

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

**BIOATIVIDADE E PERFIL FITOQUÍMICO DE
EXTRATOS DE *Ludwigia* spp. SOBRE *Plutella xylostella*
(Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae)**

Eliana Aparecida Ferreira

Dourados-MS
Abril/2021

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

Eliana Aparecida Ferreira

**BIOATIVIDADE E PERFIL FITOQUÍMICO DE EXTRATOS DE *Ludwigia* spp.
SOBRE *Plutella xylostella* (LINNAEUS, 1758) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE)**

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

Área de Concentração: Zoologia aplicada.

Orientadora: Rosilda Mara Mussury Franco da Silva

Dourados-MS
Abril/2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

F382b Ferreira, Eliana Aparecida

BIOATIVIDADE E PERFIL FITOQUÍMICO DE EXTRATOS DE *Ludwigia* spp. SOBRE *Plutella xylostella* (LINNAEUS, 1758) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE) [recurso eletrônico] / Eliana Aparecida Ferreira. -- 2023.
Arquivo em formato pdf.

Orientador: Rosilda Mara Mussury Franco da Silva.

Tese (Doutorado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2021.

Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:
<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. Atividade biológica. 2. Bioinseticida. 3. Dissuasão de oviposição. 4. Fagoderrente. 5. Traça-das-crucíferas. I. Silva, Rosilda Mara Mussury Franco Da. II. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.

"BIOATIVIDADE E PERFIL FITOQUÍMICO DE EXTRATOS DE *Ludwigia* spp. SOBRE *Plutella xylostella* (LINNAEUS, 1758) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE)".

Por

ELIANA APARECIDA FERREIRA

Tese apresentada à Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD),
como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de
DOUTORA EM ENTOMOLOGIA E CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE
Área de Concentração: Biodiversidade e Conservação



Dr.^a Rosilda Mara Mussury Franco Silva
Orientadora/Presidente – UFGD

Participação remota

Dr. Marcos Gino Fernandes
UFGD

Participação remota

Dr. Patrik Luiz Pastori
UFC

Participação remota

Dr.^a Ivana Fernandes da Silva
UFGD

Participação remota

Dr. Emerson Machado de Carvalho
UFSB

Aprovada em: 23 de abril de 2021.

Biografia

Eliana Aparecida Ferreira, nasci no dia 14 de junho de 1993, no Município de Ivinhema – MS. Filha da Sr^a. Maria Aparecida dos Santos Ferreira e do Sr. Antonio Cesar Ferreira, cursei o ensino fundamental e médio entre os anos de 1999 e 2010, em escola pública, Escola Estadual Angelina Jaime Tebet. Graduação em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul - UEMS, campus de Ivinhema-MS (2011-2014). Durante a graduação fui bolsista do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação à Docência (PIBID) e monitora da disciplina de Bioestatística. No ano de 2015 ingressei no Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade da Universidade Federal da Grande Dourados – UFGD. Após concluir o Mestrado, no ano de 2017, iniciei o curso de Doutorado pelo mesmo programa de Pós-graduação. Devido à paixão por espécies botânicas do gênero *Ludwigia*, a pesquisa de mestrado foi sobre interação bioecológica e comportamental de abelhas visitantes de *Ludwigia nervosa*, e a pesquisa de doutorado sobre bioatividade de extratos *Ludwigia* spp. sobre *Plutella xylostella*. Fui bolsista CAPES no mestrado e doutorado.

Agradecimentos

À Deus, pelo cuidado e direcionamento ao longo de toda jornada acadêmica. Por sempre ter me dado forças para continuar apesar das dificuldades e por tornar tudo possível.

À Universidade Federal da Grande Dourados, Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais pela oportunidade.

Ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais, da Universidade Federal da Grande Dourados, pela realização do doutorado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

À Prof^a. Dr^a. Rosilda Mara Mussury, maravilhosa orientadora, amiga, e principalmente compreensiva e humana.

A todos os professores Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade que contribuíram para minha formação por meio de valiosas aulas, ou pelo compartilhamento de experiências.

A professora Claudia Cardoso pelo auxílio nas triagens fitoquímicas e ensinamentos.

Ao Prof. Dr. Sandro Menezes Silva pela disponibilidade em identificar o material botânico.

Ao secretário do PPG- Entomologia e Conservação da Biodiversidade, pelo excelente trabalho prestado, sempre com muita dedicação e paciência.

Aos companheiros do Laboratório de Interação e Inseto-Planta - LIIP pelas trocas de experiências, e diversos momentos de alegrias em meio tantas incertezas.

Ao amigo Helter Carlos, pelas doações de material entomológico, ótimas conversas e trocas de experiências.

Aos meus amados amigos, Adrielly Maia Torres, Eduardo Carvalho Faca e Karla Ribeiro, por terem tornado meus dias mais alegres. Agradeço também pela amizade sincera, inúmeras conversas e todo companheirismo no decorrer de todos estes anos.

A todos que contribuíram, direta ou indiretamente, com a conclusão desta jornada, os meus mais sinceros agradecimentos.

Dedico

Aos meus amados pais, Antonio Cesar e Maria, pelo apoio incondicional.

Ao meu querido irmão, Júnior

Ao meu amado companheiro, Diego.

A todos os professores que fizeram parte dessa jornada.

SUMÁRIO

BIOATIVIDADE E PERFIL FITOQUÍMICO DE EXTRATOS DE <i>Ludwigia</i> spp. SOBRE <i>Plutella xylostella</i> (LINNAEUS, 1758) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE).....	10
RESUMO GERAL	10
BIOACTIVITY AND PHYTOCHEMICAL SCREENING OF <i>Ludwigia</i> spp. ABOUT <i>Plutella xylostella</i> (LINNAEUS, 1758) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE).....	11
ABSTRACT	11
1. INTRODUÇÃO GERAL	12
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
2.1. IMPORTÂNCIA NUTRICIONAL E ECONÔMICA DAS BRÁSSICAS.....	13
2.2. CICLO DE VIDA DE <i>Plutella xylostella</i>	14
2.3. INSETICIDAS BOTÂNICOS.....	15
2.4. ESPÉCIES DE <i>Ludwigia</i> E COMPOSIÇÃO FITOQUÍMICA.....	17
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	18
4. OBJETIVO GERAL.....	26
5. HIPÓTESE	26
CAPÍTULO I - BIOATIVIDADE E PERFIL FITOQUÍMICO DE EXTRATOS AQUOSOS DE <i>Ludwigia</i> spp. NO CONTROLE DE <i>Plutella xylostella</i> (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE).....	27
RESUMO	28
ABSTRACT	28
1. INTRODUÇÃO.....	29
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	30
3. RESULTADOS	36
4. DISCUSSÃO	39
5. CONCLUSÃO.....	41
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42

CAPÍTULO II - TRIAGEM FITOQUÍMICA E ATIVIDADE BIOLÓGICA DE EXTRATOS ETANÓLICOS DE <i>Ludwigia</i> spp. SOBRE <i>Plutella xylostella</i> (L.1758) (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE).....	49
RESUMO	50
ABSTRACT	51
1.INTRODUÇÃO.....	52
2.MATERIAL E MÉTODOS.....	52
3.RESULTADOS	56
4.DISSCUSSÃO	60
5.CONCLUSÕES	61
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62
CAPÍTULO III - BIOATIVIDADE DE ESPÉCIES DE <i>Ludwigia</i> L. (MYRTALES: ONAGRACEAE) SOBRE A OVIPOSIÇÃO E ALIMENTAÇÃO DE <i>Plutella xylostella</i> (LEPIDOPTERA: PLUTELLIDAE).....	66
RESUMO	67
ABSTRACT	68
1. INTRODUÇÃO.....	69
2.MATERIAL E MÉTODOS.....	70
3.RESULTADOS	77
4.DISSCUSSÃO	80
5.CONCLUSÃO.....	82
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	84
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	89

**BIOATIVIDADE E PERFIL FITOQUÍMICO DE EXTRATOS DE *Ludwigia* spp.
SOBRE *Plutella xylostella* (LINNAEUS, 1758) (LEPIDOPTERA:
PLUTELLIDAE)**

RESUMO GERAL

A família Brassicaceae contém inúmeras espécies vegetais utilizadas na alimentação humana. Contudo, pragas como *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) são responsáveis por danos que afetam a produtividade de forma quantitativa e qualitativa. Diante da evolução da resistência a diversos inseticidas sintéticos, a utilização de extratos botânicos tem-se mostrado uma alternativa para o controle dessa praga. Sendo assim, verificamos a biotividade de *Ludwigia tomentosa* (Cambess.) H. Hara, *Ludwigia longifolia* (DC.) H. Hara, *Ludwigia sericea* (Cambess.) H. Hara e *Ludwigia nervosa* (Poir.) H. Hara, por meio de extratos aquosos e etanólicos, sobre desenvolvimento, alimentação e oviposição de *P. xylostella*; e realizou-se também a triagem fitoquímica dos extratos. Os extratos aquosos de *L. tomentosa* e *L. longifolia* prolongaram o estágio larval e reduziram o peso das pupas de *P. xylostella*. *L. tomentosa* causou maior mortalidade larval e reduziu a fecundidade e fertilidade ovos de *P. xylostella* e, *L. sericea* reduziu a viabilidade dos ovos. A partir da utilização de extratos etanólicos, *L. tomentosa* foi responsável por reduzir o peso das pupas de *P. xylostella* e, *L. sericea* influenciou negativamente a fertilidade dos ovos. O consumo foliar foi reduzido a partir da utilização do extrato aquoso de *L. tomentosa*, enquanto *L. longifolia* e *L. nervosa* estimularam a alimentação das larvas. Os extratos etanólicos foram classificados como fagodeterrentes, com exceção de *L. nervosa* que foi fagoestimulante. Todos dos extratos foram classificados como dissuasores de oviposição em fêmeas de *P. xylostella*, independente do solvente utilizado. Além disso, a triagem fitoquímica mostrou que os extratos aquosos e etanólicos das plantas continham compostos fenólicos, flavonoides, taninos condensados e alcaloides, substâncias capazes de inibir o consumo de alimentos e interferir na morfologia e fisiologia das larvas, pupas e adultos. Contudo, não recomenda-se o uso do extrato de *L. nervosa*, pois não provocou mudanças significativas no desenvolvimento e oviposição de *P. xylostella*, além de ser fagoestimulante para as larvas. Os extratos de *L. tomentosa*, *L. longifolia* e *L. sericea* provocaram severas alterações biológicas, afetando negativamente o desenvolvimento, alimentação e reprodução de *P. xylostella*.

Palavras-chave: Atividade biológica; Bioinseticida; Dissuasão de oviposição; Fagodeterrente; Traça-das-crucíferas.

**BIOACTIVITY AND PHYTOCHEMICAL SCREENING OF *Ludwigia* spp.
ABOUT *Plutella xylostella* (LINNAEUS, 1758) (LEPIDOPTERA:
PLUTELLIDAE)**

ABSTRACT

The Brassicaceae family contains numerous plant species used in human food. However, pests such as *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) are responsible for damages that affect productivity in a quantitative and qualitative way. Faced with the evolution of resistance to several synthetic insecticides, the use of botanical extracts has proved to be an alternative for the control of this pest. Therefore, we verified the bioactivity of *Ludwigia tomentosa* (Cambess.) H. Hara, *Ludwigia longifolia* (DC.) H. Hara, *Ludwigia sericea* (Cambess.) H. Hara and *Ludwigia nervosa* (Poir.) H. Hara, through aqueous and ethanolic extracts, on development, feeding and oviposition of *P. xylostella*; and we perform phytochemical screening of the extracts. The aqueous extracts of *L. tomentosa* and *L. longifolia* prolonged the larval phase and reduced the pupae weight of *P. xylostella*. *L. tomentosa* caused higher larval mortality and reduced the fecundity and fertility of *P. xylostella* eggs, and *L. sericea* reduced egg viability. From the use of ethanolic extracts, *L. tomentosa* was responsible for reducing the weight of *P. xylostella* pupae, and *L. sericea* negatively influenced egg fertility. The foliar consumption reduced from the use of the aqueous extract of *L. tomentosa*, while *L. longifolia* and *L. nervosa* stimulated larvae feeding. Ethanol extracts were classified as phagodetergent, with the exception of *L. nervosa*, that was phagostimulant. All extracts were classified as oviposition deterrents in *P. xylostella* females, regardless of the solvent used. In addition, phytochemical screening showed that the aqueous and ethanolic extracts of the plants contained phenolic compounds, flavonoids, condensed tannins and alkaloids, substances capable of inhibiting food consumption and interfering with the morphology and physiology of larvae, pupae and adults. However, the use of *L. nervosa* extract is not recommended, as it did not cause significant changes in the development and oviposition of *P. xylostella*, in addition to being a phagostimulant for the larvae. The extracts of *L. tomentosa*, *L. longifolia* and *L. sericea* caused severe biological alterations, negatively affecting the development, feeding and reproduction of *P. xylostella*.

Keywords: Biological activities; Bioinsecticide; Dissuasion of oviposition; Phagodeterrent; Diamondback moth

1. INTRODUÇÃO GERAL

A família Brassicaceae é composta por vegetais muito populares cultivados tanto para fins comerciais como de subsistência (MAZHAWIDZA & MVUMI, 2017). Esses vegetais contribuem significativamente para a segurança alimentar das famílias e acrescentam variedade às dietas básicas de cereais (UUSIKU et al., 2010). Entretanto, os artrópodes-praga dessas espécies tem causado perdas qualitativas e quantitativas (DOBSON et al., 2002). Cerca de quatro a cinco bilhões de dólares americanos são gastos, anualmente, no controle do microlepidóptero *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) em todo o mundo, sendo economicamente a praga mais importante que ataca plantas da família Brassicaceae (FURLONG et al., 2013).

O uso de plantas com propriedades inseticidas é uma prática relativamente antiga (ROEL et al., 2000; GALLO et al., 2002) e, as substâncias extraídas de vegetais foram amplamente utilizadas no controle de insetos até a descoberta de inseticidas organossintéticos, na primeira metade do século passado. As variações na eficiência do controle, devido às diferenças na concentração do ingrediente ativo entre plantas e, principalmente, o baixo efeito residual, que refletia na necessidade de várias aplicações em curtos períodos, fez com que os inseticidas vegetais fossem gradativamente substituídos pelos sintéticos (MACHADO et al., 2007).

Contudo, no decorrer dos anos, verificou-se que o uso incorreto dos inseticidas sintéticos mostrou ser prejudicial a saúde humana, podendo também causar problemas ecológicos (contaminação de recursos hídricos, ar e solo) (MOHAMMED et al., 2019), contaminar produtos alimentícios, selecionar e favorecer o aumento da população de indivíduos resistentes, favorecer a recorrência de pragas e, promover a eliminação de organismos não-alvos (WILLIAMSON et al., 2008; PIMENTEL, 2009); e inimigos naturais (SHAKEEL et al., 2017).

As plantas produzem uma grande variedade de compostos bioativos com propriedades inseticidas, como metabólitos secundários capazes de interferir na nutrição, desenvolvimento, reprodução e sobrevivência de insetos (PERES et al., 2017; COUTO et al., 2019) e que podem agir contra um número limitado de espécies praga e adequado para uso em programas integrados (GUPTA & DIKSHIT, 2010).

Na literatura são destacados inúmeros estudos sobre a influência de extratos vegetais das famílias botânicas Myrtaceae (SOUZA et al., 2019), Rubiaceae (PERES et

al., 2017), Annonaceae (AMÁLIA & YUSA, 2018; COUTO et al., 2016), Meliaceae, Anacardiaceae (COUTO et al., 2016; COUTO et al., 2019), Fabaceae (FONSECA et al., 2018), sobre o desenvolvimento, alimentação ou a oviposição de *P. xylostella*. Dessa forma, buscamos verificar se o extrato foliar de *Ludwigia* spp. (Onagraceae) possuem atividade biológica sobre características morfológicas e fisiológicas, resultando em alterações negativas no desenvolvimento, comportamento alimentar e de oviposição e reprodução de *P. xylostella*.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Importância nutricional e econômica das Brássicas

A família Brassicaceae apresenta grande valor econômico e nutricional e é composta por 338 gêneros e 3709 espécies (FAHEY et al., 2001). No Brasil existem sete gêneros e cerca de 50 espécies amplamente distribuídas pelas regiões (SOUZA & LORENZI, 2005). O gênero *Brassica* é constituído por hortaliças como o repolho (*Brassica oleracea* var. *capitata*), couve-de-folhas (*Brassica oleracea* var. *acephala*), couve-flor (*Brassica oleracea* var. *botrytis*), brócolis (*Brassica oleracea* var. *italica*), mostarda (*Brassica juncea*), entre outras (FILGUEIRA et al., 2008).

As brássicas possuem um lugar importante na culinária e dieta da população como um dos alimentos de extrema importância na nutrição humana (BALKAYA & YANMAZ, 2005; VELASCO et al., 2007; LEMOS et al., 2011). As Brássicas são fonte de vitaminas, ácido fólico, ácidos graxos e minerais essenciais (especialmente K, Ca, Mg, Fe e Cu) (JAHANGIR et al., 2009). A análise direcionada mostrou o efeito positivo das referidas hortaliças na prevenção ao câncer devido a presença de fitoquímicos promotores da saúde, como glucosinolatos, polifenóis e carotenóides (FERRERES et al., 2009, BECERRA-MORENO et al., 2013; ŠAMEC & SALOPEK-SONDI, 2018).

Folhas de couve (*B. oleracea* var. *acephala*), são geralmente consumidas frescas em saladas, cozidas de maneiras diversas, ou em forma de sucos. Na medicina tradicional, a couve tem sido usada por séculos, principalmente para curar gastrite e úlcera gástrica (LEONTI & CASU, 2013). Estudos mostram efeitos positivos como regressão de ulcera gástrica (LEMOS et al., 2011) e propriedades antígeno-tóxicas de grande importância farmacológica, podendo ser benéficas para a prevenção do câncer (GONÇALVES et al., 2012), e combate a obesidade (KUERBAN et al., 2017).

Contudo, o microlepidóptero *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae), conhecido popularmente como traça-das-crucíferas, é economicamente a praga mais importante da família Brassicaceae. Cerca de quatro a cinco bilhões de dólares são gastos, anualmente, em seu controle em todo o mundo (FURLONG et al., 2013), devido o severo ataque das larvas, sendo que 62 a 78 % de folhas são consumidas por uma única larva (GANGURDE & WANKHEDE, 2009), e assim, o crescimento das plantas torna-se atrofiado devido à alimentação excessiva de larvas, resultando em redução da quantidade e qualidade de culturas (GANGURDE & WANKHEDE, 2009).

2.2. Ciclo de vida de *Plutella xylostella*

Plutella xylostella é conhecida popularmente como traça-das-crucíferas, é um microlepidóptero com quatro estágios em seu ciclo de vida: adulto, ovo, larva e pupa (TALEKAR & SHELTON, 1993). A espécie possui ciclo de vida curto, que pode variar conforme a temperatura, ou seja, em 15°C o ciclo dura em média 34 dias enquanto que em temperaturas elevadas em torno de 35°C, o ciclo se completa em 12 dias (CASTELO BRANCO et al., 1997). A fase larval possui quatro ínstares com duração dependente da temperatura ambiente e da qualidade do alimento (planta hospedeira). Sob condições favoráveis, a fase larval dura de 4 a 6 dias e com duração do período pupal varia de 4 a 15 dias, dependendo da temperatura (TALEKAR & SHELTON, 1993).

Os adultos são marrons acinzentados, com corpo de 9 mm de comprimento e envergadura de cerca de 12-15 mm (REID & CUTHBERT, 1960), sendo que, quando em repouso e com as asas dobradas, é possível visualizar três ou quatro áreas similares a forma de um diamante no dorso da mariposa, por esse motivo conhecida popularmente em alguns países como “traça-das-costas-diamante” (MASON, 2021). A expectativa de vida dos adultos é de 16 dias para fêmeas e 12 dias para os machos (MASON, 2021). As Mariposas adultas são mais ativas no fim de tarde e à noite. Os adultos geralmente acasalam no anoitecer do mesmo dia que emergem; e se há plantas hospedeiras, as fêmeas iniciam a oviposição em poucas horas após o acasalamento (TALEKAR & SHELTON, 1993; ASMAN et al., 2001), com o período de oviposição é de aproximadamente 10 dias. Cada fêmea pode ovipositar mais de 200 ovos, que são colocados na face abaxial e adaxial das folhas, de forma que sejam protegidos da luz solar direta e onde há proteção do vento e da chuva (TALEKAR & SHELTON, 1993).

Ovos são geralmente ovipositados nas concavidades das folhas (TALEKAR & SHELTON, 1993; SILVA & FURLONG, 2012), isolados ou em pequenas aglomerações (JUSTUS, 2000). Eles variam de 0,3 e 0,6 mm de diâmetro, são elípticos, apresentando coloração alaranjada (OOI & KELDERMAN, 1979). Geralmente a eclosão acontece depois de 4-8 dias, com o escurecimento do ovo e rompimento do córion, sendo que fatores como fotoperíodo, temperatura, idade e condição de alimentação na fase larval podem interferir na quantidade e fecundidade dos ovos (HARCOURT, 1957).

A duração da fase larval pode variar de acordo com o clima e fonte de alimento (MASON, 2021). Sob condições favoráveis, a fase larval dura de 4 a 6 dias (TALEKAR & SHELTON, 1993), com quatro instares larvais. No primeiro instar, a coloração da lagarta é esbranquiçada e alimenta-se do parênquima foliar (HARDY, 1938) devido ao seu hábito minador. Nos seguintes instares ocorre à mudança de cor para verde-clara e as larvas passam a alimentar-se da face inferior da epiderme da folha, brotos e caules e, em alguns casos, atacam a inflorescência (HARDY, 1938).

No quarto instar a larva pode alcançar de 8 a 10 mm de comprimento (GALLO et al., 2002). No estágio pré-pupal as larvas cessam o consumo foliar e posteriormente iniciam a confecção do casulo para o próximo estágio, fase pupal (TALEKAR & SHELTON, 1993). A coloração das pupas varia de amarela, verde clara ou branca, até marrom escuro ou preto, conforme se aproxima o estágio adulto, com comprimento médio de 7 mm (HARDY, 1938). Dependendo das condições ambientais, a fase de pupa dura em média de 3 a 8 dias, (GALLO et al., 2002; MEDEIROS et al., 2003; MAU & KESSING, 2007).

O tempo de desenvolvimento de *P. xylostella* depende dos fatores abióticos como temperatura e umidade. A taxa de desenvolvimento é mais rápida em ambientes quentes e mais lento em condições frias. Há sobreposição de gerações no campo (ZHU et al., 2018), sendo que nas regiões tropicais e subtropicais do mundo, é verificada a existência de 10 a 21 gerações em um ano (OKE et al., 2010), enquanto estas são de 4 a 20 gerações nas regiões temperadas (VICKERS et al., 2004).

2.3. Inseticidas botânicos

Na agricultura, os insetos-praga constituem grande preocupação por afetarem diretamente a produção de plantas cultivadas. Inseticidas sintéticos são o método mais utilizado no controle dessas pragas. Contudo, a pressão seletiva exercida sobre as

populações-praga seleciona cada vez mais insetos resistentes, juntamente, a falta de seletividade, que desempenha papel negativo sobre seus inimigos naturais como parasitoides e predadores (DEDRYVER et al., 2010; EL – WAKEIL et al., 2010).

Considerando que a utilização de inseticidas sintéticos vem preocupando o consumidor, principalmente no que diz respeito aos possíveis resíduos deixados nos alimentos, novos métodos de controle são necessários com a perspectivas de controle da praga e ausência de dano ao meio ambiente e saúde humana. Nos ultimos cinquenta anos, os estudos relacionados a metabólitos secundários das plantas aumentaram significativamente (BOURGAUD et al., 2001) devido a importantes funções biológicas e ecológicas que desempenham, incluindo compostos defensivos (BALDIN et al., 2019).

As plantas desenvolveram diversas vias metabólicas secundárias, que produzem uma infinidade de novos compostos, que são classificados como metabólitos secundários (MIRESMAILLI & ISMAN, 2014). Os compostos com ação inseticida existem em quase todas as classes de metabólito secundário e, sendo assim, os estudos na busca dessas plantas e de seus constituintes decorreu na descoberta de novas moléculas com diversos efeitos, entre eles, inseticidas.

Na literatura, os terpenos, são classificados como substâncias que são tóxicos ou deterrentes de alimentação de vários insetos herbívoros (BOHNENSTENGLET et al., 1999) os alcaloide, por apresentarem alta toxicidade a insetos em função da interferência no sistema nervoso (TOMIZAWA & CASIDA, 2005; LIU et al, 2008); os compostos fenólicos, por possuírem substâncias bloqueadoras de consumo foliar, inibidoras de digestão e formadoras de radicais livres, sendo que o efeito bloqueador esta ligado a sensação adstringente, decorrente da capacidade dos compostos fenólicos de precipitar proteínas (APPEL 1993); e, os flavonoides, como a rutina e outras quercetinas, por causarem mortalidade (SALUNKE et al., 2005), redução de oviposição, e redução de larvas recém-emergidas.

O potencial inseticida de produtos naturais geralmente é verificado a partir da utilização do extrato bruto das plantas, e, posteriormente, após comprovado o potencial, pode ser realizado o isolamento dos compostos. Os extratos botânicos das plantas podem ser preparados a partir das folhas, caule ou raiz da espécie vegetal, por métodos como maceração, infusão, decocção, percolação ou destilação. Esses são preparados com diversos solventes orgânicos (hexano, diclorometano, acetato de etila, metanol, etanol) e água. Posteriormente, os extratos ativos são fracionados através de métodos

cromatográficos existentes e as frações obtidas são re-testadas, repetindo-se o processo até a obtenção do (s) composto (s) ativo (s) ou da mistura de compostos ativos.

Os produtos à base de plantas são frequentemente descritos como benéficos em artrópodes benéficos e no ecossistema (DUBEY et al., 2011; KEDIA et al., 2015), e apresentam rápida decomposição após a exposição à atmosfera (DUBEY et al., 2011) reduzindo o risco de resíduos nos alimentos, além de serem seletivos (AMOABENG et al., 2013).

2.4. Espécies de *Ludwigia* e composição fitoquímica

O gênero *Ludwigia* pertence à família Onagraceae (Myrtales), possui 82 espécies descritas e apresenta uma distribuição pantropical (OZIEGBE & FALUYI, 2012). O gênero tem as características de uma planta pioneira, especialmente em torno de rios, córregos e ambientes úmidos ou inundados (KISSMANN & GROTH, 2000).

Há muitos estudos na literatura sobre as propriedades das espécies de *Ludwigia*, sendo elas fontes promissoras de fitoquímicos antioxidantes (CHAI et al., 2015; YAKOB et al., 2012), com atividade antibacteriana (AHMED et al., 2005; MABOU et al., 2016), antifúngica (OYEDEJI et al., 2011) e anticancerígenos (CHAI et al., 2015).

Entre as espécies com maior quantidade de informações na literatura estão: *Ludwigia adscendens* (L.) H. Hara, consumida como vegetal na China e é utilizada no tratamento de tosse, gonorréia, sarampo, erisipela e furúnculo (CHAI et al., 2015); possui compostos como ácido gálico (OOH et al., 2014); flavonoides como quercetina, quercetina 3-O-ramnosídeo ou quercitrina, quercetina 3-O-galactosídeo, quercetina 3-O-glicosídeo, quercetina 3-O-rutinosídeo, 3-O-glucosídeo de kaempferol, miricetina 3-O-ramnosídeo ou miricitrina e miricetina 3-O-galactósido) (AVERETT et al., 1990; GLASBY, 1991), hiperina, rutina, kaempferol (MARZOUK et al. 2007), além de terpenos, triterpenóides, outros fenóis, taninos e alcalóides (AHMED et al., 2005).

Triagem fitoquímica mostrou que *Ludwigia octovalvis* (Jacq.) P. H. Raven, possui flavonoides, fenólicos, saponinas, esteróides e taninos como os principais constituintes químicos (YAKOB et al., 2012). Entretanto, *Ludwigia abyssinica* A. Rich. e *Ludwigia decurrens* Walter revelaram a presença de apenas alcalóides e taninos (OYEDEJI et al., 2011). Em relação à espécie *Ludwigia leptocarpa* (Nutt.) Hara, esta apresenta em sua composição química flavonoides (MABOU et al., 2014) e saponinas (MABOU et al., 2015) que foram isoladas da planta inteira a partir do extrato metanólico.

3.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMED F.; SELIM, M.S.T.; SHILPI, J. Antibacterial activity of *Ludwigia adscendens*. **Fitoterapia**, v. 76, p. 473-475, 2005.
- AMÁLIA, A.V.; YUSA, M.H. Control pest of leaf caterpillars (*Plutella xylostella*) in delima rose apples using soursop leaf extract (*Annona muricata*). **Jurnal Pendidik. IPA Indones**, v. 7, p. 1-8, 2018.
- AMOABENG, B.W.; GUR, G.M.; GITAU, C.W.; NICOL, H.I.; MUNYAKAZI, L.; STEVENSON, P.C. Tri-trophic insecticidal effects of African plants against cabbage pests. **PloS One**, v.8, p. 78651, 2013.
- APPEL, H. M. 1993. Phenolics in ecological interactions: the importance of oxidation. **Journal of Chemical Ecology**, v. 19, n. 7, p. 1521-1552, 1993.
- ASMAN, K.; EKBOM, B.; RÄMERT, B. Effect of Intercropping on Oviposition and Emigration Behavior of the Leek Moth (Lepidoptera: Acrolepiidae) and the Diamondback Moth (Lepidoptera: Plutellidae). **Environmental Entomology**, v. 30 n. 2, p. 288-294, 2001.
- AVERETT, J. E.; ZARDINI, E. M.; HOCH, P. C. Flavonoid systematics of ten sections of *Ludwigia* (Onagraceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 18, p. 529-532, 1990.
- BALDIN, E.L.L.; VENDRAMIM, J.D.; LOURENÇÃO, A.L. **Resistência de Plantas a Insetos: Fundamentos e Aplicações**; FEALQ: Piracicaba, Brasil. 2019.
- BALKAYA, A.; YANMAZ, R. Promising kale (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*) populations from Black Sea region, Turkey. **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science**, v. 33, p. 1-7, 2005.
- BECERRA-MORENO, A.; ALANÍS-GARZA, P.A.; MORA-NIEVES, J.L.; MORA-MORA, J.P.; JACOBO-VELÁZQUEZ, D.A. Kale: An excellent source of vitamin C, pro-vitamin A, lutein and glucosinolates. *CyTA - Journal of Food*, v. 12, p. 298-303, 2013.
- BOHNENSTENGEL, F. I.; WRAY, V.; WITTE, L.; SRIVASTAVA, R. P.; PROKSCH, P. Insecticidal meliacarpins (C-seco limonoids) from *Melia azedarach*. **Phytochemistry**, v. 50, n. 6, p. 977-982, 1999.
- BOURGAUD, F.; GRAVOT, A.; MILESI, S.; GONTIER, E. Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. **Plant Science**, v. 161, n. 5, p. 839-851, 2001.

- CASTELO BRANCO, M.; FRANÇA, F. H.; VILLAS BOAS, G. L. **Traça-das-crucíferas (*Plutella xylostella*)**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 1997.
- CHAI, T.T.; OOH, K.F.; QUAH, Y.; WONG, F.C. Edible freshwater macrophytes: A source of anticancer and antioxidative natural products - A mini-review. **Phytochemistry Reviews**, v. 14, p. 443-457, 2015.
- COUTO, I.F.; FUCHS, M.L.; PEREIRA, F.F.; MAUAD, M.; SCALON, S.P.Q.; DRESCH, D.M.; MUSSURY, R.M. Feeding preference of *Plutella xylostella* for leaves treated with plant extracts. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 88, p. 1781-1789, 2016.
- COUTO, I.F.S.; VERZA, S.; VALENTE, F.I.; SENNA, B.; SOUZA, S.A.; MAUAD, M.; MUSSURY, R.M. Botanical Extracts of the Brazilian Savannah affect feeding and oviposition of *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae). **Journal Agricultural Science**, v.11, p. 322. 2019.
- DEDRYVER, C.A.; LE RALEC, A.; FABRE, F. The conflicting relationships between aphids and men: a review of aphid damage and control strategies. **Comptes Rendus Biologies**, v.333, p. 539-553, 2010.
- DOBSON, H.; COOPER, J.; MANYANGARIRWA, W.; KARUMA, J.; CHIIMBA, W. **Integrated Vegetable Pest Management: Safe and Sustainable Protection of Small-Scale Brassicas and Tomatoes** - A Handbook for Extension Staff and Trainers in Zimbabwe. NRI, University of Greenwich, UK, 2002
- DUBEY, N.; SHUKLA, R.; KUMAR, A.; SINGH, P.; PRAKASH, B. Global scenario on the application of natural products in integrated pest management programmes. **Natural Products in Plant Pest Management**, v.1, p. 1-20, 2011.
- EL-WAKEIL, N. E.; VOLKMAR, C.; SALLAM, A. A. Jasmonic acid induces resistance to economically important insect pests in winter wheat. **Pest Management Science: formerly Pesticide Science**, v. 66, p. 549-554, 2010.
- FAHEY, J. W.; ZALCMANN, A. T.; TALALAY, P. The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. **Phytochemistry**, v. 56, p. 5-51, 2001.
- FERRERES, F.; FERNANDES, F.; SOUSA, C.; VALENTAO, P.; PEREIRA, J.A.; ANDRADE, P. B. Metabolic and bioactivity insights into *Brassica oleracea* var. *acephala*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 19, p. 8884-8892, 2009.

- FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 3a ed. Viçosa. MG: Universidade Federal de Viçosa, 421p., 2008.
- FONSECA J.; COUTO I.F.S.; MATIAS R.S.; FIORATTI C.A.G.; PEREIRA F.F.; MAUAD M.; SCALON S.P.Q.; CARVALHO E.M.; MUSSURY R.M. Efeito de extratos metanólicos de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville na alimentação e reprodução de *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae). **Interciencia**, v. 43, p. 182-187, 2018.
- FURLONG, M.J.; WRIGHT, D.J.; DOSDALL, L.M. Diamondback Moth Ecology and Management: Problems, Progress, and Prospects. **Annual review of Entomology**, v. 58, n. 517-541, 2013.
- GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BAPTISTA, G.C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIM, J.D.; MARCHINI, L.C.; LOPES, J.R.S.; OMOTO, C. **Entomologia Agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002.
- GANGURDE, S. M.; WANKHEDE, S. M. Biology of diamond back moth, *Plutella xylostella* Linn. **International Journal of Plant Protection**, v. 2, n. 2, p. 165-166, 2009.
- GLASBY, J. S. **Directory of Plants Containing Secondary Metabolites**. Ed. London: Taylor & Francis, 1991.
- GONÇALVES, Á. L. M.; LEMOS, M.; NIERO, R.; DE ANDRADE, S. F.; MAISTRO, E. L. Evaluation of the genotoxic and antigenotoxic potential of *Brassica oleracea* L. var. *acephala* D.C. in different cells of mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 143, p. 740-745, 2012.
- GUPTA, S.; DIKSHIT, A. K. Biopesticides: An ecofriendly approach for pest control. **Journal of Biopesticides**, v. 3, p. 186-188, 2010.
- HARCOURT, D.G. Biology of the diamondback moth, *Plutella maculipennis* (Curt.) (Lepidoptera: Plutellidae), in eastern Ontario, II. Life history, behaviour and host relationships. **Canadian Entomologist**, v. 89, p. 554-564, 1957.
- JAHANGIR, M.; KIM, H. K.; CHOI, Y. H.; VERPOORTE, R. Health-affecting compounds in Brassicaceae. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 8, n. 2, p. 31-43, 2009.
- KEDIA, A.; PRAKASH, B.; MISHRA, P.K.; SINGH, P.; DUBEY, N.K. Botanicals as eco-friendly biorational alternatives of synthetic pesticides against *Callosobruchus*

- spp. (Coleoptera: Bruchidae) - A review. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, p. 1239-1257, 2015.
- KISSMANN, K. G.; GROTH, D. **Plantas infestantes e nocivas**. 2. ed. São Paulo: BASF, 2000.
- KUERBAN, A.; YAGHMOOR, S.S.; ALMULAIKY, Y.Q.; MOHAMED, Y.A.; RAZVI, S.S.I.; HASAN, M.N, MOSELHY, S.S.; AL-GHAFARI, A.B.; ALSUFIANI, H.M.; KUMOSANI, T.A.; MALKI A.L. Therapeutic effects of phytochemicals of Brassicaceae for management of obesity. **Journal of Pharmaceutical Research International**, v. 19, n. 4, p.1-11, 2017.
- LEMONS, M.; SANTIN, J.R.; JÚNIOR, L.C.K.; NIERO, R.; ANDRADE, S.F. Gastroprotective activity of hydroalcoholic extract obtained from the leaves of *Brassica oleracea* var. *acephala* DC in different animal models. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 138, p. 503-507, 2011.
- LEONTI, M.; CASU, L. Traditional medicines and globalization: Current and future perspectives in ethnopharmacology. **Frontiers in Pharmacology**, v. 4, p. 92, 2013.
- LIU, L.; ALAM, M. S.; HIRATA, K.; MATSUDA, K.; OZOE, Y. Actions of quinolizidine alkaloids on *Periplaneta americana* nicotinic acetylcholine receptors. **Pest Management Science: formerly Pesticide Science**, v. 64, n. 12, p. 1222-1228, 2008.
- MABOU, F.D.; JEAN, D.D.T.; NGNOKAM, D.; VOUTQUENNE-NAZABADIOKO, L.; KUIATE, J.R.; BAG, P.K. Complex secondary metabolites from *Ludwigia leptocarpa* with potent antibacterial and antioxidant activities. **Drug Discoveries & Therapeutics**, v. 10, p. 141-149, 2016.
- MABOU, F. D.; NGNOKAM, D.; HAKAT, D.; VOUTQUENNE-NAZABADIOKO, L. New oleanane-type saponins: Leptocarposide BD, from *Ludwigia leptocarpa* (Onagraceae). **Phytochemistry Letters**, v. 14, p. 159-164, 2015.
- MABOU, F. D.; TEBOU, P. L. F.; NGNOKAM, D.; HAKAT, D.; VOUTQUENNE-NAZABADIOKO, L. Leptocarposide: a new triterpenoid glycoside from *Ludwigia leptocarpa* (Onagraceae). **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 52, p. 32-36, 2014.
- MACHADO, L.A; SILVA, V.B.; OLIVEIRA, M.M. Uso de extratos vegetais no controle de pragas em horticultura. **Biológico**, v. 69, p. 103-106, 2007.

- MARZOUK, M.S.; SOLIMAN, F.M.; SHEHATA, I.A.; RABEE, M.; FAWZY, G.A. Flavonoids and biological activities of *Jussiaea repens*. **Natural product Research**, v. 21, n. 5, p. 436-443, 2007.
- MASON, P. *Plutella xylostella* (Diamondback Moth). CABI Digital Library. Disponível em < <https://doi.org/10.1079/cabicompendium.42318> >. Acesso em: 08 de abril de 2021.
- MAU, R.F.L.; KESSING, J.L.M. *Plutella xylostella* (Linnaeus). Crop Knowledge Master, 2007. Disponível em <<http://www.extento.hawaii.edu/kbase/crop/type/plutella.htm>> Acesso: 09/04/21.
- MAZHAWIDZA, E.; MVUMI, B.M. Field evaluation of aqueous indigenous plant extracts against the diamondback moth, *Plutella xylostella* L. and the rape aphid, *Brevicoryne brassicae* L. in brassica production. **Industrial Crops and Products**, v. 11, p. 36-44, 2017.
- MEDEIROS, P.T.; DIAS, J.M.C.S.; MONNERAT, R.G.; SOUZA, N.R. **Instalação e manutenção de criação massal da traça-das-crucíferas (*Plutella xylostella*)**. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 4 p. (Circular técnica, 29): Brasília, DF. 2003.
- MIRESMAILLI, S.; ISMAN, M.B. Botanical insecticides inspired by plant-herbivore chemical interactions. **Trends in plant science**, v. 19, p. 29-35, 2014.
- MOHAMMED S.; LAMOREE M.; ANSA-ASARE O.D.; BOER J. Review of the analysis of insecticide residues and their levels in different matrices in Ghana. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 171, p. 361-372, 2019.
- OKE, O.A.; CHARLES, N.; ISMAEL, C.; LESPERANCE, D. Efficacy of a botanical and biological method to control the diamondback moth (*Plutella xylostella* L.) in cabbage (*Brassica oleracea* var *capitata* L.) under open field conditions at Anse Boileau, Seychelles. **Journal of Agricultural Extension and Rural Development**, v. 2, n. 7, p. 141-143, 2010.
- OOH, K.F.; ONG, H.C.; WONG, F.C.; SIT, N.W.; CHAI, T.T. High performance liquid chromatography profiling of health-promoting phytochemicals and evaluation of antioxidant, anti-lipoxygenase, iron chelating and anti-glucosidase activities of wetland macrophytes. **Pharmacognosy Magazine**, v. 10 (Suppl 3), p. S443, 2014.
- OOI, P.A.C; KELDESMAN, W. The biology of three common pests of cabbages in Cameron Highlands, Malayisa. **Malaysian Agricultural Journal**, v.52, p. 85-101, 1979.

- OYEDEJI, O.; OZIEGBE, M.; TAIWO, F.O. Antibacterial, antifungal and phytochemical analysis of crude extracts from the leaves of *Ludwigia abyssinica* A. Rich. and *Ludwigia decurrens* Walter. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 5, p. 1192-1199, 2011.
- OZIEGBE, M.; FALUYI, J.O. Reproductive biology of *Ludwigia leptocarpa* and *L. adscendens* subsp. diffusa in Ile Ife, Nigeria. **Turkish Journal of Botany**, v. 36, n. 2, p. 167-173, 2012.
- PERES, L.L.S.; SOBREIRO, A.I.; COUTO, I.F.S.; SILVA, R.M.; PEREIRA, F.F.; HEREDIA-VIEIRA, S.C.; CARDOSO, C.A.L.; MAUAD, M.; SCALON, S.P.Q.; VERZA, S.S.; MUSSURY, R.M. Chemical compounds and bioactivity of aqueous extracts of *Alibertia* spp. in the control of *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae). **Insects**, v. 8, p. 125, 2017.
- PIMENTEL D. Environmental and economic costs of the application of pesticides primarily in the United States. In: Peshin R.; Dhawan A.K.; editors. **Integrated Pest Management: Innovation-Development Process**. Volume 1. Springer: Dordrecht, The Netherlands, pp. 89-111, 2009.
- REID, W.J.; CUTHBERT, F.P. **Control of caterpillars on commercial cabbage and other cole crops in the South** (No. 2099). US Department of Agriculture, 1960.
- ROEL, A.R. Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o desenvolvimento rural sustentável. **Revista Internacional de Desenvolvimento Local**, v. 1, n. 2, p. 43-50, 2011.
- SALUNKE, B.K.; KOTKAR, H.M.; MENDKI, P.S.; UPASANI, S.M.; MAHESHWARI, V.L. Efficacy of flavonoids in controlling *Callosobruchus chinensis* (L.) (Coleoptera: Bruchidae), a post-harvest pest of grain legumes. **Crop Protection**, v. 24, n. 10, p. 888-893, 2005.
- SAMEC, D.; SALOPEK-SONDI, B. Cruciferous (Brassicaceae) vegetables. In S. Mohammad Nabavi & A. Sanches Silva (Eds.), **Nonvitamin and nonmineral nutritional supplements** (pp. 195– 202). San Diego, CA: Academic Press. 2018.
- SHAKEEL, M.; FAROOQ, M.; NASIM, W.; AKRAM, W.; KHAN, F.Z.A.; JALEEL, W.; ZHU, X.; YIN, H.; LI, S.; FAHAD, S. Environment polluting conventional chemical control compared to an environmentally friendly IPM approach for control of diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.), in China. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, p. 14537-14550, 2017.

- SILVA R.; FURLONG M.J. Diamondback Moth Oviposition: Effects of Host Plant and Herbivory. **Entomologia Experimentalis Applicata**, v. 143, n. 3, p. 218-30, 2012.
- SOUZA S.A.; COUTO I.F.S.; SILVA M.P.; CARDOSO C.A.L.; SCALON S.P.Q.; FERREIRA F.F.; CARVALHO E.M.; MUSSURY R.M. Aqueous extracts of species of the genus *Campomanesia* (Myrtaceae) affect biological characteristics of *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) Lepidoptera: Plutellidae. **Journal Agricultural Science**, v. 11, p. 20-28, 2019.
- SOUZA, V.C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APGII**. Instituto Plantarum de Estudos da Flora: Nova Odessa, Brasil, 2005.
- TALEKAR, N.S, SHELTON, A.M. Biology, ecology and management of the diamondback moth. **Annual Review of Entomology**, v. 38, p. 275-301, 1993.
- TOMIZAWA, M.; CASIDA, J. E. Neonicotinoid insecticide toxicology: mechanisms of selective action. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 45, p. 247-268, 2005.
- UUSIKU, N. P.; OELOFSE, A.; DUODU, K. G.; BESTER, M. J.; FABER, M. Nutritional value of leafy vegetables of sub-Saharan Africa and their potential contribution to human health: A review. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 2, n. 6, p. 499-509, 2010.
- VELASCO, P.; CARTEA, M.E, GONZALEZ, C.; VILAR, M.; OORAS, A. Factors affecting the glucosinolate content of Kale (*Brassica oleracea acephala* Group). **Journal of Agriculturae and Food Chemistry**, v. 55, p. 955-962, 2007.
- VICKERS, R.A.; FURLONG, M.J.; WHITE, A.; PELL, J.K. Initiation of fungal epizootics in diamondback moth populations within a large field cage: proof of concept of autodissemination. **Entomologia Experimentalis Applicata**, v. 111, p. 7-17, 2004.
- YAKOB, H. K.; UYUB, A. M.; SULAIMAN, S. F. Toxicological evaluation of 80% methanol extract of *Ludwigia octovalvis* (Jacq.) PH Raven leaves (Onagraceae) in BALB/c mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v.142, n. 3, p. 663-668, 2012.
- WILLIAMSON, S.; BALL, A.; PRETTY J. Trends in pesticide use and drivers for safer pest management in four African countries. **Crop Protection**, v. 27, p. 1327-1334, 2008.
- ZHU, L.; LI, Z.; ZHANG, S.; XU, B.; ZHANG, Y.; ZALUCKI, M. P.; WU, Q.; YIN, X. Population dynamics of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.), in Northern

China: The effects of migration, cropping patterns and climate. **Pest Management Science**, v. 74, n. 8, p. 1845-1853, 2018.

4.OBJETIVO GERAL

Avaliar a bioatividade dos extratos, aquosos e etanólicos, de *Ludwigia tomentosa*, *Ludwigia longifolia*, *Ludwigia sericea* e *Ludwigia nervosa* sobre o desenvolvimento, reprodução e comportamento de alimentação e oviposição de *P. xylostella*, bem como analisar a triagem fitoquímica das espécies vegetais estudadas.

5.HIPÓTESE

1 - Os extratos aquosos e etanólicos de *Ludwigia* spp. causam alterações fisiológicas em *P. xylostella*, bem como, são fagodeterrentes e dissuasores de oviposição da espécie praga.

CAPÍTULO I - Bioatividade e perfil fitoquímico de extratos aquosos de *Ludwigia* spp.
no controle de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae)

* Artigo publicado na Revista *Insects* - ISSN: 2075-4450

Bioatividade e perfil fitoquímico de extratos aquosos de *Ludwigia* spp. no controle de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae)

Eliana Aparecida Ferreira¹, Rosilda Mara Mussury¹

¹ Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais da Universidade Federal da Grande Dourados, Rodovia Dourados-Itahum, km 12, Dourados, Mato Grosso do Sul 79804-970, Brasil;

RESUMO

Testou-se a bioatividade de extratos aquosos de *Ludwigia* spp. (Myrtales: Onagraceae) sobre o ciclo biológico de *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae). Avaliou-se a duração e a viabilidade das larvas, pupas e adultos, bem como a influência na fecundidade, fertilidade e viabilidade dos ovos de *P. xylostella*, posteriormente, realizou-se triagem fitoquímica dos extratos. Os extratos de *L. tomentosa* e *L. longifolia* prolongaram o estágio larval e reduziram o peso das pupas de *P. xylostella*. *L. tomentosa* causou maior mortalidade larval e reduziu a fecundidade e fertilidade ovos de *P. xylostella*, e *L. sericea* reduziu a viabilidade dos ovos. Os compostos fenólicos, flavonoides, taninos condensados e alcaloides foram mais abundantes em *L. nervosa*, *L. tomentosa*, *L. sericea* e *L. longifolia*. Os extratos de *L. tomentosa*, *L. longifolia* e *L. sericea* produziram substâncias capazes de inibir o consumo alimentar, causar alterações morfológicas e transformações fisiológicas na prole e oviposição dos adultos de *P. xylostella*.

Palavras-chave: Antibiose; Atividade biológica; Extrato botânico; Onagraceae; Traças-das-crucíferas.

ABSTRACT

We tested the bioactivity of aqueous extracts of *Ludwigia* spp. (Myrtales: Onagraceae) on the biological cycle of *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae). We assessed the duration of and viability during the larval, pupal and adult phases, as well as the influence of the extracts on the fecundity and hatching of *P. xylostella* eggs. Subsequently, we phytochemically screened the extracts. The extracts of *L. tomentosa* and *L. longifolia* reduced the pupal weight instead of prolonging the larval stage of *P. xylostella*. The *L. tomentosa* effect caused higher larval mortality and reduced the fecundity and hatching of *P. xylostella* eggs, and *L. sericea* reduced the egg survival. The phenolic compounds—flavonoids, condensed tannins and alkaloids—were more abundant in *L. nervosa*, *L. tomentosa*, *L. sericea* and *L. longifolia*. The *L. tomentosa*, *L. longifolia* and *L. sericea* extracts were bioactive, and these species showed the best results regarding their ability to control *P. xylostella* populations, because these plants produce substances able to inhibit food consumption and interfere with the morphological and physiological transformations of the offspring and the oviposition of adults.

Keywords: Antibiosis; Biological activity; Botanical extract; Diamondback moth

1.INTRODUÇÃO

O microlepdóptero *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae), conhecido popularmente como traça-das-crucíferas, é economicamente a praga mais importante da família Brassicaceae. Cerca de quatro a cinco bilhões de dólares são gastos anualmente em seu controle em todo o mundo [1]. Devido aos elevados danos econômicos, o controle químico tem sido o mais utilizado no manejo de *P. xylostella* [2]

A utilização de inseticidas com diversas formulações tem aumentado o rendimento do controle nas culturas, contudo, o uso excessivo resulta em maior pressão de seleção, o que já levou ao desenvolvimento de resistência a mais de 95 diferentes inseticidas [3].

Quando usados incorretamente, os inseticidas sintéticos podem ser prejudiciais a saúde humana, causar problemas ecológicos [4], danos ao ambiente (contaminação de recursos hídricos, ar e solo), contaminar produtos alimentícios, aumentar a frequência de indivíduos resistentes na população, favorecer a recorrência de pragas e a eliminação de organismos não-alvos [5,6], sendo também prejudiciais à sobrevivência dos inimigos naturais [7]. Portanto, é necessário adotar técnicas e táticas menos prejudiciais, mas igualmente eficazes no controle de *P. xylostella*.

Extratos de espécies vegetais apresentam efeito inseticida comprovado, pois são constituído de uma diversidade de compostos ativos. Estes compostos podem agir sinergicamente, sendo atraentes, desalojantes ou repelentes [8,9,10,11,12,13]. Os metabólitos secundários produzidos pelas plantas são utilizados como proteção aos microrganismos e artrópodes fitófagos [14]. Estes compostos tornam-se candidatos naturais para o desenvolvimento de novos produtos que possam ser utilizados no controle.

Compostos extraídos de plantas podem ser incorporados ao Manejo Integrado de Pragas (MIP), podendo atuar como inseticidas de contato, repelentes ou que promovam a supressão da alimentação e/ou da reprodução [15]. Produtos à base de plantas podem ser seletivos aos artrópodes benéficos [16] e apresentarem rápida decomposição após a exposição à atmosfera [17] reduzindo o risco de resíduos nos alimentos. Os inseticidas botânicos podem ser seletivos [18] e geralmente não causam resistência, assim como os inseticidas sintéticos [19,20].

Vários estudos foram realizados para determinar o potencial inseticida de óleos e extratos botânicos de certas espécies de plantas das famílias - Myrtaceae [21] Rubiaceae [22], Annonaceae [23,24], Meliaceae, Anacardiaceae [24,25], Apocynaceae [26,27],

Fabaceae [28] - e Rutaceae [29] sobre o desenvolvimento e/ou oviposição de *P. xylostella* e, conseqüentemente, a ocorrência de antibiose e antixenose.

Algumas espécies do gênero *Ludwigia* apresentam fontes promissoras de fitoquímicos anticancerígenos [30] e antioxidantes [30,31,32], com atividade antibacteriana [31,32,33] e antifúngica [34]. No entanto, não foram relatados estudos mostrando o potencial inseticida desse gênero. Este estudo, portanto, testou a hipótese de que espécies desse gênero possuem potencial inseticida contra *P. xylostella*.

Ao analisar as ações antibacterianas e antifúngicas de *L. decurrens* Walter [34], *L. abyssinica* A. Rich. e *L. leptocarpa* (Nutt.) Hara, foram encontrados saponinas [31], e em *L. adscendens* (L.) H. Hara verificou-se a presença de taninos, alcalóides, flavonóides, terpenos, triterpenóides e fenóis.

Os metabólitos secundários das plantas, como os flavonoides, podem provocar mudanças fisiológicas e morfológicas nos insetos [22]. Eles podem agir como substâncias fagoderrentes [35], assim como os alcalóides [36] e taninos [37].

Compreender seus efeitos no ciclo de vida de *P. xylostella* pode melhorar o conhecimento e incentivar futuros investimentos em pesquisas sobre esse gênero vegetal. Nosso objetivo foi, assim, testar a bioatividade de extratos aquosos de espécies de *Ludwigia* sobre *P. xylostella*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os bioensaios e a obtenção dos extratos foram realizados nas dependências do Laboratório de Interação Inseto-Planta, pertencente a Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Dourados, MS, Brasil. A triagem fitoquímica foi realizada no Centro de Estudos em Recursos Naturais da Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul (UEMS) em Dourados, MS, Brasil.

2.1. Criação e manutenção de *Plutella xylostella*

Os indivíduos foram mantidos à $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa de $55 \pm 5\%$ e fotoperíodo de 12 h. As pupas foram coletadas e colocadas em gaiola plástica transparente (9 cm de comprimento x 19 cm de largura x 19 cm de altura) onde permaneceram até a emergência dos adultos (Fig.1). Os adultos foram alimentados com solução de mel de *Apis mellifera* L. a 10%. Discos de couve cortados com cortador manual de 8 cm de

diâmetro foram colocados sobre papel de filtro, trocados diariamente e utilizados como substrato de oviposição, sendo os ovos obtidos transferidos para gaiolas plásticas esterilizadas (30 cm de comprimento x 15 cm de largura x 12 cm de altura). Após a emergência, as larvas permaneceram nestes recipientes até atingirem a fase de pupa (Fig.1). Folhas de couve orgânica (*B. oleracea* var. *acephala*) higienizadas com solução de hipoclorito de sódio a 5% e posteriormente lavadas em água corrente serviram como substrato de alimentação das larvas. As folhas de couve foram dispostas com a face abaxial livre, sendo distribuídas as larvas e, em seguida, colocada outra folha de couve com a face abaxial voltada para as larvas (Fig. 1). Este procedimento foi realizado diariamente, até a formação das pupas [38].

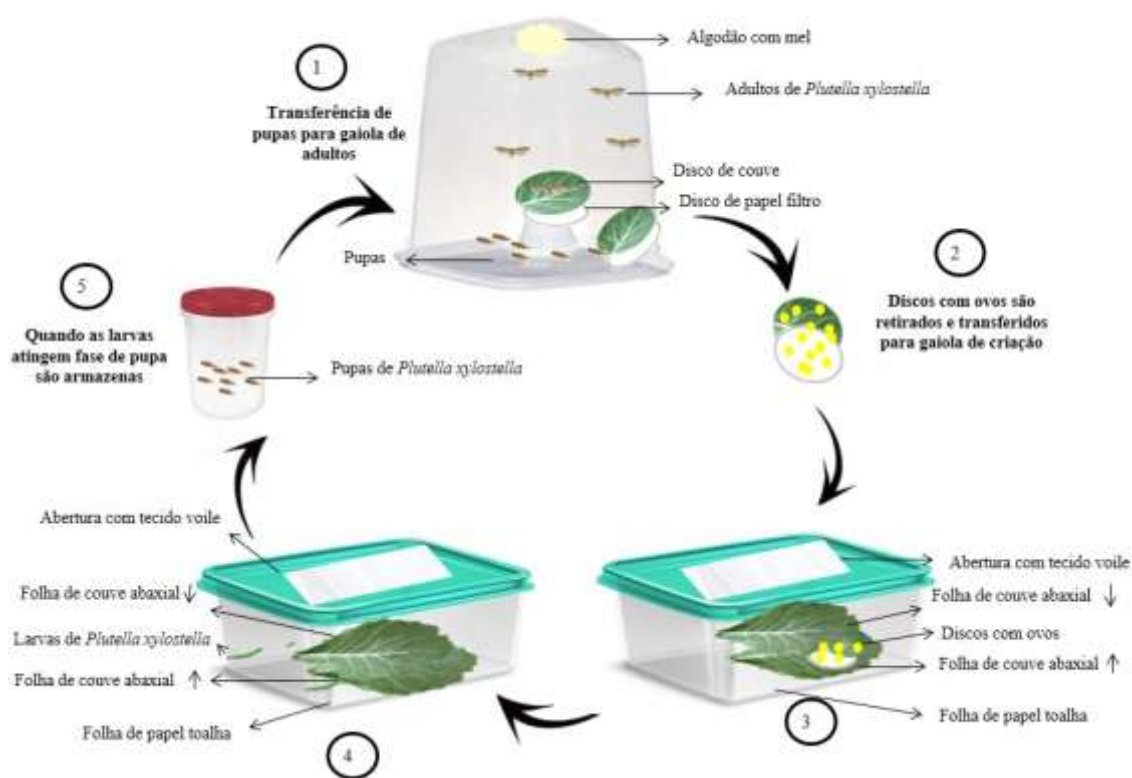


Figura 1. Esquema da metodologia adaptada para criação de *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae), em laboratório. Dourados, MS. 2021. Fonte: Imagem adaptada de [39].

2.2. Colera do material botânico

Folhas totalmente expandidas de *Ludwigia tomentosa* (Cambess.) H. Hara, de *Ludwigia longifolia* (DC.) H. Hara, de *Ludwigia sericea* (Cambess.) H. Hara e de *Ludwigia nervosa* (Poir.) H. Hara foram coletadas em Dourados, Mato Grosso do Sul (22°11'54.92"S; 54°46'52.15"O), no outono dos anos de 2018 e 2019, no período matutino, em uma área localizada na zona de transição entre Floresta Mata Atlântica e Cerrado em início de regeneração (sucessão secundária), com a predominância de herbáceas (gramíneas e samambaias) e arbustivas.

As espécies vegetais foram identificadas pelo Prof. Dr. Sandro Menezes, especialista do Laboratório de Botânica Aplicada, e os espécimes voucher (excicatas das espécies) foram depositados no herbário da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD) sob a numeração 6391 - *L. tomentosa*, 6389 - *L. longifolia*, 6388 - *L. sericea* e 6390 - *L. nervosa*. A coleta do material botânico foi autorizada pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e pelo Conselho de Gestão do Patrimônio Genético (CGEN / MMA) sob o número A9ECAC6.

2.3. Obtenção dos extratos aquosos

Inicialmente as folhas das espécies de *L. tomentosa*, *L. longifolia*, *L. sericea* e *L. nervosa* foram higienizadas e secas em estufa de circulação forçada de ar durante três dias na temperatura máxima de 40°C ($\pm 1^\circ\text{C}$). Posteriormente, essas folhas foram maceradas em moinho de facas industrial até a obtenção de um pó fino. Os extratos aquosos foram preparados a partir de 5 g da matéria vegetal (pó das folhas) e 50 mL de água destilada. Utilizou-se filtro de papel para separar o material sólido do extrato. Os extratos foram então acondicionados em vidros herméticos e mantidos refrigerados à 10°C por 24 horas. Foram obtidos extratos na concentração (peso / volume) a 10%.

2.4. Bioatividade dos extratos sobre *P. xylostella*

A metodologia de avaliação da bioatividade dos extratos vegetais foi baseada em [22]. Os testes foram conduzidos em laboratório à temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, $55 \pm 5\%$ de UR e fotoperíodo de 12 h. Discos de folha de couve (*Brassica oleracea* var. *acephala*) com 4 cm de diâmetro foram imersos nos diferentes tratamentos (4 extratos na concentração de 10%, e 1 controle), onde o tratamento controle consistiu de discos imersos água destilada. Posteriormente, os discos foram colocados sobre papel filtro por

10 min. para secaram em temperatura ambiente, para a remoção do excesso de umidade, e depois transferidos para placas de Petri. Em cada placa de Petri foram inseridas uma larva de *P. xylostella* recém-emergidas (0-24h). As larvas foram monitoradas até transformarem-se em pupas, obtendo-se assim o período de duração larval. A primeira avaliação da mortalidade foi feita em 48h após o confinamento das larvas nas placas de Petri, pois as larvas de primeiro ínstar permaneceram no parênquima foliar, contabilizando-se o número de indivíduos mortos e substituindo os discos de folha de couve por outros do mesmo tratamento. As avaliações seguintes foram realizadas diariamente e os discos de folha trocados a cada 24h até que as lagartas alcançassem a fase de pupa (sobrevivência larval) (Fig. 2).

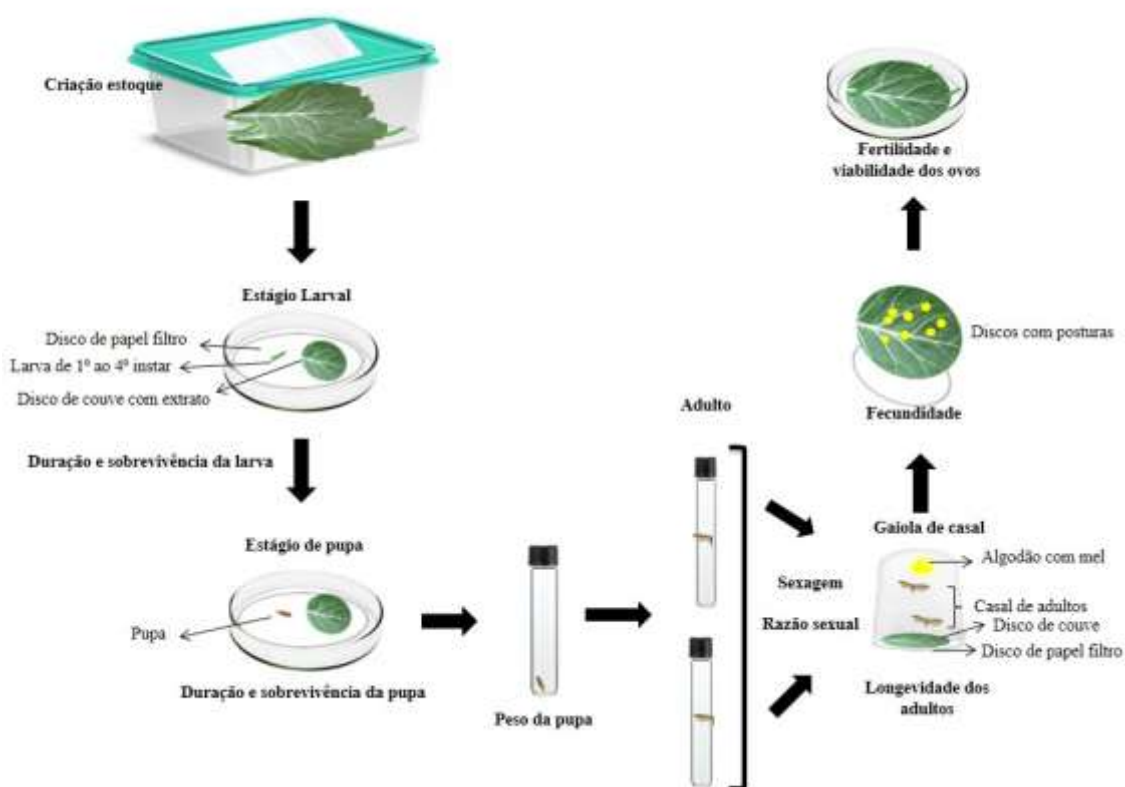


Figura 2. Detalhamento da metodologia utilizada para avaliação de parâmetros biológicos de *Plutella xylostella* após exposição aos extratos aquosos de *L. tomentosa*, *L. longifolia*, *L. sericea* e *L. nervosa* em laboratório. Dourados, MS. 2021. Fonte: Imagem adaptada de [39].

As pupas foram pesadas em balança analítica (Bel Mark Analytical Balance - 0,001 g) 24 horas após a pupação (peso das pupas) e individualizadas em tubos de ensaio até que os adultos emergissem (sobrevivência pupal). Posteriormente, dez casais (0-24h)

de cada tratamento, foram individualizados em gaiolas (24 cm de comprimento, 19 cm de largura 10 cm de altura), com discos de folhas de couve (8 cm de diâmetro) trocados diariamente e servindo de substrato de oviposição para avaliar o desempenho reprodutivo. Os discos com ovos foram transferidos para placas de Petri para contagem do número de ovos (fecundidade) e acompanhamento da eclosão (fertilidade), sendo avaliados sob microscópio estereoscópio marca Motic série SMZ-168.

A duração (dias) e a sobrevivência (%) de larvas e pupas, o peso de pupas (mg), longevidade de fêmeas e de machos (dias), razão sexual [RS= fêmea/ (fêmea + macho)], fecundidade (número total de ovos ovipositados), fertilidade (número de larvas recém-emergidas) e viabilidade dos ovos (porcentagem de sobrevivência) foram os parâmetros avaliados.

2.5 Determinação do conteúdo polifenólico total

O total polifenólico foi determinado de acordo com o método de reagente de Folin-Ciocalteu [40] em uma amostra de 1000 µg mL⁻¹. A absorvância foi analisada por espectrofotômetro (FENTO 700 PLUS) (λ = 760 nm). O ácido gálico (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) foi usado como padrão em concentrações variando de 5 a 1000 µg mL⁻¹. Os resultados foram expressos em miligramas de ácido gálico por grama do peso seco do extrato.

2.6 Determinação de flavonoides totais

Os flavonoides totais foram determinados usando solução de metanol AlCl₃ a 2% a 1000 µL que foi adicionado aos extratos (1000 µg mL⁻¹). Após 15 min de incubação, a absorvância da mistura final foi medida usando espectrofotômetro (FENTO 700 PLUS) (λ = 430 nm) [40]. A rutina (Sigma-Aldrich, EUA) foi utilizada como padrão em concentrações variando de 1 a 50 µg mL⁻¹. 50 µg / mL. O teor de flavonoides foi expresso em miligramas por gramas de peso seco do extrato.

2.7 Determinação de tanino condensado

Para o teor de tanino condensado, as amostras foram misturadas com 5 mL de vanilina-HCl (8% de HCl aquoso concentrado e 4% de vanilina em metanol). O metanol

foi usado como branco e uma curva padrão de catequina. A mistura foi incubada em banho-maria por 20 min e, em seguida, a absorbância foi medida a 510 nm [41]. Os resultados foram expressos em catequina miligramas por gramas de peso seco do extrato.

2.8 Determinação de alcaloides

A quantificação dos alcaloides totais das amostras foi determinada de acordo com o procedimento desenvolvido por [42]. Na análise, 40 mL de extrato na concentração de 1000 µg / mL foram utilizados e acidificados para pH 2-2,5 com HCl 1N e 4 mL de reagente Dragendorff e centrifugados a 2400 rpm e 30 minutos. O sobrenadante foi descartado e o resíduo foi tratado com 1 mL de álcool etílico solúvel; 2 mL de sulfito de sódio a 1% foram adicionados e centrifugados a 2400 rpm / 30 minutos, depois o sobrenadante foi descartado e o resíduo foi tratado com 2 mL de ácido nítrico concentrado; o conteúdo resultante foi transferido para balão volumétrico de 50 mL; o volume foi preenchido com água destilada; Posteriormente, 1mL desta solução foi tomado e 5 mL de 3% (p/ v) de tiourea foi adicionado; a mistura de ácido nítrico e tiourea foi usada como branco; para a amostra foi lida a 435 nm. A berberina Sigma – Adrich, St. Louis, MO, USA) foi empregada como padrão e a linearidade foi obtida entre 40 e 200 µg / mL. O teor de alcaloides foi expresso em miligramas por grama e peso seco do extrato.

2.9. Determinação da atividade antioxidante

A atividade antioxidante dos extratos foi avaliada usando o indicador de radical livre DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) [43]. A porcentagem de inibição por cada concentração foi usada para obter os valores de IC 50, correspondente à concentrações mínimas de antioxidante necessárias para reduzir a concentração inicial de DPPH em 50%. O experimento foi conduzido em sala sob abrigo de luz à 25 ± 1 ° C. Para calcular as concentrações inibitórias mínimas (IC 50), os extratos foram preparados com água destilada nas seguintes concentrações: 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100 µg / mL. Com base na atividade de sequestro das diferentes diluições da amostra, um gráfico foi traçado com o percentual de redução de DPPH no eixo Y e a concentração dos extratos (µg / mL) no eixo X para determinar a concentração da amostra necessária para reduzir 50% do DPPH e um coeficiente de correlação. Os coeficientes (r)

obtidos para as amostras foram 0,989 para *L. tomentosa*, 0,991 para *L. longifolia*, 0,990 para *L. sericea* e 0,986 para *L. nervosa*.

2.10. Análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos (4 extratos aquosos obtidos de 4 espécies do gênero *Ludwigia* e 1 controle) com 10 repetições de cinco subamostras, com um total de 50 larvas por tratamento. Na fase reprodutiva, cada repetição foi representada por uma gaiola contendo um casal de *P. xylostella* (n=10). A normalidade dos dados foi testada pelo teste de Shapiro-Wilk. Os resultados foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis ($p \leq 0,05$), pois não houve normalidade dos dados. Todas as análises (2,5, 2,6, 2,7, 2,8 e 2,9) foram realizadas em triplicata e os resultados são expressos como média $\pm$ intervalo de confiança (95%). Os dados foram analisados na plataforma e $p < 0,05$ foi considerado indicativo de diferenças significativas entre as amostras comparadas.

3.RESULTADOS

O extrato aquoso de *L. longifolia* prolongou a fase larval, de *P. xylostella* ($\chi^2 = 16,801$; $gl = 4$; $p = 0,0021$) (tabela 1). No entanto, *L. tomentosa* causou uma maior mortalidade em larvas de *P. xylostella* ($\chi^2 = 10,100$; $p = 0,0387$), além de, juntamente a *L. longifolia*, ter prolongado a duração das pupas ($\chi^2 = 9,8882$; $p = 0,0423$) (Tabela 1). A sobrevivência das pupas ($\chi^2 = 562$; $p = 0,2176$) e a razão sexual de *P. xylostella* não foram alteradas ($\chi^2 = 0,2849$; $gl = 4$, $p = 0,9908$) (tabela 1). Observou-se que o peso das pupas tratadas com *L. longifolia* (3,87 mg) e *L. tomentosa* (4,58 mg) foram significativamente reduzidos quando comparados ao controle (5,38 mg) ($\chi^2 = 21,202$; $p = 0,0002$) (Tabela 1). Na fase adulta de *P. xylostella*, os extratos não influenciaram significativamente a longevidade dos machos ($\chi^2 = 3,5399$; $p = 0,4718$), fêmeas ($\chi^2 = 6,6539$; $p = 0,1553$), e o período de oviposição ($\chi^2 = 3,2754$; $p = 0,5128$) (Tabela 2). Observou-se redução de fecundidade ($\chi^2 = 19,846$; $p = 0,0005$) (Tabela 2) e fertilidade de *P. xylostella* para o extrato de *L. tomentosa* ($\chi^2 = 11,421$; $p = 0,0222$). A viabilidade dos ovos foi reduzida apenas pelo extrato de *L. sericea* ($\chi^2 = 11,421$; $p = 0,0491$) (Tabela 2).

Tabela 1. Duração (dias) e sobrevivência (%) das larvas e das pupas, peso das pupas (mg) e razão sexual ($\pm$ EP) de *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) tratadas com extrato aquoso de *Ludwigia* spp. e mantidas à $25 \pm 2^\circ\text{C}$, 55 $\pm$ 5 de UR e, 12h fotoperíodo

Tratamentos	Fase larval		Fase pupal			
	Duração das larvas (dias)	Sobrevivência das larvas (%)	Duração das pupas (dias)	Sobrevivência das pupas (%)	Peso das pupas (mg)	Razão sexual
Controle	6,54 $\pm$ 0,24 b n= 50	88,00 $\pm$ 4,4 a n= 50	5,95 $\pm$ 0,13 b n= 44	93,50 $\pm$ 3,33 a n= 44	5,38 $\pm$ 0,15 a n= 44	0,38 $\pm$ 0,09 a n= 41
<i>L. tomentosa</i>	6,76 $\pm$ 0,32 ab n= 50	62,00 $\pm$ 7,0 b n= 50	6,47 $\pm$ 0,18 a n= 31	88,83 $\pm$ 4,71 a n= 31	4,58 $\pm$ 0,14 bc n= 31	0,43 $\pm$ 0,09 a n= 27
<i>L. longifolia</i>	7,72 $\pm$ 0,17 a n= 50	72,00 $\pm$ 6,8 ab n= 50	6,42 $\pm$ 0,14 a n= 35	77,30 $\pm$ 8,39 a n= 35	3,87 $\pm$ 0,27 c n= 35	0,42 $\pm$ 0,11 a n= 27
<i>L. sericea</i>	6,56 $\pm$ 0,13 b n= 50	80,00 $\pm$ 6,0 ab n= 50	6,25 $\pm$ 0,10 ab n= 40	97,50 $\pm$ 2,50 a n= 40	4,92 $\pm$ 0,13 ab n= 40	0,39 $\pm$ 0,09 a n= 39
<i>L. nervosa</i>	7,34 $\pm$ 0,29 ab n= 50	86,00 $\pm$ 5,2 ab n= 50	6,01 $\pm$ 0,11 ab n= 43	86,66 $\pm$ 4,86 a n= 43	5,11 $\pm$ 0,23 ab n= 43	0,45 $\pm$ 0,10 a n= 37

* Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Kruskal-Wallis ao nível de 5% de probabilidade. n= número de indivíduos avaliados.

Tabela 2. Longevidade de machos e de fêmeas (dias), período de oviposição (dias) e fecundidade, fertilidade (número de larvas recém-emergidas) e viabilidade dos ovos (porcentagem de sobrevivência) de *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) expostas aos extratos aquosos de *Ludwigia* spp. e mantidas à $25 \pm 2^\circ\text{C}$, 55 ± 5 de UR e, 12h fotoperíodo

Tratamentos	Longevidade de machos (dias)	Longevidade de fêmeas (dias)	Período de oviposição (dias)	Fecundidade	Fertilidade	Viabilidade dos ovos (%)
Controle	$19,10 \pm 1,81a$ n= 10	$18,60 \pm 1,5a$ n= 10	$13,90 \pm 0,8 a$ n= 10	$299,40 \pm 13,8 a$ n= 10	$185,60 \pm 15,0 a$ n= 10	$62,60 \pm 5,59 a$ n= 10
<i>L. tomentosa</i>	$21,70 \pm 2,02 a$ n= 10	$13,20 \pm 1,5 a$ n= 10	$11,30 \pm 1,5 a$ n= 10	$184,40 \pm 20,3 b$ n= 10	$88,60 \pm 17,0 b$ n= 10	$46,92 \pm 6,40 a$ n= 10
<i>L. longifolia</i>	$22,20 \pm 2,08 a$ n=10	$18,40 \pm 1,7 a$ n= 10	$13,40 \pm 1,0 a$ n= 10	$210,90 \pm 10,0 ab$ n= 10	$129,80 \pm 18,3 ab$ n= 10	$62,05 \pm 8,54 a$ n= 10
<i>L. sericea</i>	$22,70 \pm 1,80 a$ n= 10	$16,30 \pm 1,0 a$ n= 10	$12,30 \pm 1,1 a$ n= 10	$297,70 \pm 29,3 a$ n= 10	$110,90 \pm 24,2 ab$ n= 10	$38,13 \pm 7,41 b$ n= 10
<i>L. nervosa</i>	$17,50 \pm 1,96 a$ n= 10	$17,70 \pm 1,7 a$ n= 10	$13,70 \pm 1,5 a$ n= 10	$229,50 \pm 31,6 ab$ n= 10	$115,40 \pm 24,1 ab$ n= 10	$47,39 \pm 7,72 a$ n= 10

* Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Kruskal-Wallis ao nível de 5% de probabilidade. n= número de indivíduos avaliados.

A atividade antioxidante foi mais expressiva para *L. longifolia*, *L. sericea*, *L. tomentosa* e *L. nervosa* respectivamente. Assim como compostos fenólicos, flavonoides, taninos condensados e alcaloides foram encontrados em quantidades mais expressivas nos extratos de *L. nervosa*, *L. tomentosa*, *L. sericea* e *L. longifolia*, respectivamente (Tabela 3).

Tabela 3. Atividade antioxidante (IC 50 - concentração inibitória mínima), compostos fenólicos, taninos condensados, flavonoides e alcaloides dos extratos aquosos de *Ludwigia* spp.

Extratos	Atividade antioxidante	Compostos fenólicos	Flavonoides	Taninos condensados	Alcaloides
	IC50 ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	(mg g^{-1})	(mg g^{-1})	(mg g^{-1})	(mg g^{-1})
<i>L. tomentosa</i>	$12,8 \pm 0,3$	$299,4 \pm 0,7$	$162,3 \pm 0,9$	$32,5 \pm 0,2$	$11,2 \pm 0,1$
<i>L. longifolia</i>	$14,9 \pm 0,4$	$289,7 \pm 0,8$	$144,9 \pm 0,8$	$30,9 \pm 0,1$	$10,4 \pm 0,1$
<i>L. sericea</i>	$13,5 \pm 0,2$	$291,5 \pm 1,2$	$153,7 \pm 1,5$	$31,8 \pm 0,1$	$10,7 \pm 0,1$
<i>L. nervosa</i>	$9,6 \pm 0,1$	$312,4 \pm 0,9$	$188,8 \pm 1,3$	$34,3 \pm 0,2$	$12,5 \pm 0,2$

4.DISCUSSÃO

O efeito de antibiose ocorrido pelos extratos de *L. tomentosa*, *L. longifolia* e *L. sericea* foi caracterizada pela ocorrência de mortalidade acentuada dos indivíduos na fase larval, reduções nos parâmetros de peso das pupas, fecundidade, fertilidade e da porcentagem de viabilidade dos ovos. Esse fenômeno ocorre quando substâncias interferem ou inibem o consumo alimentar, promovendo alterações morfológicas e fisiológicas, que requerem intensa atividade bioquímica [44,45,46,47].

A triagem fitoquímica mostrou que as espécies de *Ludwigia* spp. apresentaram todas as classes de compostos aqui investigadas (compostos fenólicos, flavonoides, taninos condensados e alcaloides) e atividade antioxidante de forma que os resultados encontrados neste estudo são atribuídos a algumas dessas classes. O prolongamento da fase larval observada no tratamento com *L. longifolia* é devido a presença de substâncias que dificultam a alimentação por estenderem o estágio larval devido a uma menor conversão dos alimentos ingeridos [48]. Ocasionalmente, isso pode levar à morte das larvas, principalmente quando se utiliza o extrato de *L. tomentosa*, conforme observamos.

Também pode ter causado a redução nos pesos das pupas quando as larvas foram tratadas com os extratos de *L. tomentosa* e *L. longifolia*.

Estudos com herbívoros demonstraram sua capacidade de bloquear o consumo foliar, inibir a digestão e, também, criar radicais livres. Este último pode romper a membrana e causar distúrbios no intestino dos insetos [49], além de retardar o desenvolvimento da pupa [50], conforme observado para todos os extratos estudados.

Os flavonoides são responsáveis pelo crescimento reduzido das larvas [51] e sobrevivência das pupas [52], alimentação prejudicada, inibição da digestão e liberação de radicais livres [53]. Flavonóides como a quercetina 3-arabinosídeo, quercetina 3-glicosídeo e quercetina 3-rutinosídeo já foram identificados em algumas espécies de *Ludwigia* [54] e capazes de atuar como fagodeterrentes, dependendo das concentrações utilizadas [35].

Os taninos são outra classe de compostos com efeitos anti-alimentares [55]. Os alcaloides observados também podem interferir no controle neuroendócrino pela inativação da acetilcolinesterase nas larvas, causando neurotoxicidade [56], além de diminuição do peso e aumento da mortalidade. Isso é indicado por uma diminuição significativa nas proteínas, glicogênio, lipídios e na atividade da enzima digestiva α -amilase [36].

Ao interferir na alimentação das larvas (sem causar a morte), os compostos podem influenciar o número de ovários e, portanto, reduzir a produção de ovos [57]. Estudos demonstraram o impacto biológico do flavonoide rutina na fertilidade e sobrevivência de ovos de *P. xylostella* [22], bem como do alcaloide piperina em ovos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) [58]. Este mesmo alcaloide foi encontrado em *L. hyssopifolia* (G. Don) Exell [59]. A presença tanto de flavonoides quanto de alcaloides pode explicar alguns dos resultados referentes à fertilidade, número de larvas recém emergidas e quantidade de ovos que sobreviveram dos extratos de *L. tomentosa* e *L. sericea*.

Ao analisar os compostos fenólicos, flavonoides, taninos condensados, alcaloides e atividade antioxidante de cada espécie, foram encontradas diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$). As espécies que apresentaram bioatividade neste estudo não foram as que apresentaram maiores quantidades de compostos fenólicos, flavonoides, alcaloides e taninos condensados. *L. sericea*, *L. longifolia* e *L. tomentosa* apresentaram maior atividade antioxidante, que pode estar diretamente ligada à presença de certos

flavonoides como a quercetina [60]. No entanto, ainda é necessário continuar estudando esses casos para entender as interações sinérgicas entre os compostos.

Dentre as espécies de *Ludwigia* aqui estudadas, a triagem fitoquímica de compostos mostrou que *L. nervosa* possui maior quantidade de compostos fenólicos, flavonoides, taninos e alcaloides. No entanto, o uso do extrato aquoso dessa planta em *P. xylostella* não reduziu o número de insetos nos testes que realizamos. Algumas ideias são levantadas e devem ser melhor estudadas, como o uso de outros solventes e o uso de outras partes da planta (casca do caule e folhas) - fatores que podem influenciar os resultados obtidos [61]. Tais achados estão bem descritos na literatura científica, com estudos mostrando que o extrato aquoso da casca do caule de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville a 10% não afetou a oviposição de *P. xylostella* [62]. No entanto, o extrato aquoso da folha na mesma concentração inibiu a oviposição das fêmeas [63]. Em outro estudo, o extrato metanólico das folhas e casca do caule de *S. adstringens* suprimiu a oviposição em todas as concentrações testadas, causando uma diminuição na fertilidade e no número de larvas recém-emergidas [28].

5. CONCLUSÃO

Os extratos aquosos de *L. tomentosa*, *L. longifolia* e *L. sericea* apresentaram biotividade sobre *P. xylostella*, pois alteraram negativamente importantes características biológicas do inseto-praga. O extrato de *L. longifolia* prolongou a fase larval e pupal e reduziu o peso das pupas, sendo que as duas últimas características também foram modificadas a partir da exposição ao extrato de *L. tomentosa*, que também ocasionou mortalidade larval, redução de fecundidade e fertilidade; e o extrato de *L. sericea* foi responsável por baixa viabilidade dos ovos. Além disso, os extratos aquosos dessas plantas continham compostos fenólicos, flavonoides, taninos condensados e alcaloides, substâncias que são capazes de inibir o consumo de alimentos e interferir nas transformações morfológicas e fisiológicas da prole e oviposição de adultos.

6.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Furlong, M.J.; Wright, D.J.; Dosdall, L.M. Diamondback Moth Ecology and Management: Problems, Progress, and Prospects. *Annu. Rev. Entomol.* **2013**, *58*, 517–541.
2. De Bortoli, S.A.; Polanczyk, R.A.; Vacari, A.M.; Bortoli, C.P.; Duarte, R.T. *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae): Tactics for integrated pest management in Brassicaceae. In *Weed and Pest Control—Conventional and New Challenges*; Soloneski, S., Larramendy, M., Eds.; Intech: Rijeka, Croatia, 2013; pp. 31–52.
3. Jaleel, W.; Saeed, S.; Naqqash, M.N.; Sial, M.U.; Ali, M.; Zaka, S.M.; Sarwar, Z.M.; Ishtiaq, M.; Qayyum, M.A.; Aine, Q.U.; et al. Effects of temperature on baseline susceptibility and stability of insecticide resistance against *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) in the absence of selection pressure. *Saudi J. Biol. Sci.* **2020**, *27*, 1–5.
4. Mohammed, S.; Lamoree, M.; Ansa-Asare, O.D.; Boer, J. Review of the analysis of insecticide residues and their levels in different matrices in Ghana. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2019**, *171*, 361–372.
5. Williamson, S.; Ball, A.; Pretty, J. Trends in pesticide use and drivers for safer pest management in four African countries. *Crop Prot.* **2008**, *27*, 1327–1334.
6. Pimentel, D. Environmental and economic costs of the application of pesticides primarily in the United States. In *Integrated Pest Management: Innovation-Development Process*; Peshin, R., Dhawan, A.K., Eds.; Springer: Dordrecht, The Netherlands, 2009; Volume 1, pp. 89–111.
7. Shakeel, M.; Farooq, M.; Nasim, W.; Akram, W.; Khan, F.Z.A.; Jaleel, W.; Zhu, X.; Yin, H.; Li, S.; Fahad, S.; et al. Environment polluting conventional chemical control compared to an environmentally friendly IPM approach for control of diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.), in China: A review. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2017**, *24*, 14537–14550.
8. Navarro-Silva, M.A.; Marques, F.A.; Duque, L.; Jonny, E. Review of semiochemicals that mediate the oviposition of mosquitoes: A possible sustainable tool for the control and monitoring of Culicidae. *Rev. Bras. Entomol.* **2009**, *53*, 1–6.

9. Abtew, A.; Subramanian, S.; Cheseto, X.; Kreiter, S.; Garzia, G.T.; Martin, T. Repellency of plant extracts against the legume flower thrips *Megalurothrips sjostedti* (Thysanoptera: Thripidae). *Insects* **2015**, *6*, 608–625.
10. Rodríguez-González, Á.; Álvarez-García, S.; González-López, Ó.; Da Silva, F.; Casquero, P.A. Insecticidal Properties of *Ocimum basilicum* and *Cymbopogon winterianus* against *Acanthoscelides obtectus*, Insect Pest of the Common Bean (*Phaseolus vulgaris*, L.). *Insects* **2019**, *10*, 151.
11. Cuadrado, J.L.C.; Pinillos, E.O.; Tito, R.; Mirones, C.S.; Mendoza, N.N.G. Insecticidal Properties of Capsaicinoids and Glucosinolates Extracted from *Capsicum chinense* and *Tropaeolum tuberosum*. *Insects* **2019**, *10*, 132.
12. Sayed, S.M.; Alotaibi, S.S.; Gaber, N.; Elarnaouty, S.A. Evaluation of Five Medicinal Plant Extracts on *Aphis craccivora* (Hemiptera: Aphididae) and Its Predator, *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae) under Laboratory Conditions. *Insects* **2020**, *11*, 398.
13. Inocente, E.A.; Nguyen, B.; Manwill, P.K.; Benatrehina, A.; Kweka, E.; Wu, S.; Cheng, X.; Rakotondraibe, L.H.; Piermarini, P.M. Insecticidal and antifeedant activities of Malagasy medicinal plant (*Cinnamosma* sp.) extracts and drimane-type sesquiterpenes against *Aedes aegypti* mosquitoes. *Insects* **2019**, *10*, 373.
14. Lucas, P.W.; Turner, I.M.; Dominy, N.J.; Yamashita, N. Mechanical defences to herbivory. *Ann. Bot.* **2000**, *86*, 913–920.
15. Hagstrum, D.W.; Aphillips, T.W. Evolution of Stored-Product Entomology: Protecting the World Food Supply. *Annu. Rev. Entomol.* **2017**, *62*, 379–397.
16. Kedia, A.; Prakash, B.; Mishra, P.K.; Singh, P.; Dubey, N.K. Botanicals as eco-friendly biorational alternatives of synthetic pesticides against *Callosobruchus* spp. (Coleoptera: Bruchidae)—A review. *J. Food Sci. Technol.* **2015**, *52*, 1239–1257.
17. Dubey, N.; Shukla, R.; Kumar, A.; Singh, P.; Prakash, B. Global scenario on the application of natural products in integrated pest management programmes. *Nat. Prod. Plant Pest Manag.* **2011**, *1*, 1–20.
18. Amoabeng, B.W.; Gur, G.M.; Gitau, C.W.; Nicol, H.I.; Munyakazi, L.; Stevenson, P.C. Tri-trophic insecticidal effects of African plants against cabbage pests. *PLoS ONE* **2013**, *8*, 78651.
19. Charleston, D.S.; Gols, R.; Hordijk, K.A.; Kfir, R.; Vet, L.E.M.; Dicke, M. Impact of botanical pesticides derived from *Melia azedarach* and *Azadirachta*

- indica* plants on the emission of volatiles that attract parasitoids of the diamondback moth to cabbage plants. *J. Chem. Ecol.* **2006**, 32, 325–349.
20. Charleston, D.S.; Kfir, R.; Dicke, M.; Vet, L.E.M. Impact of botanical extracts derived from *Melia azedarach* and *Azadirachta indica* on populations of *Plutella xylostella* and its natural enemies: A field test of laboratory findings. *Biol. Control* **2006**, 39, 105–114.
 21. Souza, S.A.; Couto, I.F.S.; Silva, M.P.; Cardoso, C.A.L.; Scalón, S.P.Q.; Ferreira, F.F.; Carvalho, E.M.; Mussury, R.M. Aqueous extracts of species of the genus *Campomanesia* (Myrtaceae) affect biological characteristics of *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae). *J. Agric. Sci.* **2019**, 11, 20–28.
 22. Peres, L.L.S.; Sobreiro, A.I.; Couto, I.F.S.; Silva, R.M.; Pereira, F.F.; Heredia-Vieira, S.C.; Cardoso, C.A.L.; Mauad, M.; Scalón, S.P.Q.; Verza, S.S.; et al. Chemical compounds and bioactivity of aqueous extracts of *Alibertia* spp. in the control of *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae). *Insects* **2017**, 8, 125.
 23. Amália, A.V.; Yusa, M.H. Control pest of leaf caterpillars (*Plutellaxylostella*) in delima rose apples using soursop leaf extract (*Annona muricata*). *J. Pendidik. IPA Indones* **2018**, 7, 1–8.
 24. Couto, I.F.S.; Verza, S.; Valente, F.I.; Senna, B.; Souza, S.A.; Mauad, M.; Mussury, R.M. Botanical Extracts of the Brazilian Savannah Affect Feeding and Oviposition of *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae). *J. Agric. Sci.* **2019**, 11, 322.
 25. Couto, I.F.; Fuchs, M.L.; Pereira, F.F.; Mauad, M.; Scalón, S.P.Q.; Dresch, D.M.; Mussury, R.M. Feeding preference of *Plutella xylostella* for leaves treated with plant extracts. *An. Acad. Bras. Ciênc.* **2016**, 88, 1781–1789.
 26. 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 *Plutella xylostella*. *Bragantia* **2006**, 65, 447–457.
 27. Trindade, R.C.P.; Araújo Junior, J.X.; Sant’Ana, A.E.G.; Aquino, P.G.V.; Silva Sousa, R.; Araújo Costa, A.P.A. Utilização de extratos aquosos de *Aspidosperma macrocarpum* sobre diferentes estágios de lagartas da traça-das-crucíferas, em couve. *Rev. Ciênc. Agric.* **2014**, 12, 21–26.

28. Fonseca, J.; Couto, I.F.S.; Matias, R.S.; Fioratti, C.A.G.; Pereira, F.F.; Mauad, M.; Scalon, S.P.Q.; Carvalho, E.M.; Mussury, R.M. Efeito de extratos metanólicos de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville na alimentação e reprodução de *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae). *Interciencia* **2018**, *43*, 182–187.
29. Fouad, H.A.; Camara, C.A.G. Chemical composition and bioactivity of peel oils from *Citrus aurantiifolia* and *Citrus reticulata* and enantiomers of their major constituent against *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *J. Stored Prod. Res.* **2017**, *73*, 30–36.
30. Chai, T.T.; Ooh, K.F.; Quah, Y.; Wong, F.C. Edible freshwater macrophytes: A source of anticancer and antioxidative natural products—A mini-review. *Phytochem. Rev.* **2015**, *14*, 443–457.
31. Mabou, F.D.; Jean, D.D.T.; Ngokam, D.; Voutquenne-Nazabadioko, L.; Kuiate, J.R.; Bag, P.K. Complex secondary metabolites from *Ludwigia leptocarpa* with potent antibacterial and antioxidant activities. *Drug Discov. Ther.* **2016**, *10*, 141–149.
32. Kadum Yakob, H.; Manaf Uyub, A.; Fariza Sulaiman, S. Toxicological evaluation of 80% methanol extract of *Ludwigia octovalvis* (Jacq.) P. H. Raven leaves (Onagraceae) in BALB/c mice. *J. Ethnopharmacol.* **2012**, *142*, 663–668.
33. Ahmed, F.; Selim, M.S.T.; Shilpi, J.A. Antibacterial activity of *Ludwigia adscendens*. *Fitoterapia* **2005**, *76*, 473–475.
34. Oyedele, O.; Oziegbe, M.; Taiwo, F.O. Antibacterial, antifungal and phytochemical analysis of crude extracts from the leaves of *Ludwigia abyssinica* A. Rich. and *Ludwigia decurrens* Walter. *J. Med. Plants Res.* **2011**, *5*, 1192–1199.
35. Diaz Napal, G.N.; Defago, M.T.; Valladares, G.R.; Palacios, S.M. Response of *Epilachna paenulata* to two flavonoids, pinocembrin and quercetin, in a comparative study. *J. Chem. Ecol.* **2010**, *36*, 898–904.
36. Bouayad, N.; Rharrabe, K.; Lamhamdi, M.; Nourouti, N.G.; Sayah, F. Dietary effects of harmine, a β -carboline alkaloid, on development, energy reserves and α -amylase activity of *Plodia interpunctella* Hübner (Lepidoptera: Pyralidae). *Saudi J. Biol. Sci.* **2012**, *19*, 73–80.
37. Procópio, T.F.; Fernandes, K.M.; Pontual, E.V.; Ximenes, R.M.; Oliveira, A.R.C.; Santana Souza, C.; Melo, A.M.M.A.; Navarro, D.M.A.F.; Paiva, P.M.G.; Martins,

- G.F.; et al. *Schinus terebinthifolius* leaf extract causes midgut damage, interfering with survival and development of *Aedes aegypti* larvae. *PLoS ONE* **2015**, *10*, e0126612.
38. Barros, R.; Thuler, R.T.; Pereira, F.F. Técnica de criação de *Plutella xylostella* (L. 1758) (Lepidoptera: Yponomeutidae). In *Técnicas de Criação de Pragas de Importância Agrícola, em Dietas Naturais*, 1st ed.; Pratissoli, D., Ed.; Edufes: Vitória, Brasil, 2012; pp. 65–84.
 39. Matias da Silva, R.; Fioratti, C.A.G.; Silva, G.B.; Cardoso, C.A.L.; Miranda, L.O.; Mauad, M.; Mussury, R.M. Antibiose do extrato foliar de *Duguetia furfuracea* sobre *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). In *Temas Atuais em Ecologia Comportamental e Interações. Anais do II BecInt—Behavioral Ecology and Interactions Symposium*, 1st ed.; Calixto, E.S., Toreza-Silingardi, H.M., Eds.; Editora Composer: Uberlândia, Brasil, 2017; Volume 1, pp. 52–69. ISBN 978-85-8324-057-0. (In Portuguese)
 40. Djeridane, A.; Yousfi, M.; Nadjemi, B.; Boutassouna, D.; Stocker, P.; Vidal, N. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chem.* **2006**, *97*, 654–660.
 41. Broadhurst, R.B.; Jones, W.T. Analysis of condensed tannins using acidified vanillin. *J. Sci. Food Agric.* **1978**, *29*, 788–794.
 42. Oliveira, M.A.C.; Albuquerque, M.M.; Xavier, H.S.; Strattmann, R.R.; GrangeiroJúnior, S.; Queiroz, A.T. Development and validation of a method for the quantification of total alkaloids as berberine in an herbal medicine containing *Berberis vulgaris* L. *Rev. Bras. Farmacogn.* **2006**, *16*, 357–364.
 43. Kumaran, A.; Karunakaranm, R.J. Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of *Coleus aromaticus*. *Food Chem.* **2006**, *97*, 109–114.
 44. Duffey, S.S.; Isman, M.B. Inhibition of insect larval growth by phenolics in glandular trichomes of tomato leaves. *Experientia* **1981**, *37*, 574–576.
 45. Isman, M.B.; Duffey, S.S. (Toxicity of tomato phenolic compounds to the fruitworm, *Heliothiszea*. *Entomol. Exp. Appl.* **1982**, *31*, 370–376.
 46. Summers, C.B.; Felton, G.W. Pro oxidant effects of phenolic acids on the generalis herbivore *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae): Potential mode of action for phenolic compounds in plantanti-herbivore chemistry. *Insect Biochem. Mol. Biol.* **1994**, *24*, 943–953.

47. Pan, L.; Ren, L.; Chen, F.; Feng, Y.; Luo, Y. Antifeedant activity of *Ginkgo Biloba* secondary metabolites against *Hyphantria cunea* larvae: Mechanisms and applications. *PLoS ONE* **2016**, *11*, 155682.
48. Tanzubil, P.B.; Mccaffery, A.R. Effects of azadirachtin and aqueous neem seed extracts on survival, growth and development of the African armyworm, *Spodoptera exempta*. *Crop Prot.* **1990**, *9*, 383–386.
49. Baldin, E.L.L.; Vendramim, J.D.; Lourenção, A.L. *Resistência de Plantas a Insetos: Fundamentos e Aplicações*; FEALQ: Piracicaba, Brazil, 2019.
50. Aluja, M.; Birkea, A.; Ceymannb, M.; Guilléna, L.; Arrigonib, E.; Baumgartnerb, D.; Pascacio-Villafána, C.; Samietzb, J. Agroecosystem resilience to an invasive insect species that could expand its geographical range in response to global climate change. *Agric. Ecosyst. Environ.* **2014**, *186*, 54–63.
51. Stamp, N.E.; Skrobola, C.M. Failure to avoid rutin diets results in altered food utilization and reduced growth rate of *Manduca sexta* larvae. *Entomol. Exp. Appl.* **1993**, *68*, 127–142.
52. Silva, T.R.F.B.; Almeida, A.C.S.; Moura, T.L.; Silva, A.R.; Freitas, S.S.; Jesus, F.G. Effect of the flavonoid rutin on the biology of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Acta Sci. Agron.* **2016**, *38*, 165–170.
53. Appel, H.M. Phenolics in ecological interactions: The importance of oxidation. *J. Chem. Ecol.* **1993**, *19*, 1521–1552.
54. Averett, J.E.; Zardini, E.M.; Hoch, P.C. Flavonoid systematics of ten sections of *Ludwigia* (Onagraceae). *Biochem. Syst. Ecol.* **1990**, *18*, 529–532.
55. Lago, J.H.G.; Brochini, C.B.; Roque, N.F. Terpenoids from *Guarea guidonia*. *Phytochemistry* **2002**, *60*, 333–338.
56. Acheuk, F.; Doumandji-Mitiche, B. Insecticidal activity of alkaloids extract of *Pergularia tomentosa* (Asclepiadaceae) against fifth instar larvae of *Locusta migratoria cinerascens* (Fabricius 1781) (Orthoptera: Acrididae). *Int. J. Mol. Sci.* **2013**, *3*, 8–13.
57. Costa, E.L.; Silva, N.R.F.P.; Fiúza, L.M. Efeitos, aplicações e limitações de extratos de plantas inseticidas. *Acta Biol. Leopold.* **2004**, *26*, 173–185.
58. Tavares, W.S.; Cruz, I.; Petacci, F.; Freitas, S.S.; Serratilde, J.E.; Zanuncio, J.C. Insecticide activity of piperine: Toxicity to eggs of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera:

- Pyralidae) and phytotoxicity on several vegetables. *J. Med. Plants Res.* **2011**, *5*, 5301–5306.
59. Das, B.; Kundu, J.; Bachar, S.C.; Uddin, M.A.; Kundu, J.K. Antitumor and antibacterial activity of ethylacetate extract of *Ludwigia hyssopifolia* linn and its active principle piperine. *Pak. J. Pharm. Sci.* **2007**, *20*, 128–131.
60. Xu, D.; Hu, M.J.; Wang, Y.Q.; Cui, Y.L. Antioxidant activities of quercetin and its complexes for medicinal application. *Molecules* **2019**, *24*, 1123.
61. Roel, A.R.; Vendramim, J.D.; Frighetto, R.T.; Frighetto, N. Atividade tóxica de extratos orgânicos de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). *An. Soc. Entomol. Bras.* **2000**, *29*, 799–808.
62. Medeiros, C.A.M.; Boica, A.L., Jr.; Leite, A. L Efeito de extratos aquosos de plantas na oviposição da traça-das-crucíferas, em couve. *Bragantia* **2005**, *64*, 227–232.
63. Jesus, F.G.; Paiva, L.A.; Gonçalves, V.C.; Marques, M.A.; Boiça, A., Jr. Efeito de plantas inseticidas no comportamento e biologia de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Arq. Inst. Biol. São Paulo* **2011**, *78*, 279–285.

CAPÍTULO II - Triagem fitoquímica e atividade biológica de extratos etanólicos de
Ludwigia spp. sobre *Plutella xylostella* (L.1758) (Lepidoptera: Plutellidae)

*Manuscrito formatado nas normas na Revista *Insects* - ISSN: 2075-4450

**Triagem fitoquímica e atividade biológica de extratos etanólicos de *Ludwigia* spp.
sobre *Plutella xylostella* (L.1758) (Lepidoptera: Plutellidae)**

Eliana Aparecida Ferreira¹, Rosilda Mara Mussury¹

¹ Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais da Universidade Federal da Grande Dourados, Rodovia Dourados-Itahum, km 12, Dourados, Mato Grosso do Sul 79804-970, Brasil;

RESUMO

A busca por meios para o controle de *Plutella xylostella* (L.1758) (Lepidoptera: Plutellidae), principal praga das Brassicaceae, tem sido estimulada pelo impacto ambiental dos inseticidas utilizados e relatos de populações resistentes. Os extratos botânicos surgem como alternativa de controle devido a presença de uma gama de substâncias químicas, denominadas metabólitos secundários, que causam mortalidade, interferem na alimentação ou reprodução. Sendo assim, verificou-se a atividade biológica de extratos etanólicos de *Ludwigia* spp. sobre *P. xylostella*. Avaliou-se parâmetros associados ao estágio larval e oviposição da espécie-praga, bem como, a análise fitoquímica dos extratos para determinação de classes de compostos. Os extratos de *L. longifolia* e *L. nervosa*, não provocaram mudanças significativas em nenhum dos parâmetros avaliados. Em contrapartida, os extratos de *L. tomentosa* e *L. sericea* causaram antibiose em indivíduos de *P. xylostella*, onde o peso das pupas e a fertilidade dos ovos (larvas recém-emergidas) foram reduzidos, respectivamente. A triagem fitoquímica mostrou que as quatro espécies possuem grupos de compostos que foram responsáveis pelas alterações identificadas no desenvolvimento da espécie-praga.

PALAVRAS- CHAVE: Antibiose; Bioinseticida; Efeito antialimentar; Traça-das-crussíferas.

ABSTRACT

The search for new compounds for the control of *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae), the main pest of the Brassicas culture, has been stimulated by the environmental impact of the insecticides currently used and reports of resistant populations. Botanical extracts appear as an alternative form of control due to the presence of a range of chemical substances, called secondary metabolites, which can cause totality, anti-food effects or suppression of oviposition. Thus, we verify the biotivity of ethanol extracts from *Ludwigia* spp. biology of *P. xylostella*. To this end, we carry out a bioassay to assess development and reproduction. We also performed the phytochemical analysis of the extracts in order to verify the presence and quantity of flavonoids, phenolic compounds, alkaloids and condensed tannins, in addition to the anti-toxicity activity. The extract of *L. tomentosa* was bioactive in the pupal phase of *P. xylostella*, and stood out in relation to the other species studied here, as it reduced pupal survival and weight. The *L. sericea* extract reduced the number of emerged larvae, compromising the female reproductive system. However, *L. longifolia* and *L. nervosa*, despite also presenting all classes of compounds that were analyzed in the study, did not cause significant changes on biology of *P. xylostella*. The extracts of *L. tomentosa* and *L. sericea* caused antibiosis in individuals of *P. xylostella* and can be used for population control of the species based on the results obtained.

Keywords: Antibiosis; Bioinsecticide; Antifeedant; Diamondback moth.

1.INTRODUÇÃO

Plutella xylostella (L.1758) (Lepidoptera: Plutellidae), popularmente conhecida como traça-das-crucíferas, é a principal praga das hortaliças pertencentes a família Brassicaceae [1]. Estratégias de controle utilizando inseticidas sintéticos tem apresentado falhas, uma vez que o inseto pode ter desenvolvido resistência a eles [2,3], inclusive ao biopesticida, *Bacillus thuringiensis* [4,5] devido a má utilização e aplicação dos produtos.

O Manejo Integrado de Pragas (MIP) preconiza a combinação de diferentes métodos de controle, incluindo o desenvolvimento e a utilização de inseticidas botânicos [6,7] que podem apresentar menor toxicidade, multiplicidade de modos de ação [8], além de conter inúmeros aleloquímicos com mecanismos de ação diferentes e complexos que podem atrasar a evolução da resistência à esses inseticidas [9].

Algumas espécies do gênero *Ludwigia* mostram-se como fontes promissoras de fitoquímicos antioxidantes [10,11]), com atividade antibacteriana [12,13], e antifúngica [14]. Em estudo com extratos aquosos de *Ludwigia* ssp. foi verificado que estas apresentam perfil fitoquímico capazes de alterar negativamente parâmetros biológicos ligados ao desenvolvimento das larvas e desempenho reprodutivo dos adultos de *P. xylostella*, assim adicionando a literatura informações de que o extrato aquosos de espécies do gênero também possuem potencial inseticida contra o inseto-praga [15].

Diferentes solventes são usados para a extração de substâncias presentes em extratos vegetais, visto que a solubilidade de uma substância orgânica esta relacionada principalmente com sua estrutura molecular e com a polaridade das ligações, podendo elas serem polares ou apolares [16]. Considerando que cada solvente possui a capacidade de solubilizar diferentes substâncias químicas, e a inexistência de informações sobre quais os efeitos que os extratos etanólicos de espécies de *Ludwigia* possuem sobre o ciclo de vida de *P. xylostella*, objetivou-se investigar a capacidade dos extratos etanólicos de *Ludwigia* spp. em afetar negativamente o desenvolvimento e reprodução de *P. xylostella*.

2.MATERIAL E MÉTODOS

Os bioensaios foram realizados no laboratório de Interação Inseto-Planta na Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Dourados, MS, Brasil. A preparação dos extratos e a determinação das classes de compostos foi realizada no Laboratório de

Química da Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul (UEMS), Dourados, MS, Brasil.

2.1. Coleta do Material botânico

Folhas totalmente expandidas da parte média e superior das plantas de *Ludwigia tomentosa* (Cambess.) H. Hara, *Ludwigia longifolia* (DC.) H. Hara, *Ludwigia sericea* (Cambess.) H. Hara e *Ludwigia nervosa* (Poir.) H. Hara foram coletadas em Dourados Mato Grosso do Sul (22°11'54.92"S; 54°46'52.15"O), no período matutino, nas estações de outono dos anos de 2018 e 2019. A autorização para coleta de material botânico foi concedida pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) / Conselho de Gestão do Patrimônio Genético (CGEN / MMA) sob o número de cadastro A9ECAC6. Os espécimes voucher foram depositados no herbário da Universidade Federal da Grande Dourados- UFGD sob a numeração 6391 – *L. tomentosa*, 6389 - *L. longifolia*, 6388 – *L. sericea* e 6390 – *L. nervosa*.

2.2. Obtenção dos extratos etanólicos

Inicialmente as folhas das espécies de *L. tomentosa*, *L. longifolia*, *L. sericea* e *L. nervosa* foram higienizadas e secas em estufa de circulação forçada de ar durante três dias a 40°C $\pm$ 1°C e, maceradas em moinho de facas industrial até a obtenção de um pó fino. Utilizou-se 75 g de folhas em 300mL de álcool (95%) por 7 dias consecutivos. Este processo foi realizado por 5 vezes consecutivas, totalizando 1,5 L de extrato. O extrato filtrado foi concentrado em rotaevaporador a 60°C e pressão reduzida. Obteve-se: Massa de 6,48g para *L. sericea* e rendimento de 8,64%; massa de 14,62g para *L. tomentosa* com rendimento de 19,49%; a massa de 28,81g para *L. nervosa* e rendimento de 38,41% e; massa de 14,68g para *L. longifolia* e rendimento de 19,57%. Solubilizou-se 2g do extrato em 200 mL de água destilada para obtenção da concentração de 1%, contudo o extrato apresentou solubilização de 60%, sendo assim, a concentração final foi de 0,6%. Os extratos foram então acondicionados em vidros herméticos e mantidos refrigerados (10 °C)

2.3. Criação e manutenção de *Plutella xylostella*

Larvas e pupas de *P. xylostella* coletadas em áreas de cultivo de couve (*Brassica oleracea* var. *acephala*) nas cidades de Dourados e Itaporã, foram levadas ao laboratório com condições constantes de temperatura ($25 \pm 2^\circ\text{C}$), umidade relativa ($55 \pm 5\%$) e fotoperíodo (12 h) para multiplicação. As larvas foram mantidas em gaiolas plásticas (30 cm de comprimento x 15 cm de largura x 12 cm de altura) esterilizadas durante toda a fase larval, e foram alimentadas com folhas de couve orgânica devidamente higienizada com solução de hipoclorito de sódio a 5% e posteriormente lavadas em água corrente (Fig. 1).

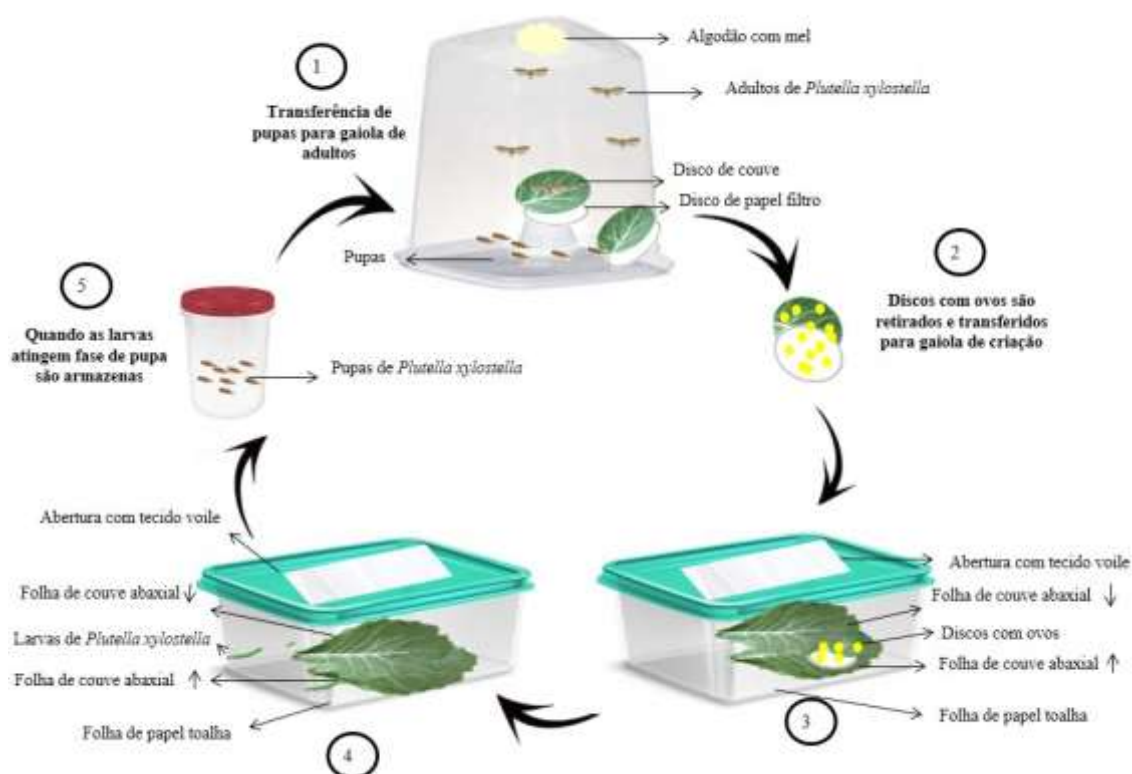


Figure 1. Esquema da metodologia usada para criação de *Plutella xylostella* em laboratório. Dourados, MS. 2021. Fonte: Imagem adaptada de Matias et al., 2017[17]

Os indivíduos em estágio de pupa foram transferidos para gaiola plástica transparente (9 cm de comprimento x 19 cm de largura x 19 cm de altura) para a emergência dos adultos e posteriormente a cópula. Os adultos foram alimentados com solução de mel de abelha *Apis mellifera* L. a 10%. Discos de couve com 8 cm de diâmetro foram colocados sobre papel de filtro e utilizados como substrato de oviposição, sendo conjunto trocado diariamente, e os discos com ovos transferidos para vasilhas esterilizadas de plástico, reiniciando o ciclo (Fig. 1) [18].

2.4. Bioatividade dos extratos sobre *P. xylostella*

Os testes de bioatividade dos extratos etanólicos sobre larvas de *P. xylostella* foram conduzidos em laboratório em condições constantes de temperatura ($25 \pm 2^\circ\text{C}$), umidade relativa ($55 \pm 5\%$) e fotoperíodo (12 h). Discos de folha de couve (*Brassica oleracea* var. acephala com 4 cm de diâmetro) foram imersos nos respectivos extratos etanólicos (4 *Ludwigia* sp.) e água destilada (tratamento controle) por 1(um) minuto, e distribuídos em bandejas plásticas para secarem naturalmente por 20 minutos. Posteriormente, larvas de primeiro instar foram retiradas da criação (n= 50) estoque e dispostas em placas de Petri (9 cm de diâmetro), com um disco de papel filtro (9 cm de diâmetro), e um disco de couve tratado. A primeira contagem de mortalidade das larvas (sobrevivência larval) ocorreu após 48h do início do bioensaio, haja vista que no primeiro instar as larvas possuem hábito minador e geramente estão no parênquima foliar. As contagens seguintes e substituição dos discos tratados foram realizadas a cada 24h até que as larvas alcançassem a fase de pupa (duração larval) (Fig. 2).

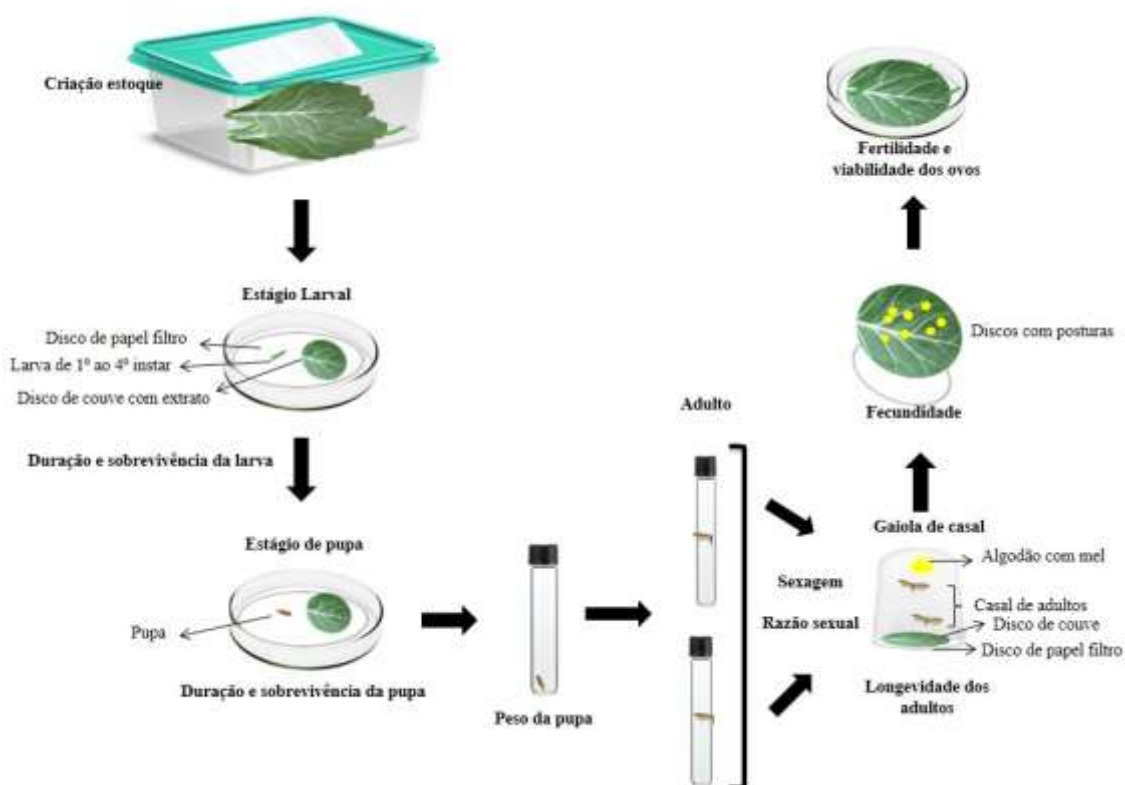


Figura 2. Detalhamento da metodologia experimental para determinar parâmetros biológicos de *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae), após a exposição

aos extratos aquosos de *L. tomentosa*, *L. longifolia*, *L. sericea* e *L. nervosa* em laboratório. Dourados, MS. 2021. Fonte: Imagem adaptada de Matias et al. [17]

Após a formação das pupas, estas foram individualizadas em tubos ensaio onde permenceram até a emergência dos adultos sendo avaliada a sobrevivência e duração desse estágio (duração do estágio de pupa). As pupas, após 24 h do empupamento, foram pesadas em balança analítica (Bel Mark Analytical Balance - 0,001 g).

Após a emergência dos adultos, foi realizada a sexagem e calculada a razão sexual [RS= fêmea/ (fêmea + macho)] para cada tratamento. Posteriormente foram formados casais de *P. xylostella* (0 – 24h), oriundos dos tratamentos controle (n= 6), e dos referidos extratos de *L. tomentosa* (n= 3), *L. longifolia* (n= 5), *L. sericea* (n= 7) e *L. nervosa* (n=5).

Os casais foram individualizados em gaiolas plásticas (24 cm de comprimento, 19 cm de largura 10 cm de altura), com discos de folhas de couve (8 cm de diâmetro) como substrato de oviposição. Também foram obtidos dados para a longevidade dos adultos (dias) e o período de oviposição (dias). Diariamente substituiu-se os discos de couve e avaliou-se o número de ovos (fecundidade) sob microscópio estereoscópio e providenciou-se o acompanhamento da avaliação da fertilidade (larvas recém-emergidas) e a porcentagem de viabilidade (sobrevivência) dos ovos.

2.5. Análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos (4 extratos etanólicos oriundos de plantas do gênero *Ludwigia* e 1 controle) com 10 repetições de cinco subamostras, com um total de 50 larvas por tratamento. Na fase reprodutiva, cada repetição foi representada por uma gaiola contendo um casal de *P. xylostella*. A normalidade dos dados foi testada pelo teste de Shapiro-Wilk. Os resultados foram submetidos ao teste não paramétrico Kruskal Wallis ($P \leq 0,05$). Todas as análises (2,5; 2,6; 2,7; 2,8 e 2,9) foram realizadas em triplicata e os resultados são expressos como média $\pm$ intervalo de confiança (95%). Os dados foram analisados na plataforma R e $p < 0,05$ foi considerado indicativo de diferenças significativas entre as amostras comparadas.

3.RESULTADOS

Não foi observada diferença significativa entre os tratamentos para os parâmetros de duração larval ($\chi^2 = 0,5817$, $gl = 4$, $p = 0,9651$) e das pupas ($\chi^2 = 7,8284$, $gl = 4$, $p = 0,0980$) e para a sobrevivência das larvas ($\chi^2 = 6,9483$, $gl = 4$, $p = 0,1386$) (Tabela 1).

As pupas resultantes das larvas expostas ao extrato de *L. tomentosa* apresentaram sobrevivência significativamente reduzida em relação aos tratamentos com *L. longifolia* e *L. sericea* ($\chi^2 = 10,246$, $gl = 4$, $p = 0,0364$) (Tabela 1). Em contrapartida, o peso das pupas foi marcadamente reduzido, para o tratamento *L. tomentosa* em relação ao controle ($\chi^2 = 9,4024$, $gl = 4$, $p = 0,0517$). Não houve diferença significativa para razão sexual ($\chi^2 = 5,1936$, $gl = 4$, $p = 0,2680$) (Tabela 1), longevidade de machos ($\chi^2 = 3,5938$, $gl = 4$, $p = 0,4638$) e de fêmeas ($\chi^2 = 0,2076$, $gl = 4$, $p = 0,9950$) (Tabela 2). Ao considerarmos o período de oviposição ($\chi^2 = 1,8867$, $gl = 4$, $p = 0,7566$), e a fecundidade ($\chi^2 = 4,6862$, $gl = 4$, $p = 0,3210$), e a viabilidade dos ovos ($\chi^2 = 7,7312$, $gl = 4$, $p = 0,1019$), não houve diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 2). A fertilidade foi marcadamente reduzida para o extrato de *L. sericea* ($\chi^2 = 9,4586$, $gl = 4$, $p = 0,0506$) (Tabela 2).

Tabela 1. Duração (dias) e sobrevivência (%) das larvas e das pupas, peso das pupas (mg) e razão sexual ($\pm$ EP) de *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) expostas ao extrato etanólico de *Ludwigia* spp. e mantidas à $25 \pm 2^\circ\text{C}$; 55 ± 5 de UR e; 12h fotoperíodo

	Fase larval				Fase pupal	
	Duração das larvas (dias)	Sobrevivência das larvas (%)	Duração das pupas (dias)	Sobrevivência das pupas (%)	Peso das pupas (mg)	Razão sexual
Controle	$6,06 \pm 0,31$ a n= 50	$80,00 \pm 5,16$ a n= 50	$6,65 \pm 0,15$ a n= 40	$85,00 \pm 9,57$ ab n= 40	$6,21 \pm 0,18$ a n= 40	$0,69 \pm 0,11$ a n= 34
<i>L. tomentosa</i>	$5,90 \pm 0,87$ a n= 50	$36,66 \pm 9,54$ a n= 50	$5,41 \pm 1,09$ a n= 18	$52,83 \pm 13,21$ b n= 18	$3,58 \pm 1,13$ b n= 18	$0,25 \pm 0,17$ a n= 9
<i>L. longifolia</i>	$6,23 \pm 0,44$ a n= 50	$63,33 \pm 9,54$ a n= 50	$7,15 \pm 0,13$ a n= 31	$96,66 \pm 3,33$ a n= 31	$6,23 \pm 0,30$ a n= 31	$0,42 \pm 0,06$ a n= 30
<i>L. sericea</i>	$6,43 \pm 0,34$ a n= 50	$70,00 \pm 13,41$ a n= 50	$7,33 \pm 0,40$ a n= 35	$96,66 \pm 3,33$ a n= 35	$5,63 \pm 0,39$ ab n= 35	$0,49 \pm 0,14$ a n= 34
<i>L. nervosa</i>	$6,20 \pm 0,48$ a n= 50	$53,33 \pm 14,29$ a n= 50	$5,75 \pm 1,17$ a n= 26	$72,50 \pm 16,00$ ab n= 26	$4,76 \pm 0,98$ ab n= 26	$0,41 \pm 0,15$ a n= 18

*Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Kruskal-Wallis ao nível de 5% de probabilidade. n= número de indivíduos avaliados.

Tabela 2. Longevidade de machos e de fêmeas (dias), período de oviposição (dias), fecundidade, fertilidade (número de larvas recém-emergidas) e viabilidade dos ovos (%) de *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) expostas aos extratos etanólicos de *Ludwigia* spp. e mantidas à $25 \pm 2^\circ\text{C}$; 55 ± 5 de UR e; 12h fotoperíodo

Tratamentos	Longevidade de machos (dias)	Longevidade de fêmeas (dias)	Período de oviposição (dias)	Fecundidade	Fertilidade	Viabilidade dos ovos (%)
Controle	$19,83 \pm 1,70$ a n= 6	$15,00 \pm 1,18$ a n= 6	$10,33 \pm 0,91$ a n= 6	$326,50 \pm 29,19$ a n= 6	$255 \pm 21,48$ a n= 6	$79,17 \pm 3,83$ a n= 6
<i>L. tomentosa</i>	$17,66 \pm 4,91$ a n= 3	$13,66 \pm 2,18$ a n= 3	$8,33 \pm 0,88$ a n= 3	$215,00 \pm 70,67$ a n= 3	$137 \pm 60,57$ ab n= 3	$56,00 \pm 13,00$ a n= 3
<i>L. longifolia</i>	$17,60 \pm 3,62$ a n= 5	$15,80 \pm 2,87$ a n= 5	$9,00 \pm 2,34$ a n= 5	$228,40 \pm 64,94$ a n= 5	$106,00 \pm 52,47$ ab n= 5	$33,60 \pm 14,78$ a n= 5
<i>L. sericea</i>	$18,28 \pm 3,12$ a n= 7	$15,71 \pm 2,96$ a n= 7	$10,00 \pm 1,52$ a n= 7	$172,57 \pm 47,05$ a n= 7	$99,28 \pm 33,65$ b n= 7	$51,43 \pm 12,22$ a n= 7
<i>L. nervosa</i>	$23,80 \pm 0,58$ a n= 5	$14,80 \pm 3,78$ a n= 5	$8,00 \pm 2,38$ a n= 5	$236,8 \pm 43,58$ a n= 5	$159,4 \pm 29,46$ ab n= 5	$67,80 \pm 7,48$ a n= 5

*Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Kruskal-Wallis ao nível de 5% de probabilidade. n= número de indivíduos avaliados

4.DISCUSSÃO

Alguns fitoquímicos presentes nas plantas são dissuasores ou inibidores da alimentação em larvas de *P. xylostella* [19], e quando o extrato botânico é aplicado sobre as folhas de couve para o controle da espécie-praga agem como inibidores, podendo ser capazes de mascarar os compostos estimulantes de alimentação existentes naquele substrato de alimentação [20], o que explica a redução do peso das larvas de *P. xylostella* ocasionado pelo extrato etanólico de *L. tomentosa*. Os compostos fenólicos são considerados bloqueadores do consumo foliar, devido à sensação de adstringência graças a capacidade dos compostos de precipitar proteínas; inibidores de digestão; e formadores de radicais livres que possuem ação tóxica levando a ruptura da membrana e distúrbio do metabolismo no epitélio intestinal do inseto [21]. Outro fator que deve ser levado em consideração, é a ativação do mecanismo citocromo P-450, ferramenta utilizada pelos insetos para a desintoxicação defensiva [22], onde existe maior gasto de energia para degradar os compostos tóxicos e menor conversão dos nutrientes ingeridos [23].

Quando as larvas ingerem compostos químicos capazes de provocar distúrbios metabólicos, os efeitos negativos tendem a surgir na fase de pupa, período de intensa atividade bioquímica devido as transformações morfológicas e fisiológicas que envolvem a participação de enzimas e hormônios, os quais podem ter sua atividade prejudicada pela ação do fitoquímico na fase larval, devido a redução da assimilação de substâncias essenciais ou a formação de reservas [24]. Em estudos com o flavonoides rutina e quercetina, a rutina ocasionou redução do peso das pupas quando incorporado a dieta artificial das larvas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) [25], e a quercetina ocasionou modificação para o mesmo parâmetro biológico em *Anticarsia gemmatilis* Hübner (Lepidoptera. Noctuidae) [24]. Na literatura há relatos que *Ludwigia adscendens* (L.) H. Hara possui em sua composição os flavonoides quercetina [27,26], e rutina [27]. Considerando que espécies do mesmo gênero podem compartilhar substâncias bioativas, isso explica ação do extrato de *L. tomentosa*.

Embora não tenha sido observada redução no número de posturas, a utilização do extrato de *L. sericea*, reduziu a fertilidade dos ovos de *P. xylostella*. A redução do número das larvas recém-emergidas pode estar associada a quantidade ou qualidade de nutrientes absorvidos na fase larval, que pode influenciar o número de ovários por ovário e reduzir a produção e a qualidade dos ovos [28]. Bioinseticidas, além de ação letal, podem alterar

vários aspectos da fisiologia e do desenvolvimento, reduzindo a aptidão reprodutiva de adultos que foram expostos a substância na fase larval [29]. A partir da redução da fertilidade dos ovos, também haverá redução do número de indivíduos na próxima geração, consequentemente causando menos danos às lavouras [19].

As plantas geralmente apresentam um conjunto de substâncias responsáveis pela defesa contra herbívoros, e algumas podem agir sinergeticamente, sendo capazes de potencializar a eficácia de outras por uma variedade de mecanismos [30], e assim provocar alterações morfológicas e/ou fisiológicas sobre um inseto. Acreditamos que os extratos etanólicos de *L. longifolia* e *L. nervosa* não apresentaram bioatividade sobre *P. xylostella*, apesar de também possuírem as classes de compostos investigados, devido a variedade de fitoquímicos que cada espécie possui, visto que cada extrato pode ou não afetar diferentes características biológicas de uma espécie-praga, e a ocorrência de sinergia entre eles.

5.CONCLUSÃO

Os extratos etanólicos de *L. tomentosa* e *L. sericea* causaram efeito de antibiose pois alteraram negativamente parâmetros biológicos, como peso e a fertilidade dos ovos (larvas recém-emergidas), respectivamente, de *P. xylostella*. Tais achados foram atribuídos à presença de fitoquímicos pertencentes às classes de compostos investigadas, pois afetaram a alimentação e a capacidade reprodutiva de *P. xylostella*.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Li, Y.; Feng, Y.; Lv, G.; Liu, B.; Qi, A. The phylogeny of *Alyssum* (Brassicaceae) inferred from molecular data. *Nord. J. Bot.* **2015**, 33(6):715-721.
2. Furlong M.J.; Wright D.J.; Dosdall L.M. 2013. Diamondback moth ecology and management: Problems, progress, and prospects. *Annu. Rev. Entomol.* **2013** 58:517-541.
3. Agboyi, L. K.; Ketoh, G. K.; Martin, T.; Glitho, I. A.; Tamo, M. Pesticide resistance in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) populations from Togo and Benin. *Int. J. Trop. Insect Sci.* **2016**, 36(4):204-210.
4. Tabashnik, B.E.; Cushing, N.L.; Finson, N.; Johnson, M.W. Field development of resistance to *Bacillus thuringiensis* in diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae). *J. Econ. Entomol.* **1990**, 83(5):1671-1676.
5. Shelton, A.M.; Robertson, J.L.; Tang, J.D.; Perez, C.; Eigenbrode, S.D.; Preisler, H.K.; Wilsey, W.T.; Cooley, R.J. Resistance of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) to *Bacillus thuringiensis* subspecies in the field. *J. Econ. Entomol.* **1993**, 86(3):697-705.
6. Cárdenas-Ortega, N. C.; González-Chávez, M. M.; Figueroa-Brito, R.; Flores-Macías, A.; Romo-Asunción, D.; Martínez-González, D. E.; Ramos-López, M. A. Composition of the essential oil of *Salvia ballotiflora* (Lamiaceae) and its insecticidal activity. *Molecules* **2015**, 20:8048-8059.
7. Gao, Y.; Wang, Y.; Li, J.; Shang, S.; Song, Z. 2018. Improved application of natural forest product terpene for discovery of potential botanical fungicide. *Ind Crops Prod* **2018**, 126:103-112.
8. Deletre, E.; Schatz, B.; Bourguet, D.; Chandre, F.; Williams, L.; Ratnadass, A.; Martin, T. Prospects for repellent in pest control: Current developments and future challenges. *Chemoecology* **2016**, 26(4):127-142.
9. Miresmailli, S.; Isman, M.B. X. Botanical insecticides inspired by plant-herbivore chemical interactions. *Trends Plant Sci.* **2014**, 19(1):29-35.
10. Yakob, H.K.; Uyub, A.M.; Sulaiman, S.F. Toxicological evaluation of 80% methanol extract of *Ludwigia octovalvis* (Jacq.) PH Raven leaves (Onagraceae) in BALB/c mice. *J. Ethnopharmacol.* **2012**, 142, 663–668.

11. Chai, T.T.; Ooh, K.F.; Quah, Y.; Wong, F.C. Edible freshwater macrophytes: A source of anticancer and antioxidative natural products - A mini-review. *Phytochem Rev.* **2015**, *14*:443-457.
12. Ahmed, F.; Selim, M.S.T.; Shilpi, J.A. Antibacterial activity of *Ludwigia adscendens*. *Fitoterapia* **2005**, *76*, 473–475.
13. Mabou, F.D.; Jean, D.D.T.; Ngnokam, D.; Voutquenne-Nazabadioko, L.; Kuiate, J.R.; Bag, P.K. Complex secondary metabolites from *Ludwigia leptocarpa* with potent antibacterial and antioxidant activities. *Drug Discov. Ther.* **2016**, *10*, 141–149.
14. Oyedeji, O.; Oziegbe, M.; Taiwo, F.O. Antibacterial, antifungal and phytochemical analysis of crude extracts from the leaves of *Ludwigia abyssinica* A. Rich. and *Ludwigia decurrens* Walter. *J. Med. Plants Res.* **2011**, *5*, 1192–1199.
15. Ferreira, E.A.; de Souza, S.A.; Domingues, A.; Da Silva, M.M.M.; Padial, I.M.P.M.; Carvalho, E.M.; Cardoso, C.A.L.; da Silva, S.V.; Mussury, R.M. 2020. Phytochemical screening and bioactivity of *Ludwigia* spp. in the control of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Insects*, *11*:596.
16. Martins, C.R.; Lopes, W.A.; Andrade, J.B.D. Solubilidade das substâncias orgânicas. *Química Nova* **2013**, *36*: 1248-1255.
17. Matias da Silva, R.; Fioratti, C.A.G.; Silva, G.B.; Cardoso, C.A.L.; Miranda, L.O.; Mauad, M.; Mussury, R.M. Antibiose do extrato foliar de *Duguetia furfuracea* sobre *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). In *Temas Atuais em Ecologia Comportamental e Interações. Anais do II BecInt—Behavioral Ecology and Interactions Symposium*, 1st ed.; Calixto, E.S.; Toreza-Silingardi, H.M.; Eds.; Editora Composer: Uberlândia, Brasil, 2017; Volume 1, pp. 52–69. ISBN 978-85-8324-057-0.
18. Barros R.; Thuler R.T.; Pereira F.F. Técnica de criação de *Plutella xylostella* (L. 1758) (Lepidoptera: Yponomeutidae). In: Pratissoli D.; editor. *Técnicas de Criação de Pragas de Importância Agrícola, em Dietas Naturais*. 1st ed. Edufes; Vitória, Brasil, 2012 pp. 65-84.
19. Maroneze, D. M.; Gallegos, D.M.N. Efeito de extrato aquoso de *Melia azedarach* no desenvolvimento das fases imatura e reprodutiva de *Spodoptera frugiperda* (JE

- Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). *Semina: Ciências Agrárias* **2009**, 30(3):537-549.
20. Vats, T.K.; Rawal, V.; Mullick, S.; Devi, M.R.; Singh, P.; Singh, A.K. Bioactivity of *Ageratum conyzoides* (L.) (Asteraceae) on feeding and oviposition behaviour of diamondback moth *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). *Int. J. Trop. Insect Sci.* **2019**, 39(4):311-318.
 21. Appel H.M. Phenolics in ecological interactions: The importance of oxidation. *J. Chem. Ecol.* **1993**, 19:1521-1552.
 22. Breuer, M.; Hoste, B.; De Loof, A.; Nagvi, S.N.H. Effect of *Melia azedarach* extract on the activity of NADPH-cytochrome c reductase and cholinesterase in insects. *Pestic Biochem Phy.* **2003**, 76:99-103.
 23. Tanzubil P.B.; Mccaffery A.R. Effects of azadirachtin and aqueous neem seed extracts on survival, growth and development of the African armyworm, *Spodoptera exempta*. *J. Crop Prot.* **1990** 9:383-386.
 24. Gazzoni, D.L.; Hulsmeyer, A.; Hoffmann-Campo, C.B. Efeito de diferentes doses de rutina e de quercetina na biologia de *Anticarsia gemmatilis*. *Pesqui. Agropecu. Bras.* **1997**, 32:673–681.
 25. Silva, T.R.F.B.; Almeida, A.C.S.; Moura, T.L.; Silva, A.R.; Freitas, S.S.; Jesus, F.G. Effect of the flavonoid rutin on the biology of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Acta Sci. Agron.* **2016**, 38:165-170.
 26. Glasby, J. S. Directory of Plants Containing Secondary Metabolites. CRC Press, 1991.
 27. Marzouk, M.S.; Soliman, F.M.; Shehata, I.A.; Rabee, M.; Fawzy, G.A. Flavonoids and biological activities of *Jussiaea repens*. *Nat. Prod. Res.* **2007**, 21(5):436-443.
 28. Costa E.L.; Silva N.R.F.P.; Fiúza L.M. Efeitos, aplicações e limitações de extratos de plantas inseticidas. *Acta Biol. Leopold.* **2004**, 26:173-185.
 29. Napoleão, T.H.; Albuquerque, L.P.; Santos, N.D.L.; Nova, I.C.V.; Lima, T.A.; Paiva, P.M.G.; Pontual, E.V. 2019. Insect midgut structures and molecules as targets of plantderived protease inhibitors and lectins. *Pest Manag. Sci.* **2019**, 75:1212–1222.

30. Berenbaum, M. Brementown revisited: allelochemical interactions in plants.
Recent Adv. Phytochem. **1985**, 19:139-169.

CAPÍTULO III - Bioatividade de espécies de *Ludwigia* L. (Myrtales: Onagraceae) sobre a oviposição e alimentação de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae)

* Artigo publicado na Revista *Plants* - ISSN: 2223-7747

Bioatividade de espécies de *Ludwigia* L. (Myrtales: Onagraceae) sobre a oviposição e alimentação de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae)

Eliana Aparecida Ferreira¹, Rosilda Mara Mussury¹

¹ Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais da Universidade Federal da Grande Dourados, Rodovia Dourados-Itahum, km 12, Dourados, Mato Grosso do Sul 79804-970, Brasil;

RESUMO

As plantas produzem uma grande variedade de compostos bioativos com propriedades inseticidas, como metabólitos secundários capazes de interferir na nutrição e reprodução de espécies-praga como *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). Sendo assim, o objetivo dessa pesquisa foi averiguar o efeito dos extratos aquosos e etanólicos de *Ludwigia* spp. (Myrtales: Onagraceae) sobre a alimentação e oviposição de *P. xylostella*. Os testes de plasticidade alimentar e de oviposição com chance de escolha foram realizados utilizando-se extratos aquosos e etanólicos de *Ludwigia* spp. O extrato aquoso de *L. tomentosa* resultou em redução de aproximadamente 81% na alimentação larval em relação ao controle, com Índice Antialimentar (IA) de 52%. Os extratos aquoso e etanólico de *L. nervosa* atuaram estimulando a alimentação larval. A oviposição foi significativamente reduzida nas folhas de couve tratadas com extratos aquoso e etanólico de *Ludwigia* spp. Os extratos aquosos promoveram uma redução média de 90% na oviposição quando comparados ao controle, e um Índice de Dissuasão de Oviposição (ODI) acima de 61% foi classificado como impedimento de oviposição. Além disso, os extratos etanólicos afetaram 81% da oviposição, com um ODI acima de 41%. Bioensaios devem ser realizados para esclarecer o uso dos extratos aquoso e etanólico de *L. nervosa*, pois atuaram como fagoestimulantes nos testes de alimentação e como deterrentes nos testes de oviposição. Os extratos de *L. longifolia* e *L. tomentosa* apresentaram os melhores resultados, interferindo na escolha do hospedeiro para alimentação e oviposição em *P. xylostella* e representando uma alternativa para o controle da traça-das-crucíferas.

PALAVRAS- CHAVE: Antixenose; Bioinseticida; Dissuasão de oviposição; Fagodeterrente; Fagoestimulante.

ABSTRACT

Plants produce a wide variety of bioactive compounds with insecticidal properties, such as secondary metabolites capable of interfering with the nutrition and reproduction of pest species such as *Plutella xylostella*. Thus, the objective of this study was to evaluate the effects of aqueous and ethanolic extracts of *Ludwigia* spp. (Onagraceae) on the feeding and oviposition of *P. xylostella*. Choice bioassays were performed using aqueous and ethanolic extracts. The aqueous extract of *L. tomentosa* resulted in an approximately 81% reduction in larval feeding compared to that in the control, with an antifeedant index (AI) of 52%. The aqueous and ethanolic extract of *L. nervosa* acted by stimulating larval feeding. The oviposition was significantly reduced in the kale leaves treated with aqueous and ethanolic extracts of *Ludwigia* spp. The aqueous extracts promoted an average 90% reduction in oviposition when compared to that in the control, and an oviposition deterrent index (ODI) above 61% was classified as an oviposition deterrent. In addition, ethanolic extracts affected 81% of oviposition, with an ODI above 41%. Bioassays should be performed to clarify the use of aqueous and ethanolic extracts of *L. nervosa* as they acted as phagostimulants in the feeding tests and as deterrents in the oviposition tests. The extracts of *L. longifolia* and *L. tomentosa* showed the best results, interfering with the host choice for feeding and oviposition in *P. xylostella* and representing an alternative for the control of diamondback moths.

Keywords: Antixenosis; Bioinsecticide; Dissuasion of oviposition; Phagodeterrent; Phagostimulant.

1. INTRODUÇÃO

A traça-das-crucíferas (*Plutella xylostella* L.) (Lepidoptera: Plutellidae) é mundialmente reconhecida como uma importante espécie praga que ocasiona danos substanciais à cultura das brássicas, representadas por hortaliças como repolho, couve-flor, brócolis, couve, entre outras [1,2]. Os danos causados geralmente causam depreciação do produto no mercado, interfere no crescimento da planta provocando a morte ou perda total da produção [3]. O status de praga é mantido na ausência de inimigos naturais efetivos, e sua capacidade de desenvolver resistência a pesticidas sintéticos [4] que são a principal tática para o controle de pragas [5].

O rápido ciclo de vida de *P. xylostella*, associado a pressão de seleção constante causada por repetidas aplicações de inseticidas durante uma estação de crescimento, permitiu o inseto evoluir a resistência a uma ampla gama de inseticida, incluindo inseticidas sintéticos e toxinas de *Bacillus thuringiensis* [6]. Essa resistência, juntamente com a demanda do consumidor por produtos com baixo resíduo, destaca a necessidade de novos compostos para controlar o inseto [4].

Como resultado, houve um aumento na busca por métodos alternativos de controle de pragas, incluindo o controle de biopesticidas. Até o momento, existem quatro categorias de produtos botânicos comerciais eficazes: piretrinas, rotenonas, azadiractinas e óleos essenciais [7]. O controle de insetos usando compostos derivados de plantas representa uma alternativa importante no manejo integrado de pragas, pois as plantas produzem uma grande variedade de compostos bioativos com propriedades inseticidas, como metabólitos secundários capazes de interferir na nutrição, desenvolvimento, reprodução e sobrevivência [8,9,10], dissuasão, toxicidade, esterilidade e crescimento regulamentar [11,12,13]. Apesar de muitas dessas substâncias de origem natural estarem sujeitas a rápida degradação ambiental, elas contêm numerosos produtos químicos com mecanismos de ação diferentes e complexos que devem atrasar a evolução da resistência a inseticidas [14]. As substâncias bioativas são percebidas pelos insetos por sensilas, estrutura especializada da epiderme que atua como um receptor para a percepção de uma variedade de estímulos ambientais mediando o comportamento dos insetos [15].

Espécies de *Ludwigia* podem ser encontradas em grande parte do território brasileiro, em áreas úmidas ou alagadas [16]. As Espécies do gênero são reportadas na

literatura por apresentarem propriedades medicinais [17], antibacterianas [18], antioxidantes [19] e antifúngicas [20] e inseticidas [10].

Análises fitoquímicas mostraram que a espécie *Ludwigia adscendens* (L.) H. Hara contém flavonóides como a quercetina, além de terpenos, triterpenóides, outros fenóis, taninos e alcalóides [21]. *Ludwigia octavalvis* (Jacq.) P. H. Raven possui flavonóides, fenóis, saponinas, esteróides e taninos como metabólitos secundários [18]. No entanto, *Ludwigia abyssinica* A.Rich e *Ludwigia decurrens* Walter revelaram apenas a presença de alcalóides e taninos [20]. Triagens fitoquímicas mostraram que as espécies *Ludwigia tomentosa* (Cambess.) H. Hara, *Ludwigia longifolia* (DC.) H. Hara, *Ludwigia sericea* (Cambess.) H. Hara e *Ludwigia nervosa* (Poir.) H. Hara possuem metabólitos secundários como flavonoides, compostos fenólicos, taninos condensados e alcaloides, e que essas substâncias são capazes de inibir o consumo de alimentos e interferir nas transformações morfológicas e fisiológicas da prole de *P. xylostella* e na oviposição com exposição a extratos aquosos durante a fase larval [10].

Considerando que entender o modo de ação dos extratos permite que eles sejam usados de forma mais eficiente e que não há informações sobre o efeito de *Ludwigia* na escolha do hospedeiro para alimentação e oviposição, propomos testar a seguinte hipótese: os extratos aquoso e etanólico de *Ludwigia* spp. causam efeito antialimentar das larvas e pode dissuadir a oviposição em fêmeas de *P. xylostella*.

2.MATERIAL E MÉTODOS

Os extratos foram preparados e os bioensaios conduzidos no Laboratório de Interação Inseto-Planta da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais da Universidade Federal de Grande Dourados (UFGD) em Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil. Os bioensaios e a criação ocorreram em ambiente controlado com temperatura constante de 25 ± 2 °C, umidade relativa do ar de $55 \pm 5\%$ e fotoperíodo de 12h. As folhas de couve utilizadas nos experimentos foram coletadas de plantas que tinham aproximadamente a mesma idade, ou seja, cerca de 60 dias após o plantio, e foram adquiridas em hortas locais.

2.1. Material botânico

Folhas totalmente expandidas de *Ludwigia tomentosa* (Cambess.) H. Hara, de *Ludwigia longifolia* (DC.) H. Hara, de *Ludwigia sericea* (Cambess.) H. Hara e de *Ludwigia nervosa* (Poir.) H. Hara foram coletadas em Dourados, Mato Grosso do Sul (22°11'54.92"S; 54°46'52.15"O). O material botânico foi coletado pela manhã nas estações de outono dos anos de 2018 e 2019, durante as fases fenológicas de floração e frutificação. As espécies vegetais foram identificadas por especialista do Laboratório de Botânica Aplicada e os espécimes depositados no Herbário da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), com os seguintes números de registro: 6391 - *L. tomentosa*, 6389 - *L. longifolia*, 6388 - *L. sericea* e 6390 - *L. nervosa*. A coleta do material botânico foi autorizada pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e pelo Conselho de Gestão do Patrimônio Genético (CGEN / MMA) sob o número A9ECAC6.

2.2. Preparo dos extratos aquoso

As folhas coletadas previamente foram higienizadas e secas em estufa de ar forçado por 72 h a 40 °C $\pm$ 1 °C. Posteriormente, as folhas foram moídas em moinho industrial, sendo adicionados 5 g de matéria vegetal a 50 mL de água destilada. A solução permaneceu em ambiente refrigerado a 10 °C por 24 horas e, em seguida, foi filtrada com auxílio de papel de filtro para obtenção de extratos aquosos brutos na concentração de 10% (peso / volume).

2.3. Preparo dos extratos etanólico

As folhas foram secas em estufa de circulação forçada de ar durante três dias na temperatura máxima de 40°C ($\pm$ 1°C). Após esse período, as folhas foram trituradas em moinho industrial até a obtenção de um pó fino. Utilizamos 75 gramas de planta em 300ml de álcool (95%) por 7 dias consecutivos. Este processo foi realizado por 5 vezes consecutivas, totalizando 1,5 litros de extrato. O extrato filtrado foi concentrado em rotaevaporador a 60 °C, à pressão reduzida. Obtivemos massa 6,48g para *L. sericea* e rendimento de 8,64%; massa de 14,62g para *L. tomentosa* com rendimento de 19,49%; para *L. nervosa* a massa obtida foi de 28,81g e rendimento de 38,41%; para *L. longifolia*

a massa foi de 14,68g e o rendimento de 19,57%. Solubilizamos 2g do extrato em 200 mL de água destilada para obtermos a concentração de 1%, contudo o extrato apresentou solubilização de 60%, sendo assim, passamos a utilizar a concentração de 0,6%.

2.4. Criação de *Plutella xylostella*

A criação de *P. xylostella* (Figura 1) foi realizada a partir de pupas coletadas em área de plantio orgânico de *Brassica oleracea* var. *acephala*, localizada no município de Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil, seguindo a metodologia adaptada de Barros et al.[22].

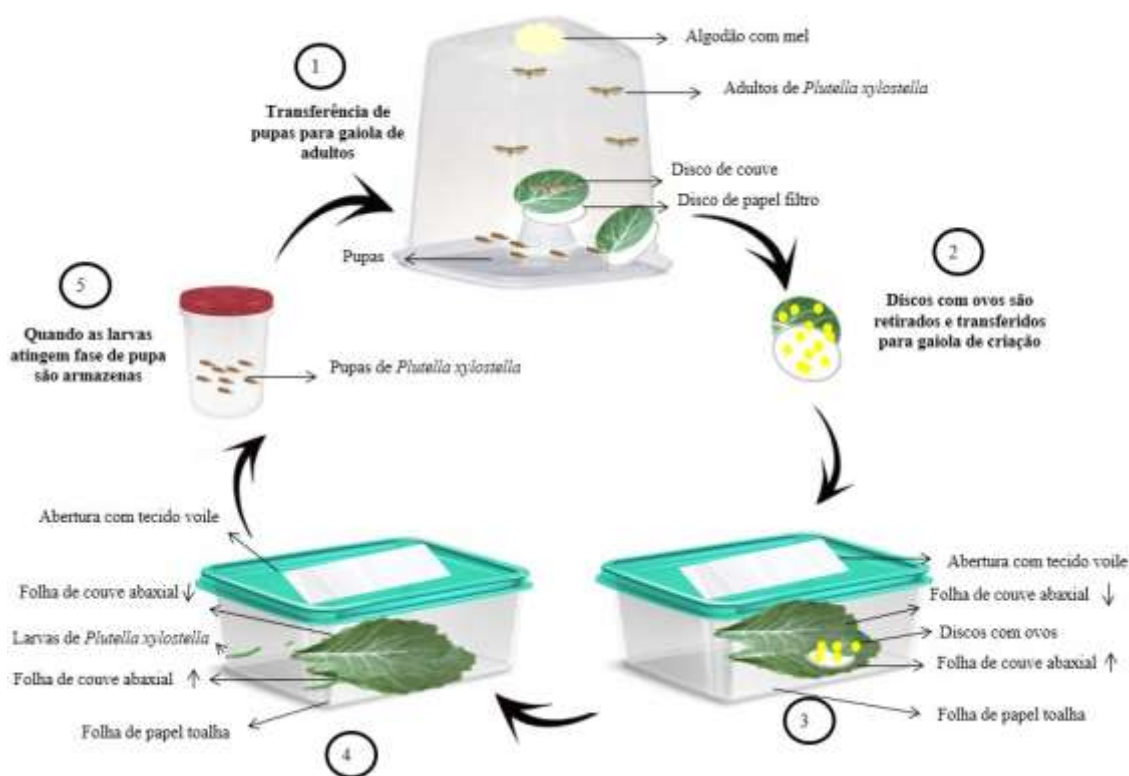


Figura 1. Esquema de metodologia adaptada para criação de *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae). Fonte: Imagem adaptada de Matias et al. [23].

2.5. Bioensaio de atividade antialimentar *P. xylostella*

Para os bioensaios com escolha, as larvas de terceiro ínstar de *P. xylostella* ficaram em jejum por 4 h. Os discos de couve (*B. oleracea* var. *Acephala*, 4 cm de diâmetro)

foram imersos nos respectivos tratamentos (extratos aquoso e etanólico de 4 plantas do gênero *Ludwigia*) e controle (água destilada) por um minuto e posteriormente distribuídos em bandejas plásticas secar naturalmente por 20 min.

Para a realização do bioensaio quatro discos de couve foram distribuídos na placa de Petri (9 cm de diâmetro e 1,5 cm de altura) de forma transversal e equidistante, sendo dois imersos nos respectivos extratos e os outros dois imersos em água destilada (tratamento controle). Os discos de couve foram colocados sob um disco de papel filtro umedecido (9 cm de diâmetro) (Fig. 2). Posteriormente, três larvas de terceiro ínstar de *P. xylostella* foram adicionadas à placa de Petri, onde permaneceram por 48 h. Os bioensaios ocorreram em ambiente controlado com temperatura constante de 25 ± 2 °C, umidade relativa de $55 \pm 5\%$ e fotoperíodo de 12 h.

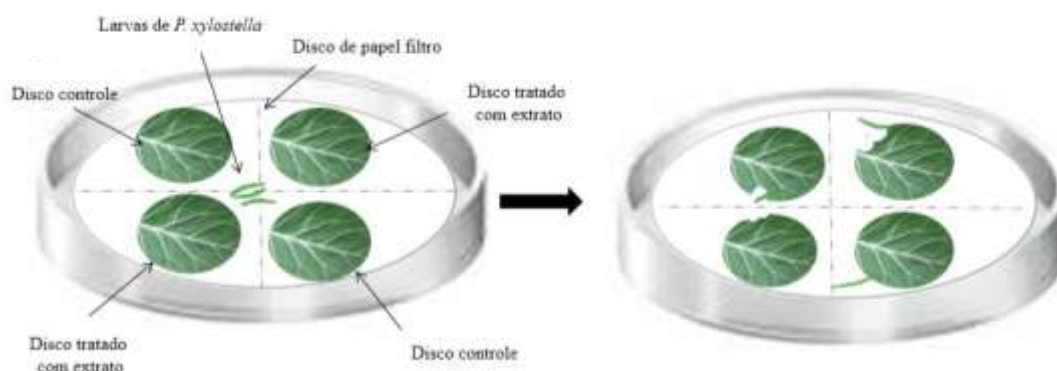


Figura 2. Representação esquemática do bioensaio de atividade antialimentar com chance de escolha com larvas de *Plutella xylostella*.

Para avaliar o consumo foliar das larvas de *P. xylostella*, os discos foliares foram digitalizados para verificar a área foliar consumida usando o software ImageJ [24] e o índice antialimentar (IA) [25,26,27] foi calculado.

2.6. Bioensaio de dissuasão de oviposição de *P. xylostella*

Os bioensaios de dissuasão de oviposição com múltipla escolha a partir da utilização de extratos aquosos e etanólicos foram realizados separadamente, sendo assim, cada bioensaio contou com 5 tratamentos, sendo 4 extratos (referente as espécies de *Ludwigia*) e 1 controle (água destilada). Os bioensaios foram realizados com adultos de *P. xylostella* com até 12 horas de idade, oriundos da criação mantida em laboratório, e

sem contato prévio com os extratos. Discos foliares de couve foram imersos nos diferentes tratamentos e após secarem de forma natural por 20 minutos, foram dispostos em gaiolas plásticas.

Para o bioensaio com múltipla escolha os discos foliares tratados (4 cm de diâmetro) foram dispostos de forma circular e equidistantes no interior de uma gaiola plástica (30 cm de comprimento x 15 cm de largura x 12 cm de altura) (Fig. 3), sendo um disco foliar de cada tratamento com extrato e dois discos do tratamento controle (água destilada), totalizando seis discos por gaiola (Fig. 3).

Três casais de *P. xylostella* foram mantidos por quatro dias nas gaiolas de oviposição e foram alimentados com solução de mel da abelha *Apis mellifera* L. a 10%. Os ovos foram contabilizados 24, 48, 72 e 96 horas, sendo que, a cada intervalo, os discos foliares foram trocados por novos discos tratados e o Índice de Dissuasão de Oviposição (ODI) de Huang e Renwick [28] foi calculado. Os bioensaios foram realizados em ambiente controlado com umidade relativa de $55 \pm 5\%$, temperatura constante de 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 h.



Figura 3. Representação esquemática do bioensaio de oviposição com múltipla escolha.

2.7. Análise Fitoquímica dos Extratos

As triagens fitoquímicas para o extrato aquoso estão descritas em Ferreira et al. [10] (Capítulo 1) e as análises do extrato etanólico foram realizadas nas mesmas amostras de plantas no mesmo período de coleta.

2.7.1. Compostos fenólicos, flavonoides e taninos

As amostras foram preparadas na concentração de 1000 µg/mL para análise. Os testes foram avaliados em triplicata. Os compostos fenólicos foram determinados empregando o método do reagente de Folin-Ciocalteu e a absorbância em 760 nm foi medida usando um espectrofotômetro (FEMTO 700 PLUS, FEMTO, São Paulo, São Paulo, Brasil) [29]. Ácido gálico (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) foi usado como padrão em concentrações de 5–1000 µg/mL. Os resultados são expressos em miligramas de ácido gálico por grama de peso seco do extrato. Os flavonoides foram determinados pelo método do reagente AlCl₃. A absorção em 430 nm foi medida usando um espectrofotômetro (FEMTO 700 PLUS) [28]. A rutina (SigmaAldrich, St. Louis, MO, EUA) foi usada como padrão em concentrações de 1–50 µg/mL. O os resultados são expressos em miligramas por grama de peso seco do extrato. O tanino condensado foi determinado pelo método da vanilina [29]; a absorção foi medido em 510 nm [30]. Rutina (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) foi usada como padrão em concentrações de 0,1–50 µg/mL. Os resultados são expressos em catequina miligramas por grama de peso seco do extrato.

2.7.2. Determinação do teor de alcaloides

O teor total de alcaloides nas amostras foi quantificado de acordo com o procedimento desenvolvido por Oliveira et al. [31] e a absorbância a 435 nm foi medida. Berberina (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) foi empregado como padrão e a linearidade foi obtido entre 40 e 200 µg/mL. Os resultados são expressos em miligramas de berberina por grama de peso seco do extrato.

2.7.3. Determinação da atividade antioxidante

A atividade antioxidante dos extratos foi avaliada pelo indicador de radicais livres DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) [32]. Os extratos foram preparados com água destilada nas seguintes concentrações: 5, 10, 20, 200, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100 µg/mL. A porcentagem de inibição por cada concentração foi usada para obter os valores de IC₅₀.

2.8. Análise estatística

2.8.1. Bioensaio de preferencia alimentar

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado constituído de cinco tratamentos (4 extratos e 1 controle) e 10 repetições para cada tipo de extrato (aquoso e etanólico). Todos os dados foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro Wilk. Para o bioensaio com chance de escolha, utilizou-se o teste de Mann Whitney para comparar o controle e os grupos de tratamentos. Para todos os testes utilizou-se o nível de significância a 5% de probabilidade.

2.8.2. Índice Antialimentar

O Índice Antialimentar (IA) foi calculado usando a fórmula $IA = (C - T) / (C + T) * 100$; onde, C representa o controle, e T a área foliar tratada consumida pelas larvas [33,34,35]. Este índice distingue se o extrato é fagoestimulante (valores negativos) ou fagodeterrente (valores positivos).

2.8.3. Bioensaio de oviposição

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado constituído de cinco tratamentos para cada tipo de extrato, sendo quatro de extratos e um controle (água destilada). Os tratamentos foram constituídos de 10 repetições. Todos os dados foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro Wilk. Como os dados não apresentaram normalidade, os dados obtidos a partir dos bioensaios de oviposição, com múltipla escolha foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Kruskal – Wallis. Para todos os testes utilizou-se o nível de significância à 5% de probabilidade.

2.8.4. Índice de Dissuasão de Oviposição (ODI)

O Índice de Dissuasão de Oviposição (IDO) foi calculado, segundo Huang e Renwick [28], como segue $ODI = (C_n - T_n) / (C_n + T_n) * 100$; onde, C_n e T_n representam o número de ovos ovipositados no controle e folhas tratadas, respectivamente. Se o ODI for maior que zero, então é classificado como dissuasor; se o ODI for igual a zero, então é neutro; e se o ODI for negativo, então é considerado um estimulante. Os tratamentos

que são estatisticamente insignificantes ainda são rotulados como dissuasores e/ou estimulantes.

3.RESULTADOS

3.1. Plasticidade alimentar

No teste de escolha do extrato aquoso, observou-se que *L. nervosa* e *L. longifolia* apresentaram valores negativos de IA, estimulando a alimentação das larvas; em contrapartida, o extrato aquoso de *L. tomentosa* ($W = 85,00$; $p = 0,0088$) apresentou IA de 52,13%, destacando-se entre os demais tratamentos como fagodeterrente. Além disso, em comparação com o controle, *L. tomentosa* reduziu a área foliar consumida em 80,92% (Tabela 1).

Tabela 1. Área foliar consumida por larvas de *Plutella xylostella* e Índice Antialimentar (IA) causado pelos extratos aquosos de *Ludwigia* spp. após exposição alimentar.

Tratamento	Área foliar consumida (cm²) ± EP		Valor de p	IA %	Classificação
EXTRATO AQUOSO					
	Controle	Extrato			
<i>L. tomentosa</i>	0,42 ± 0,12 a	0,08 ± 0,03 b	0,0088	52,13	Fagodeterrente
<i>L. longifolia</i>	0,15 ± 0,07 a	0,09 ± 0,02 a	0,8451	(-)15,53	Fagoestimulante
<i>L. sericea</i>	0,21 ± 0,06 a	0,10 ± 0,03 a	0,3254	11,49	Fagodeterrente
<i>L. nervosa</i>	0,11 ± 0,03 a	0,23 ± 0,06 a	0,1387	(-) 27,58	Fagoestimulante
EXTRATO ETANÓLICO					
	Controle	Extrato			
<i>L. tomentosa</i>	0,31 ± 0,10 a	0,23 ± 0,06 a	0,7617	8,18	Fagodeterrente
<i>L. longifolia</i>	0,28 ± 0,05 a	0,22 ± 0,07 a	0,3442	23,79	Fagodeterrente
<i>L. sericea</i>	0,52 ± 0,09 a	0,32 ± 0,11 a	0,1506	29,42	Fagodeterrente
<i>L. nervosa</i>	0,42 ± 0,13 a	0,36 ± 0,09 a	0,9705	(-) 2,16	Fagoestimulante

EP – Erro padrão; IA – Índice antialimentar. Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si ao nível de significância a 5% de probabilidade.

Também não houve diferença significativa no consumo de área foliar entre os tratamentos extrato etanólico e a testemunha. O extrato etanólico de *L. nervosa*, assim

como no bioensaio com extrato aquoso, atuou estimulando a alimentação das larvas de *P. xylostella* (Tabela 1). O valor de IA mais significativo foi encontrado para *L. sericea* (29,42%), seguido de *L. longifolia* (23,79%); ambos foram classificados como fagodeterrentes (Tabela 1).

Comparando os tipos de solvente, observamos que apenas *L. longifolia* apresentou variação em seu efeito, pois no extrato aquoso atuou como fagoestimulante; ao mesmo tempo que no extrato etanólico reduziu a alimentação das larvas, atuando como fagodeterrente (Tabela 1).

3.2. Oviposição

No teste de múltipla escolha, o número de posturas realizadas pelas fêmeas de *P. xylostella* foi menor para todos os extratos quando comparado ao tratamento controle ($\chi^2 = 10,317$, $gl = 4$, $p = 0,0354$) (Tabela 2).

Tabela 2. Número médio de ovos ovipositados por *Plutella xylostella* em bioensaios de múltipla chance de escolha, e Índice de Dissuasão de Oviposição (IDO), a partir da utilização de extratos aquoso e etanólico de *Ludwigia* spp.

Tratamento	Número de ovos ± EP	Valor de p^*	IDO %
EXTRATO AQUOSO			
Bioensaio com chance de escolha			
Controle	49,40 ± 17,07 a	0,0335	-
<i>L. tomentosa</i>	4,30 ± 2,02 b		70,69
<i>L. longifolia</i>	1,40 ± 0,65 b		76,42
<i>L. sericea</i>	9,20 ± 3,74 b		61,23
<i>L. nervosa</i>	6,00 ± 2,85 b		66,88
EXTRATO ETANÓLICO			
Bioensaio com chance de escolha			
Controle	64,70 ± 14,56 a	0,0182	-
<i>L. tomentosa</i>	14,90 ± 6,33 b		60,02
<i>L. longifolia</i>	5,70 ± 1,96 b		73,70
<i>L. sericea</i>	15,8 ± 5,80 b		49,64
<i>L. nervosa</i>	12,1 ± 4,90 b		41,73

EP – Erro padrão; IDO - Índice de Dissuasão de Oviposição. Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem entre si ao nível de significância a 5% de probabilidade.

Os extratos aquosos de *Ludwigia* spp. reduziu a oviposição em fêmeas de *P. xylostella* em 89,41% em média. No entanto, *L. longifolia* e *L. tomentosa* foram os tratamentos que obtiveram o menor número médio de ovos, com redução na oviposição de 97,16% e 91,29%, respectivamente. Em comparação com o controle, *L. nervosa* e *L. sericea* promoveu uma redução na oviposição superior a 80% (Tabela 2)

Adicionalmente, os extratos aquosos, especialmente *L. longifolia* e *L. tomentosa*, foram responsáveis por valores de ODI acima de 60%, com valores de ODI de 76,42% e 70,69%, respectivamente (Tabela 2). Em geral, os extratos aquosos foram classificados como inibidores de oviposição por Apresentarem ODI positivos.

No teste de escolha, observou-se que as fêmeas tiveram preferência de oviposição por discos tratados com água destilada (controle). Houve diferença significativa entre os tratamentos com extrato etanólico e o tratamento controle ($\chi^2 = 11,880$, $gl = 4$, $p = 0,0182$), e os extratos etanólicos de *Ludwigia* spp. reduziu a oviposição em 81,24% em média (Tabela 2).

Em comparação com o controle, os tratamentos com *L. longifolia* e *L. nervosa* foram os que mais afetaram a oviposição, reduzindo a oviposição em 91,19% e 81,29%, respectivamente; consequentemente, esses tratamentos tiveram valores de ODI de 73,70% e 60,02%, respectivamente (Tabela 2). De maneira geral, os extratos etanólicos obtiveram IDO acima de 40%, indicando efeito deterrente dos extratos e, consequentemente, preferência para oviposição por discos tratados com água destilada (Tabela 2)

A atividade antioxidante foi mais proeminente em *L. longifolia*, *L. sericea*, *L. tomentosa* e *L. nervosa*, nessa ordem. Os compostos fenólicos, flavonoides, taninos condensados e alcaloides foram encontrados em maior quantidade nos extratos de *L. nervosa*, *L. tomentosa*, *L. sericea* e *L. longifolia*, nessa ordem (Tabela 3).

Tabela 3. Atividade antioxidante (IC₅₀ - concentração inibitória mínima), compostos fenólicos, taninos condensados, flavonoides e alcaloides do extrato etanólico de *Ludwigia* spp.

Extratos	Atividade antioxidante	Compostos fenólicos	Flavonoides	Taninos condensados	Alcaloides
	IC ₅₀ (µg mL ⁻¹)	(mg g ⁻¹)	(mg g ⁻¹)	(mg g ⁻¹)	(mg g ⁻¹)
<i>L. tomentosa</i>	44,7 ± 0,4	189,8 ± 2,8	123,7 ± 1,3	33,8 ± 0,3	15,9 ± 0,2
<i>L. longifolia</i>	49,7 ± 0,2	182,4 ± 1,1	101,1 ± 1,1	30,1 ± 0,4	14,8 ± 0,2
<i>L. sericea</i>	47,8 ± 0,5	179,6 ± 1,3	117,6 ± 0,9	32,3 ± 0,7	15,3 ± 0,3
<i>L. nervosa</i>	41,4 ± 0,5	201,1 ± 2,1	132,9 ± 1,2	34,9 ± 0,6	16,7 ± 0,5

4.DISCUSSÃO

A triagem fitoquímica dos extratos aquosos e etanólicos mostraram que *Ludwigia* spp. apresentaram as classes de compostos investigados - compostos fenólicos, flavonoides, taninos condensados e alcaloides - e nossos resultados podem ser atribuídos a algumas dessas classes. *Ludwigia* spp. contêm substâncias que dificultam a alimentação, prolongando a fase larval devido a uma menor conversão alimentar ingerida [36]. Isso pode ocasionalmente levar à morte ou redução do crescimento das larvas [37], sobrevivência das pupas [38], alimentação prejudicada, inibição da digestão e liberação de radicais livres [39].

Os compostos mais relatados na literatura que afetam a alimentação ou oviposição de insetos pertencem aos grupos alcaloide, flavonoide, terpenoide e fenol [33,34]. Flavonóides como a quercetina 3-arabinosídeo, a quercetina 3-glicosídeo e a quercetina 3-rutinosídeo já foram identificados em algumas espécies de *Ludwigia* [40] e podem atuar como fagodeterrentes, dependendo das concentrações usadas[41]. No entanto, outros tipos de flavonóides podem causar mortalidade de adultos e reduzir a oviposição e a emergência de larvas quando os ovos entram em contato com essas substâncias [33]. Assim, os compostos secundários presentes nas espécies estudadas do gênero *Ludwigia* comprometeram tanto a alimentação quanto a oviposição de *P. xylostella*.

Nossas observações corroboram com as informações obtidas nos capítulos anteriores, onde os autores analisaram as ações desses extratos em relação ao ciclo de vida do inseto. Olhando para os bioensaios realizados e os resultados obtidos no presente estudo, isso nos levam a interpretar que a ação fagoestimulante, principalmente em extratos aquosos de *L. longifolia*, compromete o desenvolvimento dos indivíduos, com redução significativa do peso pupal. Foi constatado também que os extratos etanólicos resultaram em redução no peso das pupas - principalmente para *L. tomentosa* - o que pode ser devido à fagodeterrência do extrato, como observado neste estudo pelo baixo consumo de discos - mostrando que os extratos etanólicos de *Ludwigia* spp. foram, em sua maioria, menos preferidos para consumo. A redução no consumo de folhas quando os insetos estão em contato com extratos de plantas geralmente é resultado de substâncias fagodeterrentes ou intoxicação subletal, impedindo a alimentação e a digestão [7]. O extrato de *L. tomentosa* apresentou melhores resultados no bioensaio de plasticidade alimentar, sendo responsável pela redução do consumo foliar, o que a campo caracterizaria uma boa forma de controle, visto que nas culturas de couve as folhas são o produto de comercialização.

Para os extratos aquoso e etanólico de *L. nervosa*, observou-se um estímulo alimentar, fazendo com que as larvas de *P. xylostella* consumissem mais discos tratados do que discos controle. Esse resultado pode ser atribuído à sensibilidade das larvas a diferentes aleloquímicos e aos cairomônios percebidos pelas larvas - substâncias que estimulam a alimentação - fazendo com que as larvas mordam o teste dos discos e continuem se alimentando [33]. Alguns tipos de flavonóides, como apigenina e naringenina [41], podem induzir respostas comportamentais variáveis e também podem atuar como fagoestimulantes ou fagodeterrentes [42]. O alto consumo de alguns extratos – quando atuam como fagoestimulantes – nem sempre é vantajoso para os insetos, pois o aumento da ingestão de alguns fitoquímicos pode resultar em efeitos subletais que prejudicam seu desenvolvimento.

Em relação aos bioensaios de oviposição, com extratos aquosos e etanólicos, as fêmeas de *P. xylostella* ovipositaram preferencialmente nos discos controle, indicando um efeito dissuasor da oviposição. O extrato aquoso e etanólico de *L. longifolia* foi capaz de causar os maiores índices de dissuasão nos dois tipos de bioensaios (com e sem chance de escolha). Quando um inseto pousa na planta, a percepção das características químicas e físicas é de grande importância para que ocorra ou não a oviposição [43]. Um conjunto

de fatores pode ter contribuído para a dissuasão de oviposição da traça-das-crucíferas. O primeiro fator é decorrente da presença de fitoquímicos nos extratos de *Ludwigia* spp. que provocaram alterações na fisiologia e comportamento dos adultos de *P. xylostella*, refletida na capacidade de oviposição. O outro seria a presença de substâncias repelentes no extrato, restringindo a chegada de mariposas no substrato de oviposição [27]. A dissuasão da oviposição foi observada por outros autores ao avaliar os efeitos de extratos botânicos de *Melia azedarach*, *Azadirachta indica* [44] e *Pachyrhizus erosus* contra *P. xylostella* [45].

Na utilização de extratos etanólicos de espécies de *Ludwigia* no ciclo de vida de *P. xylostella* (Capítulo II), observou-se que o número médio de larvas recém-emergidas foi significativamente reduzido para *L. sericea*. Neste estudo, considerando a sobrevivência dos ovos, não houve diferença significativa, embora tenha sido reduzida em todos os tratamentos com extratos etanólicos. Para o extrato aquoso, a ovideterência observada no presente trabalho é refletida na pesquisa de Ferreira et al. [10], que observaram que a sobrevivência dos ovos foi reduzida por extratos de *L. sericea* e que na fase adulta de *P. xylostella*—além da redução da fecundidade e do número de larvas recém-emergidas para todos os tratamentos, houve diferença significativa para o extrato de *L. tomentosa*.

Considerando estudos anteriores envolvendo análises fitoquímicas com extratos aquosos de *Ludwigia* spp. [10], quando comparados com os resultados encontrados para o extrato etanólico, há um padrão em relação à quantificação de compostos secundários para cada espécie. As diferentes respostas obtidas nos bioensaios devem-se à especificidade de extração de compostos secundários que cada solvente possui, o que resulta em diferentes respostas quanto ao consumo foliar e oviposição em *P. xylostella*.

5. CONCLUSÃO

O consumo de folhas foi reduzido quando o extrato de *L. tomentosa* foi utilizado. *L. longifolia* e *L. nervosa* estimularam a alimentação larval. Os extratos etanólicos foram classificados como fagodeterrentes - com exceção da *L. nervosa*, que agiu como fagoestimulante. Todos os extratos foram classificados como inibidores da oviposição em fêmeas de *P. xylostella*, independentemente do solvente utilizado. Houve redução significativa na oviposição de ovos para ambos os tipos de extratos,

especialmente *L. tomentosa* e *L. longifolia*. Além disso, a triagem fitoquímica mostrou que os extratos etanólicos *Ludwigia* continham compostos fenólicos, flavonoides, taninos condensados e alcaloides, substâncias capazes de interferir na alimentação e oviposição em *P. xylostella*, representando uma alternativa para o controle da traça-das-crucíferas.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gautam, M.P.; Singh, H.; Kumar, S.; Kumar, V.; Singh, G.; Singh, S.N. Diamondback moth, *Plutella xylostella* (Linnaeus) (Insecta: Lepidoptera: Plutellidae) a major insect of cabbage in India: A review. *J. Entomol. Zool. Stud.* **2018**, *6*, 1394–1399.
2. Srinivasan, R.; Lin, M.Y. Effects of sub-lethal doses of *Bacillus thuringiensis* (Bt) δ -endotoxins against natural enemies of diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). In Proceedings of the Sixth International Workshop on Management of the Diamondback Moth and Other Crucifer Insect Pests, Nakhon Pathom, Thailand, 21–25 March 2011; AVRDC-The World Vegetable Center: Shanhua, Tainan, 2011; pp. 188–196.
3. Monnerat, R.G.; Leal-Bertioli, S.C.M.; Bertioli, D.J.; Butt, T.M.; Bordat, D. Caracterização de populações geograficamente distintas da traça-das-crucíferas por susceptibilidade ao *Bacillus thuringiensis* Berliner e RAPD-PCR. *Hortic. Bras.* **2004**, *22*, 607–609.
4. Hurst, M.R.H.; Jones, S.A.; Beattie, A.; Van Koten, C.; Shelton, A.M.; Collins, H.L.; Brownbridge, M. Assessment of *Yersinia entomophaga* as a control agent of the diamondback moth *Plutella xylostella*. *J. Invertebr. Pathol.* **2019**, *162*, 19–25.
5. Furlong, M.J.; Wright, D.J.; Dosdall, L.M. Diamondback Moth Ecology and Management: Problems, Progress, and Prospects. *Annu. Rev. Entomol.* **2013**, *58*, 517–541.
6. APRD Arthropod Pesticide, Resistance Database. Available online: <http://www.pesticideresistance.org/display.php?page=species&luc=571> (accessed on 8 June 2022).
7. Cerda, H.; Carpio, C.; Ledezma-Carrizalez, A.C.; Sánchez, J.; Ramos, L.; Muñoz-Shugulí, C.; Andino, M.; Chiurato, M. Effects of Aqueous Extracts from Amazon Plants on *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) and *Brevicoryne brassicae* (Homoptera: Aphididae) in Laboratory, Semifield, and field trials. *J. Insect Sci.* **2019**, *19*, 8.

8. Peres, L.L.S.; Sobreiro, A.I.; Couto, I.F.S.; Silva, R.M.; Pereira, F.F.; Heredia-Vieira, S.C.; Cardoso, C.A.L.; Mauad, M.; Scalón, S.P.Q.; Verza, S.S.; et al. Chemical Compounds and Bioactivity of Aqueous Extracts of *Alibertia* spp. in the Control of *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae). *Insects* **2017**, *8*, 125.
9. Couto, I.F.S.; Silva, S.V.; Valente, F.I.; Araújo, B.S.; Souza, S.A.; Mauad, M.; Scalón, S.P.Q.; Mussury, R.M. Botanical Extracts of the Brazilian Savannah Affect Feeding and Oviposition of *Plutella xylostella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Plutellidae). *J. Agric. Sci.* **2019**, *11*, 322–333.
10. Ferreira, E.A.; de Souza, S.A.; Domingues, A.; da Silva, M.M.M.; Padial, I.M.P.M.; de Carvalho, E.M.; Cardoso, C.A.L.; da Silva, S.V.; Mussury, R.M. Phytochemical Screening and Bioactivity of *Ludwigia* spp. in the Control of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Insects* **2020**, *11*, 596.
11. Jacobson, M. Botanical pesticides, past, present and future. In *Insecticides of Plant Origin*; Arnason, J.J., Philogene, B.R., Morand, P., Eds.; ACS Symposium Series; ACS Publications: Washington, DC, USA, 1989; pp. 1–10.
12. Ascher, K.R.S. Nonconventional insecticidal effects of pesticides available from the neem tree, *Azadirachta indica*. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* **1993**, *22*, 433–449.
13. Schmutterer, H. *The Neem Tree Azadirachta Indica A. Juss and Other Maliceous Plant Sources of Unique Natural Products of Integrated Pest Management Medicine, Industry and Other Purposes*; VCH: Hoboken, NJ, USA, 1995.
14. Miresmailli, S.; Isman, M.B. Botanical insecticides inspired by plant–herbivore chemical interactions. *Trends Plant Sci.* **2014**, *19*, 29–35.
15. Schneider, D. Insect antennae. *Annu. Rev. Entomol.* **1964**, *9*, 103–122.
16. Souza, V.C.; Lorenzi, H. *Botânica Sistemática: Guia ilustrado para Identificação das Famílias de Angiospermas da Flora Brasileira, Baseado em APGII*; Nova Odessa, Instituto Plantarum de Estudos da Flora: São Paulo, Brasil, 2005.
17. Pott, V.J.; Pott, A. *Plantas Aquáticas do Pantanal*; EMBRAPA Comunicação para Transferência de Tecnologia: Brasília, Brasil, 2000.

18. Yakob, H.K.; Uyub, A.M.; Sulaiman, S.F. Toxicological evaluation of 80% methanol extract of *Ludwigia octovalvis* (Jacq.) PH Raven leaves (Onagraceae) in BALB/c mice. *J. Ethnopharmacol.* **2012**, *142*, 663–668.
19. Mabou, F.D.; Jean, D.D.T.; Ngnokam, D.; Voutquenne-Nazabadioko, L.; Kuate, J.R.; Bag, P.K. Complex secondary metabolites from *Ludwigia leptocarpa* with potent antibacterial and antioxidant activities. *Drug Discov. Ther.* **2016**, *10*, 141–149.
20. Oyedeji, O.; Oziegbe, M.; Taiwo, F.O. Antibacterial, antifungal and phytochemical analysis of crude extracts from the leaves of *Ludwigia abyssinica* A. Rich. and *Ludwigia decurrens* Walter. *J. Med. Plants Res.* **2011**, *5*, 1192–1199.
21. Ahmed, F.; Selim, M.S.T.; Shilpi, J. Antibacterial activity of *Ludwigia adscendens*. *Fitoterapia* **2005**, *76*, 473–475.
22. Barros, R.; Thuler, R.T.; Pereira, F.F. Técnica de criação de *Plutella xylostella* (L. 1758) (Lepidoptera: Yponomeutidae). In *Técnicas de Criação de Pragas de Importância Agrícola, em Dietas Naturais*, 1st ed.; Pratissoli, D., Ed.; Edufes: Vitória, Brasil, 2012; pp. 65–84.
23. Matias da Silva, R.; Fioratti, C.A.G.; Silva, G.B.; Cardoso, C.A.L.; Miranda, L.O.; Mauad, M.; Mussury, R.M. Antibiose do extrato foliar de *Duguetia furfuracea* sobre *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). In *Temas Atuais em Ecologia Comportamental e Interações. Anais do II BecInt—Behavioral Ecology and Interactions Symposium*, 1st ed.; Calixto, E.S., Toreza-Silingardi, H.M., Eds.; Editora Composer: Uberlândia, Brasil, 2017; Volume 1, pp. 52–69. ISBN 978-85-8324-057-0.
24. Schneider, C.A.; Rasband, W.S.; Eliceiri, K.W. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nat. Methods* **2012**, *9*, 671–675.
25. Isman, M.B.; Koul, O.; Luczynski, A.; Kaminski, J. Insecticidal and antifeedant bioactivities of neem oils and their relationship to azadirachtin content. *J. Agric. Food Chem.* **1990**, *38*, 1406–1411.

26. Mehboob, A.; Zaka, S.M.; Sarmad, M.; Bajwa, M. Feeding and Oviposition Deterrence of *Murraya paniculata*, *Piper nigrum* and *Moringa oleifera* Extracts against *Spodoptera litura* (F). *Pak. J. Zool.* **2019**, *51*, 567.
27. Vats, T.K.; Rawal, V.; Mullick, S.; Devi, M.R.; Singh, P.; Singh, A.K. Bioactivity of *Ageratum conyzoides* (L.) (Asteraceae) on feeding and oviposition behaviour of diamondback moth *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). *Int. J. Trop. Insect Sci.* **2019**, *39*, 311–318.
28. Huang, X.; Renwick, J.A.A. Relative activities of glucosinolates as oviposition stimulants for *Pieris rapae* and *P. napi oleracea*. *J. Chem. Ecol.* **1994**, *20*, 1025–1037.
29. Djeridane, A.; Yousfi, M.; Nadjemi, B.; Boutassouna, D.; Stocker, P.; Vidal, N. Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chem.* **2006**, *97*, 654–660.
30. Broadhurst, R.B.; Jones, W.T. Analysis of condensed tannins using acidified vanillin. *J. Sci. Food Agric.* **1978**, *29*, 788–794.
31. Oliveira, M.A.C.; Albuquerque, M.M.; Xavier, H.S.; Strattmann, R.R.; Grangeiro Júnior, S.; Queiroz, A.T. Development and validation of a method for the quantification of total alkaloids as berberine in an herbal medicine containing *Berberis vulgaris* L. *Rev. Bras. Farmacogn.* **2006**, *16*, 357–364.
32. Kumaran, A.; Karunakaran, R.J. 2006. Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of *Coleus aromaticus*. *Food Chem.* **2006**, *97*, 109–114.
33. Baldin, E.L.L.; Vendramim, J.D.; Lourenção, A.L. *Resistência de Plantas a Insetos: Fundamentos e Aplicações*; FEALQ: Piracicaba, Brasil, 2019; p. 493.
34. Smith, C.M. *Plant Resistance to Arthropods: Molecular and Conventional Approaches*; Springer: Manhattan, NY, USA, 2008; p. 42.
35. Badenes-Pérez, F.R.; Reichelt, M.; Gershenzon, J.; Heckel, D.G. Phylloplane location of glucosinolates in *Barbarea* spp. (Brassicaceae) and misleading assessment of host suitability by a specialist herbivore. *New Phytol.* **2011**, *189*, 549–556.
36. Tanzubil, P.B.; McCaffery, A.R. Effects of azadirachtin and aqueous neem seed extracts on survival, growth and development of the African armyworm, *Spodoptera exempta*. *Crop Prot.* **1990**, *9*, 383–386.

37. Stamp, N.E.; Skrobola, C.M. Failure to avoid rutin diets results in altered food utilization and reduced growth rate of *Manduca sexta* larvae. *Entomol. Exp. Appl.* **1993**, *68*, 127–142.
38. Silva, T.R.F.B.; Almeida, A.C.S.; Moura, T.L.; Silva, A.R.; Freitas, S.S.; Jesus, F.G. Effect of the flavonoid rutin on the biology of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) *Acta Sci. Agron.* **2016**, *38*, 165–170.
39. Appel, H.M. Phenolics in ecological interactions: The importance of oxidation. *J. Chem. Ecol.* **1993**, *19*, 1521–1552.
40. Averett, J.E.; Zardini, E.M.; Hoch, P.C. Flavonoid systematics of ten sections of *Ludwigia* (Onagraceae). *Biochem. Syst. Ecol.* **1990**, *18*, 529–532.
41. Diaz Napal, G.N.; Defagó, M.T.; Valladares, G.R.; Palacios, S.M. Response of *Epilachna paenulata* to two flavonoids, pinocembrin and quercetin, in a comparative study. *J. Chem. Ecol.* **2010**, *36*, 898–904.
42. Onyilagha, J.C.; Gruber, M.Y.; Hallett, R.H.; Holowachuk, J.; Buckner, A.; Soroka, J.J. Constitutive flavonoids deter flea beetle insect feeding in *Camelina sativa* L. *Biochem. Syst. Ecol.* **2012**, *42*, 128–133.
43. Gullan, P.J.; Cranston, P.S. *Os Insetos: Um Resumo de Entomologia*, 3rd ed.; Rocca: São Paulo, Brasil, 2014.
44. Charleston, D.S.; Kfir, R.; Vet, L.; Dicke, M. Behavioural responses of diamondback moth *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) to extracts derived from *Melia azedarach* and *Azadirachta indica*. *Bull. Entomol. Res.* **2005**, *95*, 457–465.
45. Basukriadi, A.; Wilkins, R.M. Oviposition deterrent activities of *Pachyrhizus erosus* seed extract and other natural products on *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *J. Insect Sci.* **2014**, *14*, 244.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos neste trabalho somam-se ao conhecimento sobre extratos de espécies vegetais potencialmente capazes de controlar populações de espécies-praga por meio de alterações fisiológicas e comportamentais, além de apresentar resultados inéditos a respeito da atividade biológica de espécies pertencentes ao gênero *Ludwigia* (Onagraceae) sobre *P. xylostella*.

A partir da exposição das larvas aos extratos aquosos de *L. tomentosa* e *L. longifolia* houve prolongamento do estágio larval e redução do peso das pupas de *P. xylostella*. *L. tomentosa* causou mortalidade larval e redução da fecundidade e fertilidade ovos de *P. xylostella*, sendo que *L. sericea* reduziu a viabilidade dos ovos. O consumo foliar foi reduzido a partir da utilização do extrato de *L. tomentosa*. *L. longifolia* juntamente a *L. nervosa* estimularam a alimentação das larvas.

Quando usado extratos etanólicos, *L. tomentosa* foi responsável reduzir o peso das pupas da espécie-praga, e *L. sericea* influenciou negativamente a fertilidade dos ovos. Os extratos etanólicos influenciaram a alimentação das larvas de *P. xylostella*, e foram classificados como fagodeterrentes, com exceção de *L. nervosa* que foi fagoestimulante. Todos os extratos foram classificados como dissuasores de oviposição em fêmeas de *P. xylostella*, independente do solvente utilizado.

Os extratos de *Ludwigia* provocaram mudanças deletérias, afetando negativamente o desenvolvimento, alimentação e reprodução de *P. xylostella*. Tais achados foram atribuídos compostos fenólicos, flavonoides, taninos condensados e alcaloides presentes na composição fitoquímica das plantas, pois são substâncias capazes de inibir o consumo de alimento pelas larvas, e interferir nas transformações morfológicas e fisiológicas dos indivíduos, além de dissuadir a oviposição das fêmeas. Portanto, os extratos de *L. tomentosa*, *L. longifolia* e *L. sericea* são promissores para o controle de *P. xylostella* e pode se constituir em um componente útil para o manejo dessa importante espécie-praga.