

Eficácia do Óleo Essencial de *Piper aduncum* L.
(Piperaceae) para o Controle de *Diaphorina citri* Kuwayama



**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Acre
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

**BOLETIM DE PESQUISA
E DESENVOLVIMENTO
59**

**Eficácia do Óleo Essencial de *Piper
aduncum* L. (Piperaceae) para o Controle
de *Diaphorina citri* Kuwayama**

*Haroldo Xavier Linhares Volpe
Murilo Fazolin
Rodrigo Facchini Magnani
Rafael Brandão Garcia
José Carlos Barbosa
Marcelo Pedreira de Miranda*

**Embrapa Acre
Rio Branco, AC
2018**

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Acre
Rodovia BR 364, km 14, sentido Rio Branco/
Porto Velho, Caixa Postal 321
CEP 69900-970, Rio Branco, AC
Fone: (68) 3212-3200, Fax: (68) 3212-3285
www.embrapa.br
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê Local de Publicações

Presidente
José Marques Carneiro Júnior

Secretária-Executiva
Claudia Carvalho Sena

Membros
Carlos Mauricio Soares de Andrade, Celso Luis Bergo, Evandro Orfanó Figueiredo, Rivaldalve Coelho Gonçalves, Rodrigo Souza Santos, Romeu de Carvalho Andrade Neto, Tadário Kamel de Oliveira, Tatiana de Campos, Virginia de Souza Álvares

Supervisão editorial
Claudia Carvalho Sena, Suely Moreira de Melo

Revisão de texto
Claudia Carvalho Sena, Suely Moreira de Melo

Normalização bibliográfica
Renata do Carmo França Seabra

Tratamento das ilustrações
Francisco Carlos da Rocha Gomes

Projeto gráfico da coleção
Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica
Francisco Carlos da Rocha Gomes

Foto da capa
Haroldo Xavier Linhares Volpe

1ª edição
1ª impressão (2018): 300 exemplares

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Acre

Eficácia do óleo essencial de *Piper aduncum* L. (Piperaceae) para o controle de *Diaphorina citri* Kuwayama / por Haroldo Xavier Linhares Volpe... [et al]. – Rio Branco, AC: Embrapa Acre, 2018.

37 p. : il. color. – (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Acre, ISSN 0101-5516; 59).

1. Praga de planta – manejo integrado. 2. Inseticida de origem vegetal. 3. Óleo essencial – fitotoxidade. 4. Dilapiol. 5. *Piper aduncum*. 6. Pimenta-de-macaco. 7. *Diaphorina citri*. 8. *Citrus cinensis*. 9. Volpe, Haroldo Xavier Linhares. I. Embrapa Acre. II. Série.

632.95

Sumário

Resumo5

Abstract7

Introdução.....9

Material e Métodos11

Resultados.....20

Discussão29

Conclusões.....31

Referências32

Eficácia do Óleo Essencial de *Piper aduncum* L. (Piperaceae) para o Controle de *Diaphorina citri* Kuwayama

Haroldo Xavier Linhares Volpe¹

Murilo Fazolin²

Rodrigo Facchini Magnani³

Rafael Brandão Garcia⁴

José Carlos Barbosa⁵

Marcelo Pedreira de Miranda⁶

Resumo – O óleo essencial de *Piper aduncum* (OEPA) contém dilapiol, comprovadamente eficaz no controle de insetos-praga de diversas culturas. Esta pesquisa teve por objetivo avaliar a eficácia do OEPA em ninfas e adultos de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) em condições laboratoriais e a repelência para adultos. Foram determinadas as concentrações de dilapiol OEPA (69,3%, 79,4%, 85,4% e 99,9%) adicionadas a 0,025% de adjuvante (Silwet®) para serem pulverizadas em *Citrus sinensis*, avaliando-se a fitotoxicidade. As concentrações com baixa e moderada toxicidade às plantas de citros foram avaliadas no controle de *D. citri*. Em ninfas e adultos, a mortalidade foi avaliada 1, 3 e 7 dias após a aplicação. Finalmente, os tratamentos eficazes para o controle de adultos foram utilizados para determinar a repelência contra *D. citri*. Para as ninfas, todos os tratamentos causaram mortalidade entre 90%–100% em aplicação tópica. Já para adultos, os tratamentos com OEPA contendo 79,4% e 85,4% de dilapiol na concentração de 0,75% e 1% de óleo foram eficazes. Para a avaliação residual, o OEPA não foi eficaz. Apenas a concentração de 85,4% de dilapiol apresentou repelência para *D. citri*. O óleo essencial de *P. aduncum* e seu ingrediente ativo, dilapiol, mostraram-se

¹ Engenheiro-agrônomo, D.Sc. em Entomologia Agrícola, pesquisador do Fundecitrus, Araraquara, SP.

² Engenheiro-agrônomo, D.Sc. em Entomologia, pesquisador da Embrapa Acre, Rio Branco, AC.

³ Químico, D.Sc. em Química, pesquisador do Fundecitrus, Araraquara, SP.

⁴ Biólogo, auxiliar de pesquisa do Fundecitrus, Araraquara, SP.

⁵ Engenheiro-agrônomo, D.Sc. em Estatística e Experimentação Agronômica, professor titular da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/Unesp, Jaboticabal, SP.

⁶ Engenheiro-agrônomo, D.Sc. em Entomologia, pesquisador do Fundecitrus, Araraquara, SP.

promissores para uso em programas de Manejo Integrado de Pragas (MIP) no controle de *D. citri*. Estudos de campo e formulações devem ser desenvolvidos para a viabilização de um novo produto a ser utilizado no controle desse inseto vetor.

Termos para indexação: psilídeo-dos-citros, HLB, inseticida botânico, rotação de ingredientes ativos, manejo integrado de pragas.

Efficacy of Essential Oil of *Piper aduncum* L. (Piperaceae) against *Diaphorina citri* Kuwayama

Abstract – The essential oil of *Piper aduncum* (OEPA) contains the active ingredient dillapiol, which was proven efficient against others insects pests from several crops. Thus, this research was carried out to study the efficiency OEPA on nymphs and adults of *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) under laboratory conditions and repellency to adults. We determined the concentrations of dillapiol to OEPA (69.3%, 79.4% and 85.4% and 99.9%). These OEPA concentrations of essential oil plus 0.025% adjuvant (Silwet®) were sprayed on *Citrus sinensis* to evaluate phytotoxicity. Concentrations with low and moderate toxicity were tested against *D. citri*. In nymphs and adults, mortality was assessed 1, 3 and 7 days after application. Finally, the efficient treatments against adults were used to determine repellency against *D. citri*. For nymphs, all treatments caused mortality range between 90%-100%. For adults, treatments with 79.4% and 85.4% of dillapiol concentration at 0.75% and 1% of oil were efficient when applied by topical application. Otherwise, for residual experiment the OEPA was not efficient. Only 85.4% of dillapiol showed repellency to *D. citri*. It was possible to conclude essential oil of *P. aduncum* is a promising and could be used in IPM programs for the control of *D. citri*.

Index terms: asian citrus psyllid, HLB, botanical insecticide, active ingredient rotation, integrated pest management.

Introdução

Os patógenos disseminados por insetos vetores são considerados limitantes para o cultivo de citros, destacando-se as bactérias *Candidatus Liberibacter asiaticus* e *Candidatus Liberibacter americanus*, associadas ao huanglongbing (HLB), no Continente Americano e Asiático, e que infectam os vasos do floema (Coletta-Filho et al., 2004; Teixeira et al., 2005; Bové; Ayres, 2007). A disseminação do HLB nos pomares tem ocorrido principalmente pela ação do psíldeo-dos-citros, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) que possui a capacidade de transmitir ambas as espécies de bactérias (Halbert; Manjunath, 2004; Yamamoto et al., 2006).

Como manejo do HLB, recomenda-se a utilização de mudas produzidas em viveiros telados livres de vetores a partir de material propagativo sadio; inspeção e erradicação de plantas doentes nos pomares; e controle de *D. citri* com aplicações de inseticidas (Belasque Jr. et al., 2010).

O controle químico é o principal método para o manejo do inseto vetor (Miranda et al., 2011; Boina; Bloomquist, 2015), sendo o ingrediente ativo imidacloprid o mais utilizado. Na Flórida, esse inseticida foi relatado com fator de resistência superior a 30 vezes para *D. citri*, seguido de clorpirifós (17,9), tiametoxam (15,0), malation (5,4) e fenopropatrin (4,8) (Tiwari et al., 2011a). Esse fato se deve ao uso frequente de inseticidas, o que acarreta uma maior pressão de seleção. Assim, a utilização de diferentes táticas de controle pode retardar a evolução da resistência e contribuir com a sustentabilidade do uso de inseticidas para o manejo de *D. citri* (Boina; Bloomquist, 2015).

Uma opção que necessita de estudos adicionais é a utilização de inseticidas botânicos. Os trabalhos realizados nessa área para controle de *D. citri* são incipientes, sendo a maioria deles com extrato e óleo essencial de nim (*Azadirachta indica* A. Juss., Meliaceae). Estudos utilizando nim aplicado em ninfas demonstraram uma eficácia de 92% em casa de vegetação e em torno de 30% em condições de campo (Weathersbee III; McKenzie, 2005; Rao & Shivankar, 2011). Para adultos, Khan et al. (2012) relataram mortalidade de 80% dos insetos em campo usando extrato de nim. Khan et al. (2014) observaram que o extrato de nim e de *Datura alba* Nees (= *Datura metel* L.) (Solanaceae) reduziu em até quatro vezes o número de ninfas e adultos de *D. citri* em relação a áreas não tratadas, em condições de campo.

A pimenta-de-macaco, *Piper aduncum* L. (Piperaceae), uma planta abundante na região Amazônica, apresenta propriedades inseticidas (Maia et al., 1998), pois contém compostos tóxicos para insetos, principalmente os pertencentes aos grupos químicos dos monoterpenos (Zapata; Smagghe, 2010), sesquiterpenos (Chu et al., 2010; Ogendo et al., 2010) e fenilpropanoides (Bernard et al., 1990), sendo o fenilpropanoide dilapiol o composto majoritário (Maia et al., 1998; Guerrini et al., 2009; Potzernheim et al., 2012).

O dilapiol inibe potencialmente a atividade de monoxigenases dependentes do citocromo P450, família de enzimas responsáveis por modificar proteínas lipofílicas, tornando-as mais solúveis (hidrofílicas) e de fácil excreção (Bernard et al., 1989). Com a inibição de monoxigenases, o inseto reduz a capacidade de excretar xenobióticos presentes no alimento, ocasionando a morte dos indivíduos contaminados pelo acúmulo de substâncias tóxicas em seu trato digestivo (Bernard et al., 1995; Li et al., 2007).

Com relação a estudos com extrato de Piperaceae, Bernard et al. (1990) observaram mortalidade acumulada de 95% para *Ostrinia nubilalis* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) utilizando dilapiol extraído de *Piper cubeba* L. e incorporado em dieta artificial na proporção de 100 µg/g. Para insetos sugadores, Silva et al. (2007) relataram mortalidade de 72% e 80% em adultos de *Aetalion* sp. (Hemiptera: Aethalionidae) utilizando extratos de folhas e de raízes de *P. aduncum*, respectivamente, ambos na concentração de 30 mg.mL⁻¹. Castro et al. (2009) observaram inviabilidade de 54,8% de ovos de *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Hemiptera: Aleyrodidae) em aplicação tópica de extrato aquoso de folhas de *P. aduncum* a 4%.

Com relação ao óleo essencial de *P. aduncum* (OEPA), estudos foram realizados para determinar o seu efeito inseticida sobre pragas desfolhadoras como *Cerotoma tingomarianus* Bechyné (Coleoptera: Chrysomelidae) (Fazolin et al., 2005), de farinhas *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae) (Fazolin et al., 2007) e de grãos armazenados *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae) (Estrela et al., 2006), porém não há trabalhos que relatam a atividade tóxica de *P. aduncum* (dilapiol) a *D. citri*.

Este trabalho teve como objetivo principal avaliar a eficácia do OEPA rico em dilapiol sobre ninfas e adultos de *D. citri*, buscando um produto com um novo modo de ação a ser adotado em rotação para o controle desse inseto vetor. Além disso, seus objetivos secundários foram qualificar e quantificar os

constituintes químicos do óleo e definir o seu teor de dilapiol; determinar a possível fitotoxidade a *Citrus sinensis*; e avaliar a repelência dos tratamentos de OEPA eficazes (mortalidade > 80%) para adultos de *D. citri*.

Material e Métodos

Extração do óleo essencial de *Piper aduncum* e quantificação de constituintes químicos

Em março de 2015, brotações das plantas de *P. aduncum* de 1 ano de idade foram coletadas no campo de produção da Embrapa Acre, Rio Branco, Acre, Brasil (10°01'30,6"S e 67°42'19,3"O) e cortadas a 0,4 m do solo, separando-se somente as folhas e talos finos para processamento. A massa vegetal foi submetida à secagem até atingir cerca de 20% a 30% de umidade e, a seguir, extraída pelo princípio do arraste de vapor utilizando sistema de caldeira, adaptada de Pimentel et al. (1998). O óleo essencial foi redestilado por meio do sistema de retificação fracionada, constituído de uma manta aquecedora para até 150 °C, acondicionando-se a ela um balão de vidro com capacidade de 3.000 mL. Ao balão foi conectada uma torre formada por uma coluna única de vidro de 50 mm x 600 mm completamente recheada com anéis de Raschig 6 mm–8 mm. Na parte superior da torre (coluna) foi acoplado um condensador de 40 mm x 300 mm com circulação de água refrigerada para a condensação dos voláteis. O condensador foi conectado a um coletor de frações com sistema de fracionamento sob pressão de -760 mmHg promovido por uma bomba de vácuo.

Para a identificação e quantificação dos constituintes químicos, o OEPA foi submetido a análises em cromatógrafo gasoso (detector DIC VARIAN CP-3800, Salt Lake City, Utah, USA) e acoplado ao espectrômetro de massa (CG-EM VARIAN-SATURN 2000, Salt Lake City, Utah, USA). A caracterização química foi realizada pela comparação de seus espectros de massas com os disponíveis no banco de dados da espectroteca do CG-EM, por meio de padrões autênticos, com dados da literatura e também pelos índices de Kovats (Adams, 1995). Para a determinação desses índices, foi injetada no cromatógrafo uma mistura de alcanos lineares (C9 a C26) (Thomazini; Franco, 2000). A quantificação dos constituintes foi realizada por meio de CG-MS e nas mesmas condições operacionais descritas para a identificação no CG-EM.

Pelo processo de destilação fracionada foram obtidas as concentrações de 69,3%, 79,4%, 85,4% e 99,9% de dilapiol a partir do OEPA.

Fitotoxicidade do óleo essencial de *Piper aduncum* a *Citrus sinensis* e definição das concentrações de trabalho

Como critério de seleção da faixa de concentrações do OEPA a serem submetidas às avaliações de mortalidade para ninfas e adultos de *D. citri*, foi realizado um experimento em que o OEPA, com quatro concentrações de dilapiol em três diferentes diluições, foi avaliado quanto ao efeito fitotóxico para brotações de laranja-doce.

O experimento foi desenvolvido em dezembro de 2015, nas dependências do Fundo de Defesa da Citricultura – Fundecitrus, Araraquara, São Paulo (21°48'26.5"S 48°09'53.9"W), em casa de vegetação, nas dimensões de 1,60 m x 7,90 m x 6,0 m, em condições de temperatura e umidade relativa ambiente (Tabela 1).

Tabela 1. Temperatura e umidade relativa mínima, média e máxima durante a avaliação da fitotoxicidade do óleo essencial de *Piper aduncum* sobre plantas de *Citrus sinensis*.

Data	DAA ⁽¹⁾	Temperatura (°C)			Umidade relativa (%)		
		Mínima	Máxima	Média	Mínima	Máxima	Média
25/11/2013	0	20,1	28,2	23,2	64,9	92,3	82,6
26/11/2013	1	19,1	37,0	26,1	41,0	93,2	71,3
27/11/2013	2	19,4	37,5	26,7	36,1	91,9	68,8
28/11/2013	3	19,5	39,5	28,2	31,7	92,1	64,4
29/11/2013	4	20,8	40,0	28,8	29,9	90,3	64,2
30/11/2013	5	21,7	38,3	26,7	38,6	90,4	73,1
12/1/2013	6	22,0	33,8	26,0	52,5	91,2	76,9
12/2/2013	7	21,5	34,0	26,2	52,6	93,6	78,3
12/3/2013	8	21,7	37,9	28,5	37,8	93,6	69,0
12/4/2013	9	21,5	38,9	29,5	34,5	92,4	64,7
12/5/2013	10	20,5	39,7	27,5	36,2	92,4	72,7
12/6/2013	11	19,5	37,6	27,6	38,9	92,7	66,8
12/7/2013	12	20,8	34,3	26,1	51,2	92,3	72,8
12/8/2013	13	20,9	38,9	28,3	39,1	92,8	70,4
12/9/2013	14	21,7	40,1	29,7	33,0	93,1	66,7
12/10/2013	15	21,8	30,6	24,8	63,4	92,6	83,2

⁽¹⁾DAA = dia após a aplicação.

Foram selecionadas plantas de *C. sinensis* (L.) Osbeck var. Valência (Rutaceae) enxertadas sobre citrumelo Swingle (*Citrus paradisi* MACF x *Poncirus trifoliata* (L) RAF.) de 1 ano de idade, com três brotações de 15 cm a 18 cm em cada muda. As mudas foram cultivadas em vasos de 20 L contendo substrato (80% de casca de *Pinus* sp. (Pinaceae), 15% de vermiculita e 5% de carvão vegetal) (Multiplant Citrus®, Terra do Paraíso, Holambra, São Paulo).

Para o preparo das caldas, inicialmente o OEPA com diferentes concentrações de dilapiol (69,3%, 79,4%, 85,4% e 99,9%) foi diluído a 0,5%, 0,75% e 1,0% de v v⁻¹ de água com adição de 0,025% de adjuvante Silwet® (copolímero poliéster e silicone a 100%) (Momentive, Itatiba, São Paulo), constituindo os tratamentos a serem avaliados. Além deles, foram incluídos dois tratamentos controle contendo água pura e água com o adjuvante a 0,025% (Tabela 2). Na sequência da preparação da calda diluiu-se o adjuvante em água e em seguida foi adicionado o OEPA de acordo com as concentrações estabelecidas para cada tratamento.

As brotações das plantas foram pulverizadas com o auxílio de pulverizador manual Brudden® S-600 (Brudden®, Pompeia, São Paulo). Para cada uma delas foram utilizados 7,0 mL de calda, o que corresponde ao início do ponto de escoamento.

As avaliações foram realizadas 1, 7 e 15 dias após a aplicação (DAA) para determinar o grau de fitotoxidade nas brotações. Para efeito de comparação dos tratamentos foi elaborada uma escala visual do grau de fitotoxidade, com as seguintes notas: 0 (sem toxidade), plantas assintomáticas; 1 (toxidade leve), plantas com manchas necróticas (queima) até 1 mm sobre as folhas; 2 (toxidade moderada), plantas com manchas de 1 mm a 3 mm sobre as folhas e ramos; e nota 3 (toxidade alta), folhas com manchas necróticas maiores que 3 mm e/ou completamente necrosadas, necrose dos ponteiros e ramos (Figura 1A, 1B, 1C e 1D).

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, com 14 tratamentos e 9 repetições. Cada tratamento foi composto por três plantas contendo três brotações e cada brotação foi considerada uma repetição.

Dessa forma, para os estudos de eficácia sobre *D. citri* foram selecionados os tratamentos que não apresentaram toxicidade (nota 0), com sintoma de toxicidade leve (nota 1) e até 30% das plantas com toxicidade moderada (nota 2). Os tratamentos que apresentaram mais que 30% de plantas classificadas com nota 2 e todos os tratamentos altamente tóxicos (nota 3) foram excluídos desses experimentos.

Tabela 2. Tratamentos, diluições e porcentagem do ingrediente ativo (i.a.) para cada concentração de calda pulverizada sobre plantas de *C. sinensis* (L.) Osbeck var. Valência.

Tratamento	Diluição (v v ⁻¹)	% i.a. L ⁻¹
Testemunha (água) ^(1,2,3)	-	-
Testemunha (água + adjuvante) ^(1,2,3)	-	-
OEPA 69,3% de dilapiol ^(1,2)	0,50	0,35
OEPA 69,3% de dilapiol ^(1,2)	0,75	0,52
OEPA 69,3% de dilapiol ^(1,2,3)	1,00	0,69
OEPA 79,4% de dilapiol ^(1,2)	0,50	0,40
OEPA 79,4% de dilapiol % ^(1,2)	0,75	0,60
OEPA 79,4% de dilapiol ^(1,2,3,4,5)	1,00	0,80
OEPA 85,4% de dilapiol ^(1,2)	0,50	0,43
OEPA 85,4% de dilapiol ^(1,2)	0,75	0,64
OEPA 85,4% de dilapiol ^(1,2,3,4,5)	1,00	0,85
Dilapiol 99,5% ⁽¹⁾	0,50	0,50
Dilapiol 99,5% ⁽¹⁾	0,75	0,75
Dilapiol 99,5% ⁽¹⁾	1,00	1,00
Imidacloprid ^(2,3)	0,02	20,0

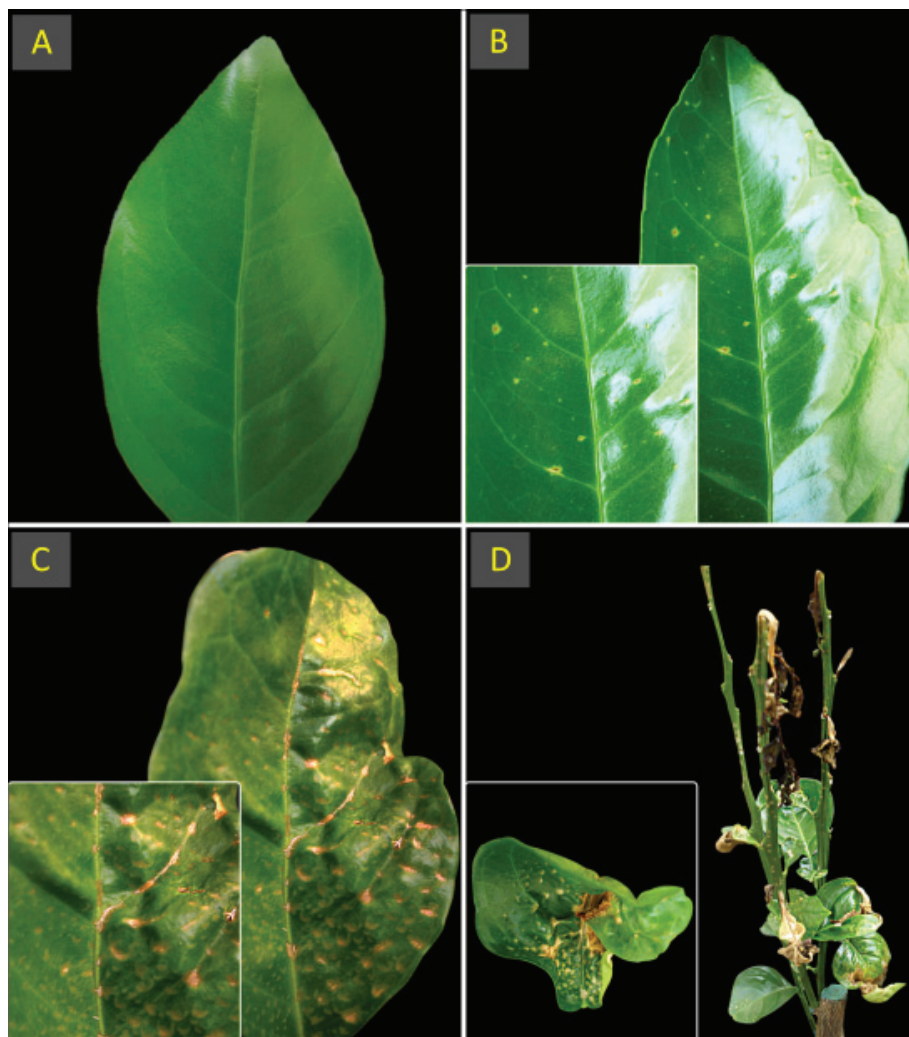
⁽¹⁾Fitotoxicidade sobre *Citrus sinensis*.

⁽²⁾Aplicação tópica sobre ninfas e adultos de *Diaphorina citri*.

⁽³⁾Aplicação residual sobre adultos de *Diaphorina citri*.

⁽⁴⁾Repelência para pouso de *Diaphorina citri*.

⁽⁵⁾Aplicação tópica com microseringa.



Fotos: Haroldo Xavier Linhares Volpe

Figura 1. Fitotoxidade do óleo essencial de *Piper aduncum* a plantas de laranja-doce: nota 0 (sem toxidade), plantas assintomáticas (A); nota 1 (toxidade leve), plantas com manchas necróticas (queima) até 1 mm sobre as folhas (B); nota 2 (toxidade moderada), plantas com manchas de 1 mm a 3 mm sobre as folhas e ramos (C); nota 3 (toxidade alta), folhas com manchas necróticas maiores que 3 mm e/ou completamente necrosadas, necrose dos ponteiros e ramos (D).

Avaliação da eficácia do óleo essencial de *Piper aduncum* a *Diaphorina citri*

Essa fase experimental ocorreu no intervalo entre os meses de janeiro a março de 2016.

Insetos, plantas e condições dos ensaios

Os insetos (ninfas de terceiro instar e adultos de 10 dias de idade) foram obtidos na criação de *D. citri* estabelecida no Fundecitrus, Araraquara, São Paulo. A criação foi mantida em *Murraya paniculata* (L.) (Rutaceae) em sala climatizada (temperatura de $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$, fotofase de 14 horas e umidade relativa de $65\% \pm 10\%$). Para obtenção dos ovos, plantas com brotações novas foram transferidas para gaiolas confeccionadas em acrílico e tela antiáfideo (20 cm x 21 cm x 55 cm) e expostas a adultos por 7 dias. As plantas contendo posturas foram mantidas nas gaiolas até a emergência dos adultos.

Nos experimentos, para a avaliação da eficácia do OEPA, foram utilizados *seedlings* de *C. sinensis* var. Caipira cultivados em tubetes e produzidos em viveiros telados. Todos os ensaios foram conduzidos em laboratório, nas mesmas condições de temperatura, fotofase e umidade relativa descrita para a criação dos psíldeos.

Avaliação da eficácia do óleo essencial de *Piper aduncum* sobre ninfas e adultos de *Diaphorina citri* por contato tópico

Os tratamentos utilizados nesses experimentos foram previamente selecionados no ensaio fitotoxidade do óleo essencial de *Piper aduncum* a *Citrus sinensis*, definindo-se as concentrações de trabalho. Além dos tratamentos com OEPA, utilizou-se um tratamento contendo o imidacloprid (Provado® 200 SC), como controle positivo para comparação da eficácia de mortalidade (Tabela 2).

Para o teste de eficácia sobre ninfas de terceiro estágio, cada *seedling* com um broto foi infestado com 10 indivíduos de terceiro instar com o auxílio de pincel de cerdas macias. Posteriormente, as plantas contendo as formas jovens foram pulverizadas com os tratamentos com o auxílio de pulverizador manual Brudden® S-600 até o início do ponto de escorrimento e acondicio-

nadas em sala climatizada. No ensaio de eficácia do óleo sobre adultos, 10 insetos com 10 dias após a emergência foram confinados em cada *seedling* e em seguida pulverizados com os mesmos tratamentos descritos para aplicação tópica sobre ninfas (Tabela 2).

As avaliações do número de insetos mortos (ninfas ou adultos) foram realizadas 1, 2 e 7 DAA. As ninfas e adultos foram considerados mortos quando não apresentaram mobilidade das pernas, asas e antenas.

As ninfas foram avaliadas somente por contato tópico, haja vista que após sua eclosão se desenvolvem no mesmo ramo até a emergência dos adultos, não justificando a realização de ensaio de contato residual.

Para ambos os ensaios, o delineamento utilizado foi inteiramente casualizado e cada *seedling* representou uma repetição, sendo sete e oito plantas para o ensaio com ninfas e adultos, respectivamente. Para adultos, foi também utilizado como delineamento estatístico o esquema fatorial 3 x 3 (concentrações de dilapiol x diluições do óleo), com a finalidade de verificar se haveria influência do aumento de dilapiol para uma mesma concentração de óleo ou aumento do óleo para uma mesma concentração de dilapiol sobre a mortalidade do inseto.

Avaliação da eficácia do óleo essencial de *Piper aduncum* sobre adultos de *Diaphorina citri* por contato residual

Para esse ensaio 10 adultos, com 10 dias após a emergência, foram confinados em cada *seedling* sobre o resíduo seco (2 horas após a pulverização dos tratamentos) usando o mesmo pulverizador para aplicação. Os tratamentos utilizados nesse ensaio foram aqueles classificados como eficazes no ensaio de contato tópico (mortalidade $\geq 80\%$) (Tabela 2) descritos no ensaio fitotoxidade do óleo essencial de *Piper aduncum* a *Citrus sinensis*, quando foram definidas as concentrações de trabalho. As avaliações e delineamento experimental foram semelhantes aos ensaios para contato tópico.

Repelência para pouso de *Diaphorina citri*

O teste de repelência para pouso foi conduzido em recipientes plásticos transparentes, com capacidade de 1,5 L, com o fundo removido e substituído por tecido voil para permitir a troca de ar com o ambiente e orifício lateral para liberação dos insetos. Esses recipientes foram fechados com pedaço de esponja, para impedir a fuga dos insetos liberados. Dois orifícios foram feitos na tampa de rosca do baleiro, para permitir colocar dois *seedlings* de laranjeira 'Pera' em seu interior. Tal procedimento permitiu que apenas o caule e as folhas dos *seedlings* ficassem na parte de dentro do baleiro e em contato com os insetos, sendo os tubetes alocados na parte externa (Figura 2).

Para a condução dos ensaios, as plantas foram tratadas com OEPA contendo 76,0% e 85,4% de dilapiol a 1% e adjuvante Silwet® a 0,025% diluídos em água e mais dois tratamentos controle, contendo apenas água e água com 0,025% de adjuvante (Tabela 2).

Foto: Haroldo Xavier Linhares Volpe



Figura 2. Recipientes plásticos contendo dois *seedlings* de laranjeira 'Pera'.

Após 2 horas, duas plantas do mesmo tratamento foram colocadas no interior dos baleiros e 10 fêmeas com 7 dias foram liberadas em seu interior. Cada tratamento foi constituído de 12 repetições (baleiros). Avaliou-se o número de insetos pousados, dispersos e mortos a 1, 4, 8, 24, 36 e 72 horas após a liberação (HAL).

Cálculos e análise dos dados

Os valores expressos para avaliação do efeito fitotóxico foram transformados em porcentagem em função da nota atribuída aos danos em todas as brotações pertencentes a cada tratamento.

O número de insetos mortos para todos os testes de eficácia foi expresso em porcentagem. Os dados foram previamente transformados em $\arcsen(x/100)0,5$ para reduzir a heteroscedasticidade (diferentes variâncias) e alcançar a normalidade. As médias dos tratamentos foram submetidas à análise de variância (Anova) com medidas repetidas no tempo e, quando significativas, comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Para apresentação nas tabelas foram utilizados os dados não transformados. Todas as análises foram feitas com o AgroEstat (Barbosa; Maldonado, 2014).

Modelos lineares generalizados (Nelder; Wedderburn, 1972) com distribuição do tipo quase-Binomial e quase-Poisson foram utilizados para análise dos dados de proporção de mortalidade (aplicação tópica com microseringa) e de contagem de insetos pousados (repelência), respectivamente. A verificação da qualidade do ajuste foi feita pelo gráfico meio-normal de probabilidades com envelope de simulação (Hinde; Demétrio, 1998). Quando houve diferença significativa entre os tratamentos, múltiplas comparações (teste de Tukey, $p \leq 0,05$) foram realizadas por meio da função *glht* do pacote *multcomp* com ajuste dos valores de *p*. Todas as análises foram realizadas utilizando-se o software estatístico R, versão 3.2.3 (R Development Core Team, 2015).

Resultados

Constituintes químicos dos óleos essenciais de *Piper aduncum*

A composição dos quatro OEPAs obtidos por destilação fracionada usados no experimento foi determinada por CG-MS comparando os tempos relativos de retenção e o espectro de massas dos compostos dos OEPAs de uma biblioteca de dados. Foram injetadas três amostras de cada fração de OEPA para determinar a porcentagem média $\pm$ EP para cada uma delas.

A caracterização e a porcentagem relativa de cada composto dos OEPAs estão listadas na Tabela 3.

Um total de 40, 39, 30 e 6 compostos foram identificados para o OEPA 1, OEPA 2, OEPA 3 e OEPA 4, respectivamente. Miristicina, z-isoelemicina, óxido cariofileno, globulol, dilapiol e apiol estavam presentes em todos os OEPAs. Dilapiol foi o composto mais abundante dos OEPAs obtidos por destilação fracionada e as porcentagens foram 69,3; 79,9; 85,4 e 99,5 (Tabela 3).

Tabela 3. Composição química (%) do óleo essencial de *Piper aduncum* (OEPA).

Composto	OEPA 1	OEPA 2	OEPA 3	OEPA 4
α -pinene	1,08	0,55	tr	–
Camphene	tr ^d	tr	–	–
β -pinene	1,92	1,01	tr	–
Myrcene	tr	tr	–	–
α -phellandrene	0,90	0,30	–	–
<i>p</i> -cymene	tr	tr	–	–
Limonene	0,48	0,17	–	–
(Z)- β -ocimene	0,79	0,21	–	–
(E)- β -ocimene	1,87	0,46	–	–
Terpinolene	tr	tr	–	–
α -cubebene	0,10	tr	tr	–
α -longipinene	tr	tr	tr	–
Cyclosativene	0,17	0,12	tr	–
α -copaene	0,98	0,73	0,63	–
β -cubebene	tr	tr	–	–

Continua...

Tabela 3. Continuação.

Composto	OEPA 1	OEPA 2	OEPA 3	OEPA 4
β -elemene	0,27	tr	0,10	–
α -gurjunene	0,19	tr	tr	–
(E)-caryophyllene	10,44	7,14	4,85	–
α -santalene	0,19	0,14	0,10	–
β -copaene	tr	tr	tr	–
Aromadendrene	0,24	0,10	tr	–
α -humulene	1,40	0,93	0,68	–
Allo-aromadendrene	0,24	0,17	0,13	–
Dauca-5,8-diene	0,10	tr	tr	–
Germacrene D	0,99	0,80	0,21	–
Bicyclogermacrene	1,31	0,86	0,28	–
α -muurolene	0,34	0,24	0,15	–
β -himachalene	0,72	0,34	0,13	–
n-pentadecane	0,96	1,34	2,01	–
δ -amorphene	0,24	0,19	0,46	–
β -curcumene	0,26	0,17	0,18	–
Myristicin	2,68	2,13	2,06	0,17
α -calacorene	0,15	0,12	0,30	–
Germacrene B	0,10	tr	tr	–
z-isoelemicin	0,15	0,13	0,12	tr
Spathulenol	0,12	–	–	–
Caryophyllene oxide	0,29	0,61	0,77	tr
Globulol	0,47	0,45	0,72	tr
Dillapiol	69,3	79,9	85,4	99,5
Apiol	0,15	0,18	0,23	0,15

Fitotoxicidade do óleo essencial de *Piper aduncum* a *Citrus sinensis* e definição das concentrações para as avaliações definitivas

A proporção de plantas com o mesmo grau de toxicidade observado na primeira avaliação (1 DAA) permaneceu constante durante todo o período experimental. Foi observada evolução de necrose apenas nos tratamentos classificados como altamente tóxicos.

Os tratamentos com OEPA a 69,3% (nas diluições 0,75% e 1,0%), a 79,4% (0,75%) e a 85,4% (0,5%, 0,75% e 1,0%) não apresentaram efeito fitotóxico para 100% das plantas (nota 0). O tratamento com OEPA a 69,3% (0,5%) foi atóxico para 88,9% das plantas e a 79,4% (0,5% e 1,0%) para 66,6% e 33,3% das plantas, respectivamente.

O tratamento com OEPA a 69,3% (0,5%) causou toxicidade leve para 11,11% das plantas (nota 1) e a 79,4% (0,5% e 1,0%) para 22,2% e 33,3% (nota 1).

O tratamento com OEPA a 79,4% (0,5% e 1,0%) foi moderadamente tóxico (nota 2) para 11,18% e 33,3% das plantas, respectivamente, com OEPA a 99,9% (0,5% e 1,0%) causou toxicidade moderada para 33,7% das plantas (nota 2) e a 0,75% causou a mesma toxicidade para 66,7%.

Apenas o tratamento com OEPA a 99,9% de dilapiol foi altamente tóxico (nota 3) às plantas. As diluições 0,5% e 1,0% foram altamente tóxicas para 66,6% das plantas, enquanto a diluição 0,75% causou alta toxicidade para 33,3%. Os dois tratamentos controle, com ou sem adjuvante, foram atóxicos para 100% das plantas de *C. sinensis*.

Por apresentar toxicidade moderada (nota 2) para mais de 35% das plantas e alta toxicidade (nota 3), dilapiol a 99,9% foi descartado dos testes de eficácia sobre *D. citri*.

Avaliação da eficácia do óleo essencial de *Piper aduncum* sobre ninfas e adultos de *Diaphorina citri* por contato tópico

As ninfas de *D. citri* apresentaram alta sensibilidade em todos os tratamentos contendo OEPA. A mortalidade média entre os tratamentos variou de

90,0% a 98,6% no primeiro dia de avaliação (1 DAA), 91,4% a 100% aos 3 DAA e 97,1% a 100% na avaliação final (7 DAA) (Tabela 4).

As médias de mortalidade entre os tratamentos não diferiram significativamente entre si e em relação ao inseticida imidacloprid, porém diferiram das testemunhas em todos os períodos de avaliação para 1 DAA ($F=44,10$; $DF=11$, $p<0,0001$), 3 DAA ($F=35,80$; $DF=11$, $p<0,0001$) e 7 DAA ($F=35,87$; $DF=11$, $p<0,0001$). A alta mortalidade (90,00%–98,57%) observada no 1 DAA em todos os tratamentos indica efeito *knockdown* do OEPA para ninfas de terceiro instar de *D. citri*. Ao longo das avaliações, apenas a menor concentração avaliada, OEPA a 69,3% (0,5%), apresentou mortalidade significativamente maior aos 7 DAA em relação ao 1 e 3 DAA. Observou-se que a mortalidade da testemunha com adjuvante foi significativamente maior em relação à testemunha contendo somente água para todas as avaliações (Tabela 4).

Tabela 4. Médias de mortalidade ($\pm$ EP) para ninfas de terceiro instar de *Diaphorina citri* em aplicação tópica de diferentes concentrações de dilapiol e diluições do óleo essencial de *Piper aduncum*.

Tratamento	Concentração v v ⁻¹	Mortalidade (%)		
		1 DAA ⁽¹⁾	3 DAA	7 DAA
Controle (água)	–	1,4 $\pm$ 1,4Cb	10,0 $\pm$ 5,3Ca	10,0 $\pm$ 5,3Ca
Controle (adj)	0,025	35,7 $\pm$ 10,4Bb	45,7 $\pm$ 10,9Ba	47,1 $\pm$ 10,6Ba
Dilapiol 69,3%	0,5	90,0 $\pm$ 5,3Ab	91,4 $\pm$ 5,5Ab	97,1 $\pm$ 1,8Aa
Dilapiol 69,3%	0,75	100,0 $\pm$ 0,0Aa	100,0 $\pm$ 0,0Aa	100,0 $\pm$ 0,0Aa
Dilapiol 69,3%	1,00	95,7 $\pm$ 3,0Aa	97,1 $\pm$ 1,8Aa	98,6 $\pm$ 0,0Aa
Dilapiol 79,9%	0,5	94,3 $\pm$ 5,7Aa	97,1 $\pm$ 2,9Aa	97,1 $\pm$ 2,9Aa
Dilapiol 79,9%	0,75	98,6 $\pm$ 1,4Aa	100,0 $\pm$ 0,0Aa	100,0 $\pm$ 0,0Aa
Dilapiol 79,9%	1,00	97,1 $\pm$ 2,9Aa	97,1 $\pm$ 2,9Aa	97,14 $\pm$ 2,9Aa
Dilapiol 85,4%	0,5	97,1 $\pm$ 2,9Aa	97,14 $\pm$ 2,9Aa	97,1 $\pm$ 2,9Aa
Dilapiol 85,4%	0,75	91,4 $\pm$ 8,6Aa	91,4 $\pm$ 8,6Aa	91,4 $\pm$ 8,6Aa
Dilapiol 85,4%	1,00	98,6 $\pm$ 1,4Aa	100,0 $\pm$ 0,0Aa	100,0 $\pm$ 0,0Aa
Imidacloprid	0,02	100,0 $\pm$ 0,0Aa	100,0 $\pm$ 0,0Aa	100,00 $\pm$ 1,4Aa

⁽¹⁾DAA = dia após a aplicação.

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Para adultos, na primeira avaliação (1 DAA), os tratamentos contendo OEPA a 79,4% (0,75% e 1,0%) e a 85,4% (1,0%) apresentaram os maiores valores de mortalidade (>72,5%), não diferindo significativamente do imidacloprid, porém diferindo das testemunhas ($F=18,21$; $GL=11$; $p<0,0001$). Nesse caso, a testemunha contendo apenas água não diferiu significativamente da testemunha contendo adjuvante. Pode-se considerar que os tratamentos com OEPA a 69,3% na concentração de 1% apresentaram eficácia intermediária, pois a mortalidade foi significativamente maior em relação à testemunha (46,3), porém inferior ao imidacloprid e aos tratamentos de OEPA relatados anteriormente ($F=18,21$; $GL=11$; $p<0,0001$). Os demais tratamentos não diferiram das testemunhas (Tabela 5).

Aos 3 DAA, os tratamentos com OEPA a 79,4% (0,75% e 1,0%) e 85,4% (1,0%) em dilapiol mantiveram a eficácia observada na primeira avaliação, apresentando maiores valores de mortalidade (78,6%–97,5%), sendo similares ao imidacloprid e diferindo das testemunhas ($F=18,19$; $GL=11$; $p<0,001$). A eficácia dos tratamentos com OEPA a 69,3% (1,0%) e 85,4% (0,75%) pode ser considerada intermediária, uma vez que causaram mortalidade significativamente maior em relação às testemunhas (55% e 57,5%, respectivamente), porém foram menos eficazes que o imidacloprid (98,8%) (Tabela 5).

Na última avaliação (7 DAA), os tratamentos com OEPA a 69,3% (1,0%), 79,4% (0,75% e 1,0%) e 85,4% (0,75% e 1,0%) em dilapiol não diferiram significativamente do imidacloprid, com mortalidade média que variou de 62,5% a 96,3%, porém diferiram das testemunhas ($F=17,25$; $GL=11$; $p<0,0001$) (Tabela 5). Os demais tratamentos não diferiram significativamente da testemunha.

Comparando-se a mortalidade proporcionada por cada tratamento ao longo das avaliações, foi possível observar que aqueles com OEPA a 79,4% (1%) ($F=1,75$; $GL=2$; $p=0,1767$) e 85,4% (1%) ($F=0,17$; $GL=2$; $p=0,8443$) apresentaram valores de mortalidade elevados para adultos de *D. citri* (> 88,7%) com 1 DAA, não diferindo significativamente dos demais períodos de avaliação. A alta mortalidade já na primeira avaliação (1 DAA) evidencia efeito *knockdown* causado por esses tratamentos (Tabela 5).

Tabela 5. Médias de mortalidade ($\pm$ EP) para adultos de *Diaphorina citri* em aplicação tópica de diferentes concentrações de dilapiol e diluições do óleo essencial de *Piper aduncum*.

Tratamento	Concentração V V ⁻¹	Mortalidade (%)		
		1 DAA ⁽¹⁾	3 DAA	7 DAA
Controle (água)	-	1,3 $\pm$ 0,3Da	2,5 $\pm$ 1,6 Ea	6,3 $\pm$ 2,6Da
Controle (adj)	0,025	5,0 $\pm$ 2,7Da	11,3 $\pm$ 4,8 Ea	13,8 $\pm$ 4,6Da
Dilapiol 69,3%	0,5	33,8 $\pm$ 13,0BCDa	36,3 $\pm$ 13,2 DEa	43,8 $\pm$ 12,9BCDa
Dilapiol 69,3%	0,75	16,3 $\pm$ 7,5CDa	17,5 $\pm$ 7,7 DEa	21,3 $\pm$ 7,4Da
Dilapiol 69,3%	1,00	46,3 $\pm$ 15,0BCb	55,0 $\pm$ 14,3 CDb	70,0 $\pm$ 10,0ABa
Dilapiol 79,4%	0,5	20,0 $\pm$ 9,3CDb	25,0 $\pm$ 9,1 DEab	33,8 $\pm$ 9,4BCDa
Dilapiol 79,4%	0,75	72,5 $\pm$ 11,8ABb	78,8 $\pm$ 10,9 ABCab	86,3 $\pm$ 9,8Aa
Dilapiol 79,4%	1,00	88,8 $\pm$ 6,4Aa	95,0 $\pm$ 3,8 ABCa	96,3 $\pm$ 2,6Aa
Dilapiol 85,4%	0,5	5,0 $\pm$ 3,8Db	13,8 $\pm$ 7,1Eab	22,5 $\pm$ 8,6CDa
Dilapiol 85,4%	0,75	36,3 $\pm$ 10,8BCDb	57,5 $\pm$ 13,6 BCDa	62,5 $\pm$ 13,6ABCa
Dilapiol 85,4%	1,00	96,3 $\pm$ 3,8Aa	97,5 $\pm$ 2,5 ABa	98,8 $\pm$ 1,3Aa
Imidacloprid	0,004	95,0 $\pm$ 3,8Aa	98,8 $\pm$ 1,3 Aa	100,0 $\pm$ 0,0Aa

⁽¹⁾DAA = dia após a aplicação.
Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Os tratamentos com OEPA a 69,3% (1,0%) e 79,4% (0,75%) apresentaram aumento significativo de mortalidade ao longo das avaliações ($F=15,67$; $DF=2$; $p<0,0001$ e $F=5,14$; $DF=2$; $p=0,0068$), respectivamente, e mortalidade superior a 70,0% na última avaliação (7 DAA) o que caracteriza a ocorrência de uma ação letal em um período mais longo, podendo ser considerada como intermediária quando comparada aos tratamentos mais eficazes para o controle do inseto. Os tratamentos com OEPA a 79,4% e 85,4% (0,5%) em dilapiol também apresentaram aumento significativo de mortalidade ao longo das avaliações ($F=5,25$; $DF=2$; $p=0,0061$ e $F=8,30$; $DF=2$; $p=0,004$), respectivamente, contudo, não foram eficazes na avaliação final (mortalidade < 50%) (Tabela 5).

Com relação às interações entre concentrações de dilapiol e diluições do OEPA, pode-se observar que o aumento na concentração de dilapiol para uma mesma diluição do óleo refletiu em uma maior mortalidade de adultos para os tratamentos diluídos a 0,75% ($F=11,05$, $DF=2$; $p<0,0001$) e 1% ($F=9,88$; $DF=2$; $p=0,0001$). Contudo, para a diluição de 0,5% não foi observada diferença significativa entre os valores de mortalidade dos adultos de *D. citri* ($F=2,81$; $DF=2$; $p=0,0659$) à medida que as concentrações de dilapiol foram crescentes (Tabela 6).

Tabela 6. Influência da concentração de dilapiol e diluição do óleo essencial de *Piper aduncum* na porcentagem de mortalidade ($\pm$ EP) para adultos de *Diaphorina citri* em aplicação tópica.

Dilapiol (%)	Óleo essencial (v v ⁻¹)		
	0,5%	0,75%	1,00%
69,3%	43,8 $\pm$ 12,94Aab	21,3 $\pm$ 7,4Bb	70,0 $\pm$ 10,0Ba
79,4%	33,8 $\pm$ 9,43Ab	86,3 $\pm$ 9,8Aa	96,3 $\pm$ 2,6Aa
85,4%	22,5 $\pm$ 8,60Ac	62,5 $\pm$ 13,6Ab	98,8 $\pm$ 1,3Aa

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Por meio da comparação das diferentes concentrações de dilapiol para cada diluição de óleo pulverizada, foi observado que o tratamento com OEPA a 69,3% causou mortalidade significativamente maior nas diluições de 0,5% e 1,0%, porém nas de 0,5% e 0,75% não diferiram entre si ($F=3,09$; $DF=2$; $p=0,0509$). Para o tratamento com OEPA a 79,4%, as diluições de 0,75% e

1,0% apresentaram maiores valores de mortalidade, diferindo significativamente da diluição de 0,5% ($F=17,54$; $DF=2$; $p<0,0001$). Por último, o tratamento com OEPA a 85,4% apresentou valores de mortalidade crescentes em função da menor diluição, diferindo significativamente entre si ($F=29,22$; $DF=2$; $p<0,0001$) (Tabela 6).

Avaliação da eficácia do óleo essencial de *P. aduncum* sobre adultos de *Diaphorina citri* em aplicação residual

Todos os tratamentos avaliados, independentemente da concentração de dilapiol e diluição do OEPA, apresentaram valores de mortalidade significativamente inferiores ao imidacloprid para 1 DAA ($F=60,20$; $DF=5$; $p<0,0001$), 3 DAA ($F=71,40$; $DF=5$; $p<0,0001$) e 7 DAA ($F=64,56$; $DF=5$; $p<0,0001$), respectivamente. Os tratamentos com OEPA apresentaram aumento significativo de mortalidade ao longo dos períodos de avaliação para 1 DAA ($F=9,34$; $DF=2$, $p=0,0002$), 3 DAA ($F=9,74$; $DF=2$, $p=0,0002$) e 7 DAA ($F=9,14$; $DF=2$, $p=0,0003$), respectivamente, contudo, apresentaram baixa eficácia de controle (mortalidade média $\leq 30\%$) (Tabela 7).

Tabela 7. Médias de mortalidade ($\pm$ EP) para adultos de *Diaphorina citri* em aplicação residual de diferentes concentrações de dilapiol e diluições do óleo essencial de *Piper aduncum*.

Tratamento	Concentração v v ⁻¹	Mortalidade (%)		
		1 DAA ⁽¹⁾	3 DAA	7 DAA
Controle (água)	–	10,0 $\pm$ 4,6Ba	14,3 $\pm$ 4,2BCa	17,1 $\pm$ 4,5BCa
Controle (adj)	0,025	0,0 $\pm$ 0,0Ba	2,5 $\pm$ 1,6Ca	5,0 $\pm$ 3,3Ca
Dilapiol 69,3%	1,00	5,0 $\pm$ 1,9Bb	10,0 $\pm$ 4,6BCb	18,8 $\pm$ 5,5BCa
Dilapiol 79,4%	1,00	3,8 $\pm$ 2,63Bb	7,5 $\pm$ 4,1BCb	17,5 $\pm$ 4,5BCa
Dilapiol 85,4%	1,00	16,3 $\pm$ 6,0Bb	22,5 $\pm$ 5,6Bab	30,0 $\pm$ 8,0Ba
Imidacloprid	0,02	87,5 $\pm$ 5,3Ab	98,8 $\pm$ 1,3Aa	100,0 $\pm$ 0,0Aa

⁽¹⁾DAA = dia após a aplicação.

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Repelência do óleo essencial de *Piper aduncum* para pouso de *Diaphorina citri*

O OEPA, independente da concentração de dilapiol, não repeliu os adultos de *D. citri* e foi similar ao tratamento controle contendo somente água ou água com adjuvante, a 1 HAA ($F_{3,44}=1,5325$, $p=0,2194$), 4 HAA ($F_{3,44}=1,6551$, $p=0,1905$), 8 HAA ($F_{3,44}=2,0664$, $p=0,1184$) e 24 HAA ($F_{3,44}=2,0664$, $p=0,1185$). A 72 HAA, OEPA a 85,4% apresentou menor porcentagem de insetos pousados em relação aos demais tratamentos ($F_{3,44}=2,9294$, $p=0,0442$) (Figura 3).

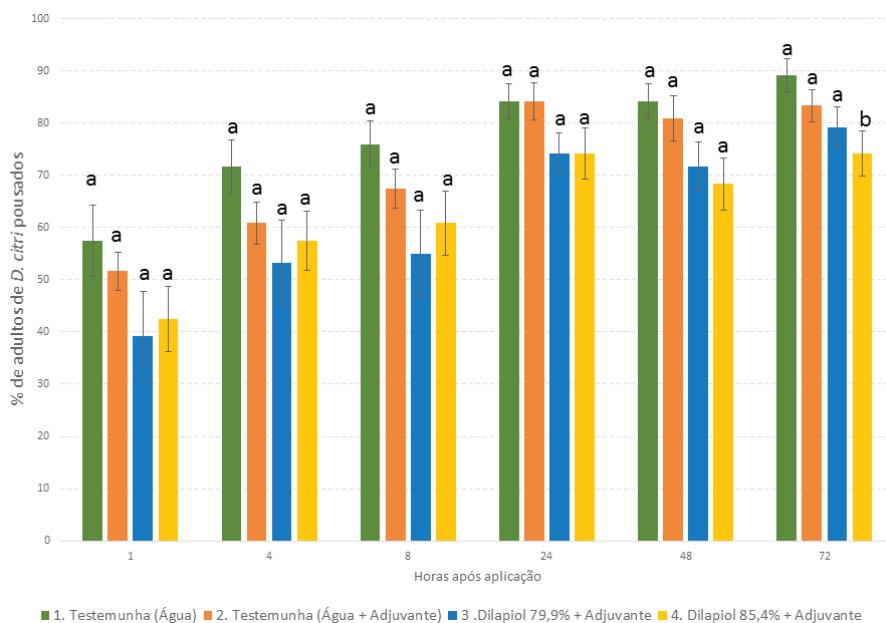


Figura 3. Porcentagem de adultos de *Diaphorina citri* pousados em *seedlings* de *Citrus sinensis* tratados com diferentes teores de dilapiol presentes no óleo essencial de *Piper aduncum*.

Discussão

O experimento de fitotoxicidade mostrou que o tratamento com OEPA a 99,5% em dilapiol foi altamente fitotóxico a *C. sinensis*, independente da diluição utilizada. Dessa maneira, para viabilizar o uso de altas concentrações de dilapiol no OEPA ou em alto grau de pureza, sugere-se desenvolver novas formulações que poderiam mitigar esse problema.

Os tratamentos avaliados com OEPA foram altamente eficazes (mortalidade > 90%) para o controle de ninfas em aplicações tópicas, apresentando mortalidade similar ao imidacloprid, o que revela seu uso promissor para o manejo desse inseto vetor. No geral, ninfas são sensíveis a inseticidas botânicos. O extrato de nim, quando aplicado topicamente com doses entre 10 ppm–90 ppm causou mortalidade de até 92% das ninfas de *D. citri* (Weathersbee III; McKenzie, 2005). Já o extrato de *P. aduncum* nas concentrações de 4% e 8% causou mortalidade de 52% e 72%, respectivamente, das ninfas de *Euschistus heros* (F.) (Heteroptera: Pentatomidae), ambos em aplicação tópica (Piton et al., 2014). A toxicidade do adjuvante Silwet® (0,025%) às ninfas observada no presente estudo (mortalidade em torno de 50%) corroborou os resultados de Srinivasan et al. (2008) que relataram mortalidade de 99% das ninfas utilizando 0,005% de Silwet®. Embora os autores tenham utilizado uma concentração cinco vezes menor do que a testada neste estudo, a maior mortalidade observada pode estar associada ao método de aplicação, que foi a imersão dos ramos contendo ninfas na solução.

Em relação à aplicação tópica para adultos, foi observado que algumas concentrações de dilapiol no OEPA em diferentes diluições foram eficazes para o controle de *D. citri* (mortalidade entre 70%–98%). Com relação à eficácia de outros extratos botânicos para o controle de adultos de *D. citri*, Weathersbee III e McKenzie (2005) observaram que o extrato de nim não foi letal a adultos dessa espécie nas concentrações entre 10 ppm–180 ppm. No entanto, outros estudos mostraram que o extrato de nim a 1% pode causar mortalidade de 80% ou reduzir em até quatro vezes o número de adultos em relação a áreas não tratadas (Khan et al., 2012, 2014). Já o extrato de *D. alba* a 1% pode reduzir em até quatro vezes o número de adultos de *D. citri* em comparação a áreas não tratadas (Khan et al., 2014). Quanto ao extrato de *P. aduncum* sobre insetos sugadores, há relatos de eficácia para adultos

de *Aetalion* sp. (80%) e *Euschistus heros* (F., 1798) (100%), quando aplicado topicamente com dose de 3.000 ppm e a 8%, respectivamente (Silva et al., 2007; Piton et al., 2014). É importante ressaltar que este estudo foi realizado com óleo essencial obtido pelo uso de retificação fracionada, o que possibilita conhecer com mais precisão seu perfil qualitativo e quantitativo, além de normalmente apresentar maior estabilidade em relação aos extratos botânicos.

Nesse sentido, os compostos majoritários geralmente determinam as propriedades biológicas dos óleos essenciais. Os componentes incluem dois grupos de origem biossintética distinta: um grupo de terpenos/terpenoides e o outro de constituintes aromáticos e alifáticos, todos caracterizados por baixo peso molecular. Contudo, é possível que a atividade dos componentes majoritários seja modulada por outras moléculas menores (Bakkali et al., 2008). No OEPA, além do dilapiol, podem ser caracterizados outros aleloquímicos (ex. apiol, miristicina e eugenol), em quantidades minoritárias, que podem apresentar efeito inseticida aditivo ou mesmo sinérgico de compostos reconhecidamente inseticidas (Bernard et al., 1990, 1995; Bizzo et al., 2001).

Com relação ao efeito residual, o OEPA não foi eficaz para adultos nas concentrações utilizadas. Essa característica de baixo efeito residual de inseticidas botânicos já foi observada em outros estudos com o extrato de nim sobre *D. citri* (Weathersbee III; McKenzie, 2005; Rao; Shivankar, 2011) e geralmente está associada à volatilidade e/ou degradação de seus constituintes (Scott et al., 2003; Isman, 2006).

Por se tratar de um inseto vetor, o manejo de *D. citri* exige pulverizações foliares frequentes de inseticidas (Grafton-Cardwell et al., 2013), sendo dependente da idade da planta e variedade (Boina; Bloomquist, 2015). A alta frequência de pulverizações, somada ao número reduzido de ingredientes ativos com diferentes modos de ação (Insecticide Resistance Action Committee, 2014), pode proporcionar a seleção de populações resistentes do psíldeo aos inseticidas comumente utilizados para o seu controle (Miranda et al., 2011; Grafton-Cardwell et al., 2013; Boina; Bloomquist, 2015), fazendo-se necessária a busca de novos ingredientes ativos para ser adotados em rotação no controle desse inseto vetor.

O OEPA possui o dilapiol em quantidade majoritária (Maia et al., 1998; Guerrini et al., 2009; Potzernheim et al., 2012), sendo essa molécula uma potencial inibidora da atividade de enzimas destoxificativas responsáveis pela

eliminação de metabólitos tóxicos em insetos (Bernard et al., 1989, 1995). Estudos prévios demonstraram que níveis elevados de esterase, glutational-S-transferase e complexo de enzimas do citocromo P450 são responsáveis pela destoxificação de inseticidas em ninfas e adultos de *D. citri*, sendo essas enzimas associadas à menor suscetibilidade desse inseto aos inseticidas frequentemente utilizados em seu controle (Tiwari et al., 2011b, 2011c, 2011d).

Estudos já demonstraram que o dilapiol atua como potente sinergista de inseticidas sintéticos (ex. carbaril) (Tomar et al., 1979) e botânicos (piretro) (Liu et al., 2014) no controle de pragas agrícolas. Nesse último estudo foi observado que o dilapiol em combinação com piretroide obtido de extrato de *Chrysanthemum cinerariaefolium* Vis. (Asteraceae) foi 9,1 vezes mais eficaz no controle de larvas de *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae) resistentes a inseticidas. Dessa forma, o óleo rico em dilapiol poderia diminuir o fator de resistência de populações de *D. citri*, pois esse ingrediente ativo poderia inibir potencialmente a atividade de enzimas destoxificativas desse inseto. Contudo, estudos são necessários para comprovação dessa hipótese. O presente trabalho demonstra claramente a alta eficácia do óleo essencial de *Piper aduncum* no controle de *D. citri*. Por apresentar modo de ação diferente dos inseticidas comumente empregados na citricultura o OEPA poderia ser utilizado em rotação no manejo de *D. citri*. Os resultados deste estudo contribuirão para a futura adoção do óleo rico em dilapiol como tática de controle de *D. citri*.

Conclusões

- Todos os tratamentos avaliados causaram mortalidade significativa para ninfas de *D. citri*.
- Em aplicação tópica para adultos de *D. citri* somente tratamentos com OEPA contendo 79,4% e 85,4% de dilapiol nas concentrações de 0,75% e 1% foram eficazes.
- O óleo essencial de *P. aduncum* não foi eficaz por aplicação residual.
- Somente o óleo essencial de *P. aduncum* contendo 85,4% do dilapiol apresentou efeito repelente para *D. citri*.

- O óleo essencial de *P. aduncum* apresenta efeito toxicológico promissor para ser usado em programas de Manejo Integrado de Pragas para o controle de *D. citri*.

Agradecimentos

Ao Fundo de Defesa da Citricultura (Fundecitrus) pela concessão de bolsa ao primeiro autor; à Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Acre) pelo financiamento de parte do projeto por meio de recursos captados do Tesouro Nacional; e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio na forma de auxílio à pesquisa (MCTI/CNPq/Universal, proc. 442926/2014-6).

Referências

- ADAMS, R. P. **Identification of essential oils components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy**. Carol Stream, Illinois: Allured Publishing Corporation, 1995. 804 p.
- BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – a review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446-475, Feb. 2008.
- BARBOSA, J. C.; MALDONADO JR., W. **AgroEstat - Sistema para Análises Estatísticas de Ensaios Agrônômicos**: versão 1.1.0.711. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2014.
- BELASQUE JR., J.; YAMAMOTO, P. T.; MIRANDA, M. P.; BASSANEZI, R. B.; AYRES, A. J.; BOVÉ, J. M. Controle do huanglongbing no estado de São Paulo, Brasil. **Citrus Research & Technology**, v. 3, p. 53-64, 2010.
- BERNARD, C. B.; KRISHNAMURTY, I. H. G.; CHAURET, D.; DURST, T.; PHILOGÈNE, B. J. R.; SÁNCHEZ-VINDAS, P.; HASBUN, C.; POVEDA, L.; SAN ROMÁN, L.; ARNASON, J. T. Insecticidal defenses of Piperaceae from the Neotropics. **Journal of Chemical Ecology**, v. 21, n. 6, p. 801-814, June 1995.
- BERNARD, C. B.; ARNASON, J. T.; PHILOGÈNE, B. J. R.; LAM, J.; WADDEL, T. In vivo effect of mixtures of allelochemicals on the life cycle of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 57, n. 1, p. 17-22, Oct. 1990.

- BERNARD, C. B.; ARNASON, J. T. ; PHILOGÈNE, B. J. R.; LAM, J.; WADDELL, T. Effect of lignans and other secondary metabolites of the Asteraceae on the mono-oxygenase activity of the european corn borer. **Phytochemistry**, v. 28, n. 5, p. 1373-1377, 1989.
- BIZZO, H. R.; LOPES, D.; ABDALA, R. V.; PIMENTEL, F. A.; SOUZA, J. A. de; PEREIRA, M. G. V.; BERGTER, L.; GUIMARÃES, E. F. Sarisan from leaves of *Piper hispidinervum* C. DC. (Long pepper). **Flavour and Fragrance Journal**, v. 16, n. 2, p. 113-115, Mar./Apr. 2001.
- BOINA, D. R.; BLOOMQUIST, J. R. Chemical control of the asian citrus psyllid and of Huanglongbing disease in citrus. **Pest Management Science**, v. 71, n. 6, p. 808-823, June 2015.
- BOVÉ, J. M.; AYRES, A. J. Etiology of three recent diseases of citrus in São Paulo State: sudden death, variegated chlorosis and huanglongbing. **IUBMB Life**, v. 59, n. 4/5, p. 346-354, 2007.
- CASTRO, R. S.; PENA, M. R.; SILVA, N. M.; VENDRAMIM, J. D.; COSTA, I. B. Atividade ovicida de extratos aquosos de folhas de *Piper aduncum* L. sobre a mosca-negra-dos-citros, *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Aleyrodidae) em condições de laboratório. In: REUNIÃO ANUAL DA SBPC, 61., 2009, Manaus. **Anais...** Manaus: Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, 2009.
- CHU, S. S.; LIU, S. L.; JIANG, G. H.; LIU, Z. L. Composition and toxicity of essential oil of *Illicium simonsii* Maxim (Illiciaceae) fruit against the maize weevils. **Records of Natural Products**, v. 4, n. 4, p. 205-210, Oct./Dec. 2010.
- COLETTA-FILHO, H. D.; TARGON, M. L. P. N.; TAKITA, M. A.; DE NEGRI, J. D.; POMPEU JUNIOR, J.; MACHADO, M. A.; AMARAL, A. M.; MULLER, G. W. First report of the causal agent of Huanglongbing ("*Candidatus Liberibacter asiaticus*") in Brazil. **Plant Disease**, v. 88, n. 12, p. 1382, Dec. 2004.
- ESTRELA, J. L. V.; FAZOLIN, M.; CATANI, V.; ALÉCIO, M. R.; LIMA, M. S. Toxicidade de óleos essenciais de *Piper aduncum* e *Piper hispidinervum* em *Sitophilus zeamais*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 2, p. 217-222, fev. 2006.
- FAZOLIN, M.; ESTRELA, J. L. V.; CATANI, V.; ALECIO, M. R.; LIMA, M. S. Propriedade inseticida dos óleos essenciais de *Piper hispidinervum* C. DC.; *Piper aduncum* L. e *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. & K. Shum sobre *Tenebrio molitor* L., 1758. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 1, p. 113-120, jan./fev. 2007.

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J. L. V.; CATANI, V.; LIMA, M. S.; ALECIO, M. R. Toxidade do óleo de *Piper aduncum* L. a adultos de *Cerotoma tingomarianus* Bechyné (Coleoptera: Chrysomelidae). **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 3, p. 485-489, May/June 2005.

GRAFTON-CARDWELL, E. E.; STELINSKI, L. L.; STANSKY, P. A. Biology and management of Asian Citrus Psyllid, vector of the Huanglongbing pathogens. **Annual Review of Entomology**, v. 58, p. 413-432, 2013.

GUERRINI, A.; SACCHETTI, S.; ROSSI, D.; PAGANETTO A, G.; MUZZOLI, M.; ANDREOTTI, E.; TOGNOLINI, M.; MALDONADOD, M. M.; BRUNI, R. Bioactivities of *Piper aduncum* L. and *Piper obliquum* Ruiz & Pavon (Piperaceae) essential oils from Eastern Ecuador. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 27, n. 1, p. 39-48, Jan. 2009.

HALBERT, E.; MANJUNATH, K. L. Asian citrus psyllids (Sternorrhyncha: Psyllidae) and greening disease of citrus: a literature review and assessment of risk in Florida. **Florida Entomologist**, v. 87, n. 3, p. 330-353, Sept. 2004.

HINDE, J.; DEMÉTRIO, C. G. B. Overdispersion: models and estimation. **Computational Statistics & Data Analysis**, v. 27, n. 2, p. 151-170, Apr. 1998.

INSECTICIDE RESISTANCE ACTION COMMITTEE. Comitê Brasileiro de Ação a Resistência a Inseticidas. **Manejo de resistência de psilídeo de citros a inseticidas**. Disponível em: <<http://www.irac-br.org/folhetos>>. Acesso em: 21 maio 2016.

ISMAN, M. B. Botanical Insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology**, v. 51, p. 45-66, 2006.

KHAN, A. A.; AFZAL, M.; QURESHI, J. A.; KHAN, A. M.; RAZA, A. M. Botanicals, selective insecticides, and predators to control *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae) in citrus orchards. **Insect Science**, v. 21, n. 6, p. 717-726, Dec. 2014.

KHAN, I.; ZAHID, M.; KHAN, G. Z. Toxicity of botanic and synthetic pesticide residues to citrus psyllid *Diaphorina citri* Kuwayama and *Chrysoperla carnea* (Stephens). **Pakistan Journal of Zoology**, v. 44, n. 1, p. 197-201, 2012.

LI, X.; SCHULER, M. A.; BERENBAUM, M. R. Molecular mechanisms of metabolic resistance to synthetic and natural xenobiotics. **Annual Review of Entomology**, v. 52, p. 231-253, 2007.

LIU, S. Q.; SCOTT, I. M.; PELLETIER, Y.; KRAMP, K.; DURST, T.; SIMS, S. R.; ARNASON, J. T. Dillapiol: a pyrethrum synergist for control of the Colorado potato beetle. **Journal of Economic Entomology**, v. 107, n. 2, p. 797-805, Apr. 2014.

MAIA, J. G. S.; ZOGHBI, M. G. S.; ANDRADE, E. H. A.; SANTOS, A. S.; SILVA, M. L.; LUZ, A. I. R.; BASTOS, C. N. Constituents of the essential oil of *Piper aduncum* L. growing in the Amazon Region. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 13, n. 4, p. 269-272, July/Aug. 1998.

MIRANDA, M. P.; NORONHA JR., N. C.; MARQUES, R. N. Alternativas para o manejo do vetor do greening no Brasil. In: BALDIN, E. L. P.; FUJIHARA, R. T.; FIRMINO, A. C.; NEGRISOLI, E.; SOUZA, E. S.; PRADO, E. P.; MARUBAYASHI, J. M. (Ed.). **Avanços em fitossanidade**. Botucatu: UNESP/FEPAF, 2011. p. 143-163.

OGENDO, J. O.; DENG, A. L.; KOSTYUKOVSKY, M.; RAVID, U.; MATASYOH, J. C.; OMOLO, E. O.; MAJALIWA, J. G. M. Fumigant toxicity of five essential oil constituents against major stored-product insect pests of food grains. In: RUFORUM BIENNIAL REGIONAL CONFERENCE, 2., 2010, Entebbe, Uganda. **Building capacity for food security in Africa: proceedings**. Kampala: RUFORUM, 2010. p. 325-332.

NELDER, J. A.; WEDDERBURN, R. W. M. Generalized linear models. **Journal of the Royal Statistical Society**. Series A, v. 135, n. 3, p. 370-384, 1972.

PIMENTEL, F. A.; PEREIRA, J. B. M.; OLIVEIRA M. N. **Processo de extração de óleo essencial de pimenta longa (*Piper hispidinervum*)**. Rio Branco, AC: Embrapa CPAFAC, 1998. 2 p. (Embrapa CPAFAC. Comunicado técnico, 97).

PITON, L. P.; TURCHEN, L. M.; BUTNARIU, A. R. Natural insecticide based-leaves extract of *Piper aduncum* (Piperaceae) in the control of stink bug brown soybean. **Ciência Rural**, v. 44, n. 11, p. 1915-1920, nov. 2014.

POTZERNHEIM, M. C. L.; BIZZO, H. R.; SILVA, J. P.; VIEIRA, R. F. Chemical characterization of essential oil constituents of four populations of *Piper aduncum* L. from Distrito Federal, Brazil. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 42, p. 25-31, June 2012.

RAO, C. N.; SHIVANKAR, V. J. Relative efficacy of certain bio-rational insecticides to citrus psylla (*Diaphorina citri*). **The Indian Journal of Agricultural Sciences**, v. 81, n. 7, p. 673-676, 2011.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R**: a language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2015. 1706 p.

SCOTT, I. M.; JENSEN, H.; SCOTT, J. G.; ISMAN, M. B.; ARNASON, J. T.; PHILOGÈNE, B. J. R. Botanical insecticides for controlling agricultural pests: piperamides and the Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera:Chrysomelidae). **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v. 54, n. 4, p. 212-225, Dec. 2003.

- SILVA, W. C.; RIBEIRO, J. D'Arc; SOUZA, H. E. M.; CORRÊA, R. S. Atividade inseticida de *Piper aduncum* L. (Piperaceae) sobre *Aetalion* sp. (Hemiptera: Aetalionidae), praga de importância econômica no Amazonas. **Acta Amazonica**, v. 37, n. 2, p. 293-298, 2007.
- SRINIVASAN, R.; HOY, M. A.; SINGH, R.; ROGERS, M. E. Laboratory and field evaluations of Silwet L-77 and kinetic alone and in combination with imidacloprid and abamectin for the management of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina Citri* (Hemiptera: Psyllidae). **Florida Entomologist**, v. 91, n. 1, p. 87-100, Mar. 2008.
- TEIXEIRA D. C.; AYRES, A. J.; KITAJIMA, E. W.; TANAKA, F.; DANET, J. L.; JAGOUÉIX-EVEILLARD, S.; SAILLARD, C.; BOVÉ, J. M. First report of a huanglongbing-like disease of citrus in São Paulo State, Brazil, and association of a new liberibacter species, *Candidatus Liberibacter americanus*, with the disease. **Plant Disease**, v. 89, p. 89-107, Jan. 2005.
- THOMAZINI, M.; FRANCO, M. R. B. Metodologia para análise dos constituintes voláteis do sabor. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 34, n. 1, p. 52-59, 2000.
- TIWARI, S.; MANN, R. S.; ROGERS, M. E.; STELINSKI, L. L. Insecticide resistance in field populations of Asian citrus psyllid in Florida. **Pest Management Science**, v. 67, n. 10, p. 1258-1268, Oct. 2011a.
- TIWARI, S.; PELZ-STELINSKI, K.; STELINSKI, L. L. Effect of *Candidatus Liberibacter asiaticus* infection on susceptibility of asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*, to selected insecticides. **Pest Management Science**, v. 67, n. 1, p. 94-99, Jan. 2011b.
- TIWARI, S.; PELZ-STELINSKI, K.; MANN, R.; STELINSKI, L. L. Glutathione transferase and cytochrome P450 (General Oxidase) activity levels in *Candidatus Liberibacter asiaticus*-Infected and uninfected asian citrus psyllid (Hemiptera: Psyllidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 104, n. 2, p. 297-375, 2011c.
- TIWARI, S.; GONDHALEKAR, A. D.; MANN, R. S.; SCHARF, M. E.; STELINSKI, L. L. Characterization of five CYP4 gens from Asian citrus psyllid and their expression levels in *Candidatus Liberibacter asiaticus*-infected and uninfected psyllids. **Insect Molecular Biology**, v. 20, n. 6, p. 733-744, Dec. 2011d.
- TOMAR, S. S.; MAHESHWARI, M. L.; MUKERJEE, S. K. Synthesis and synergistic activity of dillapiole based pyrethrum synergists. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 27, n. 3, p. 547-550, 1979.

WEATHERSBEE III, A. A.; MCKENZIE, C. L. Effect of a neem biopesticide on repellency, mortality, oviposition, and development of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae). **Florida Entomologist**, v. 88, n. 4, p. 401-407, Dec. 2005.

YAMAMOTO, P. T.; FELIPPE, M. R.; GARBIM, L. F.; COELHO, J. H.; XIMENES, N. L.; MARTINS, E. C.; LEITE, A. P. R.; SOUSA, M. C.; ABRAHÃO, D. P.; BRAZ, J. D. . *Diaphorina citri* (Kuwayama) (Hemiptera: Psyllidae): vector of the bacterium *Candidatus Liberibacter americanus*. In: HUANGLONGBING GREENING INTERNATIONAL WORKSHOP, 2006, Ribeirão Preto. **Proceedings...** Ribeirão Preto: Fundecitrus, p. 96.

ZAPATA, N.; SMAGGHE, G. Repellency and toxicity of essential oils from the leaves and bark of *Laurelia sempervirens* and *Drimys winteri* against *Tribolium castaneum*. **Industrial Crops and Products**, v. 32, n. 3, p. 405-410, Nov. 2010.



Acre

MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO

GOVERNO
FEDERAL