# Universidade Federal da Grande Dourados - UFGD Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais - FCBA Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade - PPGECB

USO DE *Lithothamnium calcareum* (PALLAS) ARESCHOUG, 1852 (FLORIDEOPHYCEAE, CORALLINALES, CORALLINACEAE) E GUAR-GUAR ASSOCIADO A NANOTECNOLOGIA PARA CONTROLE DE *Plutella xylostella* (LINNEUS, 1758) (LEPIDOPTERA, PLUTELLIDAE)

Alini de Almeida

Dourados-MS Fevereiro, 2022 Universidade Federal da Grande Dourados Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade

Alini de Almeida

USO DE *Lithothamnium calcareum* (PALLAS) ARESCHOUG, 1852 (FLORIDEOPHYCEAE, CORALLINALES, CORALLINACEAE) E GUARGUAR ASSOCIADO A NANOTECNOLOGIA PARA CONTROLE DE *Plutella xylostella* (LINNEUS, 1758) (LEPIDOPTERA, PLUTELLIDAE)

Dissertação apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de MESTRE EM ENTOMOLOGIA E CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE.

Área de Concentração: Biodiversidade e Conservação

Orientador(a): Adelita Maria Linzmeier Coorientador(a): Gisele Louro Peres

> Dourados-MS Fevereiro, 2022

# Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

# A4471 Almeida, Alini de. Uso de *Lithothamnium calcareum* (PALLAS) Areschoug, 1852 (FLORIDEOPHYCEAE, CORALLINALES, CORALLINACEAE) e Guar-guar associado a nanotecnologia para controle de *Plutella xylostella* (LINNEUS, 1758) (LEPIDOPTERA, PLUTELLIDAE). / Alini de Almeida. — Dourados, MS: UFGD, 2022. Orientadora: Prof. Adelita Maria Linzmeier. Dissertação (Mestrado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade) — Universidade Federal da Grande Dourados. 1. Traça-das-crucíferas. 2. Biopolímero. 3. Bioinseticida. 4. Farinha de algas. 5. Nanotecnologia. I. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central – UFGD.

©Todos os direitos reservados. Permitido a publicação parcial desde que citada a fonte.

"Uso de *Lithothamnium calcareum* (Pallas) Areschoug, 1852 (Florideophyceae, Corallinales, Corallinaceae) e guar-guar associado à nanotecnologia para controle de *Plutella xylostella* (Linneus, 1758) (Lepidoptera, Plutellidae)".

Por

## ALINI DE ALMEIDA

Dissertação apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD),
como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de

MESTRE EM ENTOMOLOGIA E CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE

Área de Concentração: Biodiversidade e Conservação

Dr.a Adelita Maria Linzmeier
Orientadora/Presidente - UFFS

Participação remota

Dr.ª Rosilda Mara Mussury Franco Silva

Membro titular - UFGD

Participação remota

Dr.a Daiani Canabarro Leite

Membro titular - UDESC

Dissertação aprovada em: 17 de fevereiro de 2022

# Biografia do Acadêmico

Alini de Almeida, natural de Joinville - Santa Catarina, nascida em 11/08/1997 é filha de Altemar F. O. de Almeida e Silvete G. de Almeida. Concluiu o ensino fundamental na Escola Estadual Dom Carlos Eduardo (2011) e ensino Médio no Colégio Estadual Doze de Novembro (2014) na cidade de Realeza - Paraná. Em 2015 ingressou no Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas na Universidade Federal da Fronteira Sul – campus Realeza, obtendo o título de Licenciada em Ciências Biológicas em fevereiro de 2020. Durante a graduação participou de projetos de Iniciação Científica ligados à área de tecnologia ambiental sob supervisão da professora Dra. Gisele Louro Peres e Dra. Edinéia Paula Sartori Shimitz, onde atuou como aluna voluntária de 2015 a 2017 cuja pesquisa realizada nesse período resultou no recente depósito da patente intitulada "Composição e métodos de obtenção de composição de biossensor para detecção de agroquímicos em água" sob número de registro BR1020210218185. De 2018 a 2019 atuou como bolsista em projeto aprovado no Edital Nº 681/GR/UFFS/2017 - Fomento à Pesquisa para Experimentos Produtivos em Agroecologia onde foram desenvolvidas pesquisas voltadas para a formulação de defensivos naturais para controle de pragas agrícolas. Atualmente é mestranda no programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade (PPGECB) pela Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) com bolsa de estudos fomentada pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) sob orientação da professora Dra. Adelita Maria Linzmeier e coorientação da Dra. Gisele Louro Peres.

# Agradecimentos

Ao Programa de pós-graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade, a Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais (FCBA) e a Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) pela oportunidade de realizar o mestrado.

As minhas orientadoras, Dra. Adelita Maria Linzmeier e Dra. Gisele Louro Peres por todo apoio, dedicação, confiança, tempo e disponibilidade. Acima de tudo agradeço-lhes pelo exemplo de ética e profissionalismo e pelos ensinamentos que vão muito além da aprendizagem acadêmica e da execução da dissertação. Serei eternamente grata a vocês.

À Dra. Edinéia Paula Sartori Schmitz que juntamente com a professora Gisele me acolheram desde o primeiro ano ainda na graduação, me moldaram e me ensinaram a ver, fazer e sobretudo amar a ciência. Sem dúvidas vocês são responsáveis por parte da pessoa que sou hoje, me sinto honrada em ter aprendido com vocês.

À Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) por disponibilizar o espaço que possibilitou a execução do trabalho.

Ao CNPq pelo financiamento da bolsa de pesquisa que possibilitou a dedicação exclusiva ao mestrado.

Aos técnicos de laboratório da UFFS pela acolhida.

Ao professor Dr. Everton Artuso pela disponibilidade e auxílio quanto a revisão das análises estatísticas.

Aos colegas do laboratório de estudos em Chrysomelidae, em especial a Tarcila Rech, Daniela Machado da Rosa Morais e Rodrigo Capeletti pelos dias que a companhia de vocês tornou o trabalho mais leve e agradável.

Aos meus pais, Silvete de Almeida e Altemar de Almeida que sempre me apoiaram e me possibilitaram correr atrás dos meus sonhos. As minhas irmãs Danieli de Almeida, Francini de Almeida e ao meu cunhado Dionês Pigosso pelo apoio, sorrisos e momentos compartilhados. Aos meus sobrinhos Felipe e Miguel pelos momentos de descontração e pela alegria que compartilham diariamente comigo.

Aos meus amigos e irmãos de coração Guilherme Budke, Bruna Neto, Fernanda Lima e Anna Dressler a vocês ressalto a minha alegria e gratidão pela presença constante.

E a todos que colaboraram direta ou indiretamente para a execução deste trabalho.

Aos meus pais Silvete e Altemar e aos que acreditam na ciência como instrumento transformador da sociedade.

#### **RESUMO GERAL**

A traça-das-crucíferas – Plutella xylostella (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera, Plutellidae), é um microlepidóptero de distribuição cosmopolita, considerada uma das pragas mais importantes dos cultivares de brassicáceas em todo o mundo, como couve, brócolis, couve-flor, repolho, entre outras. Os danos são causados pela fase larval do inseto, que ao consumir as folhas das plantas hospedeiras diminuem a qualidade do produto, desvalorizando ou inviabilizando sua venda. O potencial danoso dessa espécie se deve a um ciclo de vida curto aliado a uma alta taxa reprodutiva, o que possibilita a ocorrência de várias gerações ao longo do ano. Para o Brasil as perdas causadas por esta espécie chegam a um bilhão de dólares por ano. Apesar da existência de métodos de controle naturais como produtos feitos à base de extratos vegetais, agentes de controle biológico como fungos e bactérias entomopatogênicos, a utilização de agrotóxicos sintéticos ainda é o principal mecanismo empregado no controle da traça-dascrucíferas, uma vez que esses produtos apresentam alta eficiência em um curto período. Entretanto, um número crescente de estudos vem demonstrando que quando utilizados de maneira errônea esses compostos causam inúmeros malefícios a saúde e ao meio ambiente além de promoverem a resistência de populações à tais produtos. Nesse sentido, o uso de novas tecnologias aliadas ao uso de produtos naturais como farinha de algas e os biopolímeros tornam-se uma prática cada vez mais necessária. Nesse cenário a nanotecnologia surge como uma ferramenta promissora para a formulação de novos inseticidas naturais menos prejudiciais ao meio ambiente e à saúde humana, que atuem no controle de pragas e doenças que competem com os cultivares. Diante do exposto e aliado a necessidade de pesquisas relacionadas a novas tecnologias para o controle de pragas, principalmente aquelas que sejam menos prejudiciais ao meio ambiente e a saúde humana, o presente trabalho teve como objetivo principal desenvolver um inseticida natural nanotecnológico a base de Lithothamnion calcareum, uma alga vermelha pertencente à família Corallinaceae (Florideophyceae: Corallinales) associado a guar-guar, um biopolímero natural, com o intuito de combater ou controlar indivíduos de Plutella xylostella. Inicialmente foi realizada a interação da solução de farinha de algas com a solução do biopolímero miniaturizado no tempo de 3 minutos a uma amplitude de 100%, formando a solução utilizada nos experimentos, denominada solução alga-biopolímero. Esta solução foi submetida a análise de Espectroscopia de Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS) que indicou uma diminuição do tamanho de partícula e UV-vis que demonstrou o surgimento de um novo composto após a interação entre os produtos. A solução alga-biopolímero e seus respectivos controles (solução de ácido acético, solução de farinha de algas, solução de biopolímero e água destilada) em diferentes concentrações (5,0%, 2,5% e 1,25%) foram submetidos a testes de viabilidade inseticida por contato e ingestão em larvas de segundo instar de P. xylostella. Para cada tratamento foram utilizadas três placas de Pétri contendo 10 larvas cada, feitos em triplicata. No teste de contato, as larvas foram borrifadas com as soluções acima mencionadas e avaliadas a cada hora. Observou-se que após 13 horas da exposição das larvas à solução algabiopolímero, 100% dos indivíduos estavam mortos, com as soluções apresentando diferença estatística significativa em relação aos controles. No teste de ingestão as larvas foram alimentadas com folhas de couve tratadas com as soluções acima mencionadas. Observou-se alteração nos aspectos biológicos como diminuição da biomassa pupal e no número de ovos depositados. Para ambos os experimentos, as soluções nas concentrações de 2,5% e 1,25% mostraram-se eficientes no controle de P. xylostella, indicando que a solução algabiopolímero pode ser empregada como uma nova estratégia de controle e minimização dos danos causados por P. xylostella a suas plantas hospedeiras. Dessa forma, este é um produto menos prejudicial à saúde humana e ao meio ambiente quando comparado aos métodos tradicionais de controle além de apresentar baixo custo de produção, fácil aplicação e manuseio quando comparado aos métodos tradicionais de controle.

**Palavras-chave:** Traça-das-crucíferas; biopolímero; bioinseticida; farinha de algas; nanotecnologia.

#### **ABSTRACT**

The diamondback moth – *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera, Plutellidae), is a cosmopolitan micro-moth, considered one of the most important pests of brassica cultivars worldwide, such as cabbage, broccoli, cauliflower, among others. The damage is caused by the larval stages which, when consuming the leaves of the host plants, reduces the quality, devaluing or making the product unfeasible for sale. The damage potential of this species is due to the short life cycle combined with a high reproductive rate, which allows the occurrence of several generations throughout the year. In Brazil, the losses caused by this species reach one billion dollars a year. Despite the existence of natural control methods such as products made from plant extracts, biological control agents such as entomopathogenic fungi and bacteria, the use of synthetic pesticides is still the main mechanism used to control diamondback moth, since these products have high efficiency in a short period of time. However, an increasing number of studies have shown that when used incorrectly, these compounds cause numerous harms to the health and environment, in addition to promoting resistance in populations to such products. In this sense, the use of new technologies combined with the use of natural products such as seaweed flour and natural biopolymers become an increasingly and necessary practice. In this scenario, nanotechnology emerges as a promising tool for the formulation of new natural insecticides that are less harmful to the environment and human health, which can act in the control of pests and diseases that compete with cultivars. Given the above and allied to the need for research related to new technologies for pest control, especially those that are less harmful to the environment and human health, the main objective of this study was to develop a natural nanotechnological insecticide based on Lithothamnion calcareum, a red alga belonging to the Corallinaceae family (Florideophyceae: Corallinales) associated with guar-guar, a natural biopolymer, to combat or to control individuals of *Plutella xylostella*. Initially, the complexation of the seaweed flour solution with the miniaturized natural biopolymer solution in a time of three minutes at an amplitude of 100%, was carried out forming the solution used in the experiments, called alga-biopolymer solution. This solution was subjected to DLS analysis, which indicated a decrease in particle size, and UV-vis, which demonstrated that there was the formation of a new compound after the interaction between the products. The algabiopolymer solution and its respective controls (acetic acid solution, seaweed flour solution, biopolymer solution and distilled water) at different concentrations (5,0%, 2,5% and 1,25%) were subjected to tests of insecticidal viability by contact and ingestion using second instar larvae of P. xylostella. For each treatment, three Petri dishes containing 10 larvae in each were used, which were made in triplicate. In the contact test, the larvae were sprayed with the aforementioned solutions and evaluated every hour. It was observed that after 13 hours of larvae exposure to the alga-biopolymer solution, 100% of the individuals were dead, with the solutions showing statistically significative difference among the control solutions. In the ingestion test, the larvae were fed with cabbage leaves treated with the above-mentioned solutions. Changes were observed in biological aspects such as decrease in pupal biomass and number of eggs layed. For both experiments, the solutions at concentrations of 2,5% and 1,25% proved to be efficient to control P. xylostella, indicating that the solution algabiopolymer can be used as a new strategy to control and minimize the damage caused by P. xylostella to their host plants. In this way, this product is less harmful to human health and environment when compared to traditional control methods, in addition to presenting low production costs, easy application and handling when compared to traditional control methods.

**Key words**: Diamondback moth; biopolymers; bioinsecticide; seaweed flour; nanotechnology.

# SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO GERAL14	
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA16	
3.	OBJETIVO GERAL20	
3.1	Objetivos Específicos	
4.	HIPÓTESES20	
5.	MATERIAL E MÉTODOS21	
5.1	Criação de P. xylostella	
5.2	Produção da Solução Alga-biopolímero21	
5.3	Teste de Contato	
5.4	Teste de Ingestão	
5.5	Caracterização da Solução Alga-biopolímero24	
5.6	Análise de Dados24	
6.	RESULTADOS25	
6.1	Eficiência Inseticida	
6.1.1	Teste de Contato	
6.1.2	Teste de Ingestão	
6.2	Caracterização Físico-química da Solução Nanoparticulada de Lithothamnium	n
calcareu	um e Guar-guar (Solução Alga-biopolímero)4	
7.	DISCUSSÃO7	
7.1	Eficiência Inseticida	
7.2	Caracterização da Solução Inseticida9	
8.	RELEVÂNCIA SOCIAL, ECONÔMICA OU CULTURAL DA PESQUISA	11
9.	CONCLUSÃO12	
10.	REFERÊNCIAS13	

# LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Processo de produção da solução alga-biopolímero utilizada nos testes com <i>P</i> .
xylostella22
<b>Figura 2.</b> Percentual de mortalidade de <i>P. xylostella</i> em 13 horas de contato com a solução
alga-biopolímero a 2,5% e 1,25%
Figura 3. Espectro de DLS obtido a partir da complexação da solução de L. calcareum e
guar-guar5
Figura 4. Espectro de absorção referente a solução alga-biopolímero e seus respectivos
controles 5
Figura 5. Espectro Infravermelho da solução alga-biopolímero e seus respectivos controles.
(CAA (Controle ácido acético), CFA (Controle farinha de algas), CBP (Controle
biopolímero)6

# LISTA DE TABELAS

<b>Tabela I.</b> Avaliação da mortalidade de <i>P. xylostella</i> tratadas com solução alga-biopolímero
no teste de contato, em diferentes concentrações
Tabela II. Efeito da ingestão de folhas tratadas com solução alga-biopolímero em diferentes
concentrações na viabilidade de larvas e pupas de <i>P. xylostella</i>
Tabela III. Efeito da ingestão de folhas tratadas com solução alga-biopolímero em diferentes
concentrações no peso de pupas, fecundidade e longevidade de <i>P. xylostella</i> 3
Tabela IV. Análise de Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS) para os tratamentos em suas
respectivas concentrações
Tabela V. Análise de pH, condutividade e Potencial Zeta (PZ) para a solução alga-
biopolímero a 2,5 e 1,25% e solução controle de guar-guar

# 1. INTRODUÇÃO GERAL

Plutella xylostella (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera, Plutellidae), conhecida popularmente como traça-das-crucíferas, é um inseto de distribuição cosmopolita, considerada uma das pragas mais importantes no cultivo de brassicáceas no mundo, podendo ocasionar danos que chegam a cinco bilhões de dólares por ano (BOO et al., 2018). No Brasil, foi registrada pela primeira vez na Bahia em 1928 (BONDAR, 1928) e desde então vem causando danos significativos às culturas hospedeiras. Segundo o Comitê Brasileiro de Ação à Resistência de Inseticidas (IRAC-BR, 2016), as perdas ocasionadas por *P. xylostella* no Brasil podem chegar a um bilhão de dólares por ano.

O potencial danoso desta espécie deve-se principalmente ao seu ciclo de vida curto, de aproximadamente 28 dias, possibilitando a ocorrência de várias gerações ao longo do ano, aliado a uma alta taxa reprodutiva provocando danos significativos que podem chegar a perdas de até 100% às plantas hospedeiras (TAKELAR; SHELTON, 1993; CASTELO-BRANCO, 2001; ULMER et al., 2002; TORRES et al., 2006; ZHOU et al., 2011). Tais danos são causados pela fase larval deste inseto, que perfuram as folhas das plantas hospedeiras causando a desvalorização e a inviabilidade para o comércio do cultivar atacado (MACHADO et al., 2015).

Mesmo com a disponibilidade de métodos biológicos para o controle de *P. xylostella*, como a utilização microrganismos entomopatogênicos, como *Bacillus thuringiensis* (Berliner) (MEDEIROS et al., 2006) *Metarhizium anisopliae* (Metschn.), *Beauveria bassiana* (Bals.) (NUNES et al., 2019; GODONOU et al., 2009) e baculovírus (HARRISON; LYNN, 2007), a utilização de agrotóxicos sintéticos ainda é o principal recurso empregado no controle desta praga, uma vez que tais produtos mostram grande eficiência em um curto espaço de tempo. Estudos vêm indicando que a utilização desses produtos de maneira errônea gera impactos negativos não só para o meio ambiente, mas também para a saúde humana (DUTRA et al., 2017; SOARES et al., 2020). Ainda, a utilização desses compostos químicos promove a resistência de indivíduos, além de provocarem a eliminação de seus inimigos naturais (PINHEIRO et al., 2020). Segundo o banco de dados Arthropod Pesticide Resistance Database (2021), *P. xylostella* apresenta resistência a 101 tipos de inseticidas, incluindo inseticidas sintéticos e toxinas Bts, sendo considerado o principal desafio para o controle dessa praga.

Nesse sentido, o uso de novas tecnologias associadas aos produtos naturais contribui para a descoberta e formulação de novos produtos que atuem no controle ou minimização dos danos causados por *P. xylostella*. Nesse cenário a nanotecnologia surge como potencial

inovador para diversas áreas, dentre elas o agronegócio. A nanotecnologia é considerada a ciência que trabalha e manipula matérias em escalas nanométricas. Além de permitir a manipulação de qualquer tipo de material, ela favorece o surgimento de novos produtos em qualquer área econômica (HUPFFER; LAZZARETTI, 2019). Estudos utilizando essa tecnologia vem demostrando cada vez mais que a nanotecnologia é viável para o controle ou minimização dos danos causados por pragas e doenças que competem com os cultivares (EMBRAPA, 2017), como na formulação de novos extratos e óleos essenciais de plantas, desenvolvimento de compostos de liberação controlada, controle de fitonematóides, entre outros (LOPES et al., 2017).

Dentre os produtos naturais podemos citar, além dos extratos vegetais que estão entre os mais amplamente pesquisados, a farinha de algas e os biopolímeros ou polímeros naturais (SOLTANI et al., 2021) sendo que estes, caracterizam-se por apresentarem macromoléculas constituídas de repetições de pequenas e simples unidades estruturais chamadas de monômeros. Guar-guar é um exemplo de polímero não iônico e natural, além disso, é considerado um produto de baixo custo, renovável, atóxico e biodegradável, possuindo grande importância econômica e ambiental (DAI et al., 2020). Ainda, guar-guar é um polissacarídeo galactomanano não iônico e hidrofílico obtido a partir do endosperma das sementes de *Cyamopsis tetragonolobus* (L.) Taub, que atua como fonte de reserva de carboidratos. Composto maioritariamente de galactomananas (75-80%), água (12%) e proteína (5-6%) (SOLTANI et al., 2021) apresenta em sua estrutura uma longa cadeia polimérica, elevada massa molecular, além de ampla disponibilidade (THOMBARE et al., 2016).

A gama de aplicabilidade dos biopolímeros é ampla, abrangendo desde materiais simples, até componentes importantes utilizados na medicina, indústria medicamentosa, alimentícia, produção de cosméticos e encapsulamento de bioinseticidas (FARIAS et al., 2016). Atualmente, esses produtos aliados a nanotecnologia estão sendo cada vez mais utilizados na agricultura (ROUT et al., 2017; ABDELHADY et al., 2020).

A alga *Lithothamnium calcareum* (Pallas) Areschoug, 1852 (Florideophyceae: Corallinales, Corallinaceae), possui em sua composição alto teor de cálcio, enxofre e potássio, além de possuir mais de 20 elementos em quantidades variáveis como zinco, ferro e magnésio (COSTA NETO et al., 2010). Sabendo que o gradiente de potássio é utilizado pelos insetos para impulsionar a absorção de nutrientes da hemolinfa para o lúmen do intestino médio, e que, indivíduos que se alimentam de plantas que têm níveis muito altos de íons potássio têm sua força motriz reduzida (KLOWDEN, 2007), é possível que a farinha de algas possa interferir na absorção de nutrientes comprometendo a sobrevivência de *P*.

xylostella. Ainda, acreditamos que a solução nanoparticulada de *L. calcareum* e guar-guar (a partir daqui chamada de solução alga-biopolímero), possa interagir com algum componente presente no exoesqueleto do inseto por conta das forças iônicas presentes tanto nessa estrutura da membrana quanto da solução.

Diante das propriedades e características dos produtos naturais citados anteriormente, aliado a escassez de pesquisas relacionadas, principalmente, à utilização de *L. calcareum* e à grande demanda mundial pela aplicação de agrotóxicos para controle das populações de insetos praga, que culminam em sérios problemas ambientais, faz-se necessário um novo olhar frente a alternativas de controle menos prejudiciais ao meio ambiente e a saúde humana. Dessa forma, considerando as informações apresentadas, para o presente estudo levantou-se a seguinte hipótese: A solução alga-biopolímero causará mortalidade de *P. xylostella*. Caso os insetos sobrevivam haverá alteração em parâmetros biológicos relacionados ao ciclo reprodutivo e sobrevivência de *P. xylostella* contribuindo assim para o controle desta espécie.

Sendo assim, acredita-se que o uso de farinha de algas e o biopolímero associado ao uso da nanotecnologia possa ser uma alternativa para o controle de *P. xylostella* nas culturas de brassicáceas.

# 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Brassicaceae constitui uma numerosa família de plantas oleráceas e oleaginosas que são amplamente utilizadas na alimentação humana. Segundo Ghini et al. (2011), essa família é representada por diversas espécies de hortaliças folhosas, com destaque para as espécies *Brassica oleracea* (L.) variações capitata (repolho), botrytis (couve-flor), acephala (couve), italica (brócolis); *Brassica juncea* (L.) (mostarda); *Brassica rappa* (L.) (acelga), *Euruca sativa* (L.) (rúcula) e *Raphanus sativus* (L.) (rabanete). Nos últimos anos o consumo destas espécies tem aumentado significativamente, impulsionado principalmente pela busca de uma alimentação mais saudável, visto que possuem elevados teores nutricionais de potássio, cálcio, ferro e vitaminas A e C e do complexo B, além de ser uma boa fonte de fibras (USDA, 2009; CAMPBELL et al., 2012). Além disso, o cultivo de Brassicaceae apresenta um relevante papel social, uma vez que grande parte é cultivada por pequenos agricultores familiares (FILGUEIRA, 2008). De acordo com o Prognóstico de Olericultura publicado pela Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Paraná (2020), a área cultivada de hortaliças no Estado no ano de 2019 foi de 117,8 mil hectares, movimentando cerca de R\$ 4,87 bilhões no mercado de hortaliças. Ainda, segundo este boletim, o cultivo de couve ocupou uma área

de 1.243ha produzindo cerca de 29.161 toneladas, rendendo ao mercado cerca de R\$ 79 milhões.

Apesar da grande importância na produção para o território nacional, alguns problemas fitossanitários, como o ataque de pragas e doenças nas áreas de cultivo de Brassicaceae, são frequentes e acarretam grandes prejuízos econômicos para os produtores (HOLTZ et al. 2015). No que se refere as pragas que assolam esta família destacam-se as fases jovens de lepidópteros, com destaque para *P. xylostella*, *Ascia monuste orseis* (Latreille, 1819), *Hellula phidilealis* (Walker, 1859), *Trichoplusia ni* (Hübner, 1802), *Spodoptera eridania* (Cramer, 1782), além de outras pragas como *Liriomyza huidobrensis* (Blanchard, 1926) e *Brevicoryne brassicae* (Linnaeus, 1758) (CAPINERA 2001; CARDOSO, 2010).

Plutella xylostella (Lepidoptera, Plutellidae), conhecida popularmente como traça-dascrucíferas, é considerada a principal praga das brassicáceas no mundo (ZALUCKI et al., 2012). Esta espécie é um microlepidóptero de coloração castanho-acinzentado com aproximadamente 1 cm de comprimento (GALLO et al., 2002), com uma longa faixa de coloração castanho-claro na região da margem anal das asas (CAPINERA, 2012). Apresentam hábitos crepusculares, permanecendo escondidos nas folhas da planta hospedeira durante o dia e saindo ao entardecer para se alimentar e se reproduzir (VACARI, 2012). Estas micromariposas realizam voos curtos, geralmente a cerca de 2 m do solo, sendo facilmente carregadas pelo vento, o que facilita a sua dispersão (CAPINERA, 2012). Os adultos depositam os ovos em geral na face abaxial da folha próximo a nervura central e após 3 ou 4 dias as larvas eclodem. A lagarta de primeiro instar é minadora e a partir do segundo instar abandona a galeria e passa a se alimentar da epiderme inferior das folhas até o quarto instar quando constrói um casulo e empupa (GALLO et al., 2002; MEDEIROS et al., 2003). A duração da fase larval varia conforme as condições climáticas e alimentares podendo ser completada em 12 dias em temperaturas mais elevadas o que confere a esta espécie um grande número de gerações por ano (CASTELO BRANCO et al., 1997; THULER et al., 2007).

Assim, é durante a fase larval que ocorrem os danos ao cultivar por conta da sua alta taxa de predação aliada a alta capacidade reprodutiva dos adultos e ao aparecimento de várias gerações ao longo do ano (HAMILTON et al., 2005; TORRES et al., 2006; SHELTON et al., 2008; SRINIVASAN et al., 2011). Com isso, *P. xylostella* é responsável por prejuízos de US\$ 2,7 bilhões por ano na safra mundial e os custos associados ao controle deste inseto variam de US\$ 1,3 bilhões a US\$ 2,3 bilhões anuais (ZALUCKI et al., 2012).

Atualmente, o principal método utilizado para o controle de *P. xylostella* é o uso de agrotóxicos sintéticos. Ao longo dos anos, estudos vem indicando que quando utilizados de maneira errônea e desenfreada, os agrotóxicos sintéticos podem trazer uma série de prejuízos

ambientais, como a diminuição de espécies, a contaminação das águas superficiais e subterrâneas, prejuízos de curto e longo prazo a saúde humana, além da alta capacidade de selecionar população de insetos resistentes (SANTOS et al., 2011; DUTRA et al., 2017; PÉREZ et al., 2020). Ainda, a utilização desses compostos químicos, além de promoverem a resistência desses indivíduos, provocam também a eliminação de seus inimigos naturais (DE BORTOLI et al., 2013).

O alto nível de exposição a agrotóxicos sintéticos fez com que *P. xylostella* desenvolvesse resistência a uma ampla gama de inseticidas (ZHAO et al., 2002; WRIGHT, 2004; ZHAO et al., 2006; WANG et al., 2013; RIBEIRO et al., 2017). Com o intuito de diminuir a seleção de indivíduos resistentes, o Programa de Manejo Integrado de Pragas (MIP) propõe a utilização de diferentes técnicas e estratégias de controle. Dentre elas, a utilização de produtos naturais passou a ser considerada uma alternativa promissora no controle de pragas (STEVENSON et al., 2009; PERUMALSAMY et al., 2010; PARRA et al., 2014).

Dentre os produtos naturais que vêm sendo estudados e que têm mostrado resultados promissores estão o uso de extratos vegetais e controle microbiano. Esses produtos são compostos da associação de várias substâncias bioativas, fazendo com que tenham diferentes modos de ação além de induzirem a resistência de insetos a tais compostos muito lentamente (ROEL, 2001). Por exemplo, Boiça Júnior et al., (2005), avaliaram o potencial inseticida de 18 extratos de espécies de plantas da região tropical contra P. xylostella e determinaram que dentre os extratos, Enterolobium contortisilliquum (Vell.) Morong; Nicotiana tabacum (L.), Sapindus saponaria (L.) (frutos) e Trichilia pallida (Swartz) (ramos) causaram 100% de mortalidade das larvas, sendo que as demais espécies analisadas apresentaram índices variáveis de mortalidade. Torres et al. (2006), apontam que o córtex lenhoso de Aspidosperma pyrifolium (Mart.) e frutos de Melia azedarach (L.) apresentam efeitos tóxicos sobre a oviposição de P. xylostella. Segundo Boo et al. (2018), extratos de Achyranthes japonica (Miq.) Nakai, mostraram-se eficientes no controle de populações de P. xylostella. O potencial inseticida desta espécie deve-se pela presença de fitoecdisteroides, particularmente 20-hydroxyecdysone (20E), compostos químicos sintetizados pela planta e utilizados como mecanismo de defesa contra predação de insetos, apresentando alto potencial inseticida (CAMPS; COLL, 1993; TANAKA; TAKEDA, 1993; BLACKFORD; DINAN, 1997; DINAN, 2001).

Em relação a utilização de mecanismos de controle microbiano para controle de *P. xylostella* destacam-se os microrganismos entomopatogênicos como *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* (GODONOU et al., 2009; NUNES et al., 2019). Neste sentido, diversos autores vêm trazendo inovações referentes a novas formulações de diferentes isolados de *B.* 

bassiana (AROR et al., 2017; BATCHO et al., 2018; NUNES et al., 2019; AGBOYI et al., 2020) e *M. anisopliae* (OUYANG et al., 2015; CORREA-CUADROS et al., 2016; GUSTIANA et al., 2019; QUINTERO et al., 2020) para controle de *P. xylostella*.

Além das estratégias citadas anteriormente, surge a nanotecnologia que é considerada um dos pilares tecnológicos do século XXI, sendo apresentada como uma área que cria, caracteriza, desenvolve e aplica estruturas, materiais, dispositivos e técnicas por meio do controle da matéria em escala nanométrica (ISO/TC 229, 2015). Recentemente, a nanotecnologia vem sendo estudada e implementada na preparação de nanobiopesticidas com o intuito de facilitar a liberação controlada do princípio ativo na planta (GAHUKAR et al., 2020). Além disso, a utilização da nanotecnologia pode aumentar a estabilidade e solubilidade de produtos naturais aumentando assim a sua eficácia (YANG et al., 2009; BHAWANA et al., 2014). Adicionalmente, podem minimizar qualquer tipo de efeito tóxico indesejado e melhorar significativamente a estabilidade e fotoestabilidade das moléculas ativas em solução (CHARCOSSET et al., 2005).

Nanobiopesticidas são compostos biológicos nanoformulados de maneira que a molécula bioativa da solução seja potencializada em decorrência da presença da nanomolécula. Diferente dos pesticidas convencionais, trata-se de novas formulações, uma vez que possuem propriedades inerentes, como liberação dirigida diretamente ao alvo, não degradação de moléculas bioativas, aumento da solubilidade de compostos ativos pouco solúveis e diminuição da dose aplicada nos cultivos para controlar pragas agrícolas (HAYLES et al., 2017). Geralmente as nanopartículas são obtidas a partir de materiais biodegradáveis e biocompatíveis como biopolímeros ou os polímeros sintéticos (COHEN-SELA et al., 2009; YANG et al., 2009; BHAWANA et al., 2014). Dentre as técnicas usualmente utilizadas para a preparação das nanomoléculas estão nanoprecipitação, emulsificação, evaporação de solvente, emulsificação-difusão de solvente e emulsificação dupla-evaporação do solvente (COHEN-SELA et al., 2009; MORO-HUERTAS et al., 2010).

Visto que a nanotecnologia pode contribuir positivamente para melhorar a produtividade agrícola utilizando os recursos e insumos de forma mais eficaz e sustentável que os métodos tradicionais, a busca por propostas de formulação de novos biopesticidas é uma abordagem válida a ser pesquisada e estudada.

Apesar da escassez na literatura de trabalhos relacionados ao uso de algas no controle de populações de insetos, alguns estudos como os de Manilal et al. (2009), Ravikumar et al. (2011), Ali et al. (2013) e Ribeiro e Vendramim (2019), demostraram que a utilização deste composto se mostra eficiente no controle de pragas. Quanto ao uso da nanotecnologia, trabalhos como os de Grillo et al. (2016), Luiz de Oliveira et al. (2018), Oliveira et al. (2019)

e Pascoli et al. (2019) também vem demonstrando seu potencial de aplicabilidade para o controle de pragas agrícolas. Nesses estudos, misturas dos compostos botânicos foram encapsuladas em nanopartículas melhorando a estabilidade e eficiência dos extratos (DE OLIVEIRA et al., 2019; PASCOLI et al., 2019). Além disso, os autores também discutem a ampla gama de nanomateriais destinados a melhorar a eficácia e a segurança dos produtos químicos agrícolas que são utilizados no controle de pragas (GRILLO et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2018).

Sendo assim, estudos sobre o uso de novas tecnologias como a nanotecnologia associada a produtos naturais tais como *L. calcareum* e biopolímeros como guar-guar (*Cyamopsis psoraloides* DC. Leguminosae, Papilionoideae), torna-se uma alternativa promissora para o manejo das populações de *P. xylostella*. Desta maneira, neste estudo buscou-se a partir de ensaios realizados em laboratório verificar se a solução alga-biopolímero apresenta potencial inseticida sobre populações de *P. xylostella*.

#### 3. OBJETIVO GERAL

Desenvolver um inseticida natural nanotecnológico a base de *Lithothamnion calcareum*, Corallinaceae (Florideophyceae: Corallinales) associado ao biopolímero guar-guar (solução alga-biopolímero), visando combater ou controlar *Plutella xylostella*.

## 3.1 Objetivos Específicos

- Caracterizar aspectos físico-químicos da solução alga-biopolímero em diferentes concentrações;
- Avaliar a eficiência da solução alga-biopolímero na causa da mortalidade de *P. xylostella* por contato;
- Avaliar a eficiência da solução alga-biopolímero na mortalidade de P. xylostella por ingestão;
- Avaliar se a solução alga-biopolímero interfere no ciclo reprodutivo de *P. xylostella*.

# 4. HIPÓTESES

• A solução alga-biopolímero causará mortalidade de *P. xylostella*. Caso os insetos sobrevivam, haverá alteração em parâmetros biológicos relacionados ao ciclo reprodutivo e sobrevivência de *P. xylostella*.

# 5. MATERIAL E MÉTODOS

# 5.1 Criação de P. xylostella

A criação teve início a partir de larvas e pupas coletadas em plantação de couve orgânica no município de Realeza-PR. A criação estoque foi mantida sob temperatura de 25±2 °C, umidade relativa de 60±2% e fotoperíodo 12/12 no laboratório multiusuários de biologia da Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Realeza, Paraná. O procedimento de criação dos indivíduos de *P. xylostella* foi realizado de acordo com a metodologia proposta por Barros et al. (2012).

### 5.2 Produção da Solução Alga-biopolímero

A produção da solução alga-biopolímero consistiu em três etapas (Figura 1), sendo a primeira referente à produção da solução de *L. calcareum*, a segunda consiste na produção da solução biopolimérica, por fim a terceira etapa corresponde a interação da solução biopolimérica com a solução de *L. calcareum* obtendo-se então a solução alga-biopolímero, tendo-se assim:

- Para a produção da solução de *L. calcareum* foram adicionados 5 g de farinha de algas previamente moída com auxílio de almofariz em 250 ml de ácido acético (P.A). A solução foi submetida a temperatura de 40°C e agitação constante por 24 horas a fim de que todos os compostos fossem extraídos (ALMEIDA et al., 2020), após esse processo a solução foi filtrada;
- Para a segunda etapa do processo, foram adicionados em um balão volumétrico 0,1g de guar-guar (biopolímero). Em seguida o balão foi aferido com 100 ml de água deionizada e mantido sob agitação constante por 24 horas em temperatura ambiente a fim de que ocorresse a solubilização completa do biopolímero. Após agitação, com o intuito de miniaturizar as partículas em solução para a escala manométrica, a solução biopolimérica foi submetida a tratamento de ultrassom em processador ultrassonico modelo MARCONI, UP 200S com ponteira de calibre grosso, no tempo

- de 3 minutos e uma amplitude de 100%, visto que resultados obtidos em estudos anteriores indicam este como o melhor tempo para miniaturização de guar-guar (ALMEIDA et al., 2020).
- Por fim foi realizada a complexação da solução de *L. calcareum* e guar-guar, na qual foi preparada uma solução na concentração de 10%, que consistia na complexação de 1 ml da solução de *L. calcareum* para 9 ml da solução de nanoparticulada de biopolímero. A partir dessa solução foram preparadas novas soluções (solução algabiopolímero) nas concentrações de 1,25%, 2,5% e 5,0%, as quais foram submetidas a agitação por um período aproximado de 4 horas e em seguida utilizadas nos testes com indivíduos de *P. xylostella*.



**Figura 1.** Processo de produção da solução alga-biopolímero utilizada nos testes com *P. xylostella*.

Em cada teste (ver abaixo) foram utilizadas a solução alga-biopolímero nas concentrações 1,25%, 2,5% e 5,0% e seus respectivos controles, sendo eles i) solução apenas de biopolímero, ii) solução apenas de farinha de algas, iii) solução apenas de ácido acético e iv) água destilada como controle negativo. Para cada controle, foram utilizadas as mesmas concentrações da solução alga-bipolímero (1,25%, 2,5% e 5,0%), totalizando 13 tratamentos.

# 5.3 Teste de Contato

Para o teste de contato foram colocadas 10 larvas de 2º instar de *P. xylostella* em placas de Petri, junto com discos foliares de couve (8 cm ² Ø) previamente higienizadas. A higienização foi realizada em solução de hipoclorito de sódio 5% durante 5 minutos, em seguida as folhas foram enxaguadas em água corrente e secas com papel filtro a fim de remover o excesso de solução. Posteriormente, com o auxílio de um borrifador de 100 ml, foi borrifado uma única fez, a 30cm de distância cerca de 0,324 ml da solução algabiopolímero assim como dos controles sobre as larvas em cada placa.

As larvas foram avaliadas sob microscópio estereoscópio de hora em hora após o contato com a solução até o tempo de 16 horas de exposição para verificar se houve ou não mortalidade. Foram realizados estímulos mecânicos nas larvas com pincel as quais somente eram consideradas mortas quando nenhum movimento era observado.

## 5.4 Teste de Ingestão

Para o teste de ingestão, discos foliares de couve (8 cm²Ø) previamente higienizados conforme descrição acima (Item 5.3), foram imersos na solução alga-biopolímero assim como em seus respectivos controles, por 60 segundos e colocadas sobre papel filtro a fim de remover o excesso de solução.

Em seguida 10 larvas de 2º instar de *P. xylostella* foram mantidas nas placas de Petri e alimentadas diariamente com discos foliares de couve, também tratadas diariamente, conforme descrito acima até a obtenção das pupas. Após 24 horas da obtenção das pupas, 35 pupas de cada tratamento foram pesadas com o auxílio de balança eletrônica de precisão com 5 casas decimais Shimadzu AUY2020. Todas as pupas obtidas foram transferidas individualmente para tubos de ensaio até a emergência dos adultos, que foram então sexados por meio de diferenciação de terminália (CAPINERA, 2008). Em seguida foram formados seis casais com até 24 horas de emergência para cada tratamento. Os casais foram transferidos para gaiolas de postura contendo algodão embebido em solução de mel a 10 mg/ml, um disco de papel filtro e 1 disco de couve (8 cm ² Ø).

As gaiolas foram acompanhadas diariamente e os discos de posturas substituídos diariamente durante quatro dias (FERRREIRA et al., 2021) para verificar a fecundidade das fêmeas através da contagem do número de ovos. Os casais foram mantidos nas gaiolas e alimentados seguindo a metodologia descrita no item 5.1, sendo acompanhados até sua morte para verificação da longevidade. Além disso, foram avaliados os seguintes parâmetros, viabilidade larval que foi determinada por meio da porcentagem de larvas que atingiram o

estágio de pupa; viabilidade pupal, correspondendo a porcentagem de adultos que emergiram das pupas, além do peso médio pupal (SILVA et al., 2019).

Em cada um dos testes (contato e ingestão), para cada um dos 13 tratamentos foram realizadas três repetições, sendo cada repetição representada por três placas de Pétri contendo 10 larvas em cada, totalizando 30 larvas por repetição e um N final de 1.170 indivíduos de *P. xylostella* utilizados em cada experimento.

## 5.5 Caracterização da solução alga-biopolímero

A caracterização da solução foi realizada em triplicata por meio de medidas de pH (MS Tecnopon mPA 210), Condutividade (Omega, CDH-7021), Espectroscopia de Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS) (Zetasizer Nano ZS Malvern) que tem como intuito determinar o tamanho e a polidisperssão (distribuição de tamanho das moléculas na solução) das partículas em suspensão presentes na solução (GOTO, 2011; LIU et al., 2015; XU et al., 2015). Além disso, foram realizadas análises de Espectroscopia UV-Vis (Thermo Scientific Evolution 201) na faixa de absorção de 190 a 1100 nm para determinar se houve ou não a interação entre *L. calcareum* e guar-guar quando estas foram complexadas. E, a fim de se verificar a estabilidade da nanoformulação, foi avaliado o Potencial Zeta (PZ) (Zetasizer Nano ZS Malvern) da solução, ainda foram realizadas análises de Infravermelho (FTIR) (Shimadzu) na faixa de 1000 a 4000 cm<sup>-1</sup>. Estas análises foram realizadas no laboratório multiusuários de química da Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Realeza, PR.

# 5.6 Análise de dados

Os resultados obtidos nos testes de contato e ingestão foram submetidos a análises estatísticas executadas no programa estatístico Past4Project®. A normalidade dos dados foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk. Confirmando-se a não normalidade dos dados foi realizado o teste não paramétrico Kruskal-Wallis, seguido do teste Mann-Whitney.

#### 6. RESULTADOS

# 6.1 Eficiência Inseticida

#### 6.1.1 Teste de Contato

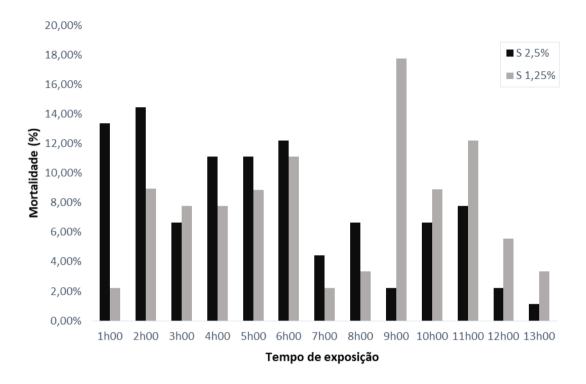
Avaliando a eficiência da solução alga-biopolímero, foi verificado que no teste de contato, todas as soluções causaram 100% de mortalidade das larvas de *P. xylostella* em até 13 horas após a exposição (Figura 2). Entretanto, apenas as soluções nas concentrações 1,25% e 2,5% diferiram significativamente (p<0,05) dos tratamentos controle (Tabela I). Não houve diferença significativa (p=0,9431) quando comparada a eficiência entre as soluções alga-biopolímero a 5,0%, 2,5% e 1,25% (sem se considerar os controles). No entanto, foi observado que a solução alga-biopolímero a 5,0% e seus respectivos controles causaram injurias às folhas da couve (aspecto de queimado) após o contato com a solução, possivelmente devido a maior concentração de ácido acético na solução. Dessa forma, serão apresentados apenas os resultados para as soluções nas concentrações 1,25% e 2,5%, inclusive no teste de ingestão (ver item 6.1.2).

**Tabela I.** Avaliação da mortalidade de *P. xylostella* tratadas com solução alga-biopolímero no teste de contato, em diferentes concentrações.

Tratamentos		1,25%		2,5%			5,0%		
	Me	$M_{d}$	p	Me	M <sub>d</sub>	p	Me	$M_d$	p
Sol. A-BP	5,625	6	-	5,625	6	-	5,625	4	-
CFA	0,625	0	0,00054	0,5625	0	0,00038	4,75	4,5	0,96970
СВР	0,0625	0	0,00002	0,25	0	0,00011	0,0625	0	0,00066
CAA	0,5	0	0,00029	1,5625	1	0,01072	4,9375	2,5	0,87860
H <sub>2</sub> O D	0,0625	0	0,00002	0,0625	0	0,00002	0,0625	0	0,00066

Valores de p em negrito indicam diferença significativa (p < 0,05) na mesma coluna em relação a solução alga-biopolímero. Sol. A-BP (Solução alga-biopolímero), CFA (Controle farinha de algas), CBP (Controle biopolímero) e CAA (Controle ácido acético),  $H_2O$  D (água destilada).  $M_e$  (média de mortalidade por hora),  $M_d$  (mediana).

O pico de mortalidade para a solução alga-biopolímero a 2,5% ocorreu 2 horas após o contato, sendo que a maioria das larvas (69%) morreram em até 6 horas de exposição. Para a solução alga-biopolímero a 1,25% o pico de mortalidade ocorreu após 9 horas de exposição, período este em que a maior parte das larvas (70%) morreram (Figura 2).



**Figura 2.** Percentual de mortalidade de *P. xylostella* em 13 horas de contato com a solução alga-biopolímero a 2,5% e 1,25%.

# 6.1.2 Teste de Ingestão

Em relação ao teste de ingestão, quando as larvas foram alimentas com folhas tratadas com as soluções nas diferentes concentrações, observou-se mortalidade inferior à observada no teste por contato. Entretanto, não houve diferença significativa quanto a viabilidade larval para as soluções alga-biopolímero e seus respectivos controles nas concentrações 2,5% e 1,25% (Solução 2,5% p= 0,1966; Solução 1,25% p= 0,1658) (Tabela II). Também não houve diferença significativa quanto à viabilidade pupal nas diferentes concentrações e seus controles (Solução 2,5% p= 0,5592; Solução 1,25% p= 0,6504) (Tabela II).

Embora a viabilidade larval e pupal não tenham sido alteradas significativamente, quando as larvas se alimentaram de folhas tratadas com a solução alga-biopolímero observouse alterações significativas quanto ao peso médio pupal (Solução 2,5% p= 7,19-9 e Solução 1,25% p= 1,65-12) e a fecundidade das fêmeas (Solução 2,5% p= 4,81-6 e Solução 1,25% p= 4,66-10) em ambas as concentrações. Quanto ao peso médio das pupas houve aumento

significativo do peso para ambas as soluções em relação ao controle negativo e apenas a solução alga-biopolímero a 1,25% diferiu significativamente de todos os tratamentos controles, com redução no peso em relação aos observados nos tratamentos controle (exceto controle negativo) (Tabela III).

Em relação à fecundidade, houve redução significativa no número de ovos postos pelas fêmeas tratadas em ambas as concentrações da solução alga-biopolímero em comparação com o controle negativo com redução de cerca de 1/3 no número de ovos postos (Tabela III). Quanto a longevidade dos adultos não foi observada diferença significativa entre as soluções (Solução 2,5% p= 0,2493 e Solução 1,25% p= 0,3581) (Tabela III).

**Tabela II.** Efeito da ingestão de folhas tratadas com solução alga-biopolímero em diferentes concentrações na viabilidade de larvas e pupas de *P. xylostella*.

Tratamentos	Larvas		Pupas	
	Viabilidade <sup>a</sup>	p	Viabilidade <sup>b</sup>	p
Sol. A-BP 2,5%	64,44%	-	64,44%	-
CFA 2,5%	72,22%	0,65500	89,23%	0,35370
CAA 2,5%	68,88%	0,34810	83,87%	0,50660
<b>CBP 2,5%</b>	75,55%	0,78920	85,30%	0,38270
$H_2OD$	84,44%	0,02320	90,79%	0,26830
Sol. A-BP 1,25%	57,77%	-	97,00%	-
CFA 1,25%	75,55%	0,46700	83,83%	1
CAA 1,25%	67,77%	0,59360	80,33%	1
<b>CBP 1,25%</b>	67,77%	0,53710	75,40%	0,65790
H <sub>2</sub> O D	84,44%	0,03140	90,79%	0,64280

Valores de p em negrito indicam diferença significativa (p < 0,05) na mesma coluna em relação a solução algabiopolímero e seus respectivos controles. Sol. AB-P: Solução algabiopolímero; CFA: Controle de Farinha de Algas; CAA: Controle de Ácido Acético; CBP: Controle de Biopolímero; H<sub>2</sub>O D (controle negativo, água destilada).

<sup>&</sup>lt;sup>a</sup> A viabilidade larval corresponde à porcentagem de larvas que atingiram o estágio de pupa;

<sup>&</sup>lt;sup>b</sup> A viabilidade pupal corresponde à porcentagem de pupas que atingiram o estágio adulto;

**Tabela III.** Efeito da ingestão de folhas tratadas com solução alga-biopolímero em diferentes concentrações no peso de pupas, fecundidade e longevidade de *P. xylostella*.

Tratamentos	Pes	so médio <sup>a</sup> (n	ng)	Fecundidade			ade Longevidade		
		Pupas		O	vos postos <sup>b</sup>		Adultosc		
	Média	Mediana	p	Média	Mediana	p	Média	Mediana	p
Sol A-BP 2,5%	0,00022a	0,00023	-	7,76 <sup>a</sup>	2,5	-	12,5 <sup>a</sup>	1	-
CFA 2,5%	0,00021 <sup>a</sup>	0,00021	0,70660	$17,06^{b}$	16,64	0,00374	11,8649 <sup>a</sup>	2	0,56870
CAA 2,5%	0,00031 <sup>b</sup>	0,00031	0,73270	$18,87^{bc}$	15	0,00507	11,6087 <sup>a</sup>	2	0,26280
<b>CBP 2,5%</b>	0,00021 <sup>a</sup>	0,00022	0,00008	17,1 <sup>b</sup>	12	0,00018	10,1064 <sup>a</sup>	2	0,24490
$H_2OD$	$0,00018^{c}$	0,00019	0,02606	23,76 <sup>c</sup>	24	0,00000	9,36735 <sup>a</sup>	3	0,13830
Sol A-BP 1,25%	0,00023a	0,00023	-	7,36 <sup>a</sup>	7	-	8,84375 <sup>a</sup>	2	-
CFA 1,25%	$0,00026^{b}$	0,00027	0,04201	9,933 <sup>a</sup>	5,5	0,95860	10,7619 <sup>a</sup>	3	0,88330
CAA 1,25%	$0,00027^{b}$	0,00027	0,00022	$22,63^{bc}$	20	0,00016	10,878 <sup>a</sup>	3	0,09594
<b>CBP 1,25%</b>	$0,00028^{b}$	0,00029	0,00640	17,2 <sup>b</sup>	14	0,00000	9,93548 <sup>a</sup>	1	0,75320
H <sub>2</sub> O D	0,00018 <sup>c</sup>	0,00019	0,00024	23,7 <sup>bc</sup>	24	0,00000	9,36735 <sup>a</sup>	3	0,80310

Valores de p em negrito indicam diferença significativa (p < 0,05) na mesma coluna em relação a solução alga-biopolímero e seus respectivos controles. Sol A-BP: Solução alga-biopolímero; CFA: Controle de Farinha de Algas; CAA: Controle de Ácido Acético; CBP: Controle de Biopolímero;  $H_2O$  D (controle negativo, água destilada). Médias seguidas de letras diferentes em cada coluna indicam diferenças (p < 0,05) entre os tratamentos de acordo com o teste de Mann-Whitney.

<sup>&</sup>lt;sup>a</sup> O peso médio pupal corresponde ao peso dos indivíduos que chegaram ao estágio pupal;

<sup>&</sup>lt;sup>b</sup> A fecundidade das fêmeas de cada tratamento foi avaliada determinando o número de ovos postos;

<sup>&</sup>lt;sup>c</sup> A longevidade dos adultos corresponde ao número de dias que os mesmos sobreviveram.

6.2 Caracterização físico-química da solução nanoparticulada de *Lithothamnium* calcareum e guar-guar (solução alga-biopolímero)

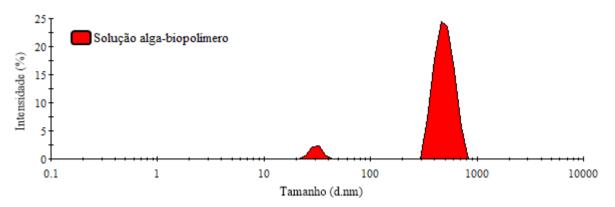
Considerando que somente as soluções alga-biopolímero nas concentrações a 2,5% e 1,25% apresentaram valores significativos para o controle de *P. xylostella*, a caracterização foi realizada apenas para essas concentrações. Resultados obtidos por meio da análise de Espectroscopia de Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS), possibilitaram estimar o tamanho médio das partículas presentes nas soluções teste. Observou-se por meio desta análise que quando a solução de *L. calcareum* é complexada junto a solução nanoparticulada de guarguar ocorre um aumento substancial no tamanho da partícula, aliado também a um aumento da polidispersão das moléculas presentes na solução (Tabela IV), mostrando que houve uma interação entre os compostos.

**Tabela IV.** Análise de Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS) para os tratamentos em suas respectivas concentrações.

	Rh (nm)	Dev.	PD.I
Guar-guar 3 min	294,8	0,009	0,384
Solução 2,5%	492,1	0,073	0,494
Solução 1,25%	425,1	0,063	0,733

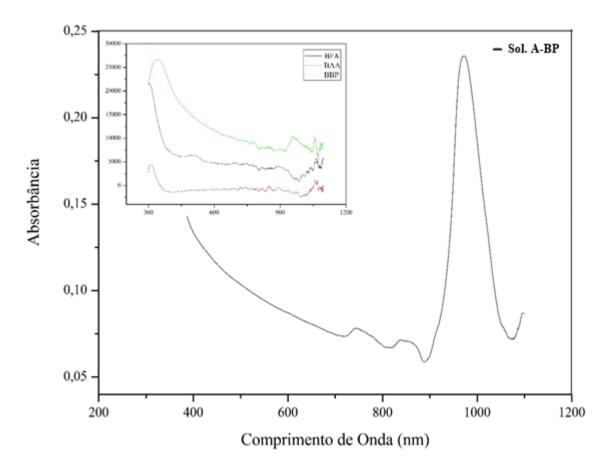
Rh: Raio hidrodinâmico, Dev: Desvio Padrão e PD.I: Índice de Polidispersão.

Além disso, após a interação das soluções de *L. calcareum* e de guar-guar foi possível verificar o aparecimento de duas populações de partículas, uma com um tamanho aproximado de 30,92 nm e uma segunda população com aproximadamente 497,8 nm, indicando que as moléculas da solução de *L. calcareum* e guar-guar não se encontram dispersas na solução, mas sim majoritariamente na forma de agregados moleculares (Figura 3).



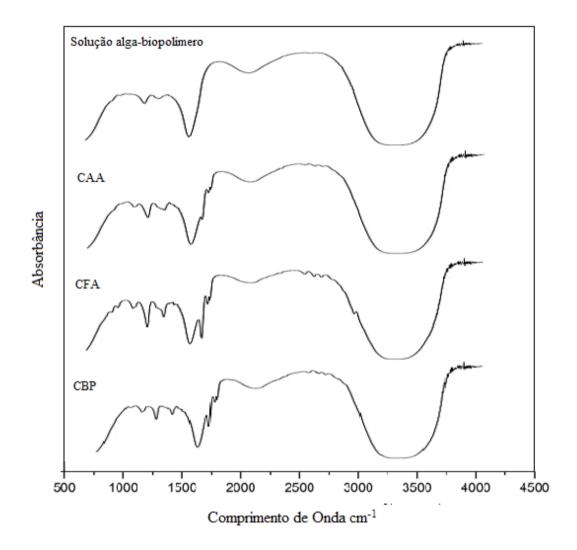
**Figura 3.** Espectro de DLS obtido a partir da interação da solução de *L. calcareum* e guarguar.

A interação observada na análise de DLS pode ser confirmada pela espectrofotometria na região do ultravioleta e visível (UV-Vis), a qual nos permitiu visualizar os picos de absorção, possibilitando reconhecer quais foram as bandas de transição e as modificações ocorridas com as espécies complexadas. Desta forma, podemos verificar que após a interação de *L. calcareum* e guar-guar houve o surgimento de uma nova banda na faixa de 900 a 1100 nm na região do visível (Figura 4) o que indica um novo agregado molecular na solução e consequentemente a formação de um novo composto.



**Figura 4.** Espectro de absorção referente a solução alga-biopolímero (Sol. A-BP) e seus respectivos controles.

Porém, como a banda formada apresentou-se na região entre 900 e 1100 nm foi necessário realizar uma análise de espectroscopia de infravermelho (FTIR) para melhor elucidar quais foram as modificações apresentadas (Figura 5).



**Figura 5.** Espectro Infravermelho da solução alga-biopolímero a 2,5% e seus respectivos controles. (CAA (Controle ácido acético), CFA (Controle farinha de algas), CBP (Controle biopolímero).

Em todos os espectros em estudo observou-se a formação de uma banda significativa na região próxima a faixa de absorção de 1660cm<sup>-1</sup>. Uma banda de intensidade fraca também é observada na região de 2250 cm<sup>-1</sup>. E entre 3250 a 3500 cm<sup>-1</sup> está concentrada uma banda larga de forte intensidade, devido as ligações de hidrogênio presentes na solução algabiopolímero e seus respectivos controles. As principais bandas de absorção observadas para a amostra de ácido acético ultrapuro estão concentradas nas regiões de 1717 cm<sup>-1</sup>; 1623 cm<sup>-1</sup>; 1383 cm<sup>-1</sup> e de 1273 cm<sup>-1</sup> a 1015 cm<sup>-1</sup>.

Quanto a solução de *L. calcareum*, as bandas observadas no espectro estão entre 870 a 700 cm<sup>-1</sup>, entre 1400 cm<sup>-1</sup> e 870 cm<sup>-1</sup> e em 1400 cm<sup>-1</sup>. Para a solução de guar-guar as principais bandas observadas no espectro foram as bandas nas regiões entre 3500 cm<sup>-1</sup> e 3250 cm<sup>-1</sup>, e bandas presentes entre 3000 cm<sup>-1</sup> e 2840 cm<sup>-1</sup>. Para a solução alga-biopolímero por meio do espectro de FTIR foi possível observar a formação de pequenas bandas que apareceram entre 1500 cm<sup>-1</sup> e 1300 cm<sup>-1</sup>, um pico próximo a 2100 cm<sup>-1</sup>.

Ainda, podemos observar por meio da análise de potencial zeta (PZ) que as soluções 2,5 e 1,25% apresentaram uma carga líquida negativa de PZ (Tabela V) e que as amostras apresentam pH ácido com destaque para a solução 2,5% que apresentou pH de 2,47 e PZ de -15mV.

**Tabela V.** Análise de pH, condutividade e Potencial Zeta (PZ) para a solução algabiopolímero a 2.5 e 1.25% e solução controle de guar-guar.

Solução	pН	Condutividade µS	PZ mV	Mob μm
Guar-guar	3,5	0,0510	-12,9	-1,304
2,5%	2,47	0,409	-15,0	-0,06148
1,25%	2,68	0,725	-4,77	-0,01209

#### 7. DISCUSSÃO

### 7.1 Eficiência Inseticida

Extratos de algas marinhas são utilizados na agricultura como bioestimulantes e fertilizantes, onde se observa uma maior resistência das plantas em relação as doenças causadas por insetos e microrganismos após a aplicação (ESPINOSA-ANTÓN et al., 2020). Entretanto, o uso de macroalgas no setor agrícola ainda é limitado devido à baixa exploração das mesmas na formulação e comercialização de produtos naturais agrícolas (CARVALHO; CASTRO, 2015). Até onde sabemos este é o primeiro trabalho que testou o efeito inseticida de *Lithothamnion calcareum* aliado a nanotecnologia para o controle de uma praga.

De acordo com as análises realizadas no presente estudo, a solução alga-biopolímero foi eficiente podendo ser utilizada como método de controle das populações de *P. xylostella*. Estudos realizados por Thakur et al. (2004), apontam que extratos obtidos a partir de organismos marinhos apresentam efeitos letais a larvas de alguns artrópodes. Alguns trabalhos disponíveis na literatura apontam que extratos das algas *Acrosiphonia orientalis* 

(J.Agardh) P.C.Silva, 1996, Padina tetrastromatica Hauck, 1887 e Centroceras clavulatum (C.Agardh) Montagne, 1846, reduzem significativamente o número de larvas de Culex quinquefasiatus Say, 1823 (Diptera, Culicidae) (MANILAL et al., 2009). O mesmo foi observado por Ravikumar et al. (2011), que determinaram que extratos etanólicos de Enteromorpha intestinalis (Linnaeus) Nees, 1820, Dictyota dichotoma (Hudson) J.V.Lamouroux, 1809 e Acanthopora spicifera (M.Vahl) Borgesen, 1910, demonstraram atividade larvicida sobre Aedes aegypti (Linneus, 1762) (Diptera, Culicidae). Quando utilizado o extrato de Caulerpa racemosa (Forsskål) J.Agardh, 1873, foi observado a atividade larvicida sobre Anopheles stephensi Liston, 1901, Aedes aegypti e Culex quinquefasciatus (ALI et al., 2013). Os resultados citados anteriormente vão ao encontro dos dados obtidos no presente estudo, no qual a solução nanoparticulada de L. calcareum associada a guar-guar causou 100% de mortalidade da fase larval de P. xylostella quando a mesma foi pulverizada sobre os indivíduos. É importante mencionar que na concentração de 5,0% a mortalidade deve-se provavelmente a maior concentração de ácido acético presente na solução já que esta não diferiu significativamente dos controles. Vale ressaltar ainda, que qualitativamente a solução alga-biopolímero a 5,0% causou injurias a folhas de couve utilizadas tanto para os testes de contato quanto de ingestão o que não foi observado nas concentrações de 2,5% e 1,25%, não sendo dessa forma, indicado o uso da solução a 5%.

O principal componente químico presente na estrutura da cutícula externa dos artrópodes é a quitina (FARNESI et al., 2012), um polissacarídeo natural caracterizado por apresentar cargas elétricas positivas (KUMAR DUTTA et al., 2004; PARK; KIM, 2010; CROISIER; JÉRÔME, 2013). Essa condição pode ter favorecido a interação das nanomacromoléculas da solução alga-biopolímero com a cutícula externa das larvas aumentando a eficiência de captação por conta da atração entre os polos positivos e negativos, justificando assim a alta taxa de mortalidade das larvas observadas no teste de contato.

O mesmo pode ter ocorrido no teste de ingestão, uma vez que a membrana peritrófica que recobre e protege o mesêntero dos artrópodes apresenta pH alcalino e é composta em sua maioria por quitina (PINTO, 2019). Segundo Maroneze e Gallegos (2009), o peso pupal está relacionado diretamente com a qualidade e a quantidade de alimentos que é consumido pelo inseto durante o período larval, desta forma acredita-se que as cargas negativas da solução alga-biopolímero, juntamente com o pH ácido quando ingeridas pelas larvas podem ter favorecido a hidrolise da quitina e corrompido a membrana peritrófica o que afetou a absorção de nutrientes, por isso, parâmetros biológicos como diminuição da oviposição e peso médio das pupas tenham sido alterados. Além disso, sabe-se que guar-guar apresenta alta capacidade de retenção de água (VERNAZA; CHANG, 2012) o que pode justificar o

maior peso das pupas alimentadas com as folhas tratadas com a solução alga-biopolímero quando comparadas ao controle negativo.

Embora a utilização de produtos naturais possa ser menos eficiente que inseticidas sintéticos na promoção de efeitos agudos em determinados períodos da vida dos insetos, seu uso apresenta vantagens como baixa persistência no meio ambiente e menor toxicidade aos organismos não alvos (PONTUAL et al., 2012; CAMAROTI et al., 2018). Além de apresentar efeito sobre a viabilidade larval, alteração no peso pupal e diminuição na oviposição de *P. xylostella*, a solução alga-biopolímero controlou 100% dos indivíduos de segundo instar deste inseto em 13 horas após aplicação da solução, mostrando-se mais eficiente que extratos aquosos de folhas e ramo de cinamomo e pó-de-fumo, que apesentaram efeito positivo no controle de larvas de *P. xylostella* somente a partir do segundo, quinto e sexto dia, respectivamente, após a aplicação (DEQUECH et al., 2009).

Apesar das hipóteses levantadas anteriormente, ainda não sabemos ao certo quais são os mecanismos de ação da solução alga-biopolímero. Desta forma, acreditamos que pesquisas futuras relacionadas a esse tema devem ser realizadas para melhor elucidar como de fato esta solução age quando em contato com *P. xylostella*. Contudo, o produto desenvolvido no presente estudo mostra-se uma alternativa altamente promissora a ser empregada no controle e minimização dos danos causados por *P. xylostella* aos cultivos de brassicaceae, uma vez que apresenta baixo custo de produção, fácil aplicação e manuseio, além de ser menos prejudicial ao meio ambiente e a saúde humana quando comparado aos métodos tradicionais de controle. Ainda, em relação as três concentrações testadas neste estudo a solução algabiopolímero a 1,25% foi a que consideramos mais eficiente para o controle de *P. xylostella*, principalmente em relação aos parâmetros biológicos observados.

#### 7.2 Caracterização da solução alga-biopolímero

O processo de cisalhamento (quebra) das moléculas para a escala nanométrica é extremamente eficiente, visto que a pequena dimensão da partícula pode aumentar a atividade do composto, uma vez que aumenta a superfície de contato, melhorando por exemplo aspectos como a absorção (SOLÉ et al., 2012; AHMAD et al., 2014; YUKUYAMA et al., 2015). Pela análise de DLS foi possível observar que de fato ocorreu a miniaturização das partículas de guar-guar por meio do tratamento ultrassônico. Além disso, o aumento da polidisperssão (PD.I) pode estar diretamente relacionada a recombinação e ligação de macrorradicais presentes na estrutura química de ambas as soluções (JONES, 1999). Esse aumento da PD.I pode ser indicativo de que houve a formação de um novo composto, quando

combinamos esses resultados ao aumento substancial do tamanho das partículas como observado na Tabela IV momento que é adicionado à solução de *L. calcareum* a solução nanificada de guar-guar.

Por meio da análise de Uv-Vis foi possível melhor elucidar se de fato houve ou não a interação entre as soluções, uma vez que foi possível identificar a formação de uma banda na região entre 900 e 1100 nm indicando a formação do composto. Entretanto, é difícil extrair maiores informações de um espectro UV quando não se tem pelo menos uma ideia geral das estruturas e comportamento da amostra estudada (PAVIA et al., 2015) como é o caso de *L. calcareum*, por isso fez-se necessário realizar a análise de infravermelho.

As bandas observadas na região de 1660 cm<sup>-1</sup> para ambos os espectros podem ser atribuídas a presença de grupos carbonila (C=O) nas amostras, já a banda de intensidade fraca observada na região de 2250 cm<sup>-1</sup> deve-se a presença de compostos presentes no grupo dos alcinos (C≡C). Também observou-se nos espectros bandas de estiramento axial de hidroxilas (-OH) entre 3250 e 3500 cm<sup>-1</sup> (PAVIA et al., 2015; SILVERSTEIN et al., 2007).

Para a amostra de ácido acético a absorção em 1717 cm<sup>-1</sup> deve-se ao estiramento de C=O do grupo carboxílico, enquanto que em 1623 cm<sup>-1</sup> a banda observada correu por conta da deformação angular do grupo O-H do ácido, para este espectro também foi identificada a deformação angular C-H do grupo metila indicado no espectro na região de 1383 cm<sup>-1</sup>. Por fim, as bandas observadas na região entre 1273 cm<sup>-1</sup> a 1015 cm<sup>-1</sup> podem ser atribuídas a ligações de C-O que ocorrem por conta do acoplamento da deformação angular no plano do grupo O-H aliado ao estiramento de C-O (SILVERSTEIN et al., 2007; PAVIA et al., 2010).

No espectro de *L. calcareum*, as bandas de absorção formadas próximas a 1400 cm<sup>-1</sup> e 870 cm<sup>-1</sup> são características de grupos carbonatos (SILVERSTEIN et al., 2007; PAVIA et al., 2010). A banda de absorção presente na região de 1400 cm<sup>-1</sup> é atribuída ao estiramento assimétrico de C-O, enquanto as bandas de menores intensidade observadas entre 710 cm<sup>-1</sup> e 870 cm<sup>-1</sup> são decorrentes de deformações angulares no plano (O-C-O) e fora do plano (CO<sub>3</sub>) (SILVA et al, 2010; CALETTI, 2017). Ainda segundo Silva et al. (2010), essas bandas observadas para *L. calcareum* correspondem majoritariamente a presença de carbonato de cálcio (CaCO<sub>3</sub>) em forma de calcita presente em sua composição química.

As pequenas bandas de estiramento axial de O-H observadas entre 3500 cm<sup>-1</sup> e 3250 cm<sup>-1</sup> na amostra de guar-guar sobrepostas ou não estão relacionadas ao estiramento das ligações C-O com algumas contribuições do estiramento C-OH (SILVERSTEIN et al., 2007; PAVIA et al., 2010). A banda próxima a 1660 cm<sup>-1</sup> pode ser atribuída a deformação axial de C=O presente na estrutura química de guar-guar, enquanto as deformações aquixiais observadas entre 300 cm<sup>-1</sup> e 2840 cm<sup>-1</sup> são atribuídas a C-H (SILVERSTEIN et al., 2007;

PAVIA et al., 2010). Vale ressaltar que esse biopolímero sempre apresentará grupos carbonila que aparecem no espectro em decorrência de sua estrutura química.

Para a solução alga-biopolímero, acredita-se que as pequenas bandas que aparecem entre 1500 cm<sup>-1</sup> e 1300 cm<sup>-1</sup> são decorrentes do estiramento dos grupos C-O presente no biopolímero, e o pico próximo a 2100 cm<sup>-1</sup> refere-se a deformações relacionadas as ligações C=O que ocorreram devido a interação física entre *L. calcareum* e guar-guar causando perturbações nas bandas. Desta forma, acredita-se que a formação do novo composto causou o aparecimento das bandas na faixa de 1500 cm<sup>-1</sup> e 1200 cm<sup>-1</sup> como mostram os resultados obtidos pela análise de infravermelho e também observadas na análise de UV-Vis.

O potencial zeta de uma solução refere-se ao potencial eletrostático na camada da mobilidade eletroforética das partículas, ou seja, ele retrata a carga superficial das nanopartículas e pode ser influenciado por diversos fatores, como força iônica, concentração e pH das soluções (GREENWOOD, 2003; BHATTACHARJEE, 2016). Partículas que apresentam valores de PZ menores que -30mV ou maiores que +30mV podem ser consideradas amostras estáveis (LOPES, 2016). Sendo assim, podemos avaliar por meio desta análise que a solução aqui testada apresenta baixa estabilidade, uma vez que apresentou uma carga líquida negativa de potencial zeta combinado ao pH ácido e a alta polidispersão.

## 8. RELEVÂNCIA SOCIAL, ECONÔMICA OU CULTURAL DA PESQUISA

Visto que existem 101 ingredientes ativos ineficientes no controle de *P. xylostella*, aliado a escassez de pesquisas relacionadas ao uso de novas tecnologias que sejam menos prejudiciais ao meio ambiente e a saúde humana quando comparadas aos métodos tradicionais empregados no controle e minimização dos danos causados por populações de espécies consideradas prejudiciais aos cultivos agrícolas tradicionais, o desenvolvimento de novos produtos capazes de controlar as populações desses insetos são indispensáveis, além da necessidade de apresentarem baixo custo para a produção e aplicação.

Nesse sentido, o presente estudo é de extrema relevância uma vez que buscou desenvolver um produto natural, seguro e eficiente desenvolvido a partir da utilização de solução de algas marinhas aliado a nanotecnologia para controle de *P. xylostella*. Sendo assim, esta pesquisa apresenta relevância ambiental já que busca a descoberta de novos produtos utilizando novas tecnologias que não agridam o meio ambiente e a saúde

humana e econômica uma vez que utiliza produtos de baixo custo e fácil aplicação e manuseio.

## 9. CONCLUSÃO

Com base nos dados obtidos no presente estudo podemos concluir que a tecnologia aplicada para a miniaturização da solução alga-biopolímero é adequada, uma vez que reduziu significativamente o tamanho das partículas presentes na solução. Além disso como esperado, após a complexação de *L. calcareum* e guar-guar houve a formação de um novo composto que quando aplicado sobre *P. xylostella*, controlou 100% dos indivíduos em apenas 13h após exposição, comprovando a eficácia do produto formado.

Referente ao teste de ingestão, não se observou valores significativos referentes a mortalidade larval quando folhas tratas com a solução alga-biopolímero foram ofertadas para a alimentação da fase jovem de *P. xylostella*. Entretanto, observou-se que esta solução interfere no ciclo reprodutivo desses indivíduos, uma vez que atuou na diminuição de oviposição, além de apresentar ação larvicida e pupicida podendo ser utilizado como uma nova ferramenta de controle menos prejudicial ao meio ambiente e a saúde humana quando comparada aos agrotóxicos sintéticos.

## 10. REFERÊNCIAS

- ABDELHADY, H.H.; ELAZAB, H.A; EWAIS, E.M.; SABER, M.; EL-DEAB, M.S. Eficiente produção catalítica de biodiesel a partir de resíduos agroindustriais de beterraba em nanopartículas. Combustível, v. 261, p. 116481, 2020.
- AGBOYI, L.K.; KETOH, G.K.; KPINDOU, O.K.D.; MARTIN, T.; GLITHO, I.A.; TAMÓ, M. Improving the efficiency of *Beauveria bassiana* applications for sustainable management of *P. xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) in West Africa. Biological Control, v. 144, p. 104233, 2020
- AHMAD, N.; RAMSCH, R.; LLINÀS, M.; SOLANS, C.; HASHIM, R.; TAJUDDIN, H. A. Influence of nonionic branched-chain alkyl glycosides on a model nano-emulsion for drug delivery systems. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces Biomedical Journals, v. 115, p. 267-274, 2014.
- ALI, M.Y.S.; RAVIKUMAR, S.; BEULA, J.M. Mosquito larvicidal activity of seaweeds extracts against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. Asian Pacific Journal of Tropical Disease, Beijing, v. 3, n. 3, p. 196-201, 2013.
- ALVES, S.B. Fungos entomopatogênicos. Controle microbiano de insetos, v. 2, p. 289-381, 1998.
- AROR, A.P.F.; RANTE, I.C.S.; WANTA, I.N.N. Pemanfaatan jamur entomopatogen *Beauveria bassiana* (balsamo) vuillemin terhadap larva *P. xylostella* (L.) di laboratorium. In: COCOS. 2017.
- Arthropod Pesticide, Resistance Database (APRD). 2021. Michigan State University-sidade. (http://www.pesticideresistance.org/display.php?page=species&arId=571) (acessado em 06 de dezembro de 2021).
- BARROS, R.; THULER, R.T.; PEREIRA, F.F. Técnica de criação de *P. xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Yponomeutidae). Técnicas de criação de pragas de importância agrícola, em dietas naturais, v. 1, p. 65-84, 2012.
- BATCHO, A.; ALI, M., SAMUEL, A. O.; SHEHZAD, K.; RASHID, B. Comparative study of the effects of five *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Ascomycota: Hypocreales) strains on cabbage moth *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). Cogent Environmental Science, v. 4, n. 1, p. 1477542, 2018.
- BHATTACHARJEE, S. DLS and zeta potential—What they are and what they are not? Journal of Controlled Release, v. 235, p. 337-351, 2016.
- BHAWANA, BR.K.; BUTTAR, H.S.; JAIN, VK.; JAIN, N. Nanopartículas de curcumina: preparação, caracterização e estudo antimicrobial. Jornal Agriccola. Food Chem. v. 59, p. 2056–2061, 2014.
- BLACKFORD, M.J.P.; DINAN, L.; BLACKFORD, M.J.P.; LAURENCE, D. The effects of ingested 20-hydroxyecdysone on the larvae of *Aglais urticae*, *Inachis io*, *Cynthia cardui* (Lepidoptera: Nymphalidae) and *Tyria jacobaeae* (Lepidoptera: Arctiidae). Journal of Insect Physiology, v. 43, n. 4, p. 315-327, 1997.

- BOIÇA JUNIOR, A.L.; MEDEIROS, C.A.M.; TORRES, A.L.; CHAGAS FILHO, N.R. Efeito de extratos aquosos de plantas no desenvolvimento de *P. xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) em couve. Arquivos do Instituto Biológico. São Paulo, v.72, n.1, p.45-50, 2005.
- BONDAR, G. Aleyrodideos do Brasil (2ª. Contribuição). Boletim do Laboratório de Pathologia Vegetal, Bahia, v. 5, p. 27-34, 1929.
- BOO, K.H.; SEO, J.K.; AHN, J.; RIU, K.; KIM, S. The effect of *Achyranthes japonica* extract on larval survival and development and oviposition behavior of *P. xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae). Journal of Asia-pacific Entomology, v. 21, n. 1, p.29-36, mar. 2018. Elsevier BV.
- BORGES, P.D.; GOOD GOD, P.I.V.; RUAS, R.A.A.; NOVAIS, R.F.A Química na Produção Vegetal. Rio Paranaíba, MG, 2017. 399p.
- BREUER, M., HOSTE, B., DE LOOF, A., NAQVI, S.N.H. Effect of *Melia azedarach* extract on the activity of NADPH-cytochrome c reductase and cholinesterase in insects. Pesticide Biochemistry and Physiology, v. 76, n. 3, p. 99-103, 2003.
- CALETTI, R.P.K. Eficiência do *Lithothamnium calcareum* na sorção do fósforo de lixiviado de aterro sanitário. 54 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) Instituto de Tecnologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2017.
- CAMAROTI, J.R.S.L.; ALMEIDA, W.A.; BELMONTE, B.R.; OLIVEIRA, A.P.S.; LIMA, T.A.; FERREIRA, M.R.A.; PAIVA, P.M.G.; SOARES, L.A.L.; PONTUAL, E.V.; NAPOLEÃO, T.H. *Sitophilus zeamais* adults have survival and nutrition affected by *Schinus terebinthifolius* leaf extract and its lectin (SteLL). Industrial crops and products, v. 116, p. 81-89, 2018.
- CAMPBELL, B.; HAN, D.Y.; TRIGGS, C.M.; FRASER, A.G.; FERGUSON, L.R. Brassicaceae: nutrient analysis and investigation of tolerability in people with Crohn's disease in a New Zealand study. Functional Foods in Health and Disease, v.1, n.2, p.460-486, 2012.
- CAMPS, F., COLL, J. Insect allelochemicals from Ajuga plants. Phytochemistry, n.32, p.1361–1370. 1993.
- CAPINERA, J. L. Encyclopedia of entomology. Springer Science Business Media, 2008.
- CAPINERA, J.L. Handbook of Vegetable Pests. Academic Press, New York, 2001.729p.
- CAPINERA, J.L. Diamondback moth, *P. xylostella* (Linnaeus) (Insecta: Lepidoptera: Plutellidae). EENY-119 (IN276), one of a series of featured creatures from the entomology and nematology department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. 2012.
- CARDOSO, M.O.; PAMPLONA, A.M.S.R.; FILHO, M.M. Recomendações técnicas para o controle de lepidópteros-pragas em couve e repolho no Amazonas. Embrapa Amazônia Ocidental-Circular Técnica (INFOTECA-E), 2010.

CARVALHO, M.E.A.; CASTRO, P.D.C. Extratos de algas e suas aplicações na agricultura. Série Produtor Rural, v. 56, p. 58p, 2014.

CASTELO BRANCO, M.; MEDEIROS, M.A. Impacto de inseticidas sobre parasitóides da traça-das-crucíferas em repolho, no Distrito Federal. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 36, p. 07-13, 2001.

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

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

CASTELO BRANCO, M.; GATEHOUSE, A.G. A survey of insecticide susceptibility in *P. xylostella* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae) in the Federal District, Brazil. Neotropical Entomology, v. 30, n. 2, p. 327-332, 2001.

CASTELO BRANCO, M.; VILLAS BÔAS, G.L. Traça-das-crucíferas *P. xylostella* – Artrópodes de importância econômica. Comunicado Técnico da Embrapa Hortaliças, Brasília, n. 4, p. 1-3, 1997.

CHAGAS FILHO, N.R.; BOIÇA JR, A.L.; ALONSO, T.F. Biologia de *P. xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae) em cultivares de couve-flor. Neotropical Entomology, v.39, n.2, p.253-259, 2010.

CHARCOSSET, C.; FESSI, H. Preparation of nanoparticles with a membrane contactor. Journal of Membrane Science, v. 266, n. 1-2, p. 115-120, 2005.

COHEN-SELA, E.; CHORNY, M.; KOROUKHOV, N.; DANENBERG, H.D.; GOLOMB, G. Uma nova técnica de difusão de solvente de dupla emulsão para encapsulando moléculas hidrofílicas em nanopartículas de PLGA. J. Versão controlada, v. 133, p. 90–95, 2009

CONJUNTURA agropecuária. Curitiba: Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Paraná, 2020. Disponível em: <a href="https://www.agricultura.pr.gov.br/Pagina/Boletins-Conjunturais">https://www.agricultura.pr.gov.br/Pagina/Boletins-Conjunturais</a>. Acesso em: 04 jul. 2021.

CORREA-CUADROS, J.P.; SÁENZ-APONTE, A.; RODRÍGUEZ-BOCANEGRA, M.X. In vitro interaction of *Metarhizium anisopliae* Ma9236 and *Beauveria bassiana* Bb9205 with *Heterorhabditis bacteriophora* HNI0100 for the control of *P. xylostella*. SpringerPlus, v. 5, n. 1, p. 2068, 2016.

COSTA NETO, J.M.; TEIXEIRA, R.G.; SÁ, M.J.C. de; LIMA, A.E.; JACINTO-ARAGÃO, G.S.; TEIXEIRA, M.W.; MARTINS FILHO, E.F.; TORÍBIO, J.M. de M.L.; AZEVEDO, A.S. Farinha de algas marinhas ("*Lithothamnium calcareum*") como suplemento mineral na cicatrização óssea de auto enxerto cortical em cães. Revista Brasileira Saúde Produção Animal, v.11, n.1, p 217-230, 2010.

CROISIER, F.; JÉRÔME, C. Chitosan-based biomaterials for tissue engineering. European Polymer Journal, v. 49, n. 4, p. 780–792, 2013.

DE BORTOLI, S.A.; POLANCZYK, R.A.; VACARI, A.M.; DE BORTOLI, C.P.; DUARTE, R.T. Plutella xylostella (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae): tactics for integrated pest management in Brassicaceae. In: Soloneski S, Larramendy M (eds) Weed and pest control – conventional and new challenges. InTech, Rijeka, pp 31–51, 2013

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

DEQUECH, S.T.B.; EGEWARTH, R.; SAUSEN, C.D.; STURZA, V.S.; RIBEIRO, L.D.P. Ação de extratos de plantas na oviposição e na mortalidade da traça-das-crucíferas. Ciência Rural, v. 39, p. 551-554, 2009.

DE OLIVEIRA, J.L.; CAMPOS, E.V.; GERMANO-COSTA, T.; LIMA, R.; VECHIA, J.F.D.; SOARES, S.T.; FRACETO, L.F. Association of zein nanoparticles with botanical compounds for effective pest control systems. Pest management science, v. 75, n. 7, p. 1855-1865, 2019.

DINAN, L. Phytoecdysteroids: biological aspects. Phytochemistry, v. 57, n. 3, p. 325-339, 2001.

DUTRA, L.S.; FERREIRA, A.P. Associação entre malformações congênitas e a utilização de agrotóxicos em monoculturas no Paraná, Brasil. Saúde em Debate, v. 41, p. 241-253, 2017.

DUTTA, P.K.; DUTTA, J.; TRIPATHI, V.S. Chitin and chitosan: Chemistry, properties and applications. 2004.

EMBRAPA. Nanobiotecnologia e o controle de pragas e doenças. 2017. Disponível em: https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/21133296/artigo-nanobiotecnologia-e-o-controle-de-pragas-e-

doencas#:~:text=A%20nanoencapsula%C3%A7%C3%A3o%20%C3%A9%20um%20processo,o%20controle%20de%20uma%20infesta%C3%A7%C3%A3o. Acesso em: 06 nov. 2021.

ESPINOSA-ANTÓN, A.A.; HERNÁNDEZ-HERRERA, R.M.; GONZÁLEZ, M.G. Extractos bioactivos de algas marinas como bioestimulantes del crecimiento y la protección de las plantas. Biotecnologia Vegetal, v. 20, n. 4, p. 257-282, 2020.

FARIAS, S.S.; SIQUEIRA, S.M.C.; CRISTINO, J.H.S.; DA ROCHA, J.M. Biopolímeros: uma alternativa para promoção do desenvolvimento sustentável. Revista Geonorte, v. 7, n. 26, p. 61-77, 2016.

FARNESI, L.C.; BRITO, J.M.; LINSS, J.G.; PELAJO-MACHADO, M.; VALLE, D.; REZENDE, G.L. Physiological and morphological aspects of *Aedes aegypti* developing larvae: effects of the chitin synthesis inhibitor novaluron. PLoS One, v. 7, n. 1, p. e30363, 2012.

FERREIRA, E.A.; DE SOUZA, S.A.; DOMINGUES, A.; DA SILVA, M.M.M.; PADIAL, I.M.P.M.; DE CARVALHO E.M; MUSSURY, R.M. Phytochemical screening and bioactivity of *Ludwigia* spp. in the control of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). Insects, v. 11, n. 9, p. 596, 2020.

- FERREIRA, E.C.B.; NOVA, I.C.V.; DE ALMEIDA, W.A.; DOS SANTOS ALBUQUERQUE, F.M.; DOS SANTOS CRUZ, G.; DA COSTA, H.N.; PONTUAL, E.V. *Opuntia ficus-indica* cladode extract is an embryotoxic, larvicidal, and oviposition-deterrent agent for the diamondback moth, *P. xylostella*. Crop Protection, v. 139, p. 105351, 2021.
- FERREIRA, S.W.J.; BARROS, R.; TORRES, J.B. Exigências térmicas e estimativa do número de gerações de *Oomyzus sokolowskii* (Kurdjumov) (Hymenoptera: Eulophidae), para regiões produtoras de crucíferas em Pernambuco. Neotropical Entomology, v.32, n.3, p.407-411, 2003.
- FILGUEIRA, F.A.R. Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. Universidade Federal de Viçosa, 2012.
- GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.L.; BATISTA, G.D.; BERTI FILHO, E.; VENDRAMIM, J.D. Manual de entomologia agrícola. São Paulo: Agronômica Ceres, 649 p. 2002
- GAHUKAR, R.T.; KUMAR, R. Plant derived nanopesticides for agricultural pest control: challenges and prospects. Nanotechnology for Environmental Engineering, v. 2, p. 1–9, 2020.
- GHINI, R.; HAMADA, E.; BETTIOL, W. Impactos das mudanças climáticas sobre doenças de importantes culturas no Brasil. Embrapa Meio Ambiente-Livro científico, 2011.
- GODONOU, I.; JAMES, B.; ATCHA-AHOWÉ, C.; VODOUHE, S.; KOOYMAN, C.; AHANCHÉDÉ, A.; KORIE, S. Potential of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* isolates from Benin to control *P. xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae). Crop Protection, v. 28, n. 3, p. 220-224, 2009.
- GRILLO, R.; ABHILASH, P.C.; FRACETO, L.F. Nanotechnology applied to bioencapsulation of pesticides. Journal of Nanoscience and Nanotechnology, v. 16, n. 1, p. 1231-1234, 2016.
- GREENWOOD, R. Review of the measurement of zeta potentials in concentrated aqueous suspensions using electroacoustics. Advances in Colloid and Interface Science, v.106, p.55-81, 2003.
- GUSTIANA, D.; HIDAYAT, C.; SETIATI, Y. Pengendalian *P. xylostella* dengan *Metarhizium anisopliae* dalam Mengurangi Intensitas Kerusakan dan Mempertahankan Hasil Kubis. AGROSCRIPT Journal of Applied Agricultural Sciences, v. 1, n. 1, 2019.
- HUPFFER, H.M.; LAZZARETTI, L.L. Nanotecnologia e sua Regulamentação no Brasil. Revista Gestão e Desenvolvimento, v. 16, n. 3, p. 153-177, 2019.
- HAYLES, J.; JOHNSON, L.; WORTHLEY, C.; LOSIC, D. Nanopesticides: a review of current research and perspectives. New pesticides and soil sensors, p. 193-225, 2017.
- HAMILTON, A.J.; ENDERSBY, N.M.; RIDLAND, P.M.; NEAL, M. Effects of cultivar on oviposition preference, larval feeding and development time of diamondback moth, *P. xylostella* (L.)(Lepidoptera: Plutellidae), on some *Brassica oleracea* vegetables in Victoria. Australian Journal of Entomology, v. 44, n. 3, p. 284-287, 2005.

- HARRISON, R.L.; LYNN, D.E. Genomic sequence analysis of a nucleopolyhedrovirus isolated from the diamondback moth, *Plutella xylostella*. Virus genes, v. 35, n. 3, p. 857-873, 2007.
- HOLTZ, A.M.; RONDELLI, V.M.; CELESTINO, F.N.; BESTETE, L.R.; CARVALHO, J.D. Pragas das brássicas. Colatina, ES: IFES, 1ª edição: 230 p., 2015.
- IRAC-BR, Comitê Brasileiro de Ação à Resistência de Inseticidas -. Traça-das-crucíferas consegue detectar a presença de inseticidas na planta. 2016. Disponível em: <a href="http://www.irac-br.org/single-post/2016/03/30/Tra%C3%A7adascruc%C3%ADferas-consegue-detectar-a-presen%C3%A7a-de-inseticidas-na-planta">http://www.irac-br.org/single-post/2016/03/30/Tra%C3%A7adascruc%C3%ADferas-consegue-detectar-a-presen%C3%A7a-de-inseticidas-na-planta</a> >. Acesso em: 28 set. 2021.
- JONES, A.R. Light scattering for particle characterization. Progress in Energy and Combustion Science, v. 25, n. 1, p. 1-53, 1999.
- KLOWDEN, M. J. Physiological Systems in Insects. 2. ed. Moscow, Idaho: Elsevier, 2007. 685 p.
- LIU, L.; CAI, X.; ZHANG, J.; XU, C. Particle-size measurements in a micro-channel with image dynamic light scattering method. Procedia engineering, v. 102, p. 904-910, 2015.
- LOPES, E.A.; CARVALHO FILHO, A.; NOBRE, D.A.C.; MENDES, F.Q.; FERNANDES, F.L.; PINTO, F.G.; SILVA, G.H.; TRONTO, J.; VISÔTTO, L.E.; MACHADO, L.C.; RONDELLI, V.M.; CELESTINO, F.N.; HOLTZ, A.M.; VIEIRA, L.P. Brássicas. In: HOLTZ, A.M.; RONDELLI, V.M.; CELESTINO, F.N.; BETESTE, L.R.; CARVALHO, J.R. de. Pragas das brássicas. Colatina, ES: IFES, 2015
- LOPES, J. R. Síntese de nanopartículas de prata (npsag) em soluções aquosas de fibroína de seda e gelatina. 2017.
- MANILAL, A.; SUJITH, S.; KIRAN, G.S.; SELVIN, J.; SHAKIR, C.; GANDHIMATHI, R.; PANIKKAR, M.V.N. Biopotentials of seaweeds collected from southwest coast of India. Journal of Marine Science and Technology, Tokyo, v. 17, n. 1, p. 67-73, 2009.
- MARONEZE, D.M.; GALLEGOS, D.M.N. Efeito de extrato aquoso de *Melia azedarach* no desenvolvimento das fases imatura e reprodutiva de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 30, n° 3, p. 537-550, 2009.
- MEDEIROS, R.S.; RAMALHO, F.S.; SERRÃO, J.E.; ZANUNCIO, J.C. Temperature influence on the reproduction of *Podisus nigrispinus*, a predator of the noctuid larva *Alabama argillacea*. BioControl, v. 48, n. 6, p. 695-704, 2003.
- MEDEIROS, P.T; SONE, E.H; SOARES, C.M.S; DIAS, J.M.C.S; MONNERAT, R.G. Avaliação de produtos à base de *Bacillus thuringiensis* no controle da traça-das-crucíferas. Horticultura Brasileira 24: 245- 248, 2006.
- NUNES, G.D.S; TRUZI, C.C; DO NASCIMENTO, J; DE PAULA, F.F; DE MATOS, S. T; POLANCZYK, R.A; DE BORTOLI, S.A. Beauveria bassiana (Ascomycota: Hypocreales) treated Diamondback Moth (Lepidoptera: Plutellidae) Larvae Mediate the Preference and Functional Response of Euborellia annulipes (Dermaptera: Anisolabididae) Nymphs. Journal of Economic Entomology, v. 112, n. 6, p. 2614-2619, 2019.

- OLIVEIRA, J. L.; RAMOS CAMPOS, E.V.; FRACETO, L.F. Recent developments and challenges for nanoscale formulation of botanical pesticides for use in sustainable agriculture. Journal of agricultural and food chemistry, v. 66, n. 34, p. 8898-8913, 2018.
- OUYANG, L; XU, X; FREED, S; GAO, Y; YU, J; WANG, S; JIN, F. Cecropins from *P. xylostella* and Their Interaction with *Metarhizium anisopliae*. Plos One, v. 10, n. 11, p. e0142451, 2015.
- PARRA, J.R.P. Biological control in Brazil: an overview. Scientia Agricola, v. 71, n. 5, p. 420-429, 2014.
- PARK, B.K.; KIM, M.-M. Applications of chitin and its derivatives in biological medicine. International journal of molecular sciences, v. 11, n. 12, p. 5152–64, 2010.
- PASCOLI, M.; JACQUES, M.T.; AGARRAYUA, D.A.; AVILA, D.S.; LIMA, R.; FRACETO, L.F. Neem oil based nanopesticide as an environmentally-friendly formulation for applications in sustainable agriculture: An ecotoxicological perspective. Science of the total environment, v. 677, p. 57-67, 2019.
- PAVIA, D.L., LAMPMAN, G.M., KRIZ, G.S., VYVYAN, J.A. Introduction to spectroscopy. Cengage Learning, 2014.
- PÉREZ, C.J.; ALVARADO, P.; NARVÁEZ, C.; MIRANDA, F.; HERNÁNDEZ, L.; VANEGAS, H.; HRUSKA, A.; SHELTON, A.M. Assessment of Insecticide Resistance in Five Insect Pests Attacking Field and Vegetable Crops in Nicaragua. Journal of Economic Entomology 93: 1779-1787, 2000.
- PERUMALSAMY, H.; CHANG, K.S.; PARK, C.; AHN, Y.J. Larvicidal activity of Asarum heterotropoides root constituents against insecticidesusceptible and -resistant *Culex pipiens pallens* and *Aedes aegypti* and *Ochlerotatus togoi*. Journal of agricultural and food chemistry. 58, 10001–10006. 2010.
- PINHEIRO, A.; COSTA, Â.C.F.; SANTOS, A.C.C.; BRITO, T.B.; DE HOLANDA CAVALCANTI, S.C.; BACCI, L. Toxicidade de derivados indólicos sobre *P. xylostella* e seletividade a organismos não-alvo. Cadernos de Agroecologia, v. 15, n. 2, 2020.
- PINTO, C. A digestão dos insetos mastigadores: fisiologia e potencial uso no manejo integrado de pragas (mip). O Biológico, [S.L.], v. 81, n. 1, p. 1-13, 2019. Instituto Biologico.
- PONTUAL, E.V.; NAPOLEÃO, T.H.; ASSIS, C.R.D.; BEZERRA, R.S.; XAVIER, H.S.; NAVARRO, D.M.A.F.; COELHO, L.C.B.B.; PAIVA, P.M.G. Effect of *Moringa oleifera* flower extract on larval trypsin and acethylcholinesterase activities in *Aedes aegypti*. Archives of Insect Biochemistry and Physiology. 79, 135–152. 2012.
- QUINTERO, K.Y.C; GUERRERO, I.E.P; GUZMÁN, J.C.T; MARTÍNEZ, B.G.V; FÉLIX, A.V; HERNÁNDEZ, G.A.G. Members of the nitronate monooxygenase gene family from *Metarhizium brunneum* are induced during the process of infection to *P. xylostella*. Applied Microbiology and Biotechnology, v. 104, n. 7, p. 2987-2997, 2020.
- RAVIKUMAR, S.; ALI, M.S.; BEULA, J.M. Mosquito larvicidal efficacy of seaweed extracts against dengue vector of *Aedes aegypti*. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, Beijing, S143-S146, 2011.

- RIBEIRO, L.P.; VENDRAMIM, J.D. Associação de extratos vegetais e terra de diatomácea no controle do gorgulho-do-milho *Sitophilus zeamais* mots (Coleoptera: Curculionidae). Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável, v. 9, p. 09-16, 2019.
- ROEL, A.R. Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o desenvolvimento rural sustentável. Interações, v.1, n.2, p.43-50, 2001.
- ROUT, S.K.; TRIPATHY, B.C.; PADHI, P.; KAR, B.R.; MISHRA, K.G. Uma abordagem ecológica para produzir nanopartículas de prata revestidas com fibras de resíduos agrícolas para aplicações especiais. Superfícies e interfaces, v. 7, p. 87-98, 2017.
- SANTOS, V.C.; SIQUEIRA, H.A.A.; SILVA, J.E.; FARIAS, M.J.D.C. Insecticide Resistance in Populations of the Diamondback Moth, *P. xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), from the State of Pernambuco, Brazil. Neotropical Entomology 40: 264-270, 2011.
- SHELTON, A.M.; COLLINS, H.L.; ZHANG, Y. J.; WU, Q. J. Proceedings of the Fifth International Workshop on the Management of Diamondback Moth and Other Crucifer Pests. Beijing, China: China Agriculture Sciense Technology. Press. 2008.
- SILVA, D.; DEBACHER, N.A.; CASTILHOS JUNIOR, A.B.; ROHERS, F. Caracterização físico-química e microestrutural de conchas de moluscos bivalves provenientes de cultivos da região litorânea da ilha de Santa Catarina. Quimica Nova, v. 33, n. 5, p. 1053-1058, 2010.
- SILVA, P.R.C.; CAMAROTI, J.R.S.L.; ALMEIDA, W.A.; FERREIRA, E.C.B.; PAIVA, P.M.G.; BARROS, R.; NAPOLEÃO, T.H.; PONTUAL, E.V. *Schinus terebinthifolia* leaf extract is a larvicidal, pupicidal, and oviposition deterring agent against *P. xylostella*. South African Journal of Botany, [S.L.], v. 127, p. 124-128, 2019.
- SOLTANI, M. D.; MEFTAHIZADEH, H.; BARANI, M., RAHDAR, A.; HOSSEINIKHAH, S. M., HATAMI, M.; GHORBANPOUR, M. Guar (*Cyamopsis tetragonoloba* L.) plant gum: From biological applications to advanced nanomedicine. International Journal of Biological Macromolecules, v. 193, p. 1972-1985, 2021.
- SRINIVASAN, R.; SHELTON, A.M.; COLLINS, H.L. (eds.). Management of the Diamondback Moth and Other Crucifer Insect Pests: Proceedings of the Sixth International Workshop. AVRDC-The World Vegetable Center, Shanhua, Taiwan, 2011.
- STEVENSON, P.C.; DAYARATHNA, T.K.; BELMAIN, S.R.; VEITCH, N.C. Bisdesmosidic saponins from Securidaca longepedunculata roots: evaluation of deterrency and toxicity to coleopteran storage pests. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 57, 8860–8867. 2009.
- SOARES, M.R.; CORRÊA, M.L.M.; PIGNATI, W.A. Distribuição espacial da mortalidade por câncer infanto-juvenil e do uso de agrotóxicos no Mato Grosso, Brasil. Cadernos de Agroecologia, v. 15, n. 2, 2020.
- SOLÉ I.; SOLANS C.; MAESTRO A.; GONZALES C.; GUTIERREZ, J.M. Study of nano-emulsion formation by dilution of microemulsions. J. Colloid Interface Sci, v.376, p. 133–139. 2012.

- TAKELAR, N.S.; SHELTON, A.M. Biology, ecology, and management of the diamondback moth. Annual review of entomology, v. 38, n. 1, p. 275-301, 1993..
- TANAKA, Y., TAKEDA, S. Ecdysone and 20-hydroxyecdysone supplements to the diet affect larval development in the silkworm, *Bombyx mori*, differently. Journal of insect physiology, v. 39, n. 10, p. 805-809, 1993.
- THAKUR, N.L.; MÜLLER, W.E. Biotechnological potential of marine sponges. Current science, p. 1506-1512, 2004.
- THROMBARE N.; JHA U.; MISHRA S.; SIDDIQUI M. Z. Guar gum as promising starting material for diverse applications: a review, International Journal of Biological Macromolecules, v.12, p 1-28, 2016.
- THULER, R.T.; DE BORTOLI, S.A.; HOFFMANN-CAMPO, C.B. Classificação de cultivares de brássicas com relação à resistência à traça-das-crucíferas e à presença de glucosinolatos. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.42, n.4, p.467-474, 2007.
- TORRES, A.L.; BOIÇA JÚNIOR, A.L.; MEDEIROS, C.A.M.; BARROS, R. Efeito de extratos aquosos de *Azadirachta indica, Melia azedarach e Aspidosperma pyrifolium* no desenvolvimento e oviposição de *P. xylostella*. Bragantia, v. 65, p. 447-457, 2006.
- ULMER, B.; GILLOT, C.; WOODS, D.; ERLANDSON, M. Diamondback moth, *P. xylostella* (L.) feeding and oviposition preference on glossy and waxy *Brassica rapa* (L.) lines. Crop protection. 21, 327–331, 2002.
- USDA U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service, 2009. USDA. Disponível em <a href="http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/">http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/</a> > Acesso em: 14 jul. 2021.
- VACARI, A.M.; BORTOLI, S.A. de; TORRES, J.B. Relationship between predation by *Podisus nigrispinus* and developmental phase and density of its prey, *Plutella xylostella*. Entomologia Experimentalis et Applicata, v.145, n.1, p.30-37, 2012.
- VERNAZA, M. G., CHANG, Y. K. Evaluation of guar gum and salt addition on the water absorption and on the quality of instant noodles. Alimentos e Nutrição Araraquara, v. 23, n. 3, p. 442, 2013.
- WANG, X.; KHAKAME, S.K.; YE, C.; YANG, Y.; WU, Y. Characterisation of field-evolved resistance to chlorantraniliprole in the diamondback moth, *Plutella xylostella*, from China. Pest management science, v. 69, n. 5, p. 661-665, 2013.
- WRIGHT, D. Biological control of DBM: a global perspective. Bordat, D., Kirk, A.A. (Eds.), Improving Biocontrol of *Plutella xylostella*: Proceedings of the International Symposium. CIRAD, Montpellier, France, pp. 9e15. 2004.
- XU, C.; CAI, X.; ZHANG, J.; LIU, L. Fast nanoparticle sizing by image dynamic light scattering. Particuology, v. 19, p. 82-85, 2015.
- YUKUYAMA, M. N.; GHISLENI, D. D. M.; PINTO, T. J. A.; BOU-CHACRA, N. A. Nanoemulsion: process selection and application in cosmetics a review. International Journal of Cosmetic Science, Hoboken, v. 37, p. 1–12, 2015.

- YANG, F.L.; LI, X.G.; ZHU, F.; LEI, C.L. Estrutural caracterização de nanopartículas carregadas com óleo essencial de alho e sua atividade inseticida contra *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). J. Agric. Food Chem. 2009, 57, 10156–10162.
- ZALUCKI, M.P.; SHABBIR, A.; SILVA, R.; ADAMSON, D.; SHU-SHENG, L.; FURLONG, M.J. Estimating the economic cost of one of the world's major insect pests, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae): just how long is a piece of string?. Journal of economic entomology, v. 105, n. 4, p. 1115-1129, 2012.
- ZHAO, J.Z.; COLLINS, H.L.; LI, Y.X.; MAU, R.F.L.; THOMPSON, G.D.; HERTLEIN, M.; SHELTON, A.M. Monitoring of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) resistance to spinosad, indoxacarb, and emamectin benzoate. Journal of Economic Entomology, v. 99, n. 1, p. 176-181, 2006.
- ZHOU, L.; HUANG, J.; XU, H.; ZHOU, L. J.; HUANG, J. G.; XU, H. H. Inseticide resistance of *P. xylostella* from field pearl river delta. Journal of South China Agricultural University. Univ. 32, 45–48, 2011.