

TOXICIDADE, EFEITOS COMPORTAMENTAIS E SINERGISMO DE ÓLEOS ESSENCIAIS  
EM *Sitophilus zeamais* Mots. (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE)

por

ALICE MARIA NASCIMENTO DE ARAÚJO

(Sob Orientação do Professor José Vargas de Oliveira - UFRPE)

RESUMO

O presente trabalho teve por objetivos: (i) identificar e quantificar os constituintes dos óleos essenciais de *Cymbopogon winterianus* Jowitt, *Eucalyptus globulus* Labill, *E. staigeriana* F., *Foeniculum vulgare* Mill., *Ocimum basilicum* L., *O. gratissimum* L. e *Piper hispidinervum* C. DC.; (ii) avaliar a toxicidade dos óleos sobre insetos adultos e imaturos de *S. zeamais*; (iii) observar as respostas comportamentais dos insetos expostos aos óleos e (iv) determinar se há sinergismo na mistura dos óleos na mortalidade dos insetos. A análise dos óleos por CG/EM revelou presença majoritária de Citronelal (35,47%) e Geraniol (21,83%) para *C. winterianus*; 1,8-Cineole (89,97%) para *E. globulus*; Limoneno (28,73%) e Geraniol (15,20%) para *E. staigeriana*; Limoneno (41,82%) e (E)-Anethole (17,91%) para *F. vulgare*; Linalol (62,47%) e Methylchavicol (30,94%) para *O. basilicum*; (E)-Anethole (34,95%) e Limoneno (15,63%) para *O. gratissimum* e Safrole (82,07%) para *P. hispidinervum*. Nos testes de contato e ingestão e fumigação, *P. hispidinervum* foi o óleo mais tóxico com  $CL_{50}$  de 5,12  $\mu\text{l} \cdot 40\text{g}^{-1}$  de milho e  $CL_{50}$  de 2,1  $\mu\text{l} \cdot \text{L}^{-1}$  de ar, respectivamente. Todos os óleos repeliram *S. zeamais*. Para os imaturos, o estágio de ovo foi suscetível ao óleo de *P. hispidinervum*, sendo as fases de larva e pupa tolerantes. As misturas dos óleos tiveram seu efeito potencializado, indicando sinergismo. Na fumigação de diferentes populações de *S. zeamais*, a de Piracicaba foi considerada padrão de susceptibilidade

por apresentar a menor  $CL_{50}$  para os óleos testados. No ensaio de voo não houve diferença entre as populações e entre tratamentos e testemunha. O efeito comportamental de caminhar foi variável entre as populações vs tratamentos. A toxicidade dos óleos não afetou a taxa respiratória dos insetos, porém a população de Recife diferiu das demais. Quanto à taxa instantânea de crescimento, a população de Recife apresentou menor crescimento e menores consumos da massa de grãos e massa corpórea.

**PALAVRAS-CHAVE:** Gorgulho-do-milho, inseticidas naturais, bioatividade, repelência.

# TOXICITY, BEHAVIORAL EFFECTS AND SINERGYSM OF ESSENTIAL OILS IN

*Sitophilus zeamais* Mots. (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE)

by

ALICE MARIA NASCIMENTO DE ARAÚJO

(Under the Direction of Professor José Vargas de Oliveira - UFRPE)

## ABSTRACT

The present study aimed to: (i) identify and quantify the components of the essential oils of *Cymbopogon winterianus* Jowitt, *Eucalyptus globulus* Labill, *E. staigeriana* F., *Foeniculum vulgare* Mill., *Ocimum basilicum* L., *O. gratissimum* L. E and *Piper hispidinervum* C. DC.; (ii) evaluate the oils toxicity upon adult and immature insects of *S. zeamais*; (iii) observe the behavioral responses of insects exposed to oils and (iv) determine whether there is synergism in oils mixtures upon the insect mortality. The oils analysis by GC-EM showed majority presence of Citronellal (35.47%) and Geraniol (21.83%) for *C. winterianus*, 1,8-Cineole (89.97%) for *E. globulus*, Limonene (28.73%) and Geraniol (15.20%) for *E. staigeriana*; Limonene (41.82%) and (E)-Anethole (17.91%) for *F. vulgare*; Linalool (62.47%) and Methyl chavicol (30.94%) for *O. basilicum*, (E)-Anethole (34.95%) and limonene (15.63%) for *O. gratissimum* and Safrole (82.07%) for *P. hispidinervum*. In the contact and ingestion test as well as in fumigation, *P. hispidinervum* was the most toxic oil presenting  $LC_{50}$  of  $5.12 \mu\text{l}.40\text{g}^{-1}$  corn and  $LC_{50}$  of  $2.1 \mu\text{l}.\text{L}^{-1}$  air, respectively. All of the used oils repelled *S. zeamais*. To immature, the egg stage was susceptible to *P. hispidinervum* oil, and the larval and pupal stages were tolerant. The oils mixture had an increased effect, showing synergism. In fumigation tests with different populations of *S. zeamais*, Piracicaba was considered the susceptibility pattern for presenting the lowest  $LC_{50}$  to the

used oils. In the flight test there was no difference among populations and between treatments and control. The locomotor behavior effect was variable among populations vs. treatments. The oils toxicity did not affect the insect respiration rates, but Recife population differed from the others. For the instantaneous rate of growth, Recife population showed the lowest growth, as well as the lowest consumption of grain and the smallest body mass.

**KEY WORDS:** Maize weevil, natural insecticides, bioactivity, repellency.

TOXICIDADE, EFEITOS COMPORTAMENTAIS E SINERGISMO DE ÓLEOS ESSENCIAIS  
EM *Sitophilus zeamais* Mots. (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE)

por

ALICE MARIA NASCIMENTO DE ARAÚJO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Doutor em Entomologia Agrícola.

RECIFE - PE

[Fevereiro – 2014]

TOXICIDADE, EFEITOS COMPORTAMENTAIS E SINERGISMO DE ÓLEOS ESSENCIAIS  
EM *Sitophilus zeamais* Mots. (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE)

por

ALICE MARIA NASCIMENTO DE ARAÚJO

Comitê de Orientação:

José Vargas de Oliveira - UFRPE

Herbert Álvaro Abreu de Siqueira - UFRPE

Lêda Rita D'Antonino Faroni - UFV

TOXICIDADE, EFEITOS COMPORTAMENTAIS E SINERGISMO DE ÓLEOS ESSENCIAIS  
EM *Sitophilus zeamais* Mots. (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE)

por

ALICE MARIA NASCIMENTO DE ARAÚJO

Orientador:

---

José Vargas de Oliveira – UFRPE

Examinadores:

---

Daniela M<sup>a</sup> do Amaral Ferraz Navarro – UFPE

---

Edmílson Jacinto Marques – UFRPE

---

José Eudes de Moraes Oliveira – Embrapa Semiárido

---

Lêda Rita D'Antonino Faroni – UFV

## DEDICATÓRIA

A minha mãe, Áurea Maria do Nascimento, por seu exemplo de luta e determinação.

**Ofereço.**



## AGRADECIMENTOS

A Deus, por que eu sei que ele sempre proverá cada milagre que eu precisar;

À Universidade Federal Rural de Pernambuco e ao Programa de Pós-graduação em Entomologia pela oportunidade de realizar o curso;

Ao CNPq por financiar o projeto e me conceder a bolsa de estudos;

À minha mãe, que sempre me apoiou em tudo que eu me propus a fazer;

Ao meu pai, que apesar de distante sempre se faz presente em meus pensamentos;

À minha irmã, Aline Cristina, da qual me orgulho e que torce muito por mim;

Ao meu orientador, Prof. Vargas, por sua orientação e sua amizade;

À professora Daniela M<sup>a</sup> A. F. Navarro pela análise cromatográfica dos óleos essenciais;

À professora Lêda Rita D'Antonino Faroni, por ter me recebido em seu laboratório na UFV e por ter sido sempre tão solícita.

A todos do laboratório de MIP grãos/UFV em especial a Rita Cristina que me auxiliou na condução dos experimentos;

Ao professor Raul Narciso Guedes, por ter me recebido tão bem e ter sido tão gentil em me permitir usar os equipamentos de seu laboratório;

A todos do Laboratório de Ecotoxicologia/UFV em especial a Wagner e Alberto por terem me ensinado a manusear os equipamentos;

A Marta, Marcela e Marina por terem me recebido em sua casa em Viçosa e por me fazerem sentir parte da família;

A amiga, Roberta Leme pela companhia sempre tão agradável e por ter sido decisiva na fase final dos experimentos em Viçosa-MG.

A todos os amigos que já passaram e que ainda estão no laboratório de Entomologia Agrícola da UFRPE Solange, Alberto, Nivea, Walkíria, Barbara, Mariana, Douglas, Cynara, Mauricéa, Kamilla, Fabiana, Nane, Carol, Sérgio e Kelly.

Ao meu namorado, Felipe Colares, pela companhia, carinho e paciência; e por ter colaborado com sugestões para a melhoria do trabalho.

## SUMÁRIO

	Página
AGRADECIMENTOS .....	ix
CAPÍTULOS	
1 INTRODUÇÃO .....	01
LITERATURA CITADA.....	07
2 TOXICIDADE, REPELÊNCIA E SINERGISMO DE ÓLEOS ESSENCIAIS NO MANEJO DE <i>Sitophilus zeamais</i> MOTSCHULSKY, 1885 (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE).....	13
RESUMO .....	14
ABSTRACT .....	15
INTRODUÇÃO .....	16
MATERIAL E MÉTODOS .....	17
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	23
AGRADECIMENTOS.....	27
LITERATURA CITADA.....	28
3 TOXICIDADE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE <i>Ocimum basilicum</i> L. e <i>Piper     hispidinervum</i> C. DC. A DIFERENTES POPULAÇÕES DE <i>Sitophilus zeamais</i> MOTS. 1885 (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE).....	39
RESUMO .....	40
ABSTRACT .....	41
INTRODUÇÃO .....	42

MATERIAL E MÉTODOS .....	43
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	50
AGRADECIMENTOS.....	56
LITERATURA CITADA.....	57

## **CAPÍTULO 1**

### **INTRODUÇÃO**

O milho, *Zea mays* (L.), originário das Américas, é uma monocotiledônea pertencente à família Poaceae, sendo, provavelmente, a mais importante cultura comercial (Siloto 2002). Atualmente é cultivado em quase todos os países, podendo ser encontrado nas mais variadas condições de clima e manejo, sendo considerado um dos principais cereais do mundo (Fancelli & Dourado Neto 2000, Glat 2010).

O USDA estimou uma produção mundial de milho de 956,7 milhões de toneladas para a safra 2013/14. Os Estados Unidos é o maior produtor mundial desse cereal e deverá colher 351,6 milhões de toneladas, seguido da China com uma produção de 211 milhões de toneladas e do Brasil, que é o terceiro maior produtor (FIESP 2013). De acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB) a safra brasileira de 2013/14 de milho corresponderá a aproximadamente, 79 milhões de toneladas. Estima-se que o estado do Mato Grosso terá uma produção de quase 20 milhões de toneladas, seguido pelo Paraná com uma produção de aproximadamente 16 milhões de toneladas (CONAB 2013).

Dentre as várias pragas que danificam os grãos de milho armazenados, umas das mais destrutivas é o gorgulho-do-milho, *Sitophilus zeamais* Motschulsky. Trata-se de uma praga primária, interna, de grande importância econômica, danificando, também, outros cereais; ocorre, principalmente, nas regiões tropicais e subtropicais, devido às condições favoráveis de temperatura e umidade relativa, que contribuem para o desenvolvimento de altas populações. Apresenta infestação cruzada, ou seja, tem a capacidade de infestar os grãos tanto no campo quanto nos armazéns. É uma praga polífaga, atacando trigo, arroz, milho, cevada, produtos

beneficiados, como biscoito e macarrão e até mesmo fruteiras temperadas, como uva, maçã e pêsego (Pacheco & Paula 1995, Botton *et al.* 2005, Faroni & Sousa 2006, Lorini 2008, Nornberg *et al.* 2013). Provoca perdas quantitativas, como a perda de peso, e qualitativas, como a desvalorização comercial, perda no valor nutritivo e diminuição no poder germinativo das sementes (Santos *et al.* 1994, Almeida *et al.* 2005).

Os adultos de *S. zeamais* são insetos de 3 mm de comprimento, coloração castanho-escura com quatro manchas avermelhadas nos élitros, cabeça prolongada para frente com rostro recurvado, onde estão inseridas as peças bucais; pronoto fortemente pontuado e élitros densamente estriados (Ress 1996, Gallo *et al.* 2002). O ciclo de vida de *S. zeamais* é variável, dependendo das condições ambientais e da qualidade do grão para o seu desenvolvimento, sendo de aproximadamente 34 dias na temperatura de 28 °C e umidade relativa de 60% (Rosseto 1972). Guzzo *et al.* (2002), trabalhando com seis genótipos diferentes de milho, constataram um ciclo biológico, variando de 43,30 a 49,95 dias à temperatura de 26 °C. Boiça Jr. *et al.* (1997) observaram que a 28 °C, o período de desenvolvimento variou de 43,6 a 51,4 dias em 14 genótipos de milho.

O controle de *S. zeamais*, em grãos de milho armazenado, tem sido comumente realizado em larga escala, utilizando-se inseticidas sintéticos protetores e fumigantes, os quais, apesar de eficientes e econômicos, podem provocar efeitos indesejáveis, como intoxicação dos aplicadores, presença de resíduos tóxicos nos grãos, aumento dos custos no armazenamento e seleção de populações de insetos resistentes (Tapondjou *et al.* 2002, Ribeiro *et al.* 2003, Obeng-Ofori & Amiteye 2005).

A crescente preocupação da sociedade quanto aos efeitos colaterais provocados pelos agrotóxicos sintéticos tem despertado a atenção de pesquisadores, no sentido de desenvolverem estudos com novas táticas de controle alternativo de pragas, como o uso de inseticidas de origem

vegetal (Almeida *et al.* 2004, Ketoh *et al.* 2005, Tavares & Vendramim 2005). Plantas com atividade inseticida são ricas em compostos secundários, destacando-se os monoterpenos e seus análogos, que são compostos tipicamente lipofílicos, tendo alto potencial para interferências tóxicas em processos bioquímicos básicos, com consequências fisiológicas e comportamentais em insetos (Prates & Santos 2002).

As plantas com atividade inseticida atuam nos insetos por ingestão, contato e/ou fumigação e podem ser utilizadas como pós, extratos aquosos ou orgânicos ou como óleos essenciais, bem como associadas com outras táticas de controle, como o controle biológico e cultivares resistentes, em programas de manejo integrado de pragas (Ketoh *et al.* 2005).

Os óleos essenciais são misturas complexas de compostos orgânicos voláteis, como terpenos e fenilpropanóides produzidos através do metabolismo secundário das plantas (Guenther 1972, Simões & Spitzer 1999, Bakkali *et al.* 2008). Apresentam-se na forma líquida, são altamente voláteis, solúveis em solventes orgânicos, geralmente de coloração amarelada ou incolor e de sabor ácido e picante. São produzidos nas raízes, caules, folhas, flores, frutos e sementes de diversas plantas. Podem ser extraídos por diferentes métodos, tais como: enfleurage, arraste por vapor d'água, extração com solventes voláteis, prensagem a frio e CO<sub>2</sub> supercrítico (Simões & Spitzer 1999).

Diversas plantas e/ou seus constituintes químicos têm se mostrado efetivos no controle de adultos de *S. zeamais*. O óleo essencial de *Eucalyptus saligna* Smith foi mais tóxico, em relação ao de *Cupressus sempervirens* L. e cimol, apresentando dose letal 50% (DL<sub>50</sub>) de 0,36, 0,84 e 1,35 µL cm<sup>-2</sup>, respectivamente. Também apresentaram efeito repelente e reduziram a sua progênie (Tapondjou *et al.* 2005). *Piper hispidinervum* C. DC. foi mais efetivo que *Piper aduncum* L., obtendo-se concentração letal 50% (CL<sub>50</sub>) de 0,51 e 1,87 µL cm<sup>-2</sup>. Porém, em relação ao efeito fumigante, a susceptibilidade foi maior para *P. aduncum*, e em aplicação tópica os resultados

foram semelhantes (Estrela *et al.* 2006). Coitinho *et al.* (2011) obtiveram  $CL_{50}$  de  $1,0 \mu\text{L } 40\text{g}^{-1}$  de milho e  $0,53 \mu\text{L } \text{L}^{-1}$  de ar para *P. hispidinervum* em testes de contato e ingestão e fumigação, respectivamente, no controle de *S. zeamais*. O óleo essencial de *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur e K. Shum foi tóxico, apresentando valores de  $CL_{50}$  de  $14,1 \text{ ng cm}^{-2}$  e de  $1.321,6 \text{ ng g}^{-1}$ , para os efeitos de contato (papel de filtro) e fumigação, respectivamente, bem como  $DL_{50}$  de  $14,7 \mu\text{g mg}^{-1}$  de inseto para o efeito tópico (Fazolin *et al.* 2007). Chu & Liu (2011) demonstraram maior toxicidade do ascaridole, principal constituinte do óleo essencial de *Chenopodium ambrosioides* L., em relação ao óleo bruto. Isso pôde ser observado em teste de fumigação, onde obteve-se  $CL_{50}$  de  $3,08$  e  $0,84 \mu\text{L } \text{L}^{-1}$  de ar para o óleo bruto e ascaridole, respectivamente. Da mesma forma, em teste de contato foram encontradas  $DL_{50}$  de  $2,12$  e  $0,86 \mu\text{g g}^{-1}$ , respectivamente. Óleos essenciais de *Ostericum grosseserratum* (Maxim.) Kitag. e *Aster ageratoides* Turcz. foram tóxicos a adultos de *S. zeamais* em testes de contato, apresentando  $CL_{50}$  de  $17,97$  e  $27,16 \mu\text{g adulto}^{-1}$ , respectivamente. No entanto, em testes de fumigação, apresentaram efeito semelhante, com valores de  $13,70$  e  $13,73 \text{ mg } \text{L}^{-1}$  de ar (Chu *et al.* 2013a e 2013b). Os óleos de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf., *Monodora myristica* (Gaertn) Dunal. e *Zingiber officinale* Roscoe foram altamente tóxicos para *S. zeamais*, em teste de contato (Owolabi *et al.* 2009). Kouninki *et al.* (2007) testaram dois óleos essenciais extraídos de frutos inteiros e de fibras dos frutos de *Xylopiya aethiopica* (Dunal) A. Rich para o controle de *S. zeamais*. Ambos ocasionaram mortalidade de 100% dos insetos após 24 h de exposição em teste de contato na concentração de 1 mL de óleo para 100 g de sementes de milho. Também foram testados quatro compostos presentes nos óleos, individualmente, e os quatro compostos juntos e os óleos brutos. A soma da porcentagem de mortalidade ocasionada por cada composto, quando isolados, foi de 52%, enquanto que a mistura dos quatro compostos causou mortalidade semelhante aos óleos brutos, demonstrando efeito sinérgico na mistura dos constituintes.



O estudo de compostos secundários obtidos de plantas com propriedades fumigantes tem sido amplamente difundido, visando o controle de pragas primárias e secundárias de grãos armazenados (Ketoh *et al.* 2005, Brito *et al.* 2006, Rajendran & Sriranjini 2008). Esses compostos podem ser de grande utilidade como uma alternativa ao fumigante fosfina, substância largamente utilizada no mundo, mas que em alguns casos já não apresenta um desempenho satisfatório, em virtude da seleção de populações resistentes de pragas de grãos armazenados (Benhalima *et al.* 2004). As famílias botânicas Myrtaceae, Lauraceae, Rutaceae, Lamiaceae, Asteraceae, Apiaceae, Cupressaceae, Poaceae, Zingiberaceae e Piperaceae tem sido bastante estudadas por apresentarem compostos bioativos com propriedades inseticidas (Rajendran & Sriranjini 2008).

Os óleos essenciais não são tóxicos apenas para os insetos na fase adulta, podendo também ser eficientes para as fases imaturas, reduzindo a progênie. Nukenine *et al.* (2010) observaram redução de 100% na emergência das progênies de duas populações de *S. zeamais*, pelo óleo essencial de *Plectranthus glandulosus* Hook f. na concentração de 20  $\mu\text{L}$   $40\text{g}^{-1}$  de milho infestados. Paes *et al.* (2012) testaram o efeito fumigante do óleo essencial sintético de mostarda nos diferentes estágios de desenvolvimento de *S. zeamais*, em bioensaios de tempo-resposta. Observaram que o óleo causou mortalidade em todos os estágios. Contudo, os ovos foram mais tolerantes seguidos pelo estágio de pupa, sendo as larvas menos tolerantes. O óleo essencial de *Vernonia amygdalina* Delile diluído em hexano, aplicado diretamente sobre os grãos foi capaz de reduzir em até 100% a progênie de *S. zeamais*, quando usado na concentração de 750 mg do óleo essencial  $250\text{g}^{-1}$  de grãos de milho (Asawalam & Hassanali 2006).

Os óleos essenciais além de causarem mortalidade dos insetos também podem causar alterações no seu comportamento. Em revisão publicada recentemente foi mencionado que as plantas *Cymbopogon* spp., *Ocimum* spp. e *Eucaliptus* spp. foram as mais promissoras para o uso como repelente em diversas espécies de insetos (Nerio *et al.* 2010). Óleos essenciais de *Lippia*

*origanoides* Kunth., *Eucalyptus citriodora* Hook e *Tagetes lucida* Cav., coletadas na Colômbia, foram repelentes para *S. zeamais* (Nerio *et al.* 2009). Óleos extraídos de *Laurus nobilis* L., *Citrus bergamia* Risso, *Foeniculum vulgare* Mill e *Lavandula hibrida* Ver. repeliram adultos de *S. zeamais*, *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) e larvas de *Tenebrio molitor* L. (Cosimi *et al.* 2009). Óleos de *Lippia gracillis* Shauer, *E. citriodora*, eugenol e *Copaifera* sp. também foram repelentes para adultos de *S. zeamais*, com o percentual de repelência variando de 87,7 a 97,3 (Coitinho *et al.* 2006). Outros trabalhos também têm demonstrado que os óleos essenciais obtidos de *X. aethiopica* e *V. amygdalina* (Asawalam *et al.* 2006, Asawalam & Hassanali 2006), *Piper guineense* Schum & Thonn (Asawalam 2006) e *Tagetes patula* L. (Restello *et al.* 2009) tem propriedades repelentes em relação a *S. zeamais*.

Por ser uma mistura complexa de diversas moléculas os efeitos biológicos dos óleos essenciais são o resultado de uma sinergia de todas as moléculas ou apenas das principais que estão presentes nos níveis mais altos (Bakkali *et al.* 2008). Há na literatura estudos a cerca do efeito sinérgico proveniente da mistura de inseticidas, sinergistas sintéticos, óleos vegetais e até compostos de óleos essenciais (Ribeiro *et al.* 2003; Obeng-Ofori & Amiteye 2005, Beckel *et al.* 2006, Yuya *et al.* 2009, Abbassy *et al.* 2009, Corrêa *et al.* 2011). Mas há uma carência de estudos dos efeitos da mistura entre óleos essenciais no controle dos insetos-praga.

Informações sobre a mudança de comportamento dos insetos quando expostos aos óleos essenciais, exceto para o efeito repelente, também são escassas na literatura. No entanto, há alguns trabalhos que mostram alterações na atividade de voo e no caminhar dos insetos quando expostos a inseticidas sintéticos (Guedes *et al.* 2008, Guedes *et al.* 2009, Vásquez-Castro *et al.* 2009) e ao ozônio (Sousa *et al.* 2012), demonstrando a necessidade de estudos nessa linha de pesquisa.

Devido à necessidade de utilização de métodos mais seguros sob o ponto de vista ecológico faz-se necessária à realização de um maior número de pesquisas que avaliem o potencial inseticida de óleos essenciais e seu efeito sobre o comportamento dos insetos, visando sua melhor aplicabilidade no manejo de pragas de grãos armazenados. Assim, o presente trabalho teve os seguintes objetivos: (i) identificar e quantificar os compostos presentes nos óleos essenciais de *Cymbopogon winterianus* Jowitt, *Eucalyptus globulus* Labill, *E. staigeriana* F., *Foeniculum vulgare*, *Ocimum basilicum* L., *O. gratissimum* L. e *Piper hispidinervum*; (ii) avaliar a toxicidade dos óleos essenciais sobre insetos adultos e imaturos de *S. zeamais*; (iii) observar as respostas comportamentais dos insetos adultos submetidos à exposição dos óleos em teste e (iv) determinar se há efeito sinérgico proveniente da mistura dos óleos essenciais na mortalidade dos insetos adultos.

### Literatura citada

- Abbassy, M.A., S.A.M. Abdelgaleil & R.Y.A. Rabie. 2009.** Insecticidal and synergistic effects of *Majorana hortensis* essential oil and some of its major constituents. Entomol. Exp. Appl. 131: 225-232.
- Almeida, S.A., F.A.C. Almeida, N.R. Santos, M.E.R. Araújo & J.P. Rodrigues. 2004.** Atividade inseticida de extratos vegetais sobre *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) (Coleoptera: Buchidae). Rev. Bras. Agrocienc. 10: 67-70.
- Almeida, F.A.C., E.B. Pessoa, J.P. Gomes & A.S. Silva. 2005.** Emprego de extratos vegetais no controle das fases imatura e adulta do *Sitophilus zeamais*. Rev. Agropec. Téc. 26: 58-68.
- Asawalam, E.F. 2006.** Insecticide and repellent properties of *Piper guineense* seed oil extract for control of maize weevil, *Sitophilus zeamais*. J. Emt. Agric. Food Chem. 5: 1389-1394.
- Asawalam, E.F. & A. Hassanali. 2006.** Constituents of the essential oil of *Vernonia amygdalina* as maize weevil protectants. Trop. Subtrop. Agroecosyst. 6: 95-102.
- Asawalam, E.F., S.O. Emosairue & A. Hassanali. 2006.** Bioactivity of *Xylopiya aetiopica* (Dunal) A. Rich essential oil constituents on maize weevil *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). Eletron. J. Agric. Food Chem. 5: 1195- 1204.

- Bakkali, F., S. Averbeck, D. Averbeck & M. Idaomar. 2008.** Biological effects of essential oils – A review. *Food Chem. Toxicol.* 46: 446-475.
- Beckel, H.S., I. Lorini & S.M.N. Lazzari. 2006.** Efeito do sinergista butóxido de piperonila na resistência de *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera, Silvanidae) a deltametrina e fenitrotiom. *Rev. Bras. Entomol.* 50: 110-114.
- Benhalima, H.; M.Q. Chaudhry; K.A. Mills & N.R. Price. 2004.** Phosphine resistance in stored-product insects collected from various grain storage facilities in Maroco. *J. Stored Prod. Res.* 40: 241-249.
- Boiça Jr., A.L.; F.M. Lara & F.P. Guidi. 1997.** Resistência de Genótipos de Milho ao Ataque de *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). *An. Soc. Entomol. Bras.* 26: 481-485.
- Botton, M., I. Lorini & A.P.S. Afonso. 2005.** Ocorrência de *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae) danificando a cultura da videira no Rio Grande do Sul. *Neotrop. Entomol.* 34: 355-356.
- Brito, J.P., J.E.M. Oliveira & S.A. Bortoli. 2006.** Toxicidade de óleos essenciais de *Eucalyptus* spp. sobre *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) (Coleoptera: Bruchidae). *Rev. Biol. Cienc. Terra.* 6: 96-103.
- Chu, S.S., J.F. Hu & Z.L. Liu. 2011.** Composition of essential oil of Chinese *Chenopodium ambrosioides* and insecticidal activity against maize weevil, *Sitophilus zeamais*. *Pest. Manag. Sci.* 67: 714-718.
- Chu, S.S., Q.Z. Liu, S.S. Du & Z.L. Liu. 2013a.** Chemical Composition and Insecticidal Activity of the Essential Oil of the Aerial Parts of *Ostericum grosseserratum* (Maxim) Kitag (Umbelliferae). *Trop. J. Pharm. Res.* 12: 99-103.
- Chu, S.S., S.L. Liu, Q.Z. Liu, G.H. Jiang & Z.L. Liu. 2013b.** Chemical composition and insecticidal activities of the essential oil of the flowering aerial parts of *Aster ageratoides*. *J. Serbian Chem. Soc.* 78: 209-216.
- Coitinho, R.L.B.C., J.V. Oliveira, M.G.C.J. Gondim & C.A.G. Câmara. 2006.** Atividade inseticida de óleos vegetais sobre *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae) em milho armazenado. *Rev. Caatinga.* 19: 176-182.
- Coitinho, R.L.B.C., J.V. Oliveira, M.G.C. Gondim Jr. & C.A.G. Câmara. 2011.** Toxicidade por fumigação, contato e ingestão de óleos essenciais para *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1885 (Coleoptera: Curculionidae). *Cienc. Agrotecnol.* 35: 172-178.
- CONAB. 2013.** (Companhia Nacional de Abastecimento). Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos 2013/14 – segundo levantamento – novembro/2013. Brasília, CONAB, 71p.

- Corrêa, A.S., E.J.G. Pereira, E.M.G. Cordeiro, L.S. Braga & R.N.C. Guedes. 2011.** Insecticide resistance, mixture potentiation and fitness in populations of the maize weevil (*Sitophilus zeamais*). *Crop Prot.* 30: 1655-1666.
- Cosimi, S., E. Rossi, P.L. Cioni & A. Canale. 2009.** Bioactivity and qualitative analysis of some essential oils from Mediterranean plants against stored-product pests: Evaluation of repellency against *Sitophilus zeamais* Motschulsky, *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) and *Tenebrio molitor* (L.). *J. Stored Prod. Res.* 45: 125-132.
- Estrela, J.L.V., M. Fazolin, V. Catani & M.R. Alécio. 2006.** Toxicidade de óleos essenciais de *Piper aduncum* e *Piper hispidinervum* em *Sitophilus zeamais*. *Pesq. Agropec. Bras.* 41: 217-222.
- Fancelli, A.L. & D. Dourado Neto. 2000.** Produção de milho. Guaíba: Agropecuária, v.18, 360 p.
- Fazolin, M., J.L.V. Estrela, V. Catani & M.R. Alécio. 2007.** Atividade inseticida do óleo essencial de *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur & K. SHUN (Bignoniaceae) sobre *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae). *Acta Amazônica.* 37: 599-604.
- FIESP. 2013.** (Federação das Indústrias do Estado de São Paulo). Safra Mundial de Milho. Disponível em: < <http://www.fiesp.com.br/indices-pesquisas-e-publicacoes/safra-mundial-de-milho-2/>> Acesso em dez. de 2013.
- Gallo, D.; O. Nakano, S. Silveira Neto, R.P.L. Carvalho, G.C. Baptista, E. Berti Filho, J.R.P. Parra, R.A. Zucchi, S.B. Alves, J.D. Vendramin, L.C. Marchini, J.R.S. Lopes & C. Omoto. 2002.** *Entomologia Agrícola.* FEALQ. 920p.
- Glat, D. 2010.** A dimensão do milho no mundo. Disponível em: <http://www.abramilho.org.br/noticias.php?cod=975> Acesso em nov de 2013.
- Guedes, R.N.C., J.F. Campbell, F.H. Arthur, G.P. Opit, K.Y. Zhu & J.E. Throne. 2008.** Acute lethal and behavioral sublethal responses of two stored-product psocids to surfasse insecticides. *Pest. Manag. Sci.* 64: 1314-1322.
- Guedes, N.M.P., R.N.C. Guedes, G.H. Ferreira & L.B. Silva. 2009.** Flight take-off and walking behavior of insecticide-susceptible and – resistant strains of *Sitophilus zeamais* exposed to deltamethrin. *Bull. Entomol. Res.* 99: 393-400.
- Guenther, E. 1972.** The essential oils. Malabar: Krieger, p. 427.
- Guzzo, E.C., L.F.A. Alves, A. Zanin & J.D. Vendramin. 2002.** Identificação de materiais de milho resistentes ao ataque de gorgulho *Sitophilus zeamais* (Mots. 1855) (Coleoptera: Curculionidae). *Arq. Inst. Biol.* 69: 69-73.
- Ketoh, G.H., H.K. Koumaglo & I.A. Glitho. 2005.** Inhibition of *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) development with essential oil extracted from *Cymbopogon*

*schoenanthus* L. Spreng (Poaceae), and the wasp *Dinarmus basalis* (Rondani) (Hymanoptera: Pteromalidae). J. Stored Prod. Res. 41:363-371.

**Kouninki, H., T. Hance, F.A. Noudjou, G. Lognay, F. Malaisse, M.B. Ngassoum, P.M. Mapongmetsem, L.S.T. Ngamo & E. Haubruge. 2007.** Toxicity of some terpenoids of essential oils of *Xylopiya aethiopica* from Cameroon against *Sitophilus zeamais* Motschulsky. J. Appl. Entomol. 131: 269-274.

**Lorini, I. 2008.** Manejo Integrado de Pragas de Grãos de Cereais Armazenados. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 72p.

**Nerio, L.S., J. Oliveira-Verbel & E.E. Stashenko. 2009.** Repellent activity of essential from seven aromatic plants grown in Colombia against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera). J. Stored Prod. Res. 45: 212-214.

**Nerio, L.S., J. Oliveira-Verbel & E.E. Stashenko. 2010.** Repellent activity of essential oils: A review. Biores. Technol. 101: 372-378.

**Nornberg, S.D., D.E. Nava, A.D. Grutzmacher, J.M.S. Bento, A.L. Ozelame & L.K. Hubner. 2013.** Flutuação populacional e distribuição de *Sitophilus zeamais* em pomares de pessegueiro e macieira. Pesq. Agropec. Bras. 48: 358-364.

**Nukenine, E.N., C. Adler & Ch. Reichmuth. 2010.** Bioactivity of fenchone and *Plectranthus glandulosus* oil against *Prostephanus truncatus* and two strains of *Sitophilus zeamais*. J. Appl. Entomol. 134: 132-141.

**Obeng-Ofori, D. & S. Amiteye. 2005.** Efficacy of mixing vegetable oils with pirimiphos-methyl against the maize weevil, *Sitophilus zeamais* Motschulsky in stored maize. J. Stored Prod. Res. 41: 57-66.

**Owolabi, M.S., M.O. Oladimeji, L. Lajide, G. Singh, P. Marimuthu, V.A. Isidorov, L.S. Nerio, J. Oliveira-Verbel & E.E. Stashenko. 2009.** Bioactivity of three plant derived essential oils against the maize weevils *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) and cowpea weevils *Callosobruchus maculatus* (Fabricius). J. Environ. Agric. Food Chem. 8: 828-835.

**Pacheco, I.A. & D.C. De Paula. 1995.** Insetos de grãos armazenados: identificação e biologia. Campinas: Fundação Cargil, 228p.

**Paes, J.L., L.R.D'.A. Faroni, O.D. Dhingra, P.R. Cecon & T.A. Silva. 2012.** Insecticidal fumigant action of mustard essential oil against *Sitophilus zeamais* in maize grains. Crop Prot. 34: 56-58.

**Prates, H.T & J.P. Santos. 2002.** Óleos essenciais no controle de pragas de grãos armazenados, p. 443-461. IN: I. Lorini, L.H. Miike & V.M. Senssel (eds.), Armazenagem de grãos. Campinas, Inst. Bio Geneziz, 1000p.

- Rajendran, S. & V. Sriranjini. 2008.** Plants products as fumigants for stored-products insect control. *J. Stored Prod. Res.* 44: 126-135.
- Restello, R.M., C. Menegatt & A.J. Mossi. 2009.** Efeito do óleo essencial de *Tagetes patula* L. (Asteraceae) sobre *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). *Rev. Bras. Entomol.* 53: 304-307.
- Ribeiro, B.M., R.N.C. Guedes, E.E. Oliveira & J.P. Santos. 2003.** Insecticide resistance and synergism in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *J. Stored Prod. Res.* 39: 21-31.
- Rosseto, C.J. 1972.** Resistência do milho às pragas da espiga, *Helicoverpa zea* (Boddii), *Sitophilus zeamais* (Mots.) e *Sitotroga cerealella* (Olivier). Tese (Doutorado), ESALQ, Piracicaba, 111p.
- Santos, J.P., R.A. Fontes, B.H.M. Mantovani, E.C. Mantovini, I.A. Pereira Filho, C.S. Borba, R.V. Andrade, J.T. Azevedo & C. Andreoli. 1994.** Perdas de grãos na cultura do milho. Relatório Técnico Anual do Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo 1992-1993. Sete Lagoas: MG, v.6. p.122-124.
- Siloto, R.C. 2002.** Danos e biologia de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1997) (Lepidoptera: Noctuidae) em genótipos de milho. Dissertação de Mestrado, ESALQ, Piracicaba, 93p.
- Simões, C.M.O. & V. Spitzer. 1999.** Óleos essenciais. p. 387-415. In: Simões, C.M.O.; E.P. Schenckel; G. Gosmann; J.C.P. Mello; L.A. Mentz & P.R. Petrovick, Farmacognosia. Da planta ao medicamento. 821p
- Sousa, A.H., L.R.A. Faroni, G.N. Silva & R.N.C. Guedes. 2012.** Ozone toxicity and walking response of populations of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *J. Econ. Entomol.* 105: 2187-2195
- Tapondjou, L.A., C. Adler, H. Bouda, D.A. Fontem. 2002.** Efficacy of powder and essential oil from *Chenopodium ambrosioides* leaves as post-harvest grain protectants against six-stored product beetles. *J. Stored Prod. Res.* 38: 395-402.
- Tapondjou, L.A., C. Adler, D.A. Fontem, H. Bouda & C. Reichmuth. 2005.** Bioactivities of cymol and essential oils of *Cupressus sempervirens* and *Eucalyptus saligna* against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium confusum* du Val. *J. Stored Prod. Res.* 41: 91-102.
- Tavares, M.A.G.C. & J.D. Vendramim. 2005.** Atividade inseticida da erva-de-Santa-Maria *Chenopodium ambrosioides* L. (Chenopodiaceae) em relação a *Sitophilus zeamais* Mots., 1885 (Col., Curculionidae). *Arq. Inst. Biol.* 72: 51-55.
- Vásquez-Castro, J.A., G.C. Baptista, L.R.P. Trevizan & C.D. Gadanha Jr. 2009.** Flight Activity of *Sitophilus oryzae* (L) and *Sitophilus zeamais* Motsch (Coleoptera:

Curculionidae) and its Relationship with Susceptibility to Insecticides. Neotrop. Entomol. 38: 405-409.

**Yuya, A.I., A. Tadesse, F. Azerefegne & T. Tefera. 2009.** Efficacy of combining Niger seed oil with malathion 5% dust formulation on maize against the maize weevil, *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). J.Stored Prod. Res. 45: 67-70.



## CAPÍTULO 2

### TOXICIDADE, REPELÊNCIA E SINERGISMO DE ÓLEOS ESSENCIAIS NO MANEJO DE *Sitophilus zeamais* MOTSCHULSKY, 1885 (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE)

ALICE M<sup>a</sup> N. ARAÚJO<sup>1</sup>, JOSÉ V. OLIVEIRA<sup>1</sup>, DANIELA M<sup>a</sup> A.F. NAVARRO<sup>2</sup>, KAMILLA  
A. DUTRA<sup>1</sup> E DOUGLAS R.S. BARBOSA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Agronomia – Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua  
Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos 52171-900 Recife, PE, Brasil.

<sup>2</sup>Centro de Ciências Exatas e da Natureza - Departamento de Química, Universidade Federal de  
Pernambuco, Av. Professor Moraes Rego, 1235 – Cidade Universitária, 50670-901, Recife, PE,  
Brasil.

<sup>1</sup>Araújo, A.M.N., J.V. Oliveira, D.M.A.F. Navarro, K.A. Dutra & D.R.S. Barbosa. Toxicidade, repelência e sinergismo de óleos essenciais no manejo de *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1885 (Coleoptera: Curculionidae). A ser submetido.

RESUMO – O presente trabalho teve por objetivos: (i) Identificar e quantificar os compostos constituintes dos óleos essenciais, através de CG/EM; (ii) avaliar a toxicidade por fumigação, contato e ingestão e repelência dos óleos essenciais de *Cymbopogon winterianus*, *Eucalyptus globulus*, *E. staigeriana*, *Foeniculum vulgare*, *Ocimum basilicum*, *O. gratissimum* e *Piper hispidinervum*; (iii) verificar o efeito fumigante do óleo de *P. hispidinervum* sobre imaturos de *S. zeamais* e (iv) determinar se há efeito sinérgico na mistura dos óleos essenciais sobre os insetos. A análise dos óleos por CG/EM revelou a presença majoritária de Citronelal (35,47%) e Geraniol (21,83%) para *C. winterianus*; 1,8-Cineole (89,97%) para *E. globulus*; Limoneno (28,73%) e Geraniol (15,20%) para *E. staigeriana*; Limoneno (41,82%) e (E)-Anethole (17,91%) para *F. vulgare*; Linalol (62,47%) e Methyl chavicol (30,94%) para *O. basilicum*; (E)-Anethole (34,95%) e Limoneno (15,63%) para *O. gratissimum* e Safrole (82,07%) para *P. hispidinervum*. Nos testes de contato e ingestão a toxicidade decresceu na seguinte ordem: *P. hispidinervum* > *F. vulgare* > *O. basilicum* > *E. globulus* > *O. gratissimum* > *E. staigeriana* > *C. winterianus*, com CL<sub>50</sub> variando de 5,12 a 78,89 µl 40g<sup>-1</sup> de milho. Nos testes de fumigação para adultos, as CL<sub>50</sub> variaram de 2,1 a 19,4 µL L<sup>-1</sup> de ar. Todos os óleos foram repelentes para *S. zeamais*. Na fumigação de imaturos pode-se observar que o estágio de ovo foi suscetível ao óleo essencial, enquanto que as fases de larva e pupa mostraram-se tolerantes. As misturas dos óleos tiveram seu efeito potencializado, indicando que há efeito sinérgico.

PALAVRAS-CHAVE: Gorgulho do milho, inseticidas naturais, bioatividade.

TOXICITY, REPELLENCY AND SYNERGISM OF ESSENTIAL OILS IN THE  
MANAGEMENT OF *Sitophilus zeamais* MOTSCHULSKY, 1885 (COLEOPTERA:  
CURCULIONIDAE)

ABSTRACT- The present study aimed to: (i) identify and quantify the components of the essential oils by the GC-ME analysis; (ii) evaluate the fumigation toxicity, contact and ingestion as well as the repellence of the essential oils of *Cymbopogon winterianus*, *Eucalyptus globulus*, *E. staigeriana*, *Foeniculum vulgare*, *Ocimum basilicum*, *O. gratissimum* and *Piper hispidinervum*; (iii) verify the fumigant effect of *P. hispidinervum* oil upon *Sitophilus zeamais* immatures and (iv) determine whether there is synergism in oils mixtures upon the insects. The oils analysis by GC-EM showed majority presence of Citronellal (35.47%) and Geraniol (21.83%) for *C. winterianus*, 1,8-Cineole (89.97%) for *E. globulus*, Limonene (28.73%) and Geraniol (15.20%) for *E. staigeriana*; Limonene (41.82%) and (E)-Anethole (17.91%) for *F. vulgare*; Linalool (62.47%) and Methyl chavicol (30.94%) for *O. basilicum*, (E)-Anethole (34.95%) and limonene (15.63%) for *O. gratissimum* and Safrole (82.07%) for *P. hispidinervum*. In contact and ingestion tests, the toxicity decreased as follow: *P. hispidinervum*>*F. vulgare*>*O. basilicum*>*E. globulus*>*O. gratissimum*>*E. staigeriana*>*C. winterianus*; presenting LC<sub>50</sub> ranging from 5.12 to 78.89  $\mu\text{L } 40\text{g}^{-1}$  corn. In fumigation tests for adults, the, LC<sub>50</sub> ranged from 2.1 to 19.4  $\mu\text{L L}^{-1}$  air. All of the used oils repelled *S. zeamais*. In immature fumigation tests, the egg stage was susceptible to essential oils, and the larval and pupal stages were the most tolerant. The oils mixtures have had their effect increased, stating a synergic effect.

KEY WORDS: Maize weevil, natural insecticides, bioactivity.

## Introdução

A produção brasileira de grãos na safra 2013/2014 foi estimada em aproximadamente 196 milhões de toneladas, das quais o milho respondeu por 40% (CONAB 2013). Segundo Silva *et al.* (2007), no Brasil perde-se cerca de 20% de toda a produção de grãos devido ao ataque de pragas.

Os insetos causam grandes danos aos grãos armazenados e aos produtos beneficiados, merecendo destaque o gorgulho-do-milho, *Sitophilus zeamais* Mots. Este inseto apresenta elevado potencial biótico, grande número de hospedeiros, infestação cruzada e facilidade de penetração na massa de grãos (Gallo *et al.* 2002, Lorini 2002).

Atualmente, o uso de produtos químicos sintéticos para o controle de insetos suscita várias preocupações relacionadas com o ambiente e a saúde humana (Nério *et al.* 2010). Um grande número de substâncias derivadas de plantas causam efeitos fisiológicos e comportamentais sobre insetos de produtos armazenados, tornando-se uma alternativa ao uso de inseticidas sintéticos (Rajedran & Sriranjini 2008).

Muitas plantas têm sido testadas e se mostrado bastante promissoras no manejo de *S. zeamais*, como o óleo essencial e o pó das folhas de *Vernonia amygdalina* Delile (Asawalam & Hassanali 2006, Kabeh & Jalingo 2007); extratos de *Aframomum melegueta* (Rosk) K. Schum, *Zingiber officinale* (Roscoe) e *Piper guineense* Thonn and Schum (Ukeh *et al.* 2009a, Ukeh *et al.* 2009b); *Citrus bergamia* Risso and Poit e *Lavandula hybrida* Rev. (Cosimi *et al.* 2009), *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown, *Tagetes lucida* Cav., *Rosmarinus officinalis* L., *Cananga odorata* Hook.f. & Thomson, *Eucalyptus citriodora* Hook e *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. (Nerio *et al.* 2009).

O óleo essencial de *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. & K. Shum foi tóxico para *S. zeamais*, apresentando valores de CL<sub>50</sub> de 14,1 ng cm<sup>-2</sup> e CL<sub>50</sub> de 1.321,6 ng g<sup>-1</sup>, respectivamente, para os efeitos de contato (papel de filtro) e fumigação, bem como DL<sub>50</sub> de 14,7

$\mu\text{g mg}^{-1}$  de inseto para o efeito tóxico (Fazolin *et al.* 2007a). O óleo essencial de *Tagetes patula* L. foi repelente e teve atividade inseticida sobre *S. zeamais* em teste de contato (Restello *et al.* 2009). Mossi *et al.* (2010), ao testar óleos essenciais extraídos de cinco espécies de eucalipto observaram que todos foram repelentes para *S. zeamais* e que possuem atividade inseticida, sendo os óleos de *Eucalyptus viminalis* Labill. e *E. globulus* os melhores, pois atingiram 100% de mortalidade nas concentrações de 0,16 e 0,23  $\mu\text{L cm}^{-2}$ , respectivamente, após 24 h de exposição.

Tendo em vista à riqueza e diversidade da flora brasileira que oferece muitas opções para a descoberta de novas plantas com atividade inseticida, possibilitando o desenvolvimento de táticas alternativas de manejo de pragas, que visem produzir alimentos saudáveis e livres de agrotóxicos, o presente trabalho teve os seguintes objetivos: identificar e quantificar os compostos constituintes dos óleos essenciais, através de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas; avaliar a toxicidade por fumigação, contato e ingestão e repelência dos óleos essenciais de *Cymbopogon winterianus* Jowitt, *Eucalyptus globulus* Labill, *E. staigeriana.*, *Foeniculum vulgare* Mill., *Ocimum basilicum* L., *O. gratissimum* L. e *Piper hispidinervum* C. DC.; avaliar a toxicidade de *P. hispidinervum* sobre imaturos de *S. zeamais* e averiguar se há efeito sinérgico na mistura dos óleos essenciais.

## Material e Métodos

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Entomologia Agrícola do Departamento de Agronomia, Área de Fitossanidade da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) e no Laboratório de Ecologia Química do Departamento de Química da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), em Recife-PE.

**Criação de *S. zeamais*.** Os insetos foram criados em sementes de milho cv. Caatingueiro, obtidas da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE, à temperatura de  $27\pm 3$  °C, umidade relativa de  $65\pm 5\%$  e

fotofase de 12 h, acondicionados em recipientes de vidro, fechados com tampa plástica perfurada e revestida internamente com tecido fino para permitir as trocas gasosas. O confinamento dos insetos foi realizado durante 15 dias para efetuarem a postura, em seguida foram retirados e os recipientes estocados até a emergência da geração F<sub>1</sub>. Efetuou-se este procedimento por sucessivas gerações, de modo a assegurar a quantidade de adultos necessários para a execução dos experimentos.

**Obtenção dos Óleos Essenciais.** Os óleos essenciais testados foram adquiridos em Laboratórios e empresas especializadas. O óleo de *Piper hispidinervum* foi obtido na Embrapa – Acre; os óleos de *O. basilicum* e *E. globulus*, na Empresa Quinarí Casa das Essências – Ponta Grossa/PR; *E. staigeriana* no Departamento de Ciências Florestais – ESALQ-USP e *F. vulgare*, *C. winterianus* e *O. gratissimum* na Universidade Federal da Paraíba – Campus Bananeiras.

**Análise Cromatográfica e Espectrometria de Massas.** Os óleos essenciais foram analisados por cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas em um sistema quadrupolo Agilent 5975C Series GC/EM (Agilent Technologies, Palo Alto, EUA), equipado com uma coluna apolar DB-5 (Agilent J&W; 60 m x 0.25 mm d.i., 0,25 µm espessura da película). A solução de 1 µL de concentração conhecida, contendo o óleo essencial diluído em hexano foi injetada em split 1:20, assim como a solução da mistura de padrões de hidrocarbonetos: C9-C34, sendo esta solução hexânica composta por padrões comerciais da Sigma-Aldrich®. A temperatura do cromatógrafo gasoso (GC) foi ajustada em 60 °C por 3 min, sendo então aumentada em 2,5 °C min<sup>-1</sup> até alcançar 240 °C e mantida nesta temperatura por 10 min. O fluxo de hélio foi mantido em pressão constante de 100 kPa. A interface do espectrômetro de massas (EM) foi definida em 200 °C e os espectros de massa registrados em 70 eV (em modo EI) com uma velocidade de escaneamento de 0,5 scan<sup>-s</sup> de *m/z* 20-350.

**Identificação Química dos Óleos Essenciais.** A partir da obtenção dos tempos de retenção dos compostos na amostra do óleo essencial, nos padrões de hidrocarboneto e na combinação do óleo essencial com a mistura de padrões de hidrocarboneto foi calculado o índice de retenção para cada componente do óleo, segundo a equação de Van den Dool e Kratz (1963). Os componentes dos óleos essenciais foram previamente identificados por similaridade dos valores dos índices de retenção e posteriormente confirmados por comparação dos respectivos espectros de massa com aqueles disponíveis na biblioteca do GC/EM: MassFinder 4, NIST08 e Wiley Registry™ 9th Edition e com os descritos por Adams (2009) e por fim, as áreas dos picos nos cromatogramas foram integradas para a obtenção do sinal iônico total e seus valores utilizados para determinar as proporções relativas respectivas a cada composto.

**Eliminação da Infestação e Equilíbrio da Umidade das Sementes.** Sementes de milho, cultivar Caatingueiro, foram acondicionadas em sacos plásticos e mantidas em freezer sob temperatura de -10 °C, para eliminação de eventuais infestações de insetos provenientes do campo. Após a retirada do freezer, foram transferidas para frascos de vidro, mantidos no laboratório à temperatura ambiente durante 15 dias com a finalidade de atingirem o equilíbrio higroscópico.

**Toxicidade de Contato e Ingestão de Óleos Essenciais em Adultos de *S. zeamais*.** Os experimentos foram conduzidos à temperatura de 27±3 °C, umidade relativa de 65±5% e fotofase de 12 h. Foram utilizados os seguintes tratamentos nas concentrações em µL 40g<sup>-1</sup> de milho: *C. winterianus* (40; 50,4; 70; 80; 100 e 110), *E. globulus* (30; 32,4; 35; 37,8; 40,8 e 45), *E. staigeriana* (40; 48,8; 59,5; 80 e 90), *F. vulgare* (20; 23,4; 27,4; 32 e 43), *O. basilicum* (18; 21; 24,7; 29; 33,8; 40), *O. gratissimum* (35; 41,7; 54,3; 59 e 70) e *P. hispidinervum* (3; 3,75; 4,7; 5,9; 7,3 e 9). Este último foi utilizado como controle positivo, considerando o trabalho realizado por Coitinho *et al.* (2011), que estimou a concentração letal 50% em apenas 1 µL 40g<sup>-1</sup> de milho. Para

cada óleo utilizou-se uma testemunha, sem a presença do óleo. As concentrações foram estimadas, através de testes preliminares, obtendo-se mortalidades em torno de 5 e 95%, para o estabelecimento das concentrações definitivas, por extrapolação, utilizando-se a fórmula de Finney (1971). Os óleos essenciais foram adicionados às sementes de milho com pipetador automático, no interior de recipientes de vidro, os quais foram agitados manualmente durante dois minutos. Cada parcela de 40 g de milho foi infestada com 16 adultos não sexados de *S. zeamais* com 0 a 15 dias de idade. Após 48 h de confinamento, foram determinadas as porcentagens de mortalidade.

Foram realizados experimentos individuais para cada tratamento, no delineamento inteiramente casualizado com no mínimo cinco concentrações e quatro repetições. A estimativa das CL<sub>50</sub> foi efetuada através do programa computacional POLO-PC (LeOra Software 1987). A razão de toxicidade (RT) foi obtida através do quociente entre a CL<sub>50</sub> do óleo essencial que apresentou menor toxicidade e as CL<sub>50</sub> dos óleos restantes.

**Efeito Fumigante de Óleos essenciais em Adultos de *S. zeamais*.** Os experimentos foram conduzidos à temperatura de 27±3 °C, umidade relativa de 65±5% e fotofase de 12 h. Avaliou-se o efeito fumigante de óleos essenciais sobre adultos de *S. zeamais*, de acordo com a metodologia adaptada de Aslan *et al.* (2004). Utilizaram-se, como câmaras de fumigação, recipientes de vidro com 2,5 L de capacidade, onde foram confinados 20 adultos de *S. zeamais*, não sexados com 0 a 15 dias de idade e 40 g de milho. Com base em testes preliminares foram utilizados os tratamentos nas seguintes concentrações, em µL L<sup>-1</sup> de ar: *E. globulus* (14; 16,1; 18,5; 21,3; 24,5 e 28), *F. vulgare* (4; 6,9; 11,8; 20,4; 35 e 60), *O. basilicum* (8; 10; 12,5; 15,6; 19,5 e 24) e *P. hispidinervum* (1,4; 1,68; 2,04; 3 e 3,6) como controle positivo, pois já tem sua atividade fumigante comprovada com CL<sub>50</sub> estimada de 0,53 µL L<sup>-1</sup> de ar (Coitinho *et al.* 2011). Os óleos foram aplicados com pipetador automático, em papéis de filtro com 18 cm<sup>2</sup> de área, fixados na



superfície inferior da tampa dos recipientes. Para evitar o contato direto dos óleos com os insetos, utilizou-se tecido poroso, entre a tampa onde se encontrava o papel de filtro e o recipiente propriamente dito. Para a completa vedação, os recipientes foram envolvidos com filme plástico e fita adesiva. Decorridas 48 h após a montagem dos experimentos, avaliou-se a porcentagem de mortalidade. Foram efetuados experimentos individuais para cada óleo essencial, no delineamento inteiramente casualizado com no mínimo cinco tratamentos e quatro repetições.

As concentrações letais (CL<sub>50</sub>) foram estimadas pelo programa computacional POLO-PC (LeOra Software 1987). As razões de toxicidade (RT) foram obtidas através do quociente entre a CL<sub>50</sub> do óleo essencial que apresentou menor toxicidade e as CL<sub>50</sub> dos óleos restantes.

**Efeito Repelente de Óleos Essenciais sobre Adultos de *S. zeamais*.** Os testes foram realizados em arenas compostas por dois recipientes plásticos interligados a uma caixa central por meio de dois tubos plásticos. Em uma das caixas foram colocados 20 g de grãos de milho sem óleo (testemunha) e na outra, a mesma quantidade de grãos impregnados com o óleo em teste. Na caixa central foram liberados 16 adultos de *S. zeamais* não sexados com idade variando de 0-15 dias. Cada óleo foi testado separadamente, no delineamento experimental inteiramente casualizado, com dois tratamentos (concentração do óleo e testemunha) e 10 repetições. Após 48 h, os insetos contidos em cada recipiente foram quantificados, para avaliação da repelência. Os dados foram submetidos à análise de frequência de escolha, adotando o Proc Freq do SAS e interpretado, mediante o teste de qui-quadrado a 5% de probabilidade. O percentual médio de repelência foi calculado, segundo a fórmula:  $PR = [(NC-NT)/(NC+NT) \times 100]$ , sendo PR= Percentual médio de repelência, NC= média de insetos na testemunha e NT= média de insetos no tratamento (Obeng-Ofori 1995).

**Efeito Sinérgico de Óleos Essenciais sobre Adultos de *S. zeamais*.** Os ensaios foram efetuados com misturas binárias dos óleos essenciais de *F. vulgare*, *O. basilicum* e *P. hispidinervum*. Os

percentuais de mortalidade correspondentes a  $CL_{25}$  dos óleos essenciais obtidos nos testes de fumigação foram determinados na curva de probit. As porcentagens de mortalidade determinadas para cada óleo foram consideradas como mortalidades esperadas. A mistura binária dos óleos foi feita na razão  $CL_{25}: CL_{25}$  (1:1). O resultado das misturas foi testado nos insetos adultos em testes de fumigação, e para cada mistura foram utilizados 20 insetos por repetição. A mortalidade (%) causada pelas misturas foi avaliada após 48 h, sendo considerada mortalidade observada. O fator de co-toxicidade foi tomado como critério para avaliação do efeito tóxico, conforme à fórmula:

$$\text{Fator de co-toxicidade} = [(OM - EM)/EM] \times 100,$$

onde OM é a mortalidade observada(%) e EM é a mortalidade esperada(%). Um fator positivo de +20 ou médias maiores indica potencialização, fator negativo de -20 ou médias menores indica antagonismo e valores entre -20 e +20 implica em efeito aditivo (Abbassy *et al.* 2009).

**Efeito Fumigante de Óleos essenciais em Imaturos de *S. zeamais*.** Para obtenção das fases imaturas de *S. zeamais*, 30 g de grãos de milho não tratados foram infestados com 50 insetos adultos em recipientes de vidro para oviposição durante um período de seis dias. Como as fases imaturas do inseto ocorrem no interior dos grãos, foram considerados grãos infestados com ovos, larvas de terceiro ínstar e pupas depois de 0, 18 e 30 dias, respectivamente após o término do período de oviposição (Paes *et al.* 2012).

Grãos de milho contendo ovos, larvas e pupas foram submetidos ao tratamento com o óleo essencial de *P. hispidinervum*, na concentração de  $2,1 \mu\text{L L}^{-1}$  de ar, em 10 períodos de exposição (6, 12, 18, 24, 30, 36, 42, 48, 54, 60 h), em quatro repetições. Essa concentração foi estabelecida a partir de ensaios anteriores feitos com adultos. Para as testemunhas o ensaio foi realizado nas mesmas condições descritas anteriormente, com grãos contendo insetos nas fases imaturas não sendo submetidos ao tratamento com o óleo essencial.

Os tratamentos foram realizados em recipientes de vidro com 2,5 L de capacidade, contendo grãos de milho em seu interior. O óleo essencial foi aplicado com pipetador automático, em papéis de filtro com 18 cm<sup>2</sup> de área, fixados na superfície inferior da tampa dos recipientes. Os recipientes foram envolvidos com filme plástico e fita adesiva.

Ao final de cada período de exposição, os grãos de milho foram retirados e acondicionados em vidros menores. A avaliação do efeito do óleo essencial de *P. hispidinervum* sobre os insetos imaturos foi feita após 42 dias da data de postura, contando-se o número de insetos adultos emergidos. Os dados obtidos foram analisados adotando o PROC REG dos SAS (SAS Institute 2002).

## Resultados e Discussão

**Identificação dos Compostos dos Óleos Essenciais.** Os componentes majoritários presentes nos óleos foram: Citronelal (35,47%), Geraniol (21,83%) e Citronelol (10,94%) para *C. winterianus*; 1,8-Cineole (89,97%) para *E. globulus*; Limoneno (28,73%), Geraniol (15,20%) e Neral (12,16%) para *E. staigeriana*; Limoneno (41,82%), (E)-Anethole (17,91%) e  $\alpha$ -Pineno (11,13%) para *F. vulgare*; Linalol (62,47%) e Methylchavicol (30,94%) para *O. basilicum*; (E)-Anethole (34,95%), Limoneno (15,63%) e Eugenol (9,07%) para *O. gratissimum* e Safrole (82,07%) para *P. hispidinervum* (Tabela 1).

**Toxicidade de Contato e Ingestão de Óleos Essenciais em Adultos de *S. zeamais*.** De acordo com as CL<sub>50</sub>, a toxicidade dos tratamentos decresceu na seguinte ordem: *P. hispidinervum* > *F. vulgare* > *O. basilicum* > *E. globulus* > *O. gratissimum* > *E. staigeriana* > *C. winterianus*. As razões de toxicidade foram, respectivamente, 15,4; 2,94; 2,93; 2,08; 1,66 e 1,27 em relação ao óleo de *C. winterianus*. De acordo com os resultados, o óleo de *P. hispidinervum* foi o mais efetivo, apresentando razão de toxicidade superior aos demais óleos testados e diferindo de todos

eles pelo intervalo de confiança (Tabela 2). Coitinho *et al.* (2011) observaram que *P. hispidinervum* foi tóxico para *S. zeamais* em teste de contato e ingestão, apresentando CL<sub>50</sub> de 1 µL 40g<sup>-1</sup> de milho. Da mesma forma, Estrela *et al.* (2006) em teste de contato com impregnação do óleo em papel-filtro observaram alta toxicidade de *P. hispidinervum* e *Piper aduncum* L. sobre *S. zeamais*, com CL<sub>50</sub> de 0,51 e 2,87 µL cm<sup>-2</sup> de óleo, respectivamente.

O extrato hexânico de *O. gratissimum* na concentração de 0,3% ocasionou 82% de mortalidade de *S. zeamais*, após sete dias da aplicação na massa de grãos (Asawalam *et al.* 2008). Nguemtchouin *et al.* (2013) encontraram mortalidade de até 100% de *S. zeamais* em teste de contato com o óleo de *O. gratissimum* diluído em acetona.

A toxicidade por contato e ingestão de diversos óleos essenciais e de seus componentes químicos tem demonstrado que muitos são efetivos e que podem ser usados como alternativa aos inseticidas sintéticos, no controle de diversas pragas de grãos armazenados (Fazolin *et al.* 2007a; Fazolin *et al.* 2007b; Kouninki *et al.* 2007; Gusmão *et al.* 2013). O óleo essencial de *Chenopodium ambrosioides* L. e alguns de seus constituintes isolados como Ascaridole e Isoascaridole apresentaram CL<sub>50</sub> de apenas 2,12, 0,86 e 2,16 µg g<sup>-1</sup> de peso do inseto, respectivamente, para adultos de *S. zeamais* (Chu *et al.* 2011).

**Efeito Fumigante de Óleos Essenciais em Adultos de *S. zeamais*.** A toxicidade dos óleos essenciais como fumigantes para *S. zeamais* decresceu na seguinte ordem: *P. hispidinervum* > *O. basilicum* > *F. vulgare* > *E. globulus*, com as CL<sub>50</sub> variando de 2,1 a 19,4 µL L<sup>-1</sup> de ar. Apesar de apresentar a maior CL<sub>50</sub> a curva de concentração-resposta do óleo de *E. globulus* foi a que apresentou maior inclinação, demonstrando que pequenas variações nas concentrações promovem altas respostas na mortalidade dos insetos. As razões de toxicidade foram, respectivamente, 9,23; 1,39 e 1,22 em relação ao óleo de *E. globulus*. Para o óleo de *P. hispidinervum*, controle positivo, foi estimada a menor CL<sub>50</sub> diferindo dos demais óleos pelo intervalo de confiança (Tabela 3).

Coitinho *et al.* (2011) atribuíram à alta toxicidade de *P. hispidinervum*, ao fato do óleo ser extremamente volátil, bem como pela presença do safrole, composto majoritário. No presente trabalho, em cinco dos óleos testados foi possível observar a presença do composto limoneno em sua composição, sendo um dos compostos majoritários nos óleos de *E. staigeriana*, *F. vulgare* e *O. gratissimum*. Restello *et al.* (2009) observaram mortalidade de até 100% de adultos de *S. zeamais* quando fumigados com o óleo de *T. patula*, que tem como composto majoritário o limoneno.

A atividade inseticida de 1,8-cineole, principal constituinte do óleo de *E. globulus*, já teve sua atividade comprovada em *Tribolium castaneum* (H.) (Tripathi *et al.* 2001, Stamopoulos *et al.* 2007), *S. oryzae* (L.) e *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Lee *et al.* 2003). E a atividade de 1,8-cineole para *S. zeamais*.

Ogendo *et al.* (2008) obtiveram mortalidades de 98; 99 e 100%, respectivamente, em *Rhyzopertha dominica* (Fabricius), *O. surinamensis* e *Callosobruchus chinensis* L., ao utilizarem apenas 1  $\mu\text{L/L}^{-1}$  de ar do óleo essencial de *O. gratissimum*. López *et al.* (2008), ao testarem diferentes compostos isolados de *Coriander sativum* L., *Carum carvi* L. e *O. basilicum* observaram efeito fumigante de linalool, carvone, estragole e methyl eugenol no controle de *S. oryzae*, *R. dominica* e *Cryptolestes pusillus* (Schonherr).

**Efeito Repelente de Óleos Essenciais sobre Adultos de *S. zeamais*.** Todos os óleos essenciais foram repelentes para adultos de *S. zeamais*, diferindo de suas respectivas testemunhas ( $P < 0,0001$ ) (Fig. 1). Os percentuais médios de repelência foram: *E. staigeriana* (96,25%); *O. basilicum* (91,19%); *O. gratissimum* (90%); *C. winterianus* (81,82%); *E. globulus* (79,62%); *F. vulgare* (77,07%) e *P. hispidinervum* (49,37%).

Nerio *et al.* (2010), em revisão recente sobre o efeito repelente de óleos essenciais em dípteros, destacaram como mais importantes, os óleos obtidos das plantas *Cymbopogon* spp., *Ocimum* spp. e *Eucalyptus* spp.; o mesmo está sendo observado neste trabalho para *S. zeamais*.

O efeito repelente de *Cymbopogon* spp. foi atribuído à presença de substâncias voláteis em suas folhas, como citronelal, citronelol, geraniol, entre outras (Shasany *et al.* (2000). Óleos essenciais extraídos de *Eucalyptus benthamii* Maid. & Camb., *E. dunnii* Maiden, *E. globulus*, *E. viminalis* Labill, *E. saligna* Smith tiveram sua atividade repelente comprovada para *S. zeamais* (Mossi *et al.* 2010). Da mesma forma o extrato hexânico dos óleos de *E. camaldulensis* Schlecht e *E. citriodora* apresentaram percentuais de repelência de 74,35 e 69,15, respectivamente, quando utilizados na a concentração de 2  $\mu\text{L } \mu\text{L}^{-1}$  (Karemu *et al.* 2013).

Outros óleos essenciais, também, têm demonstrado resultados promissores como repelentes à *S. zeamais*, tais como: *Lippia origanoides* Kunth, *E. citriodora*, *T. lucida*, coletadas na Colômbia, com percentuais de repelência de até 92, 91 e 79%, respectivamente, em concentrações entre 0,063 e 0,503  $\mu\text{L cm}^{-2}$  (Nerio *et al.* 2009). Os óleos de *C. bergamia* e *L. hybrida* também foram eficientes para *S. zeamais* com médias de repelência de 56,3 e 50%, respectivamente, na proporção de 0,1% da diluição do óleo em éter (Cosimi *et al.* 2009).

**Efeito Sinérgico de Óleos Essenciais sobre Adultos de *S. zeamais*.** As misturas binárias dos óleos aumentou a toxicidade dos mesmos. A mistura do óleo de *F. vulgare* e *O. basilicum* apresentou um fator de co-toxicidade de 30,5, *F. vulgare* e *P. hispidinervum* de 62,4 e *O. basilicum* e *P. hispidinervum* de 81,2. Como os valores do fator de co-toxicidade excederam 20, significa que a mistura dos óleos causou uma potencialização da toxicidade (Tabela 4).

Alguns óleos essenciais podem agir como sinergistas, atuando nos processos de detoxificação dos insetos. Já é fato conhecido que o óleo essencial de *P. aduncum* provoca

inibição da enzima detoxificante monooxigenase, interferindo nas funções do citocromo P450 (Mukerjee *et al.* 1979, Bernard *et al.* 1990).

O efeito sinérgico pode proporcionar redução da quantidade de óleo a ser aplicada para o controle de determinada praga, o que diminuiria os custos com o manejo e os riscos ao meio ambiente. Embora os efeitos tóxicos combinados de misturas inseticida e sinergistas sintéticos (Ribeiro *et al.* 2003; Beckel *et al.* 2006), bem como misturas entre inseticidas (Corrêa *et al.* 2011), inseticidas e óleos vegetais (Obeng-Ofori & Amiteye 2005; Yuya *et al.* 2009) e até mesmo inseticidas e constituintes de óleos essenciais (Abbassy *et al.* 2009) já venham sendo estudados, não há estudos anteriores sobre a ação combinada de misturas entre óleos essenciais contra *S. zeamais*.

Os resultados encontrados indicam que a mistura entre óleos essenciais devem ser exploradas como potenciais inseticidas naturais contra *S. zeamais*. O efeito sinérgico dessas misturas pode ajudar a diminuir os custos no controle dos insetos, os efeitos negativos de produtos químicos sintéticos, tais como os resíduos em alimentos, a seleção de populações de insetos resistentes e poluição ambiental.

**Efeito Fumigante do Óleo Essencial de *Piper hispidinervum* em Imaturos de *S. zeamais*.** O número de insetos adultos emergidos dos grãos de milho infestados com ovos, expostos ao óleo de *P. hispidinervum* foi reduzido em todos os intervalos de tempo, diferindo da testemunha. O modelo de regressão quadrática foi o que melhor se adequou aos dados do número de insetos emergidos. Por meio da equação de regressão estimou-se o ponto de mínima emergência de insetos, o qual foi de 41,31 h de exposição ao óleo essencial (Fig. 2). Já os dados obtidos para os estágios de desenvolvimento de larvas ( $F=0,12$ ;  $P=0,7317$ ) e pupas ( $F=0,41$ ;  $P=0,5268$ ) não se adequaram a nenhum modelo de regressão testado e suas médias não diferiram estatisticamente.

Paes *et al.* (2012), ao testarem duas concentrações do óleo essencial de mostarda sobre imaturos de *S. zeamais* em diferentes estágios de desenvolvimento observaram que os ovos foram mais tolerantes ao óleo, com média de tempos letais 50% (TL<sub>50</sub>) e 95% (LT<sub>95</sub>), respectivamente, de 16,72 e 77,77 h na concentração 1,25 µL L<sup>-1</sup> e 16,52 e 60,86 h na concentração de 1,87 µL L<sup>-1</sup>; seguidos por pupas e por fim, larvas. No presente trabalho observou-se redução significativa na emergência de adultos quando os ovos foram expostos aos tratamentos, demonstrado que esse estágio foi o mais suscetível, diferente do que ocorreu no trabalho citado anteriormente. Santos *et al.* (2011) ao testarem o isotiocianato de alilo, principal constituinte do óleo essencial de mostarda como fumigante, sobre imaturos de duas populações de *T. castaneum* encontraram menor CL<sub>50</sub> para o estágio de ovos nas duas populações testadas. A susceptibilidade de ovos de insetos de produtos armazenados pode variar, dependendo da espécie de inseto e do óleo essencial testado (Rajendran & Sriranjini 2008).

Extratos de folhas de *Nicotiana tabacum* L. e *C. citratus* apresentaram efeitos fumigantes em fases imaturas de *S. zeamais*, reduzindo em 96,55 e 95,07%, respectivamente a emergência de adultos (Almeida *et al.* 2005). Extrato etanólico de *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden também foi eficaz na redução da emergência de *S. zeamais* (Akob *et al.* 2007). Nukenine *et al.* (2010), trabalhando com duas populações de *S. zeamais*, observaram que ambas tiveram redução de 100% na emergência de insetos, na concentração de 20 µL 40 g<sup>-1</sup> de milho do óleo essencial de *Plectranthus glandulosus* Hook f.

Os efeitos de contato, ingestão e fumigante aliado à rápida degradação no ambiente, segurança para os aplicadores e eficácia, credita os óleos essenciais como uma alternativa eficaz no manejo de adultos, bem como das formas imaturas de *S. zeamais*, principalmente do óleo essencial de *P. hispidinervum*. Ao que tudo indica, esse é o primeiro trabalho envolvendo a



mistura de óleos essenciais, que pode ser potencializada, viabilizando ainda mais o uso dos mesmos no controle de *S. zeamais*.

### Agradecimentos

Ao CNPq pela bolsa de estudos concedida ao primeiro autor deste trabalho. Aos colegas do Laboratório de Entomologia Agrícola da UFRPE pela amizade e solidariedade.

### Literatura Citada

- Abbassy, M.A., S.A.M. Abdelgaleil & R.Y.A. Rabie. 2009.** Insecticidal and synergistic effects of *Majorana hortensis* essential oil and some of its major constituents. Entomol. Exp. Appl. 131: 225-232.
- Adams, R.P. 2009.** Identification of essential oil component by chromatography/mass spectroscopy. Allured Publishing Corporation. Carol Stream, Illinois, 804p.
- Akob, C.A. & F.K. Ewete. 2007.** The efficacy of ashes of four locally used plant materials against *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) in Cameroon. Int. J. Trop. Insect Sci. 27: 21-26.
- Almeida, F.A.C., E.B. Pessoa, J.P. Gomes & A.S. Silva. 2005.** Emprego de extratos vegetais no controle das fases imatura e adulta do *Sitophilus zeamais*. Agropecu. Téc. 26: 46-53.
- Asawalam, E.F., S.O. Emosairue & A. Hassanali. 2008.** Essential oil of *Ocimum gratissimum* (Labiatae) as *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) protectant. Afr. J. Biotechnol. 7: 3771-3776.
- Aslan, İ., H. Özbek, Çalmasur, Ö. & F. Şahin. 2004.** Toxicity of essential oil vapours to two greenhouse pests, *Tetranychus urticae* Koch and *Bemisia tabaci* Genn. Ind. Crop. Prod. 19: 167-173.
- Beckel, H.S., I. Lorini & S.M.N. Lazzari. 2006.** Efeito do sinergista butóxido de piperonila na resistência de *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera, Silvanidae) a deltametrina e fenitrotiom. Rev. Bras. Entomol. 50: 110-114.
- Bernard, C.B., J.T. Arnason, B.J.R. Philogene, J. Lam & T. Waddel. 1990.** In-vivo effect of mixtures of allelochemicals on the life cycle of the european corn borer, *Ostrinia nubilalis*. Entomol. Exp. Appl. 57: 17-22.

- Chu, S.S., J.F. Hu & Z.L. Liu. 2011.** Composition of essential oil of Chinese *Chenopodium ambrosioides* and insecticidal activity against maize weevil, *Sitophilus zeamais*. Pest. Manag. Sci. 67: 714-718.
- Coitinho, R.L.B.C., J.V. Oliveira, M.G.C.J. Gondim & C.A.G. Câmara. 2011.** Toxicidade por fumigação, contato e ingestão de óleos essenciais para *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1885 (Coleoptera: Curculionidae). Cienc. Agrotec. 35: 172-178.
- CONAB. 2013.** (Companhia Nacional de Abastecimento). Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos 2013/14 – segundo levantamento – novembro/2013. Brasília, CONAB, 71p.
- Corrêa, A.S., E.J.G. Pereira, E.M.G. Cordeiro, L.S. Braga & R.N.C. Guedes. 2011.** Insecticide resistance, mixture potentiation and fitness in populations of the maize weevil (*Sitophilus zeamais*). Crop Prot. 30: 1655-1666.
- Estrela, J.L.V., M. Fazolin, V. Catani & M.R. Alécio. 2006.** Toxicidade de óleos essenciais de *Piper aduncum* e *Piper hispidinervum* em *Sitophilus zeamais*. Pesq. Agropec. Bras. 41: 217-222.
- Fazolin, M., J.L.V. Estrela, V. Catani, M.R. Alécio & M.S. Lima. 2007a.** Propriedade inseticida dos óleos essenciais de *Piper hispidinervum* C.DC.; *Piper aduncum* L. e *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. & K. Schum sobre *Tenebrio molitor* L., 1758. Ciênc. Agrotec. 31: 113-120.
- Fazolin, M., J.L.V. Estrela, V. Catani, M.R. Alécio & M.S. Lima. 2007b.** Atividade inseticida do óleo essencial de *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. & K. Shum (Bignoneaceae) sobre *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera; Curculionidae). Acta Amazonica. 37: 599-604.
- Finney, D.J. 1971.** Probit analysis. 3ed. London, Cambridge Press, 338 p.
- Gallo, D., O. Nakano, S. Silveira Neto, R.P.L. Carvalho, G.C. Baptista, E. Berti Filho, J.R.P. Parra, R.A. Zucchi, S.B. Alves, J.D. Vendramin, L.C. Marchini, J.R.S. Lopes & C. Omoto. 2002.** Entomologia Agrícola. FEALQ. 920p.
- Gusmão, N.M.S., J.V. Oliveira, D.M.A.F. Navarro, K.A. Dutra, W.A. Silva & M.J.A. Wanderley. 2013.** Contact and fumigant toxicity and repellency of *Eucalyptus citriodora* Hook., *Eucalyptus staigeriana* F., *Cymbopogon winterianus* Jowitt and *Foeniculum vulgare* Mill. essential oils in the management of *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) (Coleoptera: Chrysomelidae, Bruchinae). J. Stored Prod. Res. 54: 41-47.
- Kouninki, H.; T. Hance; F.A. Noudjou; G. Lognay; F. Malaisse; M.B. Ngassoum; P.M. Mapongmetsem; L.S.T. Ngamo & E. Haubruge. 2007.** Toxicity of some terpenoids of essential oils of *Xylopiya aethiopica* from Cameroon against *Sitophilus zeamais* Motschulsky. J. Appl. Entomol. 131: 269-274.
- Lee, S., C.J. Peterson & J.R. Coats. 2003.** Fumigation toxicity of monoterpenoids to several stored product insects. J. Stored Prod. Res. 39:77-85.

- López, M.D., M.J. Jórdan & M.J. Pascual-Villalobos. 2008.** Toxic compounds in essential oils of coriander, caraway and basil active against stored rice pests. *J. Stored Prod. Res.* 44: 273-278.
- Lorini, I. 2002.** Descrição, biologia e danos das principais pragas de grãos armazenados. p. 381-397. In: Lorini, I.; L.H. Miike & V.M. Scussel, *Armazenagem de grãos*. 1000p.
- Mossi, A.J., V. Astolfi, G. Kubiak, L. Lerin, C. Zanella, G. Toniazzo, D. Oliveira, H. Treichel, I.A. Devilla, R. Cansian & R. Restello. 2010.** Insecticidal and repellency activity of essential oil of *Eucalyptus* sp. Against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera, Curculionidae). *J. Sci. Food Agric.* 91: 273-277
- Mukerjee, S.K., V.S. Saxena & S.S. Tomar. 1979.** New methylenedioxyphenyl synergists for pyrethrins. *J. Sci. Food Agric.* 27: 1209-1211.
- Nerio, L.S., J. Oliveiro-Verbel & E.E. Stashenko. 2010.** Repellent activity of essential oils: A review. *Biores. Technol.* 101: 372-378.
- Nguemtchouin, M.G.M., M.B. Ngassoum, P. Chalier, R. Kamga, L.S.T. Ngamo & M. Cretin. 2013.** *Ocimum gratissimum* essential oil and modified montmorillonite clay, a means of controlling insect pests in stored products. *J. Stored Prod. Res.* 52: 57-62.
- Nukenine, E.N., C. Adler & Ch. Reichmuth. 2010.** Bioactivity of fenchone and *Plectranthus glandulosus* oil against *Prostephanus truncates* and two strains of *Sitophilus zeamais*. *J. Appl. Entomol.* 134: 132-141.
- Obeng-Ofori, D. & S. Amiteye. 2005.** Efficacy of mixing vegetable oils with pirimiphos-methyl against the maize weevil, *Sitophilus zeamais* Motschulsky in stored maize. *J. Stored Prod. Res.* 41: 57-66.
- Ogendo, J.O., M. Kostyukovsky, U. Ravid, J.C. Matasyoh, A.L. Deng, E.O. Omolo, S.T. Kariuki & E. Shaaya. 2008.** Bioactivity of *Ocimum gratissimum* L. oil and two of its constituents against five insect pests attacking stored food products. *J. Stored Prod. Res.* 44: 328-334.
- Paes, J.L., L.R.D'A. Faroni, O.D. Dhingra, P.R. Cecon & T.A. Silva. 2012.** Insecticidal fumigant action of mustard essential oil against *Sitophilus zeamais* in maize grains. *Crop Prot.* 34: 56-58.
- Pereira, A.C.R.L., J.V. Oliveira, M.G.C. Gondim Jr. & C.A.G. Câmara. 2008.** Atividade inseticida de óleos essenciais e fixos sobre *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) (Coleoptera: Bruchidae) em grãos de caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]. *Ciênc. Agrotec.* 32: 717-724.

- Procópio, S.O., J.D. Vendramim, J.I. Ribeiro Júnior & J.B. Santos. 2003.** Bioatividade de diversos pós de origem vegetal em relação a *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). Ciênc. Agroec. 27: 1231-1236.
- Rajendran, S. & V. Sriranjini. 2008.** Plants products as fumigants for stored-products insect control. J. Stored Prod. Res. 44: 126-135.
- Restello, R.M., C. Menegatt & A.J. Mossi. 2009.** Efeito do óleo essencial de *Tagetes patula* L. (Asteraceae) sobre *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). Rev. Bras. Entomol. 53: 304-307.
- Ribeiro, B.M., R.N.C. Guedes, E.E. Oliveira & J.P. Santos. 2003.** Insecticide resistance and synergism in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). J. Stored Prod. Res. 39: 21-31.
- Santos, J.C., L.R.A. Faroni, A.H. Sousa & R.N.C. Guedes. 2011.** Fumigant toxicity of allyl isothiocyanate to populations of the red flour beetle *Tribolium castaneum*. J. Stored Prod. Res. 47: 238-243.
- SAS Institute. 2002.** User's guide, version 8.02, TS level 2MO. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Shasany, A.K., R.K. Lal, N.K. Patra, M.P. Darokar, A. Garg, S. Kumar & S.P.S. Khanuja. 2000.** Phenotypic and RAPD diversity among *Cymbopogon winterianus* Jowitt accessions in relation to *Cymbopogon nardus* Rendle. Genet. Resour. Crop Evol. 47: 553-559.
- Silva, P.H., P.C.O. Trivelin, N. Guirado, E.J. Ambrosano, P.C.D. Mendes, F. Rossi & R.A. Arévalo. 2007.** Controle alternativo de *Sitophilus zeamais* MOTS., 1855 (Col.: Curculionidae) em grãos de milho. Rev. Bras. Agroec. 2: 902-905.
- Stamopoulos, D.C., P. Damos & G. Karagianidou. 2007.** Bioactivity of five monoterpenoid vapours to *Tribolium confusum* (du Val) (Coleoptera: Tenebrionidae). J. Stored Prod. Res. 43:571-577.
- Tripathi, A. K., V. Prajapati, K.K Aggarwal & S. Kumar. 2001.** Toxicity, feeding deterrence, and effect of activity of 1,8-Cineole from *Artemisia annua* on progeny production of *Tribolium castanaeum* (Coleoptera: Tenebrionidae). J. Econ. Entomol. 94: 979-983.
- Ukeh, D.A., M.A. Birkett, J.A. Pickett, A.S. Bowman & A.J. M. Luntz. 2009.** Repellent activity of alligator pepper, *Afromomum melegueta*, and ginger, *Zingiber officinale*, against the maize weevil, *Sitophilus zeamais*. Phytochemistry. 70: 751-758.
- Ukeh, D.A., M.A. Birkett, T.J.A. Bruce, E.J. Allan, J.A. Pickett & A.J.M. Luntz. 2010.** Behavioural responses of the maize weevil, *Sitophilus zeamais*, to host (stored-grain) and non-host plant volatiles. Pest Manag. Sci. 66: 44-50.

**Van Den Doll, H. & P.D.J.A. Kratz. 1963.** Generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. J. Chromatogr. 11: 463-471.

**Yuya, A.I., A. Tadesse, F. Azerefegne & T. Tefera. 2009.** Efficacy of combining Niger seed oil with malathion 5% dust formulation on maize against the maize weevil, *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). J.Stored Prod. Res. 45: 67-70.

Tabela 1. Composição química dos óleos essenciais analisados com as porcentagens relativas

Composto	IRL	C.w.		E.g.		E.s.		F.v.		O.b.		O.g.		P.h.	
		IRC	%	IRC	%	IRC	%	IRC	%	IRC	%	IRC	%	IRC	%
$\alpha$ -Thujene	924	-	-	-	-	925	0,36	926	0,07	-	-	926	0,47	-	-
$\alpha$ -Pinene	932	932	0,01	930	0,93	931	3,50	932	11,13	931	0,23	932	3,47	931	0,43
Camphene	946	-	-	-	-	-	-	946	0,13	945	0,04	946	0,09	946	0,06
Sabinene	969	-	-	-	-	971	0,09	-	-	971	0,06	972	0,21	-	-
$\beta$ -Pinene	974	-	-	972	0,95	973	2,52	974	1,08	973	0,18	974	0,63	-	-
Hepten-2-one<6-methyl-5>	981	989	0,06	-	-	987	0,22	-	-	-	-	-	-	-	-
Myrcene	988	991	0,07	990	2,28	990	0,62	991	1,51	991	0,06	991	0,89	991	0,18
$\alpha$ -Phellandrene	1002	1003	0,02	1002	3,11	1002	2,00	1003	9,54	-	-	1003	3,41	1003	0,11
Linalool oxide <dehydroxy-Z>	1006	-	-	1005	0,12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\delta$ -3-Carene	1008	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1009	0,04	1008	0,67
$\alpha$ -Terpinene	1014	-	-	1015	1,07	1014	0,14	-	-	-	-	1016	0,39	1015	0,14
o-Cymene	1022	1024	0,02	1026	1,39	1023	1,38	1024	1,09	1023	0,08	1024	2,24	1023	0,19
Limonene	1024	1028	3,90	-	-	1029	28,73	1029	41,82	-	-	1028	15,63	1027	0,27
1,8-Cineole	1026	-	-	1032	89,97	-	-	-	-	1028	3,74	1030	3,36	-	-
$\beta$ -(Z)-Ocimene	1032	1039	0,01	-	-	1037	0,16	-	-	-	-	1038	2,62	1038	0,60
$\beta$ -(E)-Ocimene	1044	-	-	-	-	1047	0,30	1039	3,84	1049	0,12	1049	0,15	1048	1,78
Bergamal	1051	1054	0,05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\gamma$ -Terpinene	1054	1058	0,02	1057	0,17	1057	1,81	1059	1,65	-	-	1058	2,68	1058	0,18
(Z)-Linalool oxide	1067	-	-	-	-	1071	0,04	-	-	1073	0,23	-	-	-	-
Fenchone	1083	-	-	-	-	-	-	1086	1,16	1087	0,04	1088	0,86	-	-
(E)-Linalol oxide	1084	-	-	-	-	-	-	-	-	1089	0,16	-	-	-	-
Terpinolene	1086	1088	0,07	-	-	1087	8,45	-	-	-	-	-	-	1087	5,71
Linalool	1095	1100	1,15	-	-	1099	1,35	-	-	1107	62,47	1099	0,12	-	-
(Z)-Rose oxide	1106	1111	0,03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
(E)-Thujone	1112	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1117	0,03	-	-
(E)- Rose oxide	1122	1128	0,01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<allo> Ocimene	1128	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1129	0,03	1129	0,05
(E)-Myroxide	1140	-	-	-	-	1144	0,15	-	-	-	-	-	-	-	-
Camphor	1141	-	-	-	-	-	-	-	-	1145	0,21	-	-	-	-
<neo> Isopulegol	1144	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1145	0,04	-	-
Isopulegol	1145	1145	1,22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
p- Menth-3-en-8-ol	1145	1148	0,06	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Citronellal	1148	1154	35,47	-	-	1152	0,36	1159	0,36	-	-	1154	0,09	-	-
<iso>Menthone	1158	1165	0,03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
(Z)-Isocitral	1160	-	-	-	-	1164	0,03	-	-	-	-	-	-	-	-
$\delta$ -Terpineol	1162	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1167	0,06	-	-
p-Mentha-1,5-dien-8-ol	1166	-	-	-	-	1169	0,14	-	-	-	-	-	-	-	-
<neoiso>Isopelugol	1167	1168	0,08	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Terpinen-4-ol	1174	1177	0,06	-	-	1177	1,13	-	-	-	-	1177	0,16	-	-
(E)-Isocitral	1177	-	-	-	-	1182	0,08	-	-	-	-	-	-	-	-
p-Cymen-8-ol	1179	-	-	-	-	1188	0,23	-	-	-	-	-	-	1184	0,34
$\alpha$ -Terpineol	1186	1190	0,06	-	-	1192	0,55	-	-	1198	0,06	1190	0,11	-	-
Methyl chavicol	1195	1198	0,04	-	-	-	-	1201	6,84	1204	30,94	1198	7,78	-	-

Continuação da Tabela 1.

n-Decanal	1201	1206	0,08	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<endo>Fencol acetate	1218	-	-	-	-	-	-	1220	0,42	1222	0,11	1221	0,10	-	-
Citronellol	1223	1229	10,94	-	-	-	-	-	-	-	-	1229	0,17	-	-
<exo>Fencol acetate	1229	-	-	-	-	-	-	1234	1,17	-	-	1234	0,17	-	-
Neral	1235	1242	0,33	-	-	1242	12,16	-	-	-	-	-	-	-	-
(Z)- Anethole	1249	-	-	-	-	-	-	1262	0,07	-	-	1253	0,17	-	-
Piperitone	1249	-	-	-	-	1253	0,07	-	-	-	-	-	-	-	-
Geraniol	1249	1256	21,83	-	-	-	-	-	-	-	-	1255	0,27	-	-
Methyl citronellate	1257	-	-	-	-	1260	0,11	-	-	-	-	-	-	-	-
Geranial	1264	1271	0,50	-	-	1272	15,20	-	-	-	-	-	-	-	-
Neryl formate	1280	-	-	-	-	1280	0,10	-	-	-	-	-	-	-	-
(E)-Anethole	1282	1286	0,72	-	-	-	-	1290	17,91	-	-	1286	34,95	-	-
Isobornyl acetate	1283	-	-	-	-	-	-	1286	0,07	-	-	-	-	-	-
Safrole	1285	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1289	82,07
(E)-Linalool oxide acetate	1287	-	-	-	-	1286	0,17	-	-	-	-	-	-	-	-
Thymol	1289	1292	0,03	-	-	-	-	-	-	-	-	1292	4,47	-	-
Carvacrol	1298	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1301	0,04	-	-
Geranyl formate	1298	-	-	-	-	1301	0,39	-	-	-	-	-	-	-	-
Methyl geranate	1322	-	-	-	-	1324	5,93	-	-	-	-	-	-	-	-
Menthol <8-hydroxy-neo>	1328	1333	0,21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
δ-Elemene	1335	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1338	0,05
Citronellyl acetate	1350	1354	2,51	-	-	1353	0,53	-	-	-	-	1354	0,03	-	-
Eugenol	1356	1358	0,82	-	-	-	-	-	-	-	-	1358	9,07	-	-
Neryl acetate	1359	1365	0,03	-	-	1364	2,43	-	-	-	-	-	-	-	-
α-Copaene	1374	1378	0,02	-	-	-	-	-	-	-	-	1377	0,10	1377	0,09
Geranyl acetate	1379	1384	3,15	-	-	1353	7,92	-	-	-	-	-	-	-	-
β- Bourbonene	1387	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1387	0,05	-	-
β- Elemene	1389	1393	1,67	-	-	-	-	-	-	-	-	1393	0,12	1393	0,06
Methyl eugenol	1403	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1405	0,06
(Z)- Caryophyllene	1408	-	-	-	-	-	-	1421	0,08	-	-	-	-	-	-
α-Gurjunene	1409	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1411	0,03
α-Cedrene	1410	-	-	-	-	-	-	-	-	1414	0,08	-	-	-	-
(E)- Caryophyllene	1417	1422	0,11	-	-	1420	0,22	-	-	-	-	1422	0,65	1422	0,59
(Z)-Thujopsene	1429	-	-	-	-	-	-	-	-	1438	0,10	-	-	-	-
β-Copaene	1430	1433	0,03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
(E)-α-Bergamotene	1432	-	-	-	-	-	-	-	-	1438	0,70	-	-	-	-
Aromadendrene	1439	-	-	-	-	1440	0,02	-	-	-	-	1442	0,02	1442	0,03
(E)-Muurolo-3,5-diene	1451	1454	0,03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
α-Humulene	1452	1457	0,11	-	-	1453	0,03	-	-	-	-	1457	0,09	1457	0,08
(E)-β-Farnesene	1454	-	-	-	-	1461	0,03	-	-	-	-	-	-	-	-
(E)-<9-epi>Caryophyllene	1464	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1465	0,05	1464	0,14
Dauca-5,8-diene	1471	1467	0,03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
(E)-Cadina-1(6),4-diene	1475	1478	0,05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
γ-Muurolene	1478	1481	0,14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D- Germacrene	1484	1486	1,93	-	-	-	-	1485	0,01	-	-	1486	0,29	1485	0,19

Continuação da Tabela 1.

β-Selinene	1489	1491	0,06	-	-	-	-	-	-	-	-	1491	0,02	-	-
(E)-Muurolo-4(14),5-diene	1493	1497	0,05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cubebol <epi>	1493	1499	0,13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
α-Selinene	1498	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1500	0,38	-	-
α-Muuronele	1500	1505	0,45	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bicyclogermacrene	1500	-	-	-	-	1495	0,28	-	-	-	-	-	-	1501	3,16
(E,E)- α Farnesene	1505	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1512	1,16	-	-
A-Germacrene	1508	1510	0,38	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
γ-Cadinene	1513	1519	0,36	-	-	-	-	-	-	1519	0,11	-	-	1518	0,06
Selinene <7-epi- α>	1520	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1522	0,06	-	-
δ-Cadinene	1522	1528	2,02	-	-	-	-	-	-	-	-	1528	0,12	1527	0,16
(E)-Cadina-1,4-diene	1533	1536	0,05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
α-Cadinene	1537	1541	0,08	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Elemol	1548	1553	3,73	-	-	-	-	-	-	-	-	1553	0,11	-	-
D-Germacrene-4-ol	1574	1579	0,45	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Spathulenol	1577	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1580	0,10	1580	0,66
Caryophyllene oxide	1582	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1586	0,11	-	-
Guaiol	1600	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1599	0,04
Eudesmol <5-epi-7-epi- α>	1607	1607	0,33	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dill apiole	1620	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1626	0,15
Cubenol <1-epi>	1627	1631	0,05	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
γ-Eudesmol	1630	1634	0,58	-	-	-	-	-	-	-	-	1634	0,03	-	-
Muurolol <epi- α>	1640	1644	0,86	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
α-Muurulol	1644	1649	0,15	-	-	-	-	-	-	-	-	1644	0,04	-	-
β-Eudesmol	1649	1653	0,33	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
α-Cadinol	1652	1657	1,61	-	-	-	-	-	-	-	-	1657	0,07	-	-
Bulnesol	1670	1671	0,16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>TOTAL</b>		<b>99,24</b>		<b>99,99</b>		<b>99,93</b>		<b>99,95</b>		<b>99,72</b>		<b>98,57</b>		<b>98,33</b>	

I.R.<sup>a</sup> = índice de retenção de Kratz calculado; I.R.<sup>b</sup> = índice de retenção de Kratz da literatura (Adams, 2009).

*Cymbopogon winterianus* (C.w.); *Eucalyptus globulus* (E.g.); *Eucalyptus staigeriana* (E.s.); *Foeniculum vulgare* (F.v.); *Ocimum basilicum* (O.b.); *Ocimum gratissimum* (O.g.) e *Piper hispidinervum* (P.h.).



Tabela 2. Toxicidade por contato e ingestão de óleos essenciais em adultos de *Sitophilus zeamais* em sementes de milho, cultivar Caatingueiro.

Tratamento	N	Inclinação± EP	CL <sub>50</sub> (IC 95%) µL 40g <sup>-1</sup>	RT <sub>50</sub>	χ <sup>2</sup>
<i>Piper hispidinervum</i> *	448	8,03±0,65	5,12 (4,88 - 5,36)	15,40	2,27
<i>Foeniculum vulgare</i>	384	8,43±0,87	26,78 (24,63 – 29,04)	2,94	3,56
<i>Ocimum basilicum</i>	448	9,97±0,83	26,90 (25,47 – 28,43)	2,93	4,37
<i>Eucalyptus globulus</i>	448	20,13±1,69	37,88 (36,68 – 39,21)	2,08	6,13
<i>Ocimum gratissimum</i>	384	9,43±0,87	47,47 (45,48 – 49,42)	1,66	2,70
<i>Eucalyptus staigeriana</i>	384	9,78±0,83	61,73 (57,22 – 66,70)	1,27	3,44
<i>Cymbopogon winterianus</i>	448	7,43±0,67	78,89 (73,25 – 84,86)	-	4,43

N = Número de insetos, EP = erro padrão da média, IC = intervalo de confiança, RT = razão de toxicidade, χ<sup>2</sup> = Qui-quadrado (significativo ao nível de 5% de probabilidade). \*Controle positivo.

Tabela 3. Toxicidade de óleos essenciais como fumigantes em adultos de *Sitophilus zeamais* em sementes de milho, cultivar Caatingueiro.

Tratamento	N	Inclinação± EP	CL <sub>50</sub> (IC 95%) $\mu\text{L L}^{-1}$ de ar	RT <sub>50</sub>	$\chi^2$
<i>Piper hispidinervum</i> *	560	6,44±0,53	2,1 (1,94 – 2,26)	9,23	4,8
<i>Ocimum basilicum</i>	560	5,78±0,46	13,9 (13,2 – 14,6)	1,39	3,0
<i>Foeniculum vulgare</i>	480	3,08±0,23	15,8 (12,2 – 19,9)	1,22	4,0
<i>Eucalyptus globulus</i>	560	10,8±0,82	19,4 (18,3 – 20,2)	-	7,5

N = Número de insetos, EP = erro padrão da média, IC = intervalo de confiança, RT = razão de toxicidade,  $\chi^2$  = Qui-quadrado (significativo ao nível de 5% de probabilidade). \*Controle positivo.

Tabela 4. Efeito da mistura de óleos essenciais sobre adultos de *Sitophilus zeamais*.

Inseto	Mistura binária	Mortalidade calculada		Mort. esperada	Mort. observada	Fator de
		(% CL <sub>25</sub> (µL L <sup>-1</sup> de ar)				
		(1)	(2)			
	(1)+(2)		(%) (1)+(2)	(%)	co-toxicidade	
<i>S. zeamais</i>	<i>F. v.</i> + <i>O. b.</i>	32,5	26,9	59,4	77,5	+30,5
	<i>F. v.</i> + <i>P. h.</i>	32,5	28,3	60,8	98,75	+62,4
	<i>O. b.</i> + <i>P. h.</i>	26,9	28,3	55,2	100	+81,2

Mort. – Mortalidade; *F. v.* – *Foeniculum vulgare*; *O. b.* – *Ocimum basilicum* e *P. h.* – *Piper hispidinervum*.

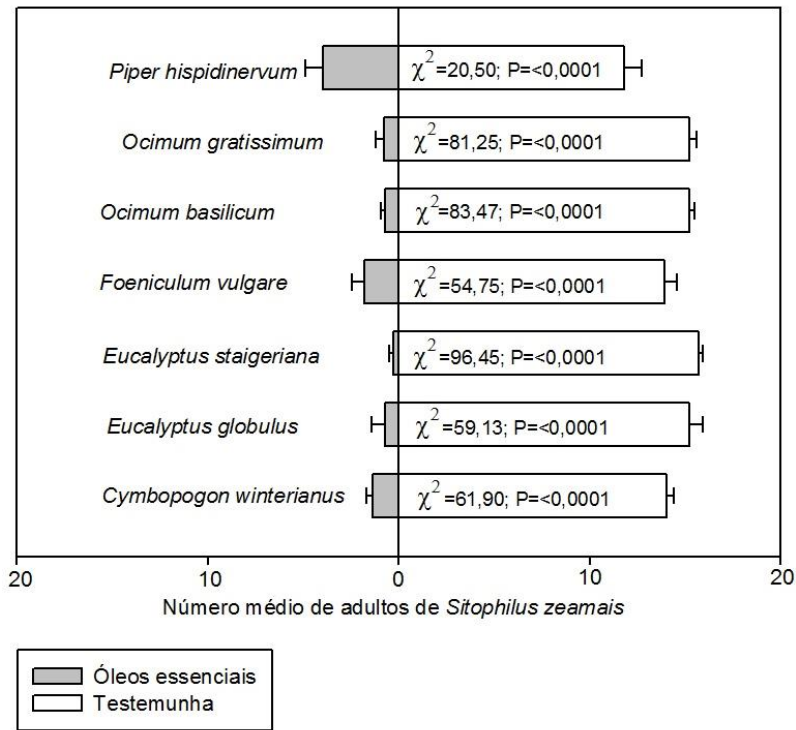


Figura 1. Médias (+EP) do número de adultos de *Sitophilus zeamais* nos tratamentos e suas respectivas testemunhas em teste de repelência.

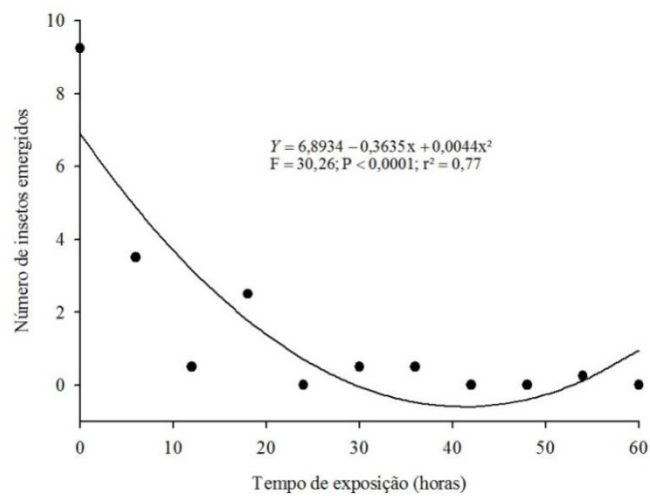


Figura 2. Número de adultos emergidos de *S. zeamais* em sementes de milho, cultivar Caatingueiro tratadas com o óleo essencial de *P. hispidinervum* na fase de ovo.

### CAPÍTULO 3

TOXICIDADE DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Ocimum basilicum* L. e *Piper hispidinervum* C. DC. A DIFERENTES POPULAÇÕES DE *Sitophilus zeamais* MOTS. 1885 (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE)

ALICE M<sup>a</sup> N. ARAÚJO<sup>1</sup>, LÊDA R. D'A. FARONI<sup>2</sup>, JOSÉ V. OLIVEIRA<sup>1</sup>, DANIELA M<sup>a</sup> A.F. NAVARRO<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Agronomia – Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos 52171-900, Recife, PE, Brasil.

<sup>2</sup>Departamento de Engenharia Agrícola – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Viçosa, Av. P. H. Rolfs, s/n, Campus Universitário 36570-900, Viçosa, MG, Brasil.

<sup>3</sup>Centro de Ciências Exatas e da Natureza - Departamento de Química, Universidade Federal de Pernambuco, Av. Professor Moraes Rego, 1235 – Cidade Universitária, 50670-901, Recife, PE, Brasil.

<sup>1</sup>Araújo, A.M.N. ; L.R.D.A. Faroni; J.V. Oliveira & D.M.A.F. Navarro. Toxicidade dos óleos essenciais de *Ocimum basilicum* L. e *Piper hispidinervum* C. DC. a diferentes populações de *Sitophilus zeamais* Mots., 1885 (Coleoptera: Curculionidae). A ser submetido.

RESUMO – O objetivo deste trabalho foi avaliar a toxicidade dos óleos essenciais de *Ocimum basilicum* e *Piper hispidinervum* sobre adultos de cinco populações de *Sitophilus zeamais* e verificar a sua influência sobre o comportamento locomotor dos insetos. As populações de *S. zeamais* utilizadas foram provenientes de Machado-MG, Paracatu-MG, Piracicaba-SP, Recife-PE e Tunápolis-SC. Para estimar as CL<sub>50</sub> de cada população para cada óleo foram feitos teste de fumigação. Efetuaram-se ensaios para avaliar o efeito dos óleos sobre as características do comportamento de caminhamento dos insetos. Além disso, foram avaliadas as taxas instantâneas de crescimento populacional (ri), taxas respiratórias e massa corpórea. A população padrão de susceptibilidade foi a de Piracicaba, para ambos os óleos, pois apresentou as menores CL<sub>50</sub>. No ensaio de voo não houve diferença entre os tratamentos e a testemunha. O efeito sobre as características comportamentais de caminhamento foi variável entre as populações e os óleos em teste. A toxicidade dos óleos não afetou a taxa respiratória dos insetos, porém a população de Recife diferiu das demais populações. A população de Recife foi a que apresentou a menor taxa; além disso, foi a que menos consumiu a massa de grãos e que apresentou menor massa corpórea. Assim, conclui-se que os óleos essenciais testados apresentaram efeito fumigante sobre as cinco populações e que promoveram alterações no comportamento de caminhamento dos insetos. Os óleos de *P. hispidinervum* e *O. basilicum* podem ser uma alternativa no manejo de *S. zeamais*.

PALAVRAS-CHAVE: gorgulho-do-milho; óleos essenciais; efeito comportamental.

TOXICITY OF ESSENTIAL OILS OF *Ocimum basilicum* L. and *Piper hispidinervum* C. DC.

TO DIFFERENT POPULATIONS OF *Sitophilus zeamais* MOTS. 1855 (COLEOPTERA:

CURCULIONIDAE)

ABSTRACT – The present study aimed to evaluate the essential oils toxicity of *Ocimum basilicum* and *Piper hispidinervum* upon adults of five different *Sitophilus zeamais* populations and to verify the influence of these essential oils on the locomotor behavior of the insect. The populations of *S. zeamais* were derived from Machado-MG, Paracatu-MG, Piracicaba-SP, Recife-PE and Tunápolis-SC. To estimate the LC<sub>50</sub> of each population for each oil, fumigation test were made. Bioassays were carried out to evaluate the oils effect on the locomotor behavior characteristics of the insects. In addition, the instantaneous rate of growth (ri), respiration rates and body mass were evaluated. Piracicaba was considered the susceptibility pattern for both of the oils, presenting the lowest LC<sub>50</sub> to the used oils. . In the flight test there was no statistical difference between treatments and control. The oils effect on the locomotor behavior characteristics was variable among populations and oils used. The oils toxicity did not affect the insect respiration rates, but Recife population differed from the others. Recife population presented the lowest instantaneous rate of growth, as well as the lowest consumption of grain and the smallest body mass. Thus, it is concluded that the essential oils used showed a fumigant effect upon the five populations and promoted changes on the locomotor behavior of insects. Therefore, *P. hispidinervum* and *O. basilicum* oils may be considered as an alternative in the management of *S. zeamais*.

Keywords: maize weevil, essential oils, behavioral effect.

## Introdução

*Sitophilus zeamais* Mots. é praga de importância primária por atacar grãos íntegros, sendo encontrado em todas as regiões temperadas e tropicais do mundo. É uma das principais pragas do milho armazenado devido ao elevado potencial biótico, capacidade de penetração na massa de grãos e infestação cruzada, ou seja, a infestação inicia-se no campo e continua nas unidades de armazenamento (Lorini 2002; 2003).

Seu controle é comumente realizado em larga escala com inseticidas sintéticos protetores. O uso destes pode alterar a locomoção dos insetos devido a sua capacidade em perceber a presença de substâncias químicas. A mudança de comportamento dos insetos pode diminuir a eficiência dos inseticidas, pelo fato de poderem alterar sua locomoção por caminhar ou voo (Guedes *et al.* 2008).

O uso de inseticidas botânicos é uma importante alternativa aos inseticidas sintéticos. Espécies de plantas de diferentes famílias com potencial fumigante têm sido testadas para o controle de pragas (Rajendran & Sriranjini 2008). As famílias Piperaceae e Lamiaceae têm sido estudadas para diversas finalidades. Trabalhos anteriores realizados com o óleo essencial de *Piper hispidinervum* C. DC. relataram sua atividade antifúngica (Zacaroni *et al.* 2009), amebicida (Sauter *et al.* 2012) e inseticida sobre *S. zeamais* (Cotinho *et al.* 2011), *Callosobruchus maculatus* (Fabricius) (Pereira *et al.* 2008), *Tenebrio molitor* (L.) (Fazolin *et al.* 2007) e *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lima *et al.* 2009). Da mesma forma para o óleo de *Ocimum basilicum* L., que já teve sua atividade antibacteriana, antioxidante e antifúngica comprovadas (Zhang *et al.* 2009, Kaurinovic *et al.* 2011, Patil *et al.* 2011), atividade acaricida (Santos *et al.* 2012) e inseticida sobre larvas de Culicídeos (Govindarajan *et al.* 2013), *Sitophilus oryzae* (Linné), *S. zeamais*, e *Tribolium castaneum* (H.) (Matta 2010, Mishra *et al.* 2012).



São escassas na literatura informações sobre as respostas comportamentais dos insetos aos óleos essenciais. Há estudos que mostram a influência do ozônio e dos inseticidas sintéticos sobre o comportamento locomotor dos insetos-praga (Watson & Barson 1996, Guedes *et al.* 2008, Pereira *et al.* 2009, Guedes *et al.* 2009, Sousa *et al.* 2012).

Estudos para diagnosticar a toxicidade e identificar alterações comportamentais dos insetos quando expostos aos inseticidas botânicos são essenciais para uma melhor elaboração das estratégias a serem usadas no manejo de pragas. Assim, o objetivo deste trabalho foi verificar a toxicidade e o efeito sobre o comportamento de adultos de *S. zeamais* de diferentes populações aos óleos essenciais de *P. hispidinervum* e *O. basilicum*.

### **Material e Métodos**

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Manejo Integrado de Pragas (MIP-Grãos) do Departamento de Engenharia Agrícola e no Laboratório de Ecotoxicologia do Departamento de Entomologia Agrícola, ambos da Universidade Federal de Viçosa (UFV).

**Criação de *Sitophilus zeamais*.** Os insetos foram obtidos de cinco populações, provenientes de cinco cidades, nos estados de Minas Gerais (MG), Pernambuco (PE), Santa Catarina (SC) e São Paulo (SP) (Tabela 1). Duas destas populações, Machado e Paracatu são resistentes á fosfina, com razão de toxicidade de 24,53 e 53,11 vezes, respectivamente (Pimentel *et al.* 2009).

A criação das populações foi iniciada com 50 adultos de *S. zeamais*, mantidos em frascos de vidro de 1,5 L, em sala climatizada, sob temperatura de  $27\pm 2$  °C,  $75\pm 5\%$  de UR e fotofase de 12 h, sendo utilizados grãos de milho, como substrato alimentar.

**Obtenção dos Óleos Essenciais.** Os óleos essenciais foram adquiridos em Laboratórios e empresas especializadas. O óleo de *P. hispidinervum* foi obtido na Embrapa – Acre e o óleo de *O. basilicum* na Empresa Quinarí Casa das Essências – Ponta Grossa/PR.

Tabela 1. Procedência das populações de *Sitophilus zeamais*.

Código	Cidade	Estado
1	Machado	Minas Gerais (MG)
2	Paracatu	Minas Gerais (MG)
3	Piracicaba	São Paulo (SP)
4	Recife	Pernambuco (PE)
5	Tunápolis	Santa Catarina (SC)

**Identificação por Cromatografia Gasosa e Espectrometria de Massas (CG/EM).** Os óleos essenciais foram analisados por cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas em um sistema quadrupolo Agilent 5975C Series GC/EM (Agilent Technologies, Palo Alto, EUA), equipado com uma coluna apolar DB-5 (Agilent J&W; 60 m x 0.25 mm d.i., 0,25 µm espessura da película). A solução de 1 µL de concentração conhecida, contendo o óleo essencial diluído em hexano foi injetada em split 1:20, assim como a solução da mistura de padrões de hidrocarbonetos: C9-C34, sendo esta solução hexânica composta por padrões comerciais da Sigma-Aldrich®. A temperatura do cromatógrafo gasoso (GC) foi ajustada em 60 °C por 3 min, sendo então aumentada em 2,5 °C min<sup>-1</sup> até alcançar 240 °C e mantida nesta temperatura por 10 min. O fluxo de hélio foi mantido em pressão constante de 100 kPa. A interface do espectrômetro de massas (EM) foi definida em 200 °C e os espectros de massa registrados em 70 eV (em modo EI) com uma velocidade de escaneamento de 0,5 scan<sup>-s</sup> de *m/z* 20-350.

**Identificação Química dos Óleos Essenciais.** A partir da obtenção dos tempos de retenção dos compostos na amostra do óleo essencial, nos padrões de hidrocarboneto e na combinação do óleo essencial com a mistura de padrões de hidrocarboneto foi calculado o índice de retenção para cada

componente do óleo, segundo a equação de Van den Dool e Kratz (1963). Os componentes dos óleos essenciais foram previamente identificados por similaridade dos valores dos índices de retenção e posteriormente confirmados por comparação dos respectivos espectros de massa com aqueles disponíveis na biblioteca do GC/EM: MassFinder 4, NIST08 e Wiley Registry™ 9th Edition e com os descritos por Adams (2009) e por fim, as áreas dos picos nos cromatogramas foram integradas para a obtenção do sinal iônico total e seus valores utilizados para determinar as proporções relativas respectivas a cada composto.

**Bioensaios de Toxicidade.** Inicialmente, foram realizados testes preliminares para estimar as concentrações que causam mortalidade de 5% e 95% dos insetos das diferentes populações. Com base nos dados obtidos, foi utilizada a fórmula de Finney (1971) para estabelecer para cada população, cinco ou seis intervalos de concentração para os bioensaios definitivos.

Os bioensaios definitivos foram realizados em frascos de vidro de 0,8 L de capacidade (8 cm de diâmetro x 15 cm de altura). As concentrações de *P. hispidinervum* variaram de 2,5 a 8,3  $\mu\text{L L}^{-1}$  de ar para a população de Piracicaba e de 3,8 a 12,5  $\mu\text{L L}^{-1}$  de ar para Machado, Paracatu, Recife e Tunápolis. Já as concentrações de *O. basilicum* variaram em  $\mu\text{L L}^{-1}$  de ar de: 18,8 a 43,1 para Machado, de 15 a 38,4 para Paracatu, de 10 a 36,2 para Piracicaba, de 12,5 a 43,7 para Recife e de 18,8 a 38,4 para a população de Tunápolis. Os óleos essenciais foram aplicados com o auxílio de um pipetador automático em papéis de filtro com 18  $\text{cm}^2$ , dentro de sacos feitos com organza, presos a tampa do frasco. Após os insetos serem liberados, os frascos de vidro foram fechados com uma tampa metálica rosqueável e vedados com borracha de silicone, durante um período de exposição de 48 h. Para cada concentração avaliada foram feitas quatro repetições, cada uma com 20 insetos adultos, não sexados, com idade entre zero e 15 dias. A testemunha seguiu o mesmo procedimento, porém os insetos não foram expostos aos óleos essenciais. Após o período de exposição, contabilizou-se o número de insetos mortos. Estimaram-se as  $\text{CL}_{50}$  para cada óleo

essencial em cada população, utilizando o software SAS (SAS Institute 2002). As Razões de Toxicidade (RT) foram estabelecidas, através da seguinte fórmula:  $RT = \text{maior } CL_{50} / \text{demais } CL_{50}$ , individualmente.

**Bioensaios de Atividade de Voo.** A metodologia utilizada nos bioensaios foi adaptada de Sousa (2010). A iniciação de voo foi realizada em câmaras transparentes (17 cm de altura x 15 cm de diâmetro) com as paredes internas impregnadas com cola entomológica. Externamente, à câmara de voo, foi colocada uma outra câmara (25 cm de altura x 20,5 cm de diâmetro), afim de evitar o contato direto com a fonte luminosa. Acima deste recipiente plástico, foi acoplada uma lâmpada de 100 Watts presa a um cone metálico para atrair os insetos.

Dez minutos antes de iniciar os bioensaios, os insetos foram aclimatados em placas de Petri (9 cm de diâmetro x 1 cm de altura). As paredes das placas foram revestidas com Teflon para evitar o escape dos insetos. Em seguida, a placa contendo os insetos foi colocada na parte inferior da câmara, ao lado de uma outra placa de petri (5 cm de diâmetro x 1 cm de altura), contendo papel-filtro, onde fez-se a aplicação do óleo essencial com o auxílio de um pipetador automático. Os insetos de todas as populações foram submetidos à concentração de 4,8  $\mu\text{L}$  para o óleo de *P. hispidinervum* e de 17,2  $\mu\text{L}$  para o óleo de *O. basilicum*. Na testemunha nada foi aplicado. Esta concentração foi determinada, baseando-se nos ensaios de toxicidade. Utilizaram-se quatro repetições com 200 insetos adultos não sexados, com idade entre zero e 15 dias, para cada população e para cada óleo essencial. Os bioensaios foram realizados à temperatura de  $27 \pm 2$  °C e umidade relativa de  $70 \pm 5\%$ . O período de exposição ao óleo foi de 30 min. A avaliação do número de insetos que iniciaram voo (decolaram) foi feita pela porcentagem de insetos aderidos á parede da câmara. Esses dados foram analisados através do PROC FREQ do SAS e interpretado pelo teste de qui-quadrado a 5% de probabilidade (SAS Institute 2002).

**Bioensaios de Caminhamento.** Os bioensaios foram realizados em sala climatizada ( $27\pm 2$  °C), utilizando os métodos adaptados, em conformidade com Watson *et al.* (1997), Guedes *et al.* (2009a) e Pereira *et al.* (2009) com insetos adultos, não sexados. Estes foram observados, individualmente, durante dez min em arenas com tampa confeccionada em acrílico (3,5 cm de altura x 15 cm de diâmetro), com um orifício em sua lateral com 0,8 cm de diâmetro. Neste orifício foi colocado um tubo plástico descartável de 0,7 cm de diâmetro e 3 cm de comprimento, tampado em uma das extremidades. No interior do tubo plástico, colocou-se papel-filtro dobrado ao meio (0,7 cm de largura x 5 cm de comprimento) para aplicação do óleo essencial. As paredes da placa foram revestidas com Teflon para evitar a fuga dos insetos. A tampa da placa foi vedada com vaselina para evitar o escape do óleo essencial.

Com o auxílio de um pipetador automático foi aplicada a concentração de 4,8 µL de óleo essencial para os ensaios com o óleo de *P. hispidinervum* e de 17,2 µL para *O. basilicum*. Na testemunha foi utilizado o mesmo procedimento, sendo que nada foi aplicado. Cada inseto adulto foi colocado, individualmente, no centro da arena um minuto antes do início dos testes para que ocorresse a saturação da câmara com o óleo essencial e para que o inseto fizesse o reconhecimento da arena. Utilizaram-se 20 repetições para cada população, cada óleo essencial e testemunha. Os movimentos dos insetos dentro da arena foram monitorados por uma câmera de vídeo monocromática ajustada a lentes de aumento, que registra e transfere as imagens digitalmente para um computador acoplado (ViewPoint Life Sciences Inc., Montreal, Canadá). Os parâmetros avaliados foram distância percorrida (cm), velocidade de caminhada ( $\text{mm s}^{-1}$ ), tempo de repouso (s) e número de paradas.

Para os parâmetros de distância percorrida, tempo de repouso e número de paradas, os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA), e as médias comparadas pelo teste de

Tukey a 5%, utilizando o PROC GLM do SAS (SAS Institute 2002). Para o parâmetro velocidade de caminhada foi usado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, pois os dados não atenderam ao pré-requisito da normalidade. Para análise de correlação entre a variável distância percorrida e as demais foi utilizado o PROC CORR do SAS (SAS Institute 2002).

**Taxa Instantânea de Crescimento Populacional.** Os ensaios de taxa instantânea de crescimento ( $r_i$ ) para as cinco populações de *S. zeamais* foram realizados em delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições. Utilizaram-se frascos de vidro com capacidade de 1,5 L, fechados com tecido do tipo organza preso por elástico, contendo 250 g de grãos de milho, com teor de umidade de 13% (base úmida), isentos de pragas e inseticidas. Os grãos foram infestados com 20 insetos adultos, não sexados, com idade entre zero e 15 dias. Os frascos com os insetos foram mantidos em sala climatizada, a  $27 \pm 2$  °C,  $75 \pm 5\%$  de UR e 12 h de fotofase. Após 60 dias de armazenamento, foram avaliados o número total de insetos e o peso final da massa de grãos. A taxa instantânea de crescimento dos insetos foi calculada pela equação sugerida por Walthall e Stark (1997).

$$r_i = [\ln(N_f/N_0)]/\Delta t$$

Em que:

$N_f$  = Número final de insetos;

$N_0$  = Número inicial de insetos; e

$\Delta t$  = Número de dias em que o ensaio foi executado.

De acordo com a equação, se  $r_i=0$  verifica-se o equilíbrio no crescimento populacional; se  $r_i > 0$ , o crescimento populacional mantém-se em estado ascendente e se  $r_i < 0$ , a população está em declínio, que poderá levá-la à extinção (Stark & Banks 2003).

A média do número de insetos para cada população e o peso da massa de grãos consumida foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% (SAS Institute 2002).

**Taxa Respiratória e Massa Corpórea.** Os ensaios de respirometria foram realizados utilizando-se um respirômetro do tipo TR3C equipado com um analisador de CO<sub>2</sub> (Sable System International, Las Vegas, EUA), para determinar a produção de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) ( $\mu\text{L de CO}_2 \text{ h}^{-1} \text{ inseto}^{-1}$ ) pelo uso da metodologia adaptada de Guedes *et al.* (2006) e Pimentel *et al.* (2007). Grupos de 20 insetos adultos, não sexados, de todas as populações foram colocados em placas de petri (13,5 cm de diâmetro x 2 cm de altura) com paredes revestidas por Teflon e expostos aos óleos essenciais, que foram aplicados em papel de filtro (1 cm<sup>2</sup>) preso na parte interna da tampa, por um período de 10 min. Para os ensaios com o óleo de *P. hispidinervum* foram aplicados 4,8  $\mu\text{L}$  e para os ensaios com *O. basilicum* 17,2  $\mu\text{L}$ . Para a testemunha, nada foi aplicado. Em seguida, os insetos foram acondicionados em câmaras com capacidade volumétrica de 25 mL por três horas para mensurar a quantidade de CO<sub>2</sub> produzida. As câmaras foram conectadas a um sistema completamente fechado. Para fazer a varredura de todo o CO<sub>2</sub> produzido no interior de cada câmara, procedeu-se a passagem de ar isento de CO<sub>2</sub> em fluxo de 600 mL min<sup>-1</sup>. Uma câmara respirométrica sem insetos foi utilizada nos bioensaios e o valor produzido foi usado para normalizar os dados da taxa respiratória de cada população. Após a mensuração do CO<sub>2</sub>, os insetos foram removidos das câmaras e, em seguida, pesados em balança analítica. Foram utilizadas cinco repetições para cada população e para cada óleo.

Para os ensaios de respirometria, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5%, utilizando o PROC GLM dos SAS (SAS Institute 2002). E para a massa corpórea utilizou-se o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, pois os dados não apresentaram distribuição normal. Adicionalmente, fez-se análise de correlação entre a taxa respiratória e a massa corpórea dos insetos, utilizando o PROC CORR do SAS (SAS Institute 2002).

## Resultados e Discussão

**Identificação dos compostos dos óleos essenciais.** Os componentes majoritários presentes nos óleos foram: Linalol (62,47%) e Methylchavicol (30,94%) para *O. basilicum* e Safrole (82,07%) para *P. hispidinervum* (Tabela 2).

**Curvas de concentração-mortalidade.** Os resultados das curvas de concentração-mortalidade das populações de *S. zeamais* expostas aos óleos de *P. hispidinervum* e *O. basilicum* constam na Tabela 3. Estas curvas foram utilizadas para identificar a população padrão de susceptibilidade, bem como a toxicidade dos óleos essenciais para as populações de *S. zeamais*. Dentre as populações avaliadas, a de Piracicaba foi a que apresentou menor CL<sub>50</sub> para ambos os óleos, com 4,8 µL L<sup>-1</sup> de ar para *P. hispidinervum* e 17,2 µL L<sup>-1</sup> de ar para *O. basilicum*, sendo considerada padrão de susceptibilidade. A população de Tunápolis apresentou maior CL<sub>50</sub> (7,42 µL L<sup>-1</sup> de ar) para o óleo de *P. hispidinervum* e a população de Machado foi a que apresentou maior CL<sub>50</sub> (26,59 µL L<sup>-1</sup> de ar) para *O. basilicum*. A razão de toxicidade do óleo de *P. hispidinervum* nas populações variou de 1,0 a 1,54 vezes, enquanto que para *O. basilicum*, a variação foi semelhante com valores entre 1,04 e 1,54.



Segundo Pimentel *et al.* (2009), a população de Piracicaba, que neste trabalho foi a mais susceptível aos óleos essenciais testados, não apresenta resistência à fosfina. Em contrapartida, a população de Machado, que fora a menos susceptível ao óleo *O. basilicum*, é considerada resistente.

Coitinho *et al.* (2011) encontraram uma  $CL_{50}$  de apenas  $0,53 \mu\text{L L}^{-1}$  de ar para *P. hispidinervum* sobre *S. zeamais*, valor bem inferior aos obtidos no presente trabalho. Além de *S. zeamais*, o óleo de *P. hispidinervum* também teve sua atividade inseticida comprovada no controle de outras pragas de grãos armazenados (Fazolin *et al.* 2007, Pereira *et al.* 2008). Freitas (2011), ao testar a toxicidade do óleo essencial de mostarda sobre quatro das cinco populações estudadas neste trabalho considerou a população de Piracicaba como padrão de susceptibilidade, por apresentar a menor  $CL_{50}$ , concordando com os resultados encontrados neste trabalho. Assim como o óleo de *P. hispidinervum*, o de *O. basilicum* e compostos extraídos desse óleo já têm sua atividade inseticida comprovada para algumas espécies de insetos-praga de grãos armazenados, como *S. oryzae*, *Rhyzopertha dominica* (Fabricius), *Cryptolestes pusillus* (Schonherr) e *C. maculatus* (Pascual-Villalobos & Ballesta-Acosta 2003, López *et al.* 2008). Kéita *et al.* (2001), ao testarem os óleos essenciais de *Ocimum gratissimum* L. e *O. basilicum* sobre adultos de *C. maculatus* em ensaios de fumigação constataram mortalidade de 70% e 80%, respectivamente, para concentração  $25 \mu\text{L mL}^{-1}$  após 12 h de exposição.

**Atividade de Voo.** O número de decolagens não apresentou diferença estatística entre as populações de *S. zeamais*, quando submetidas aos óleos de *O. basilicum* ( $\chi^2 = 5,06$ ;  $P = 0,2811$ ;  $GL = 4$ ), *P. hispidinervum* ( $\chi^2 = 2,83$ ;  $P = 0,5856$ ;  $GL = 4$ ) e a testemunha ( $\chi^2 = 2,78$ ;  $P = 0,5951$ ;  $GL = 4$ ). Também não houve diferença entre os tratamentos nas populações de Machado ( $\chi^2 = 1,08$ ;  $P = 0,5815$ ;  $GL = 2$ ), Paracatu ( $\chi^2 = 1,60$ ;  $P = 0,4493$ ;  $GL = 2$ ), Piracicaba ( $\chi^2 = 0,11$ ;  $P =$

0,9448; GL = 2), Recife ( $\chi^2 = 0,19$ ; P = 0,9074; GL = 2) e Tunápolis ( $\chi^2 = 2,33$ ; P = 0,3108; GL = 2).

Vásquez-Castro *et al.* (2009), estudando a relação entre a susceptibilidade de *S. oryzae* e *S. zeamais* a inseticidas e suas atividades de voo, concluíram que a menor atividade de voo de *S. oryzae* esteve relacionada a sua maior tolerância aos inseticidas testados.

Guedes *et al.* (2009), ao trabalharem com populações resistentes e suscetíveis de *S. zeamais*, sugeriram que a resistência comportamental independe de estímulo, uma vez que as mesmas diferiram na atividade de voo, independente da presença do inseticida.

**Caminhamento.** Na tabela 4 observa-se que a distância percorrida (cm) pelos insetos diferiu tanto para os tratamentos (F=6,30; P=0,0021), quanto para as populações estudadas (F=10,80; P<0,0001). Também houve interação significativa entre os tratamentos e testemunha vs populações (F=2,07; P=0,0383). As populações de Machado e Tunápolis responderam de maneira diferente aos tratamentos na variável distância percorrida. Para as demais populações a resposta foi a mesma para tratamentos e testemunha. A população de Recife percorreu maior distância mesmo na testemunha, não diferindo de Paracatu, que por sua vez não divergiu das demais populações. A população de Recife também percorreu maior distância quando submetida aos óleos essenciais, não diferindo de Machado para *P. hispidinervum* e de Paracatu e Tunápolis para *O. basilicum*. Para o tempo de repouso houve diferença para os tratamentos e testemunha (F=5,41; P=0,0049), bem como para as populações (F=5,57; P=0,0002). As variáveis tratamento e testemunha e populações interagiram (F=2,67; P=0,0077). A população de Recife passou menos tempo em repouso quando exposta ao óleo de *P. hispidinervum*. Todavia, não diferiu das populações de Machado e Piracicaba. Para o óleo de *O. basilicum* da mesma forma, a população de Recife passou menos tempo em repouso, porém não diferiu de Paracatu e Tunápolis (Tabela 5). Já para o número de paradas não houve diferença entre os tratamentos (F=2,02; P=0,1349), mas

sim para as populações ( $F=11,56$ ;  $P<,0001$ ) e interação entre ambos ( $F=2,26$ ;  $P=0,0234$ ). Apenas a população de Machado respondeu de forma diferente, em relação ao número de paradas, aos tratamentos a que foi submetida, apresentando menos paradas quando os insetos foram expostos ao óleo de *P. hispidinervum*. A população de Recife apresentou menor número de paradas tanto nos tratamentos quanto na testemunha, em relação às demais populações (Tabela 6). Para a variável velocidade de caminhamento houve diferença estatística entre as populações, quando submetidas aos óleos de *O. basilicum* ( $H= 24,51$ ;  $p<0,0001$ ), *P. hispidinervum* ( $H=12,57$ ;  $p=0,0136$ ) e na testemunha ( $H= 15,19$ ;  $p=0,0043$ ). Também houve diferença entre os tratamentos para a população de Tunápolis ( $H=7,16$ ;  $p=0,0279$ ) e não houve diferença entre os tratamentos nas populações de Machado ( $H=5,79$ ;  $p=0,0552$ ), Paracatu ( $H=4,97$ ;  $p=0,0830$ ), Piracicaba ( $H=3,20$ ;  $p=0,2015$ ) e Recife ( $H=2,34$ ;  $p=0,3101$ ). Esta apresentou uma maior velocidade de caminhamento que as demais populações na testemunha e quando exposta aos óleos essenciais, sendo que, para o óleo de *O. basilicum* não diferiu da população de Paracatu (Tabela 7) (Fig. 1).

Houve alta correlação entre a distância percorrida e as outras variáveis analisadas, sendo significativa e positiva entre a distância percorrida e a velocidade de caminhamento ( $r=0,94$ ;  $p<0,0001$ ); porém foi significativa e negativa entre a distância percorrida e o número de paradas ( $r=-0,91$ ;  $p<0,0001$ ) e entre a distância percorrida e o tempo de repouso ( $r=-0,87$ ;  $p<0,0001$ ).

Freitas (2011), testando o óleo essencial de mostarda em cinco populações de *S. zeamais* constatou alterações nos padrões de comportamento (tempo de repouso e número de paradas). Da mesma forma, Sousa *et al.* (2012), utilizando 30 diferentes populações de *S. zeamais* observaram alterações nos parâmetros de caminhamento (distância percorrida, tempo de repouso e velocidade de caminhamento) na presença do gás ozônio.

Trabalhos visando avaliar as mudanças de comportamento dos insetos foram efetuados, em sua maioria, empregando metodologia em que os mesmos entram em contato direto com os

inseticidas aplicados em placas de petri. Guedes *et al.* (2008) observaram redução na mobilidade de *Liposcelis bostrychoophila* Babonnel e *L. entomophila* em arenas tratadas parcialmente ou em sua totalidade com inseticidas. Beckel *et al.* (2004), trabalhando com adultos de *R. dominica* resistentes à deltametrina, constataram redução na velocidade de caminamento dos insetos sobre a superfície de placas tratadas, a fim de evitar ou diminuir o contato com o inseticida.

As variações significativas dos parâmetros de caminamento ocorrem devido ao fato de alguns compostos serem capazes de estimular ou até mesmo reduzir a mobilidade dos insetos, pois são capazes de alterar o comportamento locomotor, como o de caminhar e voar. Os insetos podem ficar descoordenados e até mesmo convulsivos, podendo interferir na reprodução, localização de suas presas, na dispersão, migração e em sua alimentação, de forma geral (Haynes 1988). Os insetos podem sobreviver ao serem expostos aos inseticidas, alterando o seu comportamento e serem estimulados a deixar o ambiente tóxico, imediatamente após o contato com a superfície tratada (Barson *et al.* 1992, Watson & Barson 1996).

**Taxa instantânea de crescimento (ri).** As taxas instantâneas de crescimento populacional (ri) das diferentes populações de *S. zeamais* foram todas positivas apresentando valores de 0,014; 0,014; 0,012; 0,010 e 0,007, respectivamente, para as populações de Machado, Tunápolis, Paracatu, Piracicaba e Recife. As populações diferiram ( $F= 4,38$ ;  $p= 0,0105$ ), sendo a de Recife a que apresentou a menor taxa de crescimento (Tabela 8). A taxa instantânea de crescimento populacional (ri) tem sido muito utilizada por apresentar resultados consistentes. Essa taxa é uma medida direta do crescimento populacional, e também integra a sobrevivência e fecundidade (Walthall & Stark 1997). Para a perda de massa de grãos também houve diferença entre as populações ( $F=3,05$ ;  $P=0,0410$ ) (Fig. 2), sendo a população de Recife a que teve o menor consumo.

Freitas (2011), ao avaliar o crescimento populacional e o consumo da massa de grãos de quatro das cinco populações estudadas no presente trabalho, não encontrou diferença entre elas para ambos os parâmetros.

**Taxa Respiratória e Massa Corpórea.** A taxa respiratória variou significativamente entre as populações ( $F=5,74$ ;  $P=0,0006$ ). Porém não houve variação significativa entre tratamentos e testemunha ( $F=0,65$ ;  $P=0,5266$ ) e entre tratamentos *vs* populações ( $F=0,07$ ;  $P=0,9997$ ). A população de Recife apresentou os menores valores de  $CO_2$  produzido, diferindo das demais populações, que por sua vez não diferiram entre si (Fig. 3). Para a massa corpórea dos insetos, também ocorreu variação significativa entre as populações ( $H=40,10$ ;  $p<0,0001$ ). A população de Paracatu foi a que apresentou maior valor de massa corpórea, não diferindo de Tunápolis. A população de Recife apresentou a menor massa corpórea, diferindo das demais (Fig. 4). Houve correlação significativa entre a produção de  $CO_2$  e a massa corpórea dos insetos ( $r=0,48$ ;  $p<0,0001$ ).

A taxa respiratória dos insetos é medida pela produção de  $CO_2$  ou pelo consumo de  $O_2$  (Emeckiet al. 2002, Emeckiet al. 2004). Segundo Chaudhry (1997), a susceptibilidade do inseto a um fumigante pode variar de acordo com a sua taxa respiratória. A população de Piracicaba apresentou as maiores taxas respiratórias, embora não tenha diferido das populações de Machado, Paracatu e Tunápolis. Além disso, essa população foi a mais susceptível aos dois óleos essenciais testados. Segundo Chaudhry (1997), a absorção de um fumigante é, em geral, proporcional à velocidade da respiração do inseto, e os fatores que aumentam a atividade respiratória devem também, aumentar a absorção e a toxicidade de um fumigante.

Correa (2011), ao aferir a taxa respiratória de diferentes populações de *S. zmais* expostas aos óleos essenciais de cravo e canela, encontrou diferença estatística entre os tratamentos e a

testemunha, e não observou diferença entre as populações. Esses resultados diferiram dos obtidos no presente trabalho.

A redução na taxa respiratória têm sido associada à resistência a fosfina, como um possível mecanismo para reduzir a penetração deste fumigante no corpo do inseto (Chaudhry 1997, Pimentel *et al.* 2007). Santos *et al.* (2011) encontraram variação significativa na taxa respiratória de adultos em diferentes populações de *T. castaneum*. Resultado semelhante foi encontrado por Sousa *et al.* (2012), que avaliaram a taxa respiratória de 30 diferentes populações de *S. zeamais*.

Os resultados encontrados neste trabalho comprovam a importância dos óleos essenciais de *O. basilicum* e *P. hispidinervum*, decorrente dos seus efeitos tóxico e sobre o comportamento de *S. zeamais*. Assim, há a necessidade de mais estudos sobre as alterações comportamentais desta importante praga de grãos armazenados, quando submetida a diferentes óleos essenciais, objetivando um manejo mais adequado das suas populações.

### **Agradecimentos**

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudos ao primeiro autor e por financiar o projeto. À Professora Lêda Rita D'Antonino Faroni e a todos do Laboratório de Manejo Integrado de Pragas (MIP-Grãos) do Departamento de Engenharia Agrícola da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Ao Professor Raul Narciso Guedes por disponibilizar os equipamentos para a realização dos experimentos de caminhamento e respirometria e a todos do Laboratório de Ecotoxicologia do Departamento de Entomologia Agrícola, da mesma instituição.

## Literatura citada

- Adams, R.P. 2009.** Identification of essential oil component by chromatography/mass spectroscopy. Allured Publishing Corporation. Carol Stream, Illinois, 804p.
- Barson, G., D.A. Fleming & E. Allan. 1992.** Laboratory assessment of the behavioural responses of residual populations of *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera: Silvanidae) to the contact insecticide Pirimiphos-Methyl by linear logistic modelling. J. Stored Prod. Res. 28: 161-170.
- Beckel, H., I. Lorini & S.M.N. Lázari. 2004.** Comportamento de adultos de diferentes raças de *Rhyzopertha dominica* (Fabricius) (Coleoptera, Bostrichidae) em superfície tratada com deltamethrin. Rev. Bras. Entomol. 48: 115-118.
- Chaudhry, M.Q. 1997.** A Review of the mechanisms involved in the action of Phosphine as an insecticide and phosphine resistance in stored-product insects. Pestic. Sci. 49: 213-228.
- Coitinho, R.L.B.C., J.V. Oliveira, M.G.C.J. Gondim & C.A.G. Câmara. 2011.** Toxicidade por fumigação, contato e ingestão de óleos essenciais para *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1885 (Coleoptera: Curculionidae). Cienc. Agrotecnol. 35: 172-178.
- Correa, Y.C.G. 2011.** Resposta de populações de *Sitophilus zeamais* à exposição dos óleos essenciais de cravo e de canela. Dissertação de Mestrado, UFV, Viçosa, 36p.
- Emecki, M. S. Navarro, E. Donahaybe, M. Rindner & A. Azrieli. 2002.** Respiration of *Tribolium castaneum* (Herbst) at reduced oxygen concentrations. J. Stored Prod. Res. 38: 413-425.
- Emecki, M. S. Navarro, E. Donahaybe, M. Rindner & A. Azrieli. 2004.** Respiration of *Rhyzopertha dominica* (F.) at reduced oxygen concentrations. J. Stored Prod. Res. 40: 27-38
- Fazolin, M., J.L.V. Estrela, V. Catani, M.R. Alécio & M.S. Lima. 2007.** Propriedade inseticida dos óleos essenciais de *Piper hispidinervum* C.DC.; *Piper aduncum* L. e *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. & K. Schum sobre *Tenebrio molitor* L., 1758. Ciênc. Agrotec. 31: 113-120.
- Finney, D.J. 1971.** Probit analysis. 3ed. London, Cambridge Press, 338 p.
- Freitas, R.C.P. 2011.** Toxicidade do óleo essencial de mostarda sobre populações de *Sitophilus zeamais*. Dissertação de Mestrado, UFV, Viçosa, 35p.
- Guedes, R.N.C., J.F. Campbell, F.H. Arthur, G.P. Opit, K.Y. Zhu & J.E. Throne. 2008.** Acute lethal and behavioral sublethal responses of two stored-product psocids to surfasse insecticides. Pest.Manag. Sci. 64: 1314-1322.

- Guedes, N.M.P., R.N.C. Guedes, G.H. Ferreira & L.B. Silva. 2009.** Flight take-off and walking behavior of insecticide-susceptible and – resistant strains of *Sitophilus zeamais* exposed to deltamethrin. Bull. Entomol. Res. 99: 393-400.
- Govindarajan, M., R. Sivakumar, M. Rajeswary & K. Yogalakshmi. 2013.** Chemical composition and larvicidal activity of essential oil from *Ocimum basilicum* (L.) against *Culex tritaeniorhynchus*, *Aedes albopictus* and *Anopheles supictus* (Diptera: Culicidae). Exp. Parasitol. 134: 7-11.
- Haynes, K.F. 1988.** Sublethal effects of neurotoxic insecticides on insect behavior. Annu. Rev. Entomol. 33:149-168.
- Kaurinovic, B., M. Popovic, S. Vlajsavljevic & S. Trivic. 2011.** Antioxidant capacity of *Ocimum basilicum* L. and *Origanum vulgare* L. extracts. Molecules. 16: 7401-7414.
- Kéita, S.M., C. Vincent, J-P. Schmit, J.T. Arnason & A. Bélanger. 2001.** Efficacy of essential oil of *Ocimum basilicum* L. and *O. gratissimum* L. applied as an insecticidal fumigant and powder to control *Callosobruchus maculatus* (Fab.) (Coleoptera: Bruchidae). J. Stored Prod. Res. 37: 339-349.
- Lima, R.K., M.G. Cardoso, J.C. Moraes, B.A. Melo, V.G. Rodrigues & P.L. Guimarães. 2009.** Atividade inseticida do óleo essencial de pimenta longa (*Piper hispidinervum* C. DC.) sobre lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuide). Acta Amazonica. 39: 377-382.
- López, M.D., M.J. Jórdan & M.J. Pascual-Villalobos. 2008.** Toxic compounds in essential oils of coriander, caraway and basil active against stored rice pests. J. Stored Prod. Res. 44: 273-278.
- Lorini, I. 2002.** Descrição, biologia e danos das principais pragas de grãos armazenados. p. 381-397. In: Lorini, I.; L.H. Miike & V.M. Scussel, Armazenagem de grãos. 1000p.
- Lorini, I. 2003.** Manual técnico para o manejo integrado de pragas de grãos de cereais armazenados. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 80p.
- Matta, F.B. 2010.** Essential oils from six herbal plants for biocontrol of the maize weevil. Hortscience. 45: 592-598.
- Mishra, B.B., S.P. Tripathi & C.P.M. Tripathi. 2012.** Repellent effect of leaves essential oils from *Eucalyptus globulus* (Mirtaceae) and *Ocimum basilicum* (Lamiaceae) against two major stored grain insect pests of Coleopterons. Nat. Sci. 10: 50-54.
- Pascual-Villalobos, M.J. & M.C. Ballesta-Acosta. 2003.** Chemical variation in an *Ocimum basilicum* germplasm collection and activity of the essential oils on *Callosobruchus maculatus*. Biochem. Syst. Ecol. 31: 673-679.



- Patil, D.D., D.K. Mhaske & G.C. Wadhawa. 2011.** Antibacterial and antioxidant study of *Ocimum basilicum* Labiatae (Sweet basil). J Adv. Pharm. Educ.Res. 2: 104-112.
- Pereira, A.C.R.L., J.V. Oliveira, M.G.C. Gondim Jr. & C.A.G. Câmara. 2008.** Atividade inseticida de óleos essenciais e fixos sobre *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) (Coleoptera: Bruchidae) em grãos de caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]. Ciênc. Agrotec. 32: 717-724.
- Pereira, C.J., E.J.G. Pereira, E.M.G. Cordeiro, T.M.C. Della Lucia, M.R. Tótola & R.N.C. Guedes. 2009.** Organophosphate resistance in the maize weevil *Sitophilus zeamais*: Magnitude and behavior. Crop Protection. 28: 168-173.
- Pimentel, M.A.G., L.R.D'A. Faroni, M.R. Tótola & R.N.C.Guedes. 2009.** Phosphine resistance, respiration rate and fitness consequences in stored-product insects. Pest Manag. Sci. 63: 876-881.
- Pimentel, M.A.G., L.R.D'A. Faroni, R.N.C. Guedes, A.H. Sousa & M.R. Tótola. 2009.** Phosphine resistance in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* Motschusky (Coleoptera: Curculionidae). J. Stored Prod. Res. 45: 71-74.
- Rajendran, S. & V. Sriranjini. 2008.** Plants products as fumigants for stored-products insect control. J. Stored Prod. Res. 44: 126-135.
- Santos, J.C., L.R.A. Faroni, A.H. Sousa & R.N.C. Guedes. 2011.** Fumigant toxicity of allyl isoathiocyanate to populations of the red flour beetle *Tribolium castaneum*. J. Stored Prod. Res. 47: 238-243.
- Santos, F.C.C., F.S.F. Vogel & S.G. Monteiro. 2012.** Efeito do óleo essencial de manjeriçao (*Ocimum basilicum* L.) sobre o carrapato bovino *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* em ensaios *in vitro*. Semina: Ci. Agrárias. 33: 1133-1140.
- SAS Institute. 2002.** User's guide, version 8.02, TS level 2MO. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Sauter, I.P., G.E. Rossa, A.M. Lucas, S.P. Cibulski, P.M. Roehle, L.A.A. Silva, M.B. Rott, R.M.F. Vargas, E. Cassel & G. L. Poser. 2012.** Chemical composition and amoebicidal activity of *Piper hispidinervum* (Piperaceae) essential oil. Ind. Crops Prod. 40: 292-295.
- Sousa, A.H., L.R.A. Faroni, G.N. Silva & R.N.C. Guedes. 2012.** Ozone toxicity and walking response of populations of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). J Econ. Entomol. 105: 2187-2195
- Stark, J.D. & J. E. Banks. 2003.** Population-level effects of pesticides and other toxicants on arthropods. Annu. Rev. Entomol. 48: 505-519.
- Van Den Doll, H. & P.D.J.A. Kratz. 1963.** Generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. J. Chromatogr. 11: 463-471.

- Vásquez-Castro, J.A., G.C. Baptista, L.R.P. Trevizan & C.D. Gadanha Jr. 2009.** Flight Activity of *Sitophilus oryzae* (L) and *Sitophilus zeamais* Motsch (Coleoptera: Curculionidae) and its relationship with susceptibility to insecticides. Neotrop. Entomol. 38: 405-409.
- Walthall, W.K. & J.D. Stark. 1997.** Comparasion of two population level ecotoxicological endpoints: The intrinsic (rm) and instantaneous (ri) rates of increase. Environ. Toxicol. Chem. 16: 1068-1073.
- Watson, E. & G. Barson. 1996.** A Laboratory assessment of the behavioural responses of three strains of *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera: Silvanidae) to three Insecticides and the insect repellent N,N-diethyl-m-toluamide. J. Stored Prod. Res. 32: 59-67.
- Watson, E., G. Barson, D.B. Pinniger, G. Roberts & A.R. Ludlow. 1997.** Evaluation of the behavioural responses of *Anthrenus verbasci* adults and larvae to permethrin (ec) using a computerized tracking system. J. Stored Prod. Res. 33: 335-346.
- Zacaroni, L.M., M.G. Cardoso, P.E. Souza, F.A. Pimentel, L.G.L. Guimarães & A.P.S.P. Salgado. 2009.** Potencial fungitóxico do óleo essencial de *Piper hispidinervum* (pimenta longa) sobre os fungos fitopatogênicos *Bipolaris sorokiniana*, *Fusarium oxysporum* e *Colletotrichum gloeosporioides*. Acta Amazonica. 39: 193-198.
- Zhang, J., S. Li & W. Wu. 2009.**The main chemical composition and *in vitro* antifungal activity of the essential oils of *Ocimum basilicum* Linn. var. *pilosum* (Willd.) Benth. Molecules. 14: 273-278.

Tabela 2. Composição química dos óleos essenciais analisados com as porcentagens relativas dos componentes.

Composto	IRL	<i>Ocimum basilicum</i>		<i>Piper hispidinervum</i>	
		IRC	%	IRC	%
$\alpha$ -Pinene	932	931	0,23	931	0,43
Camphene	946	945	0,04	946	0,06
Sabinene	969	971	0,06	-	-
$\beta$ -Pinene	974	973	0,18	-	-
Myrcene	988	991	0,06	991	0,18
$\alpha$ -Phellandrene	1002	-	-	1003	0,11
$\delta$ -3-Carene	1008	-	-	1008	0,67
$\alpha$ -Terpinene	1014	-	-	1015	0,14
o-Cymene	1022	1023	0,08	1023	0,19
Limonene	1024	-	-	1027	0,27
1,8-Cineole	1026	1028	3,74	-	-
$\beta$ -(Z)-Ocimene	1032	-	-	1038	0,60
$\beta$ -(E)-Ocimene	1044	1049	0,12	1048	1,78
$\gamma$ -Terpinene	1054	-	-	1058	0,18
(Z)-Linalool oxide	1067	1073	0,23	-	-
Fenchone	1083	1087	0,04	-	-
(E)-Linalool oxide	1084	1089	0,16	-	-
Terpinolene	1086	-	-	1087	5,71
Linalool	1095	1107	62,47	-	-
<allo>Ocimene	1128	-	-	1129	0,05
Camphor	1141	1145	0,21	-	-
p-Cymen-8-ol	1179	-	-	1184	0,34
$\alpha$ -Terpineol	1186	1198	0,06	-	-
Methylchavicol	1195	1204	30,94	-	-
<endo>Fencol acetate	1218	1222	0,11	-	-
Safrole	1285	-	-	1289	82,07
$\delta$ -Elemene	1335	-	-	1338	0,05
$\alpha$ -Copaene	1374	-	-	1377	0,09
$\beta$ -Elemene	1389	-	-	1393	0,06
Methyleugenol	1403	-	-	1405	0,06
$\alpha$ -Gurjunene	1409	-	-	1411	0,03
$\alpha$ -Cedrene	1410	1414	0,08	-	-
(E)-Caryophyllene	1417	-	-	1422	0,59
(Z)-Thujopsene	1429	1438	0,10	-	-
(E)- $\alpha$ -Bergamotene	1432	1438	0,70	-	-
Aromadendrene	1439	-	-	1442	0,03
$\alpha$ -Humulene	1452	-	-	1457	0,08
(E)-<9-epi>Caryophyllene	1464	-	-	1464	0,14
D-Germacrene	1484	-	-	1485	0,19
Bicyclogermacrene	1500	-	-	1501	3,16
$\gamma$ -Cadinene	1513	1519	0,11	1518	0,06
$\delta$ -Cadinene	1522	-	-	1527	0,16
Spathulenol	1577	-	-	1580	0,66
Caryophyllene oxide	1582	-	-	-	-
Guaiol	1600	-	-	1599	0,04
Dill apiole	1620	-	-	1626	0,15
<b>TOTAL</b>			<b>99,72</b>		<b>98,33</b>

I.R<sup>a</sup>- Índice de retenção de Kratz da Literatura (Adams, 2009); I.R<sup>b</sup>- Índice de retenção de Kratz calculado.

Tabela 3. Toxicidade dos óleos essenciais de *Piper hispidinervum* e *Ocimum basilicum* para populações de *Sitophilus zeamais*.

Óleo essencial	População	Nº de insetos	Inclinação±(EP <sup>1</sup> )	CL <sub>50</sub> (95% IC <sup>2</sup> ) (µL L <sup>-1</sup> de ar)	RT <sup>3</sup>	X <sup>2</sup>
<i>Piper hispidinervum</i>	Piracicaba	480	6,68±0,53	4,8 (4,6-5,0)	1,54	4,23
	Paracatu	480	5,97±0,48	6,54 (6,21-6,90)	1,13	6,68
	Recife	400	5,85±0,45	6,91 (6,51-7,36)	1,07	5,13
	Machado	480	6,18±0,47	7,36 (7- 7,76)	1,00	3,02
	Tunapólis	480	6,94±0,51	7,42 (7,08-7,79)	-	5,40
<i>Ocimum basilicum</i>	Piracicaba	400	4,73±0,41	17,2 (16,0-18,5)	1,54	3,28
	Recife	480	6,75±0,50	22,01 (20,9-23,1)	1,2	0,74
	Paracatu	480	8,23±0,63	23,6 (22,7-24,5)	1,12	6,07
	Tunapólis	400	8,09±0,74	25,41 (24,41-26,48)	1,04	4,23
	Machado	400	8,52±0,72	26,59 (25,54-27,72)	-	1,26

<sup>1</sup>EP = Erro Padrão da Média; <sup>2</sup>IC = Intervalo de Confiança; <sup>3</sup>RT = Razão de Toxicidade; e X<sup>2</sup> = Qui-quadrado

Tabela 4. Distância percorrida por *Sitophilus zeamais* de diferentes populações, submetidos a arenas fumigadas com os óleos de *Piper hispidinervum* e *Ocimum basilicum* e testemunha, durante 10 min.

Distância percorrida (cm)			
População <sup>1</sup>	Tratamentos <sup>1</sup>		
	Testemunha	<i>Piper hispidinervum</i>	<i>Ocimum basilicum</i>
Machado	239,03±18,83ABb	288,29±18,79Aab	227,75±15,09Bb
Paracatu	254,11±12,10Aab	250,84±11,79Ab	278,38±10,62Aab
Piracicaba	229,78±8,87Ab	267,08±14,81Ab	229,42±14,41Ab
Recife	287,62±14,12Aa	328,01±15,30Aa	312,18±13,70Aa
Tunápolis	229,46±9,92Bb	260,31±10,85ABb	272,14±11,57Aab

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra maiúscula dentro da mesma linha e minúscula dentro da mesma coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey (P<0,05).

Tabela 5. Tempo de repouso de *Sitophilus zeamais* de diferentes populações, submetidos a arenas fumigadas com os óleos de *Piper hispidinervum* e *Ocimum basilicum* e testemunha, durante 10 min.

Tempo de repouso (s)			
População <sup>1</sup>	Tratamentos <sup>1</sup>		
	Testemunha	<i>Piper hispidinervum</i>	<i>Ocimum basilicum</i>
Machado	164,32±18,28Aa	106,8±13,42Bab	163,27±13,80Aa
Paracatu	127,86±11,40Aa	144,48±9,91Aa	124,69±7,97Aab
Piracicaba	152,28±12,42Aa	132,82±9,73Aab	166,02±13,55Aa
Recife	132,36±10,23Aa	96,53±9,25Bb	106,76±10,99ABb
Tunápolis	165,36±7,77Aa	142,6±9,58ABa	131,04±9,14Bab

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra maiúscula dentro da mesma linha e minúscula dentro da mesma coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey (P<0,05).

Tabela 6. Número de paradas efetuadas por *Sitophilus zeamais* de diferentes populações, submetidos a arenas fumigadas com os óleos de *Piper hispidinervum* e *Ocimum basilicum* e testemunha, durante 10 min.

Número de paradas			
População <sup>1</sup>	Tratamentos <sup>1</sup>		
	Testemunha	<i>Piper hispidinervum</i>	<i>Ocimum basilicum</i>
Machado	840,60±61,30ABa	666,10±55,97Bab	923,50±62,39Aa
Paracatu	792,90±51,15Aab	842±45,12Aa	743,30±33,24Aab
Piracicaba	842,25±33,84Aa	818,90±61,78Aa	905,15±49,87Aa
Recife	653,75±47,44Ab	579,60±50,93Ab	603,15±46,98Ab
Tunápolis	866,55±35,91Aa	801,10±29,79Aa	766,10±40,60Aab

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra maiúscula dentro da mesma linha e minúscula dentro da mesma coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey (P<0,05).

Tabela 7. Velocidade de caminhada ( $\text{mm s}^{-1}$ ) de *Sitophilus zeamais* de diferentes populações, submetidos a arenas fumigadas com os óleos de *Piper hispidinervum* e *Ocimum basilicum* e testemunha, durante 10 min.

Velocidade de caminhada ( $\text{mm s}^{-1}$ )			
População <sup>1</sup>	Tratamentos <sup>1</sup>		
	Testemunha	<i>Piper hispidinervum</i>	<i>Ocimum basilicum</i>
Machado	5,36±0,22Ab	5,75±0,23Ab	5,12±0,19Ac
Paracatu	5,33± 0,15Ab	5,46±0,17Ab	5,83±0,16Aab
Piracicaba	5,10±0,09Ab	5,65±0,21Ab	5,20±0,16Ac
Recife	6,09±0,18Aa	6,45±0,21Aa	6,28±0,19Aa
Tunápolis	5,24±0,14Bb	5,64±0,13Ab	5,76±0,15Ab

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra maiúscula dentro da mesma linha e minúscula dentro da mesma coluna, não diferem entre si, pelo teste de Kruskal-Wallis.



Tabela 8. Taxa instantânea de crescimento (ri) de diferentes populações de *Sitophilus zeamais*.

População	Nf <sup>1</sup>	ri <sup>2</sup>
Machado	245	0,014a <sup>3</sup> ± 0,0017
Paracatu	221	0,012ab ± 0,0024
Piracicaba	187	0,010ab ± 0,0006
Recife	154	0,007b ± 0,0007
Tunapólis	241	0,014a ± 0,0011

<sup>1</sup>Número total de adultos de *S. zeamais* após 60 dias;

<sup>2</sup>ri = [ln(N<sub>f</sub>/N<sub>0</sub>)]/Δt;

<sup>3</sup>Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%.

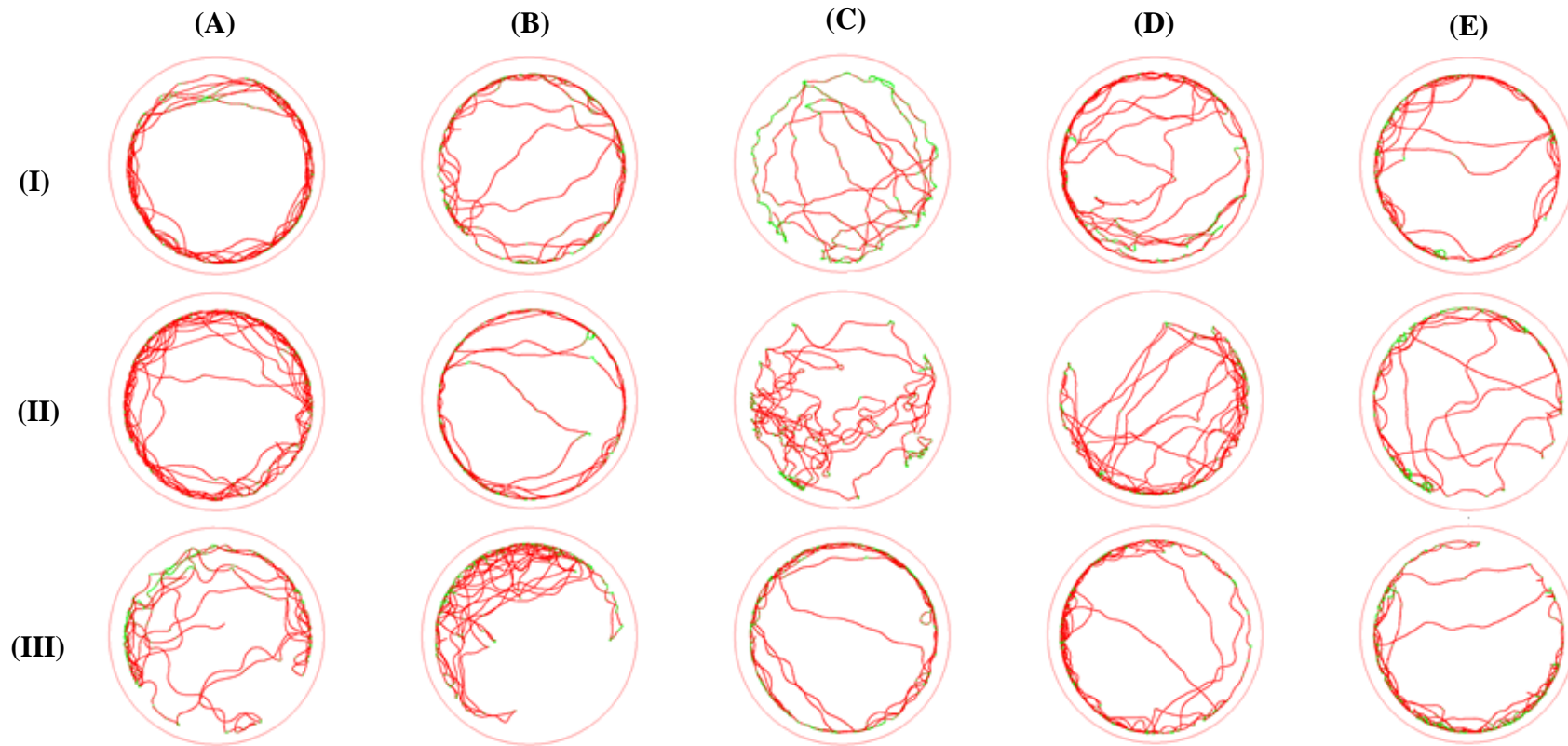


Figura 1. Arenas representando o caminhar de indivíduos de *S. zeamais* das populações de Machado (A), Paracatu (B), Piracicaba (C), Recife (D) e Tunapólis (E) sem tratamento (I) e expostos aos óleos essenciais de *P. hispidinervum* (II) e *O. basilicum* (III) por um período de 10 min.

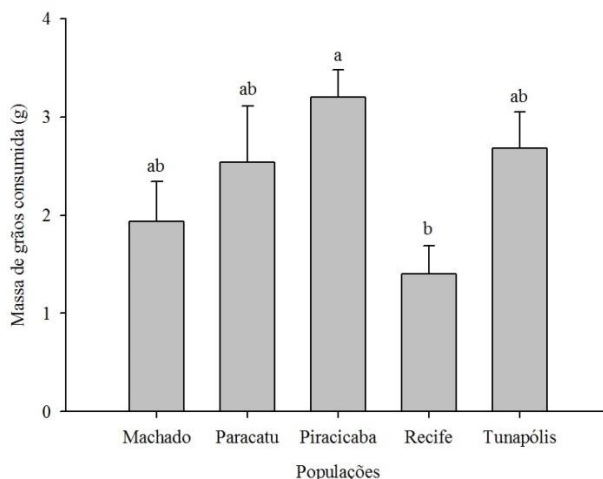


Figura 2. Média ( $\pm$ EP) da massa de grãos de milho consumida por cada população de *Sitophilus zeamais* em ensaio de taxa instantânea de crescimento (ri). Colunas contendo mesma letra não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

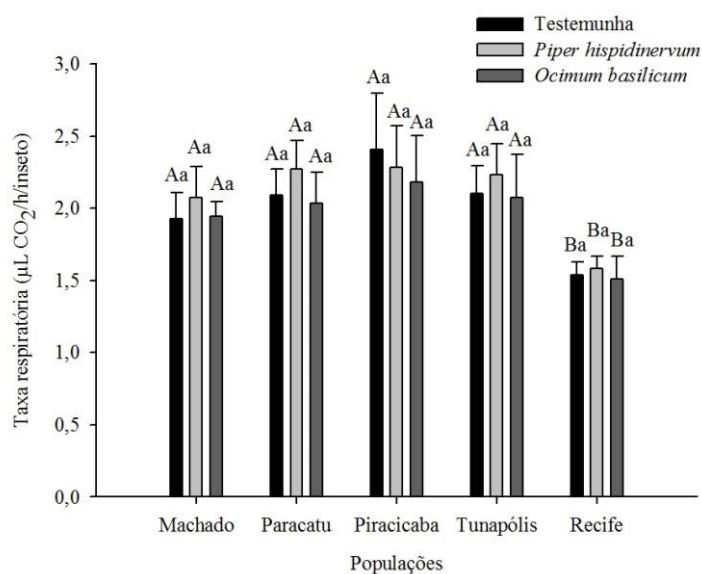


Figura 3. Média ( $\pm$ EP) de CO<sub>2</sub> produzido por indivíduos adultos de *Sitophilus zeamais* de diferentes populações, submetidos aos óleos essenciais de *Piper hispidinervum*, *Ocimum basilicum* e testemunha. Colunas com a mesma letra maiúscula não diferem entre as populações e letras minúsculas não apresentam diferença entre os tratamentos pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

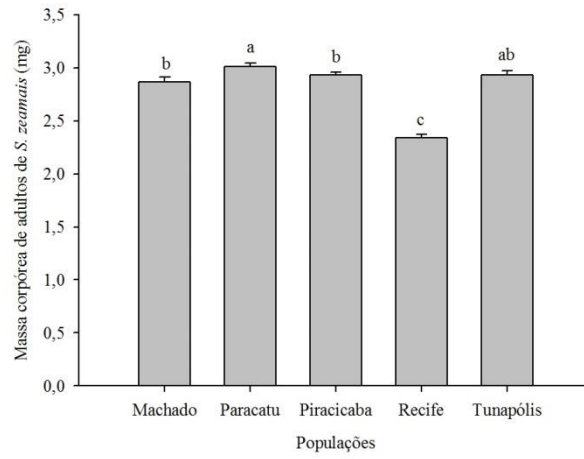


Figura 4. Média ( $\pm$ EP) da massa corpórea de adultos de diferentes populações de *Sitophilus zeamais*. Colunas contendo a mesma letra não diferem pelo teste de Kruskal-Wallis.