30: 1797-1800.

- Kogam, M. 1998. Integrated pest management: historical perspectives and contemporary developments. *Annual Review of Entomology*. 43: 243-270
- Krutman, S.; Vital, A.F. & Bastos, E.G. 1968. *Variedades de feijão macáassar Vigna sinensis L.* Recife, IPEANE. 46pp.
- Lapa, A. J.; Teixeira, J. R.; Soucar, C.; Valle, J. R. 1978. The pharmacology of timbós, toxic plants used to fish. Sessão Integrada - Plantas ictiotóxicas (timbós). *Ciência e Cultura*. São Paulo. 26(7): 49-51.
- Larini, L. 1979. *Toxicologia dos Inseticidas*, Ed. Sarvier: São Paulo. 127pp.
- Layton, M. B.; Boethel, D. J. 1987. Reduction in N₂ fixation by soybean in response to insect-induced defoliation. *Journal of Economic Entomology*. Lanham. 2(80): 1319-1324.
- Link, D. & Costa, E.C. 1978. Danos causados por besouros crisomelídeos em soja. *Rev. Cent. Ciênc. Rur.* 8: 245-250.
- Lima, R. R. 1947. Os timbós da Amazônia brasileira. *Bol. Min. Agric.* 36: 14-29.
- Lima, R. R. 1987. Informações sobre duas espécies de timbó: *Derris urucu* (Killip et al Smith) Macbride e *Derris nicou* (Killip et Smith) Macbride, como plantas inseticidas. Belém: EMBRAPA-CPATU. 23 pp. (Documentos, 42).
- Lima, R.R; Costa, J.P.C. 1991. *Registro de introdução de plantas de culturas pré-colombiana coletadas na Amazônia brasileira*. Belém: EMBRAPA-CPATU. 210 pp. (Documentos, 58).
- Lima, R. R.; Costa, J. P. C. da. 1998. Coleta de plantas de cultura pré-colombiana na Amazônia brasileira. Belém: EMBRAPA-CPATU, 102pp. (EMBRAPA-CPATU. Documentos, 107).
- Luitgards-Moura, J. F.; Bermudez, E. G. C.; Rocha, A. F. I.; Tsouris, P.; Rosa-Freitas, M. G. 2002. Preliminary Assays Indicate that *Antonia ovata* (Loganiaceae) and *Derris amazonica* (Papilionaceae), Ichthyotoxic Plants Used for Fishing in Roraima, Brazil, Have an Insecticide Effect on *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. Rio de Janeiro, RJ. 97(5): 737-742.
- Maia, J.G.S.; Zoghbi, M.G.B.; Andrade, E.H.A. 2001. Plantas aromáticas na Amazônia: propriedades inseticida, fungicida e usos na mediação do controle biológico. *Museu Paraense Emílio Goeldi*. Belém, PA. 141 pp.
- Maini, P. N., Morallo, R. B. 1993. Molluscicidal activity of *Derris elliptica* (Farm. Leguminosae). *Philipp. J. Sci.* 122(1): 61-9.

- MAPA. 2007. *Agrofit*. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br>. Acesso em: 31 de março de 2007.
- Marr, K. L., Tang, C. S. 1992. Volatile insecticidal compounds and chemical variability of *Hawaiian zanthoxylum* (rutaceae) species. *Biochemical Systematics and Ecology*. 20: 209-217.
- Mariconi, F. A. 1963. *Inseticidas e seu emprego no combate às pragas*. 2ª ed. Agron. Ceres Ltda.: São Paulo. 119pp.
- Mariconi, F. A. M. 1981. *Inseticidas e seu Emprego no Combate às Pragas*, 5ª ed., Nobel, São Paulo. 87pp.
- Mascaro, U.C.P.; Rodrigues, L.A.; Bastos, J.K.; Santos, E.; Costa, J.P. C. 1998. Valores de DL₅₀ em peixes e no rato tratados com pó de raízes de *Derris* sp. e suas implicações ecotoxicológicas. *Pesq. Vet. Bras.* 18(2): 53-56.
- Merville., A.R. 1959. The place of biological control in the modern science of entomology. *Kenya coffee*. (24): 81-84.
- Moreira, M.D.; Picanço, M.C.; Silva, E.M.; Moreno, S.C.; Martins, J.C. 2005. Uso de inseticidas botânicos no controle de pragas. In: VENSON, M.; P AULA JÚNIOR, T.S.; P ALLINI, A. (Eds.). *Controle alternativo de pragas e doenças*. Viçosa: EPAMIG/CTZM. p. 89-120.
- Mors, W. 1978. Plantas ictiotóxicas: aspectos químicos. *Ciênc. Cult.* 32: 42.
- Nakano, O.; Silveira Neto, S.; Zucchi, R.A. 1981. *Entomologia econômica*. São Paulo: Ceres. 314 pp.
- Nava, D. E.; Haddad, M. L.; Parra, J. R. P. 2003. Danos causados por diferentes densidades de larvas de *Cerotoma arcuatus* em plantas de soja. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. Brasília. 10(38): 25-39
- Nawrot, J., Harmatha, J., Bloszy, E. 1987. Secondary plant metabolites with antifeeding activity and their effects on some stored product insects. In: *Internacional Working Conference on Stored – Product Protecion*. Donahaye. 4. p. 591-597.
- Ndumu, P. A. 1999. *Agrochemical from Natural Products*. Phytoter. Res, New York. p. 532-548.
- Nogueira, O. L. 1981. *Cultura do feijão-caupi no Estado do Amazonas*. Manaus: EMBRAPA-UEPAE Manaus. 21pp. (EMBRAPA-UEPAE Manaus. Circular Técnica, 4).

- Oberlies, N. H.; Rogers, L. L.; Martin, J. M.; Mclaughlin, J. L. 1998. Cytotoxic and insecticidal constituents of the unripe fruit of *Persea americana*. *Journal of Natural Products*. 61: 781-785.
- Pereira, J. R.; Famadas, K. M. 2004. Avaliação "in vitro" da eficiência do extrato da raiz do timbó (*Dahlstedtia pentaphylla*) (leguminosae, papilionoidae, millettiedae) sobre *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) na região do vale do Paraíba, São Paulo, Brasil. *Arq. Inst. Biol. São Paulo*. 71(4): 443-450.
- Pinto, A. N. 1937. Os timbós e suas aplicações e possibilidades. *Chimica e Indústria*. 247p.
- Pinto, G. P. 1953. Estudo sobre a composição química de das raízes de *Derris urucu* Killip & Smith. *Anais da Associação Brasileira de Química*. 4(12): 173-179.
- Pires, J. M. 1978. Plantas ictiotóxicas – aspectos botânicos. *Ciênc. Cult.* 32: 37-41.
- Pletsch, M.; Sant'ana, A. E. G 1995. Secondary compound accumulation in plants-The application of plant biotechnology to plant improvement. *Chemistry of Amazon*. 5:51-64.
- Quin, F. M. 1997. Introduction. In: Sing, B. B.; Mohan Raj, D. R.; Dashiel, K. E.; Jackai, L. E. N. (Ed.) *Advances in cowpea research*. Ibadan: IITA-JIRCAS. p. 9-15.
- Quintela, E. D.; Neves, B. P.; Quinderé, M. A. W.; Roberts, D. W. 1991. Principais pragas do caupi no Brasil. Goiânia: EMBRAPA-CNPAP. 51pp. (EMBRAPA-CNPAP. Documentos, 35).
- Rajnauth, G.L., J.E. Pegus & S.Q. Haque. 1987. Laboratory rearing of *Cerotoma arcuata* (Oliv.), a beetle vector of cowpea severe mosaic virus. *Trop. Agric.* 64: 191-192.
- Reynolds, J. E. F. 1989. Martindale The Extra Pharmacopoeia. *Pharmaceutical Press*. London. 29: 1896.
- Ribeiro, J. D.; Correa, R. S. 2005. Uso de *Lonchocarpus floribundus* (Timbó) sobre as cigarrinhas das frutíferas (*Aethalion* sp.) em casa de vegetação. *XIV Congresso Brasileiro de Toxicologia*. Recife-Pe. p. 306.
- Riley, D. G. 1986. Soil arthropods associated with the soybean root system, *Glycine max* (L.) Merrill, with emphasis on immature bean leaf beetle, *Cerotoma trifurcata* Forster (Coleoptera: Chrysomelidae). Master's Thesis, North Carolina State University, Raleigh. 114pp.
- Riley, D. G.; House, G. J.; Duyn, J. W. 1987. Effects of phorate on soil arthropods and soybean productivity in a North Carolina coastal plain cropping system. *Journal of Economic Science*. London, (4): 317-323.

- Saito, M. L., Luchini, F. 1998. Substâncias obtidas de plantas e a procura por praguicidas eficientes e seguros ao meio ambiente. Jaguriúna: Embrapa-CNPMA. 46pp. (EMBRAPA-CNPMA. Documentos, 12).
- Salas, F. J. S.; Barradas, M. M.; Parra, J. R. P. 1999. Tentativas de transmissão de um isolado do vírus do mosaico severo do caupi (CpSMV-SP) por artrópodos, em laboratório. *Scientia Agrícola*. Piracicaba, (56): 413-420.
- Salas, F.J.S. 1998. Criação de *Cerotoma arcuata* Oliv. (Coleoptera: Chrysomelidae) e transmissão de um isolado do vírus do mosaico severo do caupi. Master's Thesis ESALQ/USP. Piracicaba. 95pp.
- Sartorato, A.; Seijas, C.A.R.; Yokoyama, M. 1983. Principais doenças e pragas do feijoeiro comum no Brasil. Goiânia: EMBRAPA-CNPAP. 54pp. (EMBRAPA-CNPAP. Documentos, 5).
- Santos, J. H. R.; Quinderé, M. A. W. 1988. Distribuição, importância e manejo das pragas do caupi no Brasil. In: Araújo, J. P. P.; Watt, E. E. *O caupi no Brasil*. Brasília: IITA-EMBRAPA. p. 607-658.
- SAS Institute. 1989. SAS User's Guide: Statistics. *SAS Institute*, Cary, NC, USA. 12(8)
- Schroeder, P. C.; Duyn, J. W. van; Patterson, R. P. 1992. Nodulation, nitrogen fixation, and organ dry weight of soybean infested with southern corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) larvae. *Environmental Entomology*. College Park. 5(21): 1002-1006.
- Silva, K. M. 2000. Produtividade de grãos verdes e secos de milho e de caupi. *Horticultura Brasileira*. Brasília, DF. (2)9: 87-89
- Silva, G., A. Lagunes, J. C. Rodríguez y D. Rodríguez. 2002. Insecticidas vegetales: Una vieja-nueva alternativa en el control de plagas. *Revista Manejo Integrado de Plagas (CATIE)* 2(3): 21-56
- Silva, W.C. 2003. Atividade inseticida de *Palicourea Marcgravii* St. Hil. (Rubiaceae) e *Piper Aduncum* L. (Piperaceae) sobre cigarrinha (*Aetalion* sp.), praga de importância econômica no Amazonas. *Acta Amazônica*. 1: 110-115.
- Soderlund, D.M. 2000. Molecular neurobiology and insecticide discovery. In: 8th *International Congress of pesticide Chemistry: Options*. Washington: ACS. p. 309-319.

- Steele, W. M.; Mehra, K. L. 1980. Structure, evolution and adaptation to farming system and environment in *Vigna*. In Summerfield, D. R.; Bunting, A. H. (Ed.). *Advances in legume science*. England: Royal Botanic Gardens. p. 459-468.
- Stone, L. F.; Sartorato, A. 1994. O cultivo do caupi: recomendações técnicas. Brasília: EMBRAPA-SPI. 83 pp. (EMBRAPA-CNPAP. Documentos, 48).
- Teixeira, M.L.F., H.L.C. Coutinho & A.A. Franco. 1996. Effects of *Cerotoma arcuata* (Coleoptera: Crysomelidae) on predation of nodules and on N₂ fixation of *Phaseolus vulgaris*. *J. Econ. Entomol.* 89: 165-169.
- Tokarnia, C. H.; Dobereiner, J. E.; Peixoto, P. V. 2000. Plantas tóxicas do Brasil. Rio de Janeiro. 320 pp.
- Tozzi, A. M. G. A. 1998. A identidade do timbó-verdadeiro: *Deguelia utilis* (A.C.Sm.) A.M.G. Azevedo (Leguminosae: Papilionoideae). *Rev. Brasil. Biol.* 58(3): 511-516.
- Vargas, M. A. T.; Hungria, M. 1997. Fixação biológica do nitrogênio em soja. In: Vargas, M. A. T.; Hungria, M. (Ed.). *Biologia dos solos de cerrados*. Planaltina: EMBRAPA-CPAC. p. 295-360.
- Viegas Júnior C. J. 2003. Terpenos com atividade inseticida: Uma alternativa para o controle químico de insetos. *Quím. Nova*. São Paulo: Araraquara. 3 (26):390-400.
- Vieira, C. 1981. Effect of artificial defoliation on the yield of two indeterminate bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars. *Turrialba*. 31 (4): 383-385.
- Vieira, C. 1988. *Doenças e pragas do feijoeiro*. Viçosa, UFV, Imprensa Universitária. 231pp.
- Vieira, P. C.; Fernandes, J. B. 1999. *Em Farmacognosia: da Planta ao Medicamento*. Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Gosmann, G.; de Mello, J. C. P.; Mentz, L. A.; Petrovick, P. R., UFSC e UFRGS, Florianópolis/Porto Alegre. 1ª. Ed. p. 125 – 241.
- Villalobos, M. J. P. 1996. *Plaguicidas naturales de origen vegetal: Estado actual de la investigacion*. Madrid: Ministerio de Agricultura, Pesca Y alimentacion. Inia. 35 pp.
- Ware, G. W. 1993. *The pesticide book*. Fresno: Thomson Publications. 4. ed. p. 57-62.
- Wilde, A. R.; Heyndrickx, A.; Carton, D. 1986. A case of fatal rotenone poisoning in a child. *J Forensic Sci.* 31:1492-8.
- Williams, L. 1934. A peruvian fish poison. *Flad. Mus.* N.5 (8): 4.
- Windholz, M. 1983. *The Merck Index: an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals*. 10th ed. Rahway, New Jersey. p. 278.

- Wrba, H.; Elmofly, M. M.; Schwaireb, M. H.; Dutter, A. 1992. Carcinogenicity testing of some constituents of Black Pepper (*Piper nigrum*). *Experimental and Toxicologic Pathology*. 44(2): 61-65.
- Yokoyama, L.P.; Wetzel, C.T.; Vieira, E.H.N.; Pereira, G.V. 2000. Sementes de feijão: produção, uso e comercialização. In: Vieira, E.H.N.; Rava, C.A. *In: Sementes de feijão: produção e tecnologia*. Santo Antônio de Goiás: EMBRAPA Arroz e feijão. p.249-270.
- Yoshida, H. A.; Toscano, N. C. 1994. Comparative effects of selected natural insecticides on *Heliothis virescens* (Lepidoptera, Noctuidae) larvae. *Journal of economic entomology*. (87): 305-310.
- Zimmermann, M.J.; de O.; Rocha, M.; Yamada, T. 1988. *Cultura do feijoeiro*. Piracicaba-SP. 512 pp.

This document was created with Win2PDF available at <http://www.daneprairie.com>.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.