

ATIVIDADE INSETICIDA DE ÓLEOS ESSENCIAIS SOBRE *Sitophilus zeamais* MOTS.

(COLEOPTERA: CURCULIONIDAE)

por

RODRIGO LEANDRO BRAGA DE CASTRO COITINHO

(Sob Orientação do Professor José Vargas de Oliveira)

RESUMO

Os óleos essenciais constituem alternativa promissora para o manejo de *Sitophilus zeamais* em milho armazenado. Neste trabalho avaliou-se a toxicidade, a repelência e a persistência de óleos essenciais em milho armazenado, utilizando-se *S. zeamais*. As CL_{50s} dos óleos de folhas de *Piper hispidinervum*, *Eugenia uniflora*, *Cinnamomum zeylanicum*, composto eugenol, *Piper marginatum*, *Schinus terebinthifolius*, e *Melaleuca leucadendron* e de frutos verdes de *S. terebinthifolius*, nos testes de contato e ingestão, foram estimadas em 1,0; 11,6; 14,2; 14,8; 21,1; 57,7; 75,8 e 98,8 $\mu\text{L}/40\text{g}$ de milho, respectivamente. Nos testes de fumigação para adultos, as CL_{50s} variaram entre 94,7 a 0,53 $\mu\text{L}/\text{L}$ de ar e as razões de toxicidade estiveram entre 178,7 a 2,0. Na fumigação para larvas de 7 a 14 dias de idade, apenas o eugenol não diferiu da testemunha, quanto ao número de adultos emergidos. Em larvas com 7 a 21 dias, os óleos de frutos verdes de *S. terebinthifolius* e de *P. hispidinervum* apresentaram o melhor desempenho, em relação à testemunha. As percentagens de repelência variaram entre 97,4 (*P. marginatum* e *C. zeylanicum*) a 81% (*P. hispidinervum*). No período inicial de armazenamento (logo após a impregnação), as mortalidades de *S. zeamais* variaram entre 93,8 (*P. hispidinervum*, *Melaleuca leucadendron* e eugenol) a 100% (*E. uniflora*, frutos verdes de *S. terebinthifolius* e *P. marginatum*). A partir dos 30 dias, as mortalidades, de um modo geral, decresceram, com exceção de *P. marginatum*

(92,2%). De acordo com as equações de regressão ajustadas para o número de *S. zeamais* emergidos em todo o período de armazenamento, não houve significância estatística para os óleos de *S. terebinthifolius* e de *P. marginatum* e testemunha. Em relação à média geral, o óleo de *P. marginatum* foi o mais persistente, proporcionando emergência de apenas 0,30 insetos, diferindo dos demais óleos e da testemunha.

PALAVRAS-CHAVE: Inseticidas botânicos, gorgulho do milho, toxicidade, repelência, persistência

INSECTICIDAL ACTIVITY OF ESSENTIAL OILS ON *Sitophilus zeamais* MOTS.

(COLEOPTERA: CURCULIONIDAE)

by

RODRIGO LEANDRO BRAGA DE CASTRO COITINHO

(Under the Direction of Professor José Vargas de Oliveira)

ABSTRACT

The essential oils are promising alternative for the management of *Sitophilus zeamais* in stored maize. In this investigation, toxicity, repellency and persistence of essential oils in stored maize were evaluated using *S. zeamais*. The oil's LC_{50s} from leaves of *Piper hispidinervum*, *Eugenia uniflora*, *Cinnamomum zeylanicum*, eugenol compound, *Piper marginatum*, *Schinus terebinthifolius* and *Melaleuca leucadendron* and green fruits of *S. terebinthifolius*, in the tests of contact and ingestion were estimated at 1.0; 11.6; 14.2; 14.8; 21.1; 57.7, 75.8 and 98.8 µL/40g maize, respectively. In fumigation tests for adults, the LC_{50s} ranged from 94.7 to 0.53 µL/L of air and the toxicity ratios ranged from 178.7 to 2.0. In the fumigation for larvae with 7 to 14 days of age, only eugenol did not differ from control concerning number of adults emerged. In larvae with 7 to 21 days, the oils of green fruits from *S. terebinthifolius* and *P. hispidinervum* showed the best performance in relation to the control. Percentages of repellency varied between 97.4 (*P. marginatum* and *C. zeylanicum*) to 81% (*P. hispidinervum*). In the initial storage period (after impregnation), mortality of *S. zeamais* ranged between 93.8 (*P. hispidinervum*, *Melaleuca leucadendron* and eugenol) to 100% (*E. uniflora*, green fruits of *S. terebinthifolius* and *P. marginatum*). From 30 days, mortality generally decreased, except for *P. marginatum* (92.2%). According to the regression equations adjusted for the number of *S. zeamais* emerged throughout

the storage period, there was no statistical significance for the oils of *S. terebinthifolius* and *P. marginatum* and control. For the average, the oil from *P. marginatum* was the most persistent, providing emergency of only 0.30 insects differing from the other oils and the control.

KEY WORDS: Botanical insecticide, maize weevil, toxicity, repellency, persistence

ATIVIDADE INSETICIDA DE ÓLEOS ESSENCIAIS SOBRE *Sitophilus zeamais* MOTS.

(COLEOPTERA: CURCULIONIDAE)

por

RODRIGO LEANDRO BRAGA DE CASTRO COITINHO

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 – 2009

ATIVIDADE INSETICIDA DE ÓLEOS ESSENCIAIS SOBRE *Sitophilus zeamais* MOTS.

(COLEOPTERA: CURCULIONIDAE)

por

RODRIGO LEANDRO BRAGA DE CASTRO COITINHO

Comitê de Orientação:

José Vargas de Oliveira - UFRPE

Manoel Guedes Corrêa Gondim Júnior - UFRPE

Claúdio Augusto Gomes da Câmara - UFRPE

ATIVIDADE INSETICIDA DE ÓLEOS ESSENCIAIS SOBRE *Sitophilus zeamais* MOTS.

(COLEOPTERA: CURCULIONIDAE)

por

RODRIGO LEANDRO BRAGA DE CASTRO COITINHO

Orientador: _____
José Vargas de Oliveira – UFRPE

Examinadores: _____
Edmilson Jacinto Marques – UFRPE

Cláudio Augusto Gomes da Câmara – UFRPE

Carlos Romero Ferreira de Oliveira - UAST/UFRPE

José Eudes de Moraes Oliveira – EMBRAPA SEMI-ÁRIDO

DEDICATÓRIA

À minha esposa Esterliana Ferreira Maciel de Castro

Ofereço.

Aos meus queridos pais Guy de Castro Coitinho (In Memoriam) e Nilce Braga de Castro Coitinho, por seu amor, por sua dedicação e incentivo a mim ofertado ao longo de toda a minha vida.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal Rural de Pernambuco, pela oportunidade de realização deste curso.

À Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE) pela concessão da bolsa.

À Deus, por ter me iluminado e me guiado ao longo destes anos de vitórias, e por ser o motivo de minha existência e fé.

Aos meus pais Guy de Castro Coitinho (In Memoriam) e Nilce Braga de Castro Coitinho pelo seu amor e carinho, por toda atenção e esforços que até hoje vem fazendo, sendo peça fundamental para o meu sucesso.

À minha esposa pelos anos de resignação, paciência, apóio e amor demonstrado a mim.

Ao Professor José Vargas de Oliveira, pela orientação, ensinamentos, dedicação e pela amizade construída ao longo de vários anos de pesquisa, pois sem ele nada disso teria sido possível.

Ao Comitê de Orientação pelo apoio na realização da Tese.

À todos os professores e do PPGEA pelos valiosos ensinamentos.

Aos meus familiares, pela nossa convivência e por acreditarem no meu sucesso.

À amiga Zilândia que foi fundamental no auxílio da manutenção da criação de insetos e aos amigos Lígia, Alicely, Alberto e principalmente Solange pela substancial ajuda na análise estatística.

Aos amigos do Laboratório de Entomologia Agrícola: Alicely, Alberto, Cynara, Lígia, Mariana, Nívea, Solange e Zilândia.

À todas as pessoas que ajudaram e apoiaram durante esses anos de trabalho.

SUMÁRIO

	Páginas
AGRADECIMENTOS	ix
CAPÍTULOS	
1 INTRODUÇÃO	01
LITERATURA CITADA.....	04
2 TOXICIDADE POR FUMIGAÇÃO, CONTATO E INGESTÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS EM <i>Sitophilus zeamais</i> MOTS. (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE).....	08
RESUMO	09
ABSTRACT	10
INTRODUÇÃO	11
MATERIAL E MÉTODOS	12
RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
AGRADECIMENTOS.....	20
LITERATURA CITADA.....	20
3 EFEITO REPELENTE E PERSISTÊNCIA DE ÓLEOS ESSENCIAIS EM MILHO ARMAZENADO, SUBMETIDO À INFESTAÇÃO DE <i>Sitophilus zeamais</i> MOTS. (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE)	30
RESUMO	31
ABSTRACT	32
INTRODUÇÃO	33

MATERIAL E MÉTODOS	34
RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
AGRADECIMENTOS.....	43
LITERATURA CITADA.....	43

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é um produto agrícola de elevada expressão econômica e social, sendo utilizado principalmente na alimentação humana e animal, bem como na produção industrial de amido, óleo, farinha, glicose, produtos químicos, rações animais e na elaboração de formulações alimentícias (Pinazza 1993). A produção brasileira de milho na safra 2007 foi de 51.830.670 toneladas, para uma área cultivada de 13.817.340 ha (IBGE 2008).

O gorgulho, *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae), é uma das principais pragas primárias internas do milho armazenado. A infestação inicia-se no campo e continua nas unidades de armazenamento, sendo a postura efetuada no interior dos grãos, onde também as larvas e pupas se desenvolvem. As perdas que ocorrem durante o armazenamento podem ser de natureza quantitativa e qualitativa (Gallo *et al.* 2002, Lorini 2003), no entanto aquelas causadas aos grãos de milho armazenados a granel em silos, graneleiros e sacarias atingem cerca de 2%, devido à adoção de tecnologia adequada no controle de pragas (Santos *et al.* 1994). Entretanto, no armazenamento de milho em espiga, utilizando-se estruturas rústicas, como paióis de madeira, as perdas de peso causadas por insetos e roedores têm atingido cerca de 7% da produção total de milho no Brasil (Santos & Mantovani 1997). Essas perdas podem ocorrer antes, durante e após a colheita, no transporte, industrialização e armazenamento dos grãos, sendo influenciada por diversos fatores, como a precária estrutura das unidades armazenadoras, o alto teor de umidade, impureza dos grãos e a presença de pragas (Tavares 2002).

Os adultos de *S. zeamais* são de coloração castanho-escura com quatro manchas avermelhadas nos élitros, bastante visíveis logo após a emergência, cabeça prolongada para frente

com rostro recurvado, onde se inserem as peças bucais (Gallo *et al.* 2002, Lorini 2003). As larvas são de coloração amarelo-clara com a cabeça escura; as pupas são brancas e brilhantes, com o rostro e tecas alares bem visíveis (Lorini 1998, FEPAGRO 1999, Gallo *et al.* 2002).

O controle de *S. zeamais*, em grãos de milho armazenado, tem sido comumente realizado em larga escala, utilizando-se inseticidas sintéticos protetores e fumigantes, que, apesar de eficientes e econômicos, podem provocar efeitos indesejáveis, como intoxicações aos aplicadores, a 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). Assim, novas alternativas de controle têm sido testadas, utilizando-se compostos menos tóxicos, de menor custo, acessíveis e adequados aos princípios do Manejo Integrado de Pragas.

Diversas pesquisas têm demonstrado a viabilidade do uso de compostos bioativos obtidos de plantas no controle de pragas de grãos armazenados, devido a sua eficiência, geralmente de baixo custo, segurança para os aplicadores, consumidores e meio ambiente (Shaaya *et al.* 1997, Huang *et al.* 2000, Bouda *et al.* 2001, Demissie *et al.* 2008). Podem ser utilizados como pós, extratos aquosos ou orgânicos, óleos essenciais e óleos emulsionáveis, apresentando toxicidade por contato, ingestão e fumigação (Karr & Coats 1988, Rajendran & Sriranjini 2008). Estes produtos provocam mortalidade, repelência, deterrência na alimentação e oviposição e afetam o crescimento dos insetos (Huang *et al.* 1999, Martinez & Van Emden 2001). A toxicidade de óleos essenciais sobre pragas de grãos armazenados é influenciada pela sua composição química, a qual depende do recurso vegetal, estação do ano, condições ecológicas, métodos de extração, tempo de extração e parte da planta utilizada (Lee *et al.* 2001).

Muitos compostos de origem vegetal têm sido isolados, como os terpenóides, limonóides, rocglamidas, furanocumarina, cromenos, alcalóides e acetogeninas, apresentando propriedades

inseticidas (Vieira *et al.* 2007). Os monoterpenos e seus análogos são os mais importantes, estando presentes em grande abundância em óleos essenciais de muitas plantas superiores. São compostos tipicamente lipofílicos, tendo alto potencial para interferências tóxicas em processos bioquímicos básicos, com conseqüências fisiológicas e comportamentais em insetos (Prates & Santos 2002).

O efeito de substâncias de origem vegetal tem sido demonstrado no controle de *S. zeamais*, *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) e em outras pragas de importância econômica de grãos armazenados. Os óleos fixos de palma, *Elaeis guineensis* Jacq. (Arecaceae) reduziram a emergência de adultos de *S. zeamais* em grãos de milho, durante seis meses de armazenamento (Abulude *et al.* 2007). Os óleos extraídos de *Cocos nucifera* L. (Arecaceae), amendoim *Arachis hypogaea* L. (Fabaceae) e soja *Glycine max* (L.) Merr. (Fabaceae), na concentração de 10 mL/kg de grãos de milho, causaram respectivamente, 98%, 100% e 100% de mortalidade de adultos de *S. zeamais* (Obeng-Ofori & Amiteye 2005). Os óleos essenciais de *Piper aduncum* L. e *Piper hispidinervum* C.DC. (Piperaceae) foram tóxicos por contato, aplicação tópica e fumigação para adultos de *S. zeamais* (Estrela *et al.* 2006). Adultos de *S. zeamais*, também, foram controlados por extratos n-hexânicos e metanólicos da erva medicinal chinesa *Stemona sessilifolia* (Miquel) (Stemonaceae), em teste de aplicação tópica (Liu *et al.* 2007), bem como pelos óleos essenciais de *Vernonia amigdalya* Del. (Compositae), em teste de contato e ingestão (Asawalâm & Hassanali 2006), frutos inteiros e fibras dos frutos de *Xylopia aethiopica* (Dunal) (Annonaceae), em teste de contato e ingestão (Kouninki *et al.* 2007) e folhas frescas de *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. & K. Schum (Bignoneaceae), por fumigação e aplicação tópica (Fazolin *et al.* 2007).

Óleos essenciais de *Eucalyptus intertexta* R. T. Baker (Myrtaceae), *Eucalyptus sargentii* Maiden e *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh apresentaram efeito fumigante em adultos de *S. oryzae*, com CL_{50s} de 6,93, 12,91 e 12,06 µL/L de ar, respectivamente, após 24 horas de

exposição (Negahban & Moharramipour 2007). Shaaya *et al.* (1991) avaliaram a toxicidade fumigante de 28 óleos essenciais e 10 de seus componentes majoritários, contra quatro espécies de coleópteros de grãos armazenados, e em revisão recente, Rajendran & Sriranjini (2008) referiram-se sobre a importância do uso da fumigação com produtos de origem vegetal no controle de pragas de grãos armazenados.

Face à importância econômica de *S. zeamais* para o milho armazenado e a necessidade de utilização de métodos alternativos mais seguros sob o ponto de vista ecológico, e compatíveis com o manejo integrado de pragas, é justificável a realização de estudos que avaliem o potencial inseticida de óleos essenciais no controle dessa praga. O presente trabalho foi realizado com os seguintes objetivos: (i) identificar os compostos majoritários; (i) avaliar a toxicidade por contato e ingestão de óleos essenciais em adultos de *S. zeamais* e os efeitos fumigante sobre adultos e larvas; (iii) avaliar o efeito repelente e a persistência sobre adultos.

Literatura Citada

- Abulude, F.O., M.O. Ogunkoyal, R.F. Ogunleye, A.O. Akinola & A.O. Adeyemi. 2007.** Effect of palm oil in protecting stored grains from *Sitophilus zeamais* and *Callosobruchus maculatus*. J. Entomol. 4: 393-396.
- Asawalam, E.F., A. Hassanali. 2006.** Constituents of the essential oil of *Vernonia amygdalina* as maize weevil protectants. Trop. Subtrop. Agroec. 6: 95-102.
- Bouda, H., L.A. Tapondjou, D.A. Fontem & M.Y.D. Gumedzoe. 2001.** Effect of essential oils from leaves of *Ageratum conyzoides*, *Lantana camara* and *Chromolaena odorata* on the mortality of *Sitophilus zeamais* Mots., 1865 (Coleoptera, Curculionidae). J. Stored Prod. Res. 37: 103-109.
- Demissie, G., A. Teshome, D. Abakemal, A. & Tadesse. 2008.** Cooking oils and “Triplex” in the control of *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). J. Stored Prod. Res. 44: 173-178.

- Estrela, J.L.V., M. Fazolin, V. Catani, M.R. Alécio & M.S. Lima. 2006.** Toxicidade de óleos essenciais de *Piper aduncum* e *Piper hispidinervum* em *Sitophilus zeamais*. *Pesqu. Agropecu. Bras.* 41: 217-222.
- Fazolin, M., J.L.V. Estrela, V. Catani, M.R. Alécio & M.S. Lima. 2007.** Atividade inseticida do óleo de *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. & K. Schum (Bignoneaceae) sobre *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae). *Acta Amazonica* 37: 599-604.
- FEPAGRO. 1999.** Recomendações técnicas para a cultura de milho no Estado do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 144p. (Boletim Técnico, 6).
- 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. Vendramim, L.C. Marchini, J.R.S. Lopes & C. Omoto. 2002.** Entomologia agrícola. Piracicaba, FEALQ, 920p.
- Huang, Y., S.H. Ho & R.M. Kini. 1999.** Bioactivities of safrole and isosafrole on *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *J. Econ. Entomol.* 92 : 676-683.
- Huang, Y., S.L. Lam & S.H. Ho. 2000.** Bioactivities of essential oil from *Ellateraria cardamomum* (L.) Maton. to *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium castaneum* (Herbst). *J. Stored Prod. Res.* 36: 107-117.
- IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). 2008.** Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso: 26/nov./2008.
- Karr, L.L. & J.R. Coats. 1988.** Insecticidal properties of d-limonene. *J. Pestic. Sci.* 13: 287-289.
- 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.E., B.H. Lee, W.S. Shoi, B.S. Park, J.G. Kim & B.C. Campbel. 2001.** Fumigant toxicity of volatile natural products from Korean species and medicinal plants towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.). *Pest Manage. Sci.* 57: 548-553.

- Liu, Z.L., S.H. Goh & S.H. Ho. 2007.** Screening of Chinese medicinal herbs for bioactivity against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium castaneum* (Herbst). J. Stored Prod. Res. 43: 290-296.
- Lorini, I. 1998.** Controle integrado de pragas de grãos armazenados. Passo Fundo: EMBRAPA-CNPT, 60p. (EMBRAPA-CNPT. Documento, 48).
- Lorini, I. 2003.** Manual técnico para o manejo integrado de pragas de grãos de cereais armazenados. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 80p.
- Martinez, S.S. & H.F. Van Emden. 2001.** Growth disruption, abnormalities and mortality of *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae) caused by azadirachtin. Neotrop. Entomol. 30: 113-124.
- Negahban, M. & S. Moharramipour. 2007.** Fumigant toxicity of *Eucalyptus intertexta*, *Eucalyptus sargentii* and *Eucalyptus camaldulensis* against stored-product beetles. J. Appl. Entomol. 131: 256-261.
- 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.
- Pinazza, L.A. 1993.** Perspectivas da cultura do milho e do sorgo do Brasil, p.1-10. In L.T. Bull & H. Cantarella (eds.), Cultura do milho: fatores que afetam a produtividade. Piracicaba, POTAFOS, 301p.
- Prates, H.T. & J.P. Santos. 2002.** Óleos essenciais no controle de pragas de grãos armazenados, p. 443-461. In I. Lorini, L.H. Miiike & V.M. Senssel (eds.), Armazenagem de grãos. Campinas, Instituto Bio Geneziz, 1000p.
- Rajendran, S. & V. Sriranjini. 2008.** Plant products as fumigants for stored-product insect control. J. Stored Prod. Res. 44: 126-135.
- 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.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.

Santos, J.P. & E.C. Mantovini. 1997. Perdas de grãos na cultura do milho: pré-colheita, colheita, transporte e armazenamento. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPS. 40p. (EMBRAPA-CNPS. Circular Técnica, 24).

Shaaya, E., U. Ravid, N. Paster, B. Juven, U. Zisman & V.Pssarev. 1991. Fumigant toxicity of essential oils against for major stored-product insects. J. Chem. Ecol. 17: 499-504.

Shaaya, E., M. Kostjukovski, J. Eilberg & C. Sukprakarn. 1997. Plant oils as fumigants and contact insecticides for the control of stored-product insects. J. Stored Prod. Res. 33: 7-15.

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.

Tavares, M.A.G.C. 2002. Bioatividade da erva-de-santa-maria, *Chenopodium ambrosioides* L. (Chenopodiaceae), em relação a *Sitophilus zeamais* Mots., 1855 (Col.: Curculionidae). 2002. 59f. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

Vieira, P.C., J. Mafezoli & M.W. Biavatti. 2007. Inseticidas de origem vegetal, p.105-120. In A.G. Corrêa & P.C. Vieira (eds.), Produtos naturais no controle de insetos. São Carlos, EdUFSCar, 150p.

CAPÍTULO 2

TOXICIDADE POR FUMIGAÇÃO, CONTATO E INGESTÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS EM *Sitophilus zeamais* MOTS. (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE)

RODRIGO L. B. C. COITINHO¹, JOSÉ V. OLIVEIRA¹, MANOEL G. C. GONDIM JR¹ E CLÁUDIO A.
G. CÂMARA²

¹Departamento de Agronomia-Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco. Av.

Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900, Recife, PE.

²Departamento de Química, Universidade Federal Rural de Pernambuco. Av. Dom Manoel de

Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900, Recife, PE.

¹Coitinho, R.L.B.C., J.V. Oliveira, M.G.C. Gondim Jr. & C.A.G Câmara. Toxicidade por fumigação, contato e ingestão de óleos essenciais em *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). Ciência e Agrotecnologia.

RESUMO - *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae) é uma das principais pragas do milho armazenado no Brasil. O controle é feito, comumente, utilizando-se medidas de higienização e limpeza, inseticidas sintéticos fumigantes e protetores. A busca por produtos menos tóxicos, biodegradáveis e seguros do ponto de vista ecológico, é muito bem aceita pela sociedade. Os objetivos do presente trabalho foram testar a toxicidade de contato e ingestão de óleos essenciais e do composto eugenol em adultos de *S. zeamais*, e os efeitos fumigante em adultos e larvas. As CL_{50s} dos óleos de folhas de *Piper hispidinervum*, *Eugenia uniflora*, *Cinnamomum zeylanicum*, composto eugenol, *Piper marginatum*, *Schinus terebinthifolius*, e *Melaleuca leucadendron* e de frutos verdes de *S. terebinthifolius*, nos testes de contato e ingestão, foram estimadas em 1,0; 11,6; 14,2; 14,8; 21,1; 57,7; 75,8 e 98,8 µL/40g de milho, respectivamente. As razões de toxicidade (RT) variaram entre 1,3 a 98,8. Na fumigação em adultos, as CL_{50s} dos óleos variaram de 0,53 a 94,7 µL/L de ar, obedecendo à seguinte ordem decrescente de toxicidade: *P. hispidinervum* > *P. aduncum* > *S. terebinthifolius* > frutos verdes de *S. terebinthifolius* > *P. marginatum* > eugenol. As RT variaram entre 2,0 a 178,7. Na fumigação em larvas de 7 a 14 dias de idade, apenas o eugenol não diferiu da testemunha, quanto ao número de adultos emergidos. Em larvas com 7 a 21 dias, os óleos de frutos verdes de *S. terebinthifolius* e de *P. hispidinervum* apresentaram o melhor desempenho, em relação à testemunha.

PALAVRAS-CHAVE: Gorgulho do milho, bioatividade, plantas inseticidas, concentrações letais

TOXICITY FOR FUMIGATION, CONTACT AND INGESTION OF ESSENTIAL OILS
ON *Sitophilus zeamais* MOTS. (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE)

ABSTRACT - *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae) is a major pest of stored maize in Brazil. The control is made, usually, using measures of hygiene and cleanliness, synthetic insecticides and fumigants protectors. The search for less toxic products, biodegradable and safe from the ecological point of view is very well accepted by society. The objectives of this study were to test the toxicity of contact and ingestion of essential oils and eugenol compound in adults of *S. zeamais*, and the fumigant effects in adults and larvae. The oil's LC_{50s} from leaves of *Piper hispidinervum*, *Eugenia uniflora*, *Cinnamomum zeylanicum*, eugenol compound, *Piper marginatum*, *Schinus terebinthifolius* and *Melaleuca leucadendron* and green fruits of *S. terebinthifolius* in tests of contact and ingestion were estimated at 1.0; 11.6, 14.2, 14.8, 21.1, 57.7, 75.8 and 98.8 µL/40g maize, respectively. The toxicity ratios (TR) ranged from 1.3 to 98.8. In adults' fumigation, the LC_{50s} ranged from 0.53 to 94.7 µL/L air, in the following order of toxicity: *P. hispidinervum* > *P. aduncum* > *S. terebinthifolius* > green fruits of *S. terebinthifolius* > *P. marginatum* > eugenol. The TR ranged from 2.0 to 178.7. In fumigation of larvae with 7 to 14 days of age, only eugenol did not differ from control concerning the number of adults emerged. In larvae with 7 to 21 days, the oils of green fruits of *S. terebinthifolius* and *P. hispidinervum* showed the best performance in relation to the control.

KEY WORDS: Weevil maize, bioactivity, plant insecticides, lethal concentrations

Introdução

O controle de pragas com inseticidas de origem vegetal tem despertado um grande interesse da sociedade, com a segurança e seletividade no controle de pragas (Viegas Júnior 2003, Ribeiro *et al.* 2003, Benhalima *et al.* 2004). O Brasil com tanta pluralidade edafo-climática abriga uma grande diversidade de plantas. Famílias botânicas, como Chenopodiaceae, Verbenaceae, Compositae, Piperaceae, Asteraceae, Lauraceae, Myrtaceae, entre outras, possuem compostos secundários bioativos com propriedades inseticidas, apresentando toxicidade por ingestão, contato e fumigação (Tapondjou *et al.* 2002, Tavares & Vendramim 2005, Estrela *et al.* 2006, Isman 2006, Fazolin *et al.* 2007a, Rajendran & Sriranjini 2008). Esses compostos provocam diversos efeitos sobre pragas, incluindo as de grãos armazenados, como mortalidade, repelência, deterrência na alimentação e oviposição e redução no crescimento (Procópio & Vendramim 2003, Fields 2006, Akob & Ewete 2007, Kabeh & Jalingo 2007).

Muitas plantas e compostos biativos extraídos têm sido testados e se mostrado promissores para o manejo de *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae), como extratos de *Nicotiana tabacum* L. (Solanaceae), *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. (Poaceae) e *Citrus cinensis* (L.) Osbeck (Rutaceae) (Almeida *et al.* 2005); cumarina, presente em *Ageratum conyzoides* L. (Asteraceae) (Moreira *et al.* 2007); óleo essencial extraído de folhas frescas de *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. & K. Schum (Bignoneaceae) (Fazolin *et al.* 2007a); cimol, obtido do óleo essencial de *Cupressus sempervirens* L. (Cupressaceae) e *Eucalyptus saligna* Sm. (Myrtaceae) (Tapondjou *et al.* 2005); óleo essencial de *Elletaria cardamomum* (L.) Maton. (Zingiberaceae); eugenol, isoeugenol e metileugenol (Huang *et al.* 2002); aldeído cinâmico (Huang & Ho 1998); óleos essenciais de *Piper aduncum* L. (Piperaceae) e *Piper hispidinervum* C.DC. (Piperaceae) (Estrela *et al.* 2006).

Rajendran & Sriranjini (2008) publicaram uma revisão sobre a toxicidade por fumigação de óleos essenciais de plantas das famílias Apiaceae, Lamiaceae e Myrtaceae e outros compostos em pragas de grãos armazenados, principalmente das espécies *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae), *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrichidae), *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) e *S. zeamais*.

Considerando-se a importância econômica de *S. zeamais* como praga do milho e outros cereais armazenados, o desenvolvimento de pesquisas com inseticidas botânicos compatíveis com o manejo integrado de pragas é muito oportuno, visando atenuar os efeitos indesejáveis do uso de inseticidas sintéticos. Assim, neste trabalho estudou-se a bioatividade de óleos essenciais em *S. zeamais*, abordando os seguintes aspectos: (i) avaliação da toxicidade de contato e ingestão em adultos e os efeitos fumigante sobre adultos e larvas.

Material e Métodos

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

Criação de *S. zeamais*. Os insetos foram criados em sementes de milho cv. Caatingueiro, obtidas da Embrapa Semi-Árido, Petrolina, PE, à temperatura de $28,7 \pm 1,12$ °C, umidade relativa de $61,3 \pm 2,6\%$ e fotofase de 12 horas, 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 F₁. Efetuou-se este

procedimento por sucessivas gerações, de modo a assegurar a quantidade de adultos necessários para a execução dos experimentos.

Coleta do Material Vegetal. Folhas e frutos de *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae), *Cinnamomum zeylanicum* Blume (Lauraceae), *Schinus terebinthifolius* Raddi. (Anacardiaceae), *Melaleuca leucadendron* L. (Myrtaceae) e *Piper marginatum* Jacq. (Piperaceae) foram coletados em Recife e Olinda, PE. Como essas espécies pertencem à flora pernambucana, há interesse em avaliar o seu potencial inseticida. O material foi identificado pela professora Margareth Ferreira de Sales do Departamento de Biologia da UFRPE e as exsicatas encontram-se depositadas no Herbário Vasconcelos Sobrinho da UFRPE, sob os números 48490, 48602, 49259, 48489, 48210, respectivamente.

Obtenção dos Óleos Essenciais. O material vegetal coletado foi submetido à hidrodestilação por 2h no Laboratório de Produtos Naturais Bioativos do Departamento de Química da UFRPE, e os óleos essenciais extraídos através de um aparelho tipo Clevenger modificado, separados da água, secos com Na₂SO₄ anidro e armazenados à baixa temperatura em recipientes escuros hermeticamente fechados. O rendimento dos óleos foi calculado com base no peso do material fresco. Também foram utilizados o composto eugenol e os óleos essenciais de *P. aduncum* e *P. hispidinervum* obtidos da Indústria Farmacêutica Ltda - PR, da Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC - PA) e da Embrapa - Acre, respectivamente.

Identificação por Cromatografia Gasosa e Espectrometria de Massas (CG/EM). A análise cromatográfica (CG) dos óleos essenciais obtidos de plantas coletadas em Recife e Olinda foi realizada na Central Analítica do Departamento de Química da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), utilizando-se um Hewlett Packard 5890 SERIES, equipado com detector de ionização (FID) e J & W Scientific DB-5 com coluna de capilaridade com sílica (30m x 0,25mm x 0,25µm). Programou-se a temperatura da coluna para 40°C por 2 min, variando de 220°C à 4°C

min⁻¹, aumentando para 280°C à 20°C min⁻¹ para integração. As temperaturas do injetor e detector foram de 250°C e 280°C, respectivamente. Utilizou-se o hidrogênio como carreador gasoso, com um fluxo de 1,5 mL min⁻¹, (1:10). Uma solução de 1,5µL de aproximadamente 10 mg do óleo e etil-acetato foi ministrada. O índice de retenção foi obtido, aplicando-se uma amostra de óleo com mistura de hidrocarbonetos lineares C₁₁-C₂₄ (índice de retenção variando de 900 à 1099 obtido por extrapolação). Efetuou-se a análise por CG/EM dos óleos utilizando aparelho Shimadzu QP5050 quadrupole com a mesma coluna e temperaturas utilizadas no experimento com GC. Usou-se o hélio como carreador gasoso e fluxo de 1,5 mL min⁻¹, (1:50). Aplicou-se 1µL de 1/100 de solução diluída em acetato de etila. O espectro de massa foi obtido à 70eV e a velocidade de leitura foi 0,5, scan s⁻¹ de m/z 40 à 650. A identificação dos compostos majoritários foi realizada com base na comparação dos índices de retenção (Van Den Doll & Kratz 1963), bem como por comparação computadorizada do espectro de massa obtido com aqueles contidos na biblioteca de espectro de massas do NIST do banco de dados GC/MS (Adams 1995). Os compostos de *P. aduncum* e *P. hispidinervum* foram identificados nos locais de sua procedência. Os compostos majoritários presentes nos óleos essenciais constam na Tabela 1.

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, durante sete dias, 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 10 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 28,1 ± 1,4 °C, umidade relativa de 58,4 ± 3,47%

e fotofase de 12 horas. Foram utilizados os seguintes tratamentos nas concentrações em $\mu\text{L}/40\text{g}$ de milho: folhas de *P. hispidinervum* (0; 1,2; 1,6; 2,4; 2,8); composto eugenol (0; 7; 9; 11; 15; 17); folhas de *P. marginatum* (0; 20; 25; 30; 35; 40); frutos verdes de *S. terebinthifolius* (0; 85; 90; 95; 100); folhas de *S. terebinthifolius* (0; 45; 50; 60; 70; 80); folhas de *E. uniflora* (0; 11,1; 12,9; 19,8; 35); folhas de *M. leucadendron* (0, 40; 60; 80; 100; 120) e folhas de *C. zeylanicum* (0; 10; 15; 25; 30). As concentrações foram definidas em testes preliminares. Os óleos essenciais e eugenol 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 40g de milho foi infestada com 16 adultos não sexados de *S. zeamais* com 0 a 15 dias de idade. Após 48 horas de confinamento, foram determinadas as percentagens de mortalidade (Coitinho *et. al.* 2006).

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

Fumigação com Óleos Essenciais em Adultos de *S. zeamais*. Os experimentos foram conduzidos à temperatura de $27,9 \pm 1,3$ °C, umidade relativa de $62,1 \pm 2,8\%$ e fotofase de 12 h. Avaliou-se o efeito fumigante de óleos essenciais sobre os 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. Com base em testes preliminares foram utilizados os tratamentos nas seguintes concentrações, em $\mu\text{L}/\text{L}$ de ar: folhas de *P. hispidinervum* (0; 0,4; 0,8; 1,2 e 1,6); folhas de *P. aduncum* (0; 4; 12; 20; 32; 40; 44); eugenol (0; 66; 82; 98; 114; 130; 146); folhas de *P. marginatum* (0; 32; 40; 48; 64; 72; 80 e 88); frutos verdes de *S. terebinthifolius* (0;

36; 38; 40; 44; 46; 48 e 50) e folhas de *S. terebinthifolius* (0; 34; 35; 36; 37; 38; 39 e 40). Os óleos foram aplicados com pipetador automático, em papéis de filtro com 18 cm² de área, fixados na superfície inferior da tampa dos recipientes. Para evitar o contato direto dos óleos com os insetos, utilizou-se tecido poroso (filó), 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 de PVC e fita adesiva. Decorridas 48 horas após a montagem dos experimentos, avaliou-se a porcentagem de mortalidade. Foram efetuados experimentos individuais para cada óleo essencial e eugenol, no delineamento inteiramente casualizado com no mínimo cinco tratamentos e quatro repetições.

As concentrações letais (CL_{50s}) foram determinadas pelo programa computacional POLO-PC (LeOra Software 1987). A razão de toxicidade (RT) foi obtida através do quociente entre a CL₅₀ do óleo essencial que apresentou menor toxicidade e as CL_{50s} de eugenol e dos óleos restantes.

Fumigação com Óleos Essenciais em Larvas de *S. zeamais*. Os experimentos foram conduzidos à temperatura de 26,8 ± 1,1 °C, umidade relativa de 59,2 ± 2,3% e fotofase de 12 h. A parcela foi constituída de 40g de sementes de milho, cultivar Caatingueiro, acondicionadas em recipiente de plástico com tampa perfurada, permitindo trocas gasosas com o exterior, a qual foi infestada com 16 adultos não sexados de *S. zeamais* com 0 a 15 dias de idade, durante sete dias para efetuarem a postura, sendo em seguida retirados (Coitinho *et al.* 2006). Decorridos 7 e 14 dias após o descarte dos insetos, efetuaram-se os testes de fumigação, respectivamente, para larvas de *S. zeamais*, segundo adaptação da metodologia de Obeng-Ofori & Amiteye (2005), utilizando-se as câmaras de fumigação dos experimentos com adultos. Decorridas 48 horas após a montagem dos experimentos, as sementes retornaram aos recipientes de plástico. Os adultos emergidos foram quantificados, diariamente, e descartados a partir do 35º dia do confinamento até o término da emergência (cinco dias consecutivos sem emergência). Foram escolhidas as concentrações que

causaram maior percentual de mortalidade para cada óleo essencial e eugenol, nos testes de contato e ingestão. Utilizaram-se os tratamentos em diferentes concentrações, em µL/L de ar: folhas de *C. zeylanicum* (16); folhas de *E. uniflora* (14); folhas de *M. leucadendron* (48); Eugenol (90); folhas de *P. marginatum* (88); folhas de *P. hispidinervum* (2); frutos verdes de *S. terebinthifolius* (50) e folhas de *S. terebinthifolius* (40).

Os experimentos foram conduzidos no delineamento inteiramente casualizado, constando de nove tratamentos e quatro repetições. O número de adultos emergidos em cada tratamento foi transformado em $(x+1)^{0,5}$ e submetido à análise de variância, após atender aos testes de homogeneidade e normalidade. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey HSD ($P < 0,05$), utilizando-se o programa computacional SAS versão 9.00 (SAS Institute 2002).

Resultados e Discussão

Toxicidade de Contato e Ingestão de Óleos Essenciais em Adultos de *S. zeamais*. De acordo com as CL_{50s} , a toxicidade dos tratamentos decresceu na seguinte ordem: folhas de *P. hispidinervum* > folhas de *E. uniflora* > folhas de *C. zeylanicum* > eugenol > folhas de *P. marginatum* > folhas de *S. terebinthifolius* > folhas de *M. leucadendron* > frutos verdes de *S. terebinthifolius*. Por outro lado, as razões de toxicidade foram, respectivamente, 98,8; 8,5; 7,0; 6,7; 4,7; 1,7 e 1,3 em relação ao óleo de frutos verdes de *S. terebinthifolius*. (Tabela 2).

A toxicidade por contato e ingestão de diversos óleos essenciais e de seus componentes químicos mostrou que muitos foram efetivos, como alternativa aos inseticidas sintéticos, no controle de diversas pragas de grãos armazenados (Lee *et al.* 2004, Jayasekara *et al.* 2005, Asawalam *et al.* 2006, Moreira *et al.* 2007, Fazolin *et al.* 2007b). Os óleos essenciais de *P. aduncum* e *P. hispidinervum* também foram tóxicos por contato e ingestão para adultos de *S. zeamais*, porém os autores utilizaram metodologia diferente do presente trabalho (Estrela *et al.*

2006). Os mesmos efeitos foram obtidos com o óleo de *Lippia gracillis* HBK (Verbenaceae) e eugenol (Coitinho *et al.* 2006); folhas de canela (*C. zeylanicum*) (Huang & Ho 1998); folhas frescas de *T. nocturnum*, que apresentou CL₅₀ de 1321,6 ng/g de grãos de milho (Fazolin *et al.* 2007a) e, os óleos de *Vernonia amygdalina* Del. (Compositae) e *Xylopiya aethiopica* (Dunal) (Annonaceae), respectivamente (Asawalam & Hassanali 2006, Kouninki *et al.* 2007).

Fumigação com Óleos Essenciais em Adultos de *S. zeamais*. As CL_{50s} dos óleos essenciais e eugenol variaram de 0,53 a 94,7 µL/L de ar, tendo as maiores toxicidades sido alcançadas com os óleos de *P. hispidinervum* e *P. aduncum*. As razões de toxicidade (RT) apresentaram valores entre 178,7 e 2,0 (Tabela 3).

É muito provável que o desempenho de *P. hispidinervum* tenha sido decorrente da sua alta volatilidade, bem como pela presença do alilbenzeno safrol, como composto majoritário, concordando com Fazolin *et al.* (2007b). Enquanto a toxicidade de *P. aduncum* pode ser atribuída ao dilapiol, lignina presente em grande quantidade nesta planta (Bernard *et al.* 1995). A associação das ligninas ao grupo metilenedioxidofenil provoca inibição da monooxigenase (enzima detoxificante) dependente do citocromo P450 (Mukerjee *et al.* 1979, Bernard *et al.* 1990). O efeito inseticida do dilapiol pode também estar relacionado à ação de outros compostos bioativos minoritários de *P. aduncum*, como o safrol (Huang *et al.* 1999) e sarisan (Bizzo *et al.* 2001), uma vez que apresentam também na sua estrutura o grupo metilenedioxidofenil (Fazolin *et al.* 2005). A toxicidade por fumigação do metil silicato, principal componente volátil da *Securidaca longepedunculata* Fers (Polygalaceae) (Jayasekara *et al.* 2005), dos óleos essenciais de *E. saligna* e *C. sempervirens* (Tapondjou *et al.* 2005) e do óleo essencial de *E. cardamomum* (Huang *et al.* 2000), também foi comprovada em adultos de *S. zeamais*. Os resultados sobre a toxicidade por fumigação de óleos essenciais e seus constituintes em pragas de grãos armazenados indicam que os adultos são geralmente suscetíveis, enquanto os ovos podem ser tolerantes ou

altamente suscetíveis, dependendo da espécie de inseto e do tipo de óleo essencial ou de seus componentes (Rajendran & Sriranjini 2008).

Em relação à *S. oryzae*, constatou-se também efeito fumigante dos óleos essenciais de *Eucalyptus intertexta* R. T. Baker, *Eucalyptus sargentii* Maiden (Myrtaceae) e *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh (Myrtaceae) (Negahban & Moharramipour 2007), bem como de *Melaleuca fulgens* R. Br. (Myrtaceae) (Lee *et al.* 2004), do ácido propiônico, composto volátil emitido por grãos de cevada *Hordeum vulgare* L. (Poaceae) (Germinara *et al.* 2007), de *Curcuma longa* L. (Zingiberaceae) e de alecrim *Rosmarinus officinalis* L. (Labiatae) (Lee *et al.* 2003).

Fumigação com Óleos Essenciais em Larvas de *S. zeamais*. O número de adultos de *S. zeamais* emergidos de sementes de milho infestadas com larvas de 7 a 14 dias variou entre os óleos essenciais e eugenol, de 1,3 a 8,8 e de 2,5 a 11,8 para larvas de 7 a 21 dias de idade (Tabela 4). Todos os tratamentos, com exceção de eugenol, foram eficientes em relação à testemunha, na redução da emergência de adultos na primeira faixa etária de larvas. Porém, na segunda faixa, os melhores resultados, em relação à testemunha, foram alcançados com os óleos de frutos verdes de *S. terebinthifolius* e de folhas de *P. hispidinervum*. Na testemunha emergiram, respectivamente, 16,5 e 19,0 adultos de *S. zeamais*.

O efeito fumigante de óleos essenciais e seus constituintes químicos, ainda é pouco estudado, em relação às fases imaturas de *S. zeamais*, havendo mais estudos com outras pragas, como *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) e *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidade, Bruchinae). Os resultados indicam que os estágios ativos (adultos e larvas não diapáusicas) são mais suscetíveis que os estágios sedentários (ovos e pupas), devido às diferenças nas taxas respiratórias (Rajendran & Sriranjini 2008).

Extratos de folhas de *N. tabacum* L. e *C. citratus* apresentaram efeitos fumigantes em fases imaturas de *S. zeamais* (Almeida *et al.* 2005). Óleos fixos de amendoim, *Arachis hypogaea* L.

(Fabaceae), soja, *Glycine max* (L.) Merr. (Fabaceae), e coco, *Cocos nucifera* L. (Arecaceae) reduziram a emergência de adultos em grãos de milho infestados com larvas de *S. zeamais* com 7 a 14 dias de idade. No entanto, a eficiência dos óleos decresceu para larvas mais desenvolvidas (Obeng-Ofori & Mitaye 2005).

Os resultados obtidos neste trabalho evidenciam a importância da utilização de óleos essenciais como uma alternativa promissora para o manejo de *S. zeamais* no armazenamento de sementes de milho, principalmente ao nível de produtores de Cultivos Orgânicos e de Agricultura Familiar, pelo fato da liberação desses compostos ser mais fácil de ser obtida, em relação ao registro de inseticidas sintéticos. Os efeitos de contato, ingestão e fumigante, aliados à baixa toxicidade, rápida degradação no ambiente, eficiência no controle de pragas e segurança para os aplicadores e consumidores, reabrem a necessidade da continuidade de pesquisas com óleos essenciais.

Agradecimentos

À FACEPE e CNPq, pelas bolsas concedidas, respectivamente, aos primeiro e segundo autores deste trabalho. Ao Prof. Jorge Braz Torres pelas sugestões e a Alicely Araújo Correia, Alberto Belo Esteves Filho e Solange Maria de França pelos auxílios prestados.

Literatura Citada

- Adams R.P. 1995.** Identification of essential oil component by chromatography/mass spectroscopy. Carol Stream, Allured Publishing Co. 468p.
- 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*. Agropec. Téc. 26: 46-53.
- Asawalam, E.F. & A. Hassanali. 2006.** Constituents of the essential oil of *Vernonia amygdalina* as maize weevil protectants. Trop. Subtrop. Agroec. 6: 95-102.
- Asawalam, E.F., S.O. Emosairue & A. Hassanali. 2006.** Bioactivity of *Xylopi aetiopica* (Dunal) A. Rich essential oil constituents on maize weevil *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). Electron. J. Agric. Food Chem. 5:1195-1204.
- Aslan, İ., H. Özbek, Ö. Çalmasur & 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.
- 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 Morocco. J. Stored Prod. Res. 40: 241-249.
- 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.
- Bernard, C.B., H.G. Krishnamurthy, D. Chauret, T. Durst, B.J.R. Philogene, P. Sanchés-Vindas, C. Hasbaun, L. Poveda, L.S. Roman & J.T. Arnason. 1995.** Insecticidal defenses of piperaceae from the neotropics. J. Chem. Ecol. 21:801-814.
- Bizzo, H.R., D. Lopes, R.V. Abdala, F.A. Pimental, J.A. de Souza, M.V.G. Pereira, L. Bergter & E.F. Guimarães. 2001.** Sarisan from leaves of *Piper hispidinervum* C.DC (long pepper). Flavour Frag. J. 16:113-115.
- Coitinho, R.L.B.C., J.V. Oliveira, M.G.C. Gondim Júnior & C.A.G. Câmara. 2006.** Toxicidade de óleos para adultos de *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera, Curculionidae) em grãos de milho armazenados. Rev. Bras. Armaz. 31: 29-34.
- Estrela, J.LV., M. Fazolin, V. Catani, M.R. Alécio & M.S. Lima. 2006.** Toxicidade de óleos essenciais de *Piper aduncum* e *Piper hispidinervum* em *Sitophilus zeamais*. Pesqu. Agropecu. Bras. 41: 217-222.

- Fazolin, M., J.L.V. Estrela, V. Catani, M.S. Lima & M.R. Alécio. 2005.** Toxicidade do óleo de *Piper aduncum* L. a adultos de *Cerotoma tingomarianus* Bechyné (Coleoptera: Chrysomelidae). Neotrop. Entomol. 34: 485-489.
- Fazolin, M., J.L.V. Estrela, V. Catani, M.R. Alécio & M.S. Lima. 2007a.** Atividade inseticida do óleo de *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. & K. Schum (Bignoneaceae) sobre *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae). Acta Amazonica 37: 599-604.
- Fazolin, M., J.L.V. Estrela, V. Catani, M.R. Alécio & M.S. Lima. 2007b.** 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.
- Fields, P.G. 2006.** Effect of *Pisum sativum* fractions on the mortality and progeny production of nine stored-grain beetles. J. Stored Prod. Res. 42: 86-96.
- Germinara, G.S., G. Rotundo & Cristofaro, A. de. 2007.** Repellence and fumigant toxicity of propionic acid against adults of *Sitophilus granarius* (L.) and *S. oryzae* (L.). J. Stored Prod. Res. 43: 229-233.
- Huang, Y. & S.H. Ho. 1998.** Toxicity and antifeedant activities of Cinnamaldehyde against the grain storage insects, *Tribolium castaneum* (Herbst) and *Sitophilus zeamais* Mots., 1865. J. Stored Prod. Res. 34: 11-17.
- Huang, Y., S.H. Ho & M. Kini. 1999.** Bioactivities of safrole and isosafrole on *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). J. Econ. Entomol. 92 : 676-683.
- Huang, Y., S.L. Lam & S.H. Ho. 2000.** Bioactivities of essential oil from *Ellateraria cardamomum* (L.) Maton. to *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium castaneum* (Herbst). J. Stored Prod. Res. 36: 107-117.
- Huang, Y., S.H. Ho, H.C. Lee & Y.L. Yap. 2002.** Insecticidal properties of eugenol, isoeugenol and methyeugenol and their effects on nutrition of *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). J. Stored Prod. Res. 38: 403-412.

- Isman, M.B. 2006.** Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annu. Rev. Entomol.* 51: 45-66.
- Jayasekara, T.K., P.C. Stevenson, D.R. Hall & S.R. Belmain. 2005.** Effect of volatile constituents from *Securidaca longepedunculata* on insect pests of stored grain. *J. Chem. Ecol.* 31:303-313.
- Kabeh, J.D. & M.G.D.S.S. Jalingo. 2007.** Pesticidal effect of bitter leaf plant *Vernonia amygdalina* (Compositae) leaves and pirimiphos-methyl on larvae of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) and *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *Int. J. Agri. Biol.* 9: 452-454.
- Kouninki, H., T. Hance, F.A. Noudjou, G. Lognay, F. Malaisse, M.B. Ngassoum, P.M. Mapongetsem, 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.
- Lee, B.H., P.C. Annis, Tumaalli, F. & Choi, W.S. 2004.** Fumigant toxicity of essential oils from the Myrtaceae family and 1,8-cineole against 3 major stored-grain insect. *J. Stored Prod. Res.* 40: 553-564.
- LeOra Software. 1987.** POLO-PC: a user's guide to Probit Logit analysis. Leora Software, Berkely, CA.
- Maia, J.G.S., M.G.B. Zohhbi, E.H.A. Andrade, A.S. Santos, M.H.L. Silva, A.I.R. Luz & C.N. Bastos. 1998.** Constituents of the essential oil of *Piper aduncum* L. growing wild in the Amazon region. *Flavour Frag. J.* 13: 269-272.
- Moreira, D.M., M.C. Picanço, L.C.A. Barbosa, R.N.C. Guedes, M.R. Campos, G.A. Silva & J.C. Martins. 2007.** Plant compounds insecticide activity against coleoptera pests of stored products. *Pesqu. Agropecu. Bras.* 42: 909-915.
- Mukerjee, S.K., V.S. Saxena & S.S. Tomar. 1979.** New methylenedioxyphenyl synergists for pyrethrins. *J. Agric. Food Chem.* 27:1209-1211.

- Negahban, M. & S. Moharramipour. 2007.** Fumigant toxicity of *Eucalyptus intertexta*, *Eucalyptus sargentii* and *Eucalyptus camaldulensis* against stored-product beetles. J. Appl. Entomol. 131: 256-261.
- 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.
- Procópio, S.O. & J.D. Vendramim. 2003.** Bioatividade de diversos pós de origem vegetal em relação a *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). Ciên. Agrotec. 27: 1231-1236.
- Rajendran, S. & V. Sriranjini. 2008.** Plant products as fumigants for stored-product insect control. J. Stored Prod. Res. 44: 126-135.
- 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.
- SAS Institute. 2002.** SAS/Stat User's Guide. Cary, NC.
- 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.** Bioatividade da erva-de-santa-maria, *Chenopodium ambrosioides* L. (Chenopodiaceae), sobre *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). Neotrop. Entomol. 34: 319-323.
- 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.

Viegas Júnior, C. 2003. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. *Quim. Nova* 26: 390-400.

Tabela 1. Plantas utilizadas e compostos majoritários extraídos dos óleos essenciais.

Espécie vegetal/Composto	Estrutura	Compostos majoritários	(%)	Fonte
<i>Eugenia uniflora</i>	Folhas	Selina-1,3,7,(11)-trien-8 one	23,4	1
		Selina-1,3,7,(11)-trien-8 one epoxide	10,6	
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	Folhas	Benzyl benzoate	64,4	1
		p-Cymen-7-ol	22,5	
<i>Schinus terebinthifolius</i>	Folhas/Frutos	9-epi-(E)-Cariophyllene	10,1	1
<i>Melaleuca leucadendron</i>	Folhas	(E)-nerolidol	92,5	1
<i>Piper marginatum</i>	Folhas	(Z)-azaroneno	30,5	1
<i>Piper aduncum</i>	Folhas	Dilapiol	73,9	Fazolin <i>et al.</i> 2007b
<i>Piper hispidinervum</i>	Folhas	Safrol	94,7	Maia <i>et al.</i> 1998
Eugenol	-	-	-	2

¹C.A.G. Câmara, dados não publicados.

²Não foi analisado.

Tabela 2. Toxicidade por contato e ingestão de óleos essenciais e eugenol em adultos de *S. zeamais* em sementes de milho. Temp.: $28,1 \pm 1,4$ °C; UR: $58,4 \pm 3,47\%$ e fotofase: 12 horas.

Tratamento	Estrutura vegetal	N	Inclinação \pm EP	CL ₅₀ (IC 95%) μL / 40g	RT ₅₀	χ^2
<i>Piper hispidinervum</i>	Folhas	256	$3,44 \pm 0,68$	1,0 (0,70 – 1,20)	98,8	0,03
<i>Eugenia uniflora</i>	Folhas	256	$3,63 \pm 0,58$	11,6 (9,70 – 13,07)	8,5	1,25
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	Folhas	256	$5,81 \pm 0,61$	14,2 (13,03 – 15,35)	7,0	1,90
Eugenol	Folhas	320	$3,62 \pm 0,56$	14,8 (13,37 – 17,14)	6,7	1,19
<i>Piper marginatum</i>	Folhas	320	$6,44 \pm 0,86$	21,1 (18,99 – 22,70)	4,7	2,83
<i>Schinus terebinthifolius</i>	Folhas	320	$14,98 \pm 1,29$	57,7 (56,08 – 59,40)	1,7	2,14
<i>Melaleuca leucadendron</i>	Folhas	320	$5,52 \pm 0,56$	75,8 (70,83 – 81,05)	1,3	2,45
<i>Schinus terebinthifolius</i>	Frutos verdes	256	$16,19 \pm 3,31$	98,8 (96,19 – 103,75)	-	0,36

N = Número de insetos usados no teste, EP = erro padrão da média, IC = intervalo de confiança, RT = razão de toxicidade, χ^2 = Qui-quadrado (significativo ao nível de 5% de probabilidade).

Tabela.3. Efeito fumigante de óleos essenciais e eugenol em adultos de *S. zeamais*. Temp.: $27,9 \pm 1,3$ °C; UR: $62,1 \pm 2,8\%$ e fotofase: 12 horas.

Tratamento	Estrutura vegetal	N	Inclinação \pm EP	CL ₅₀ (IC 95%) μL / L de ar	RT ₅₀	χ^2
<i>Piper hispidinervum</i>	Folhas	256	$3,04 \pm 0,37$	0,53 (0,44 – 0,61)	178,7	0,32
<i>Piper aduncum</i>	Folhas	384	$2,57 \pm 0,22$	15,1 (13,20 – 17,08)	6,2	2,42
<i>Schinus terebinthifolius</i>	Folhas	448	$21,80 \pm 2,46$	36,4 (35,96 – 36,84)	2,6	1,75
<i>Schinus terebinthifolius</i>	Frutos verdes	448	$11,53 \pm 1,18$	40,6 (39,50 – 41,48)	2,3	4,51
<i>Piper marginatum</i>	Folhas	448	$1,96 \pm 0,36$	46,7 (38,83 – 52,97)	2,0	3,35
Eugenol	–	384	$2,42 \pm 0,50$	94,7 (82,50 – 105,69)	-	0,99

N = Número de insetos usados no teste, EP = erro padrão da média, IC = intervalo de confiança, RT = razão de toxicidade, χ^2 = Qui-quadrado (significativo ao nível de 5% de probabilidade).

Tabela 4. Efeito fumigante de óleos essenciais em larvas de *S. zeamais* com 7 a 14 (a) e 7 a 21 (b) dias de idade, em sementes de milho. Temp.: $26,8 \pm 1,1$ °C; UR: $59,2 \pm 2,3\%$ e fotofase: 12 horas.

Tratamento	Estrutura vegetal	Concentração ($\mu\text{L/L}$ de ar)	Nº médio de adultos emergidos (\pm EP) ^{1,2}	
			Larvas (a)	Larvas (b)
Testemunha	–	0	$16,5 \pm 0,87\text{a}$	$19,0 \pm 2,04\text{ a}$
Eugenol	–	90	$8,8 \pm 3,17\text{ab}$	$11,8 \pm 1,31\text{ ab}$
<i>Eugenia uniflora</i>	Folhas	14	$6,0 \pm 2,12\text{ b}$	$18,3 \pm 3,52\text{ a}$
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	Folhas	16	$5,8 \pm 1,89\text{ b}$	$18,8 \pm 1,84\text{ a}$
<i>Melaleuca leucadendron</i>	Folhas	48	$4,5 \pm 2,18\text{ b}$	$18,3 \pm 5,89\text{ a}$
<i>Piper marginatum</i>	Folhas	88	$2,8 \pm 1,44\text{ b}$	$10,0 \pm 3,08\text{ ab}$
<i>Schinus terebinthifolius</i>	Folhas	40	$2,0 \pm 0,82\text{ b}$	$6,5 \pm 1,32\text{ ab}$
<i>Schinus terebinthifolius</i>	Frutos verdes	50	$1,3 \pm 0,48\text{ b}$	$2,8 \pm 1,25\text{ b}$
<i>Piper hispidinervum</i>	Folhas	2	$1,3 \pm 0,48\text{ b}$	$2,5 \pm 0,29\text{ b}$

¹Médias seguidas de mesma letra na vertical não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey HSD ($P > 0,05$).

²Dados transformados em $(X+1)^{0,5}$.

CAPÍTULO 3

EFEITO REPELENTE E PERSISTÊNCIA DE ÓLEOS ESSENCIAIS EM MILHO
ARMAZENADO, SUBMETIDO À INFESTAÇÃO DE *Sitophilus zeamais* MOTS.

(COLEOPTERA: CURCULIONIDAE)

RODRIGO L. B. C. COITINHO¹, JOSÉ V. OLIVEIRA¹, MANOEL G. C. GONDIM JR² E CLÁUDIO A.
G. CÂMARA²

¹Departamento de Agronomia-Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco. Av.
Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900, Recife, PE.

²Departamento de Química, Universidade Federal Rural de Pernambuco. Av. Dom Manoel de
Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900, Recife, PE.

¹Coitinho, R.L.B.C., J.V. Oliveira, M.G.C. Gondim Jr. & C.A.G Câmara. Efeito repelente e persistência de óleos essenciais em milho armazenado, submetido à infestação de *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). Ciência Rural.

RESUMO – Os óleos essenciais e os compostos constituintes têm sido pesquisados quanto a sua atividade inseticida contra pragas de grãos armazenados. Neste trabalho, avaliou-se o efeito repelente e a persistência de óleos essenciais em milho armazenado submetido à infestação de *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). Sementes de milho, cultivar Caatingueiro, tratadas com os óleos essenciais e o composto eugenol foram menos atraídas por adultos de *S. zeamais*, em relação à testemunha. As percentagens de repelência, em relação à testemunha, variaram entre 81 (*Piper hispidinervum*) a 97,4% (*Piper marginatum* e *Cinnamomum zeylanicum*). A persistência dos óleos e eugenol foi avaliada no período inicial (logo após a impregnação) e aos 30, 60, 90 e 120 dias de armazenamento. As mortalidades de *S. zeamais* no período inicial variaram entre 93,8 (*P. hispidinervum*, *Melaleuca leucadendron* e eugenol) a 100% (*Eugenia uniflora*, frutos verdes de *Schinus terebinthifolius* e *P. marginatum*). A partir dos 30 dias, as mortalidades, de modo geral, decresceram, com exceção de *P. marginatum* (92,2%), que alcançou 53,1% de mortalidade aos 120 dias de armazenamento. De acordo com as equações de regressão ajustadas para o número de *S. zeamais* emergidos em todo o período de armazenamento, apenas não houve significância para os óleos de *S. terebinthifolius*, *P. marginatum* e testemunha. Em relação à média geral, o óleo de *P. marginatum* foi o mais persistente, proporcionando emergência de apenas 0,30 insetos, diferindo dos óleos restantes, eugenol e da testemunha. Os demais tratamentos só diferiram em relação à testemunha.

PALAVRAS-CHAVE: Gorgulho do milho, atividade inseticida, óleos vegetais, repelência, efeito residual

REPELLENT EFFECT AND PERSISTENCE OF ESSENTIAL OILS IN STORED MAIZE

SUBMITTED TO INFESTATION OF *Sitophilus zeamais* Mots. (COLEOPTERA:

CURCULIONIDAE)

ABSTRACT - The essential oils and constituent compounds have been studied for their insecticidal activity against stored grain pests. In this work, persistence and repellent effect of the essential oils in stored maize subject to infestation by *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae) were evaluated. Maize seeds, Caatingueiro's cultivar, treated with essential oils and eugenol compound were less attracted by adults of *S. zeamais* compared to the control. The repellency percentages, when compared to the control, ranged from 81 (*Piper hispidinervum*) to 97.4% (*Piper marginatum* and *Cinnamomum zeylanicum*). Persistence of oils and eugenol were evaluated in the initial period (after impregnation) and at 30, 60, 90 and 120 days of storage. Mortalities of *S. zeamais* in the initial period ranged between 93.8 (*P. hispidinervum*, *Melaleuca leucadendron* and eugenol) to 100% (*Eugenia uniflora*, green fruits of *Schinus terebinthifolius* and *P. marginatum*). From the 30th day, mortalities declined, except for *P. marginatum* (92.2%), which reached 53.1% at 120 days of storage. According to the regression equations adjusted for the number of *S. zeamais* emerged throughout the storage period, there was significance for the oils of *S. terebinthifolius*, *P. marginatum* and the control. Considering general average, the oil of *P. marginatum* was the most persistent, providing emergency of 0.30 insects; differing from the other oils, eugenol and the control. The other treatments differed in relation to the control.

KEY WORDS: Maize weevil, insecticidal activity, vegetable oils, repellency, residual effect

Introdução

O gorgulho, *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae), é uma das principais pragas primárias do milho armazenado, devido ao elevado potencial biótico, capacidade de penetração na massa de grãos e infestação cruzada, distribuindo-se nos países tropicais e subtropicais (Lorini 1998, Asawalam & Hassanali 2006). As larvas e adultos provocam perda de peso, desvalorização comercial, perda no valor nutritivo e diminuição do poder germinativo das sementes (Garcia *et al.* 2000, Lorini 2003, Tavares & Vendramin 2005a).

A preocupação dos consumidores em relação ao ambiente, à qualidade do alimento e aos efeitos colaterais dos inseticidas sintéticos, têm incentivado os pesquisadores a testar alternativas para o controle de pragas de grãos armazenados, como os óleos essenciais obtidos de plantas e seus compostos constituintes (Tavares & Vendramim 2005b, Moreira *et al.* 2007, Rajendran & Sriranjini 2008). Esses produtos, geralmente são de baixa toxicidade para o homem e animais, têm menor custo, degradam-se rapidamente no ambiente e não contaminam os alimentos com resíduos tóxicos (Isman 2006). Atuam nos insetos por contato, ingestão e fumigação (Lee *et al.* 2004, Papachristos & Stampoulos 2004, Ketoh *et al.* 2005, Ketoh *et al.* 2006, Sahaf & Moharramipour 2008) e provocam diversos efeitos nesses artrópodes, como mortalidade, repelência, deterrência na alimentação e na oviposição, redução no crescimento e deformações (Huang *et al.* 1997, Huang *et al.* 2000, Papachristos & Stamopoulos 2002, Pungitore *et al.* 2005, Isman, 2006, Viglianco *et al.* 2008).

Pesquisas com óleos essenciais de diversas plantas têm comprovado a bioatividade contra *S. zeamais*, como os de folhas de *Cupressus sempervirens* L. (Cupressaceae) e *Eucalyptus saligna* Sm. (Myrtaceae) (Tapondjou *et al.* 2005), o de *Vernonia amygdalina* Del. (Compositae) (Kabeh & Jalingo 2007), que reduziram em 100% o número de adultos emergidos em grãos de milho, e o

de frutos inteiros e fibras de *Xylopia aethiopica* (Dunal) (Annonaceae), que provocaram mortalidade de 100% em adultos (Kouninki *et al.* 2007). Óleos de *Piper aduncum* L. (Piperaceae) e *Piper hispidinervum* C.DC. (Piperaceae) também foram tóxicos para adultos de *S. zeamais*, apresentando CL_{50s} de 0,56 e 1,32 µL / 20 g de grãos de milho, respectivamente (Estrela *et al.* 2006), bem como o de *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) (Bignoneaceae) (Fazolin *et al.* 2007a).

Estudos sobre a persistência de óleos essenciais na proteção de sementes e grãos contra o ataque de pragas são de um modo geral, escassos, mas indicam que os mesmos se degradam rapidamente (Isman 2006). A persistência dos óleos depende da sua volatibilidade, toxicidade e tipo de óleo (essencial ou fixo). Estudos desenvolvidos com milho armazenado e infestado com *S. zeamais* têm demonstrado que, na maioria dos casos, a mortalidade decresce com o período de armazenamento e o número de insetos emergidos aumenta, em decorrência da redução da sua persistência (Obeng-Ofori & Amiteye 2005, Coitinho *et al.* 2006a, Asawalam & Hassanali 2006, Abulude *et al.* 2007).

A importância de pesquisas com métodos alternativos aos inseticidas químicos sintéticos, que se enquadrem nos princípios do manejo de pragas de grãos armazenados, é de grande utilidade, principalmente para os pequenos e médios produtores de milho, visando não apenas controlar infestações de *S. zeamais*, bem como preservar a saúde dos consumidores da presença de resíduos tóxicos. Assim, o presente trabalho objetivou avaliar o efeito repelente e a persistência de óleos essenciais e o composto eugenol em sementes de milho infestadas com *S. zeamais*.

Material e Métodos

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Entomologia Agrícola do Departamento de Agronomia, Área de Fitossanidade e Laboratório de Produtos Naturais

Bioativos do Departamento de Química da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), em Recife-PE.

Criação de *S. zeamais*. Os insetos foram criados à temperatura de $28,7 \pm 1,12$ °C, umidade relativa de $61,3 \pm 2,6\%$ e fotofase de 12 horas, em sementes de milho cv. Caatingueiro, acondicionadas em recipientes de vidro fechados com tampa plástica perfurada e revestidas internamente com tecido fino para permitir as trocas gasosas. O confinamento dos insetos foi realizado durante 15 dias para efetuarem a postura e em seguida, foram retirados e os recipientes estocados até a emergência da geração F₁. Efetuou-se este procedimento por sucessivas gerações, de modo a assegurar a quantidade de adultos necessários para a execução dos experimentos.

Coleta do Material Vegetal. Folhas e frutos de *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae), *Cinnamomum zeylanicum* Blume (Lauraceae), *Schinus terebinthifolius* Raddi. (Anacardiaceae), *Melaleuca leucadendron* L. (Myrtaceae) e *Piper marginatum* Jacq. (Piperaceae) foram coletados em Recife e Olinda, PE. Como essas espécies pertencem à flora pernambucana, há interesse em avaliar o seu potencial inseticida. O material foi identificado pela professora Margareth Ferreira de Sales do Departamento de Biologia da UFRPE e as exsiccatas encontram-se depositadas no Herbário Vasconcelos Sobrinho da UFRPE, sob os números 48490, 48602, 49259, 48489, 48210, respectivamente.

Obtenção dos Óleos Essenciais. O material vegetal coletado foi submetido à hidrodestilação por 2h no Laboratório de Produtos Naturais Bioativos do Departamento de Química da UFRPE, e os óleos essenciais extraídos através de um aparelho tipo Clevenger modificado, separados da água, secos com Na₂SO₄ anidro e armazenados à baixa temperatura em recipientes escuros hermeticamente fechados. O rendimento dos óleos foi calculado com base no peso do material fresco. Também foram utilizados o composto eugenol e os óleos essenciais de *P. aduncum* e *P.*

hispidinervum obtidos da Indústria Farmacêutica Ltda - PR, da Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC - PA) e da Embrapa - Acre, respectivamente.

Identificação por Cromatografia Gasosa e Espectrometria de Massas (CG/EM). A análise cromatográfica (CG) dos óleos essenciais obtidos de plantas coletadas em Recife e Olinda foi realizada na Central Analítica do Departamento de Química da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), utilizando-se um Hewlett Packard 5890 SERIES, equipado com detector de ionização (FID) e J & W Scientific DB-5 com coluna de capilaridade com sílica (30m x 0,25mm x 0,25µm). Programou-se a temperatura da coluna para 40°C por 2 min, variando de 220°C à 4°C min⁻¹, aumentando para 280°C à 20°C min⁻¹ para integração. As temperaturas do injetor e detector foram de 250°C e 280°C, respectivamente. Utilizou-se o hidrogênio como carreador gasoso, com um fluxo de 1,5 mL min⁻¹, (1:10). Uma solução de 1,5µL de aproximadamente 10 mg do óleo e etil-acetato foi ministrada. O índice de retenção foi obtido, aplicando-se uma amostra de óleo com mistura de hidrocarbonetos lineares C₁₁-C₂₄ (índice de retenção variando de 900 à 1099 obtido por extrapolação). Efetuou-se a análise por CG/EM dos óleos utilizando aparelho Shimadzu QP5050 quadrupole com a mesma coluna e temperaturas utilizadas no experimento com GC. Usou-se o hélio como carreador gasoso e fluxo de 1,5 mL min⁻¹, (1:50). Aplicou-se 1µL de 1/100 de solução diluída em acetato de etila. O espectro de massa foi obtido à 70eV e a velocidade de leitura foi 0,5, scan s⁻¹ de m/z 40 à 650. A identificação dos compostos majoritários foi realizada com base na comparação dos índices de retenção (Van Den Doll & Kratz 1963), bem como por comparação computadorizada do espectro de massa obtido com aqueles contidos na biblioteca de espectro de massas do NIST do banco de dados GC/MS (Adams 1995). Os compostos de *P. aduncum* e *P. hispidinervum* foram identificados nos locais de sua procedência. Os compostos majoritários presentes nos óleos essenciais constam na Tabela 1.

Eliminação da Infestação e Equilíbrio da Umidade das Sementes. Sementes de milho foram acondicionadas em sacos plásticos e mantidas em freezer sob temperatura de $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$, durante sete dias, 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 10 dias com a finalidade de atingirem o equilíbrio higroscópico.

Efeito Repelente de Óleos Essenciais em *S. zeamais*. Os experimentos foram conduzidos à temperatura de $27,7 \pm 0,95\text{ }^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $67,0 \pm 6,0\%$ e fotofase de 12 horas. Com base em testes preliminares foram utilizados os tratamentos nas seguintes concentrações, em $\mu\text{L}/20\text{g}$ de milho: folhas de *P. hispidinervum* (10,0), eugenol (10,0), folhas de *P. marginatum* (30,0), frutos verdes de *S. terebinthifolius* (62,5), folhas de *S. terebinthifolius* (40,0), folhas de *E. uniflora* (17,5), folhas de *M. leucadendron* (60,0) e folhas de *C. zeylanicum* (30,0). Os óleos foram testados em arenas compostas de dois recipientes plásticos, interligados simetricamente a uma caixa central por dois tubos plásticos. Em uma das caixas colocou-se 20g de sementes de milho cv. Caatingueiro tratadas com o óleo essencial ou o composto eugenol, e na outra a mesma quantidade de sementes não tratadas (testemunha). Na caixa central foram liberados 16 adultos não sexados de *S. zeamais* com 0 a 15 dias de idade (Coitinho *et al.* 2006b). Cada óleo e eugenol foram testados separadamente, no delineamento inteiramente casualizado, com dois tratamentos (concentração do óleo e testemunha) e 10 repetições.

Após 48 h, os insetos contidos em cada recipiente foram contados, para avaliação da repelência. O percentual médio de repelência foi calculado, segundo a fórmula: $\text{PR} = [(\text{NC} - \text{NT}) / (\text{NC} + \text{NT}) \times 100]$, sendo PR= percentual médio de repelência, NC= média de insetos na testemunha e NT= média de insetos no tratamento (Obeng-Ofori 1995).

O número de adultos atraídos foi submetido à análise de variância, após atender os testes de homogeneidade e normalidade dos dados, e analisados pelo teste t de Student ($P < 0,05$), utilizando-se o programa computacional SAS version 9.00 (SAS Institute 2002).

Persistência de Óleos Essenciais em Milho Armazenado. Os experimentos foram conduzidos à temperatura de $27,4 \pm 0,91$ °C, umidade relativa de $62,5 \pm 2,33\%$ e fotofase de 12 horas. Foram utilizados os seguintes tratamentos nas concentrações, em $\mu\text{L}/40\text{g}$ de milho: folhas de *P. hispidinervum* (2,8), eugenol (19,0), folhas de *P. marginatum* (40,0), frutos verdes de *S. terebinthifolius* (125,0), folhas de *S. terebinthifolius* (80,0), folhas de *E. uniflora* (35,0), folhas de *M. leucadendron* (120,0), folhas de *C. zeylanicum* (30,0) e testemunha. As concentrações foram escolhidas em testes preliminares. Os óleos foram misturados às sementes no interior de recipientes de vidro, com o auxílio de pipetador automático, os quais foram agitados manualmente durante dois minutos. A parcela foi constituída de 40g de sementes de milho, cv. Caatingueiro, acondicionadas em recipiente de vidro, fechados com tampa plástica perfurada e revestida internamente com tecido fino para permitir as trocas gasosas. Cada recipiente foi infestado com 16 adultos não sexados de *S. zeamais* com 0 a 15 dias de idade (Coitinho *et al.* 2006a). Decorridos sete dias do confinamento, efetuou-se a contagem dos insetos vivos e mortos, descartando-os em seguida. Os adultos emergidos foram quantificados, diariamente, e descartados a partir do 35º dia do confinamento até o término da emergência (cinco dias consecutivos sem emergência). Os experimentos foram realizados em cinco períodos de armazenamento: período inicial (logo após a impregnação - T0), um mês (T1), dois meses (T2), três meses (T3) e quatro meses (T4), no delineamento experimental inteiramente casualizado, constando de nove tratamentos, cinco e quatro repetições.

Os resultados de mortalidade (%) e de adultos emergidos foram submetidos aos testes de Kolmogorov e Bartlett para normalidade e homogeneidade de variância. A porcentagem de

mortalidade foi transformada em arco seno $(x / 100)^{0,5}$ e o número de adultos emergidos, em $(x + 1)^{0,5}$ para atender os requisitos da análise de variância (ANOVA). Em seguida, os resultados foram submetidos à ANOVA com medidas repetidas no tempo, considerando-se nove tratamentos (óleos e testemunha) e as avaliações no tempo como medidas repetidas. De acordo com os resultados da ANOVA, quando significativos para tratamento, as médias entre tratamentos foram separadas usando-se o teste de Tukey HSD ($P < 0,05$) e, quando significativas no tempo (avaliações), os resultados foram submetidos à análise de regressão para cada óleo, sendo selecionado o modelo que melhor se ajustou aos dados. Todas as análises foram realizadas utilizando-se o programa computacional SAS versão 9.00 (SAS Institute 2002).

Resultados e Discussão

Efeito Repelente de Óleos Essenciais em *S. zeamais*. Todos os óleos essenciais e eugenol foram repelentes para adultos de *S. zeamais*, diferindo da testemunha ($P < 0,05$) (Tabela 2). As percentagens de repelência variaram entre 81,0% (*P. hispidinervum*) e 97,4% (*P. marginatum* e *C. zeylanicum*).

Adultos de *S. zeamais* são capazes de detectar óleos essenciais através do olfato, evitando-os quando tem chance de escolha (Jayasekara *et al.* 2005). A camada de óleo que envolve os grãos após o tratamento, tem influência sobre o comportamento de insetos. Em *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera, Chyromelidae, Bruchinae), além de exercer efeito repelente, também impediu o acesso dos insetos aos grãos de caupi (Law-Ogbomo & Egharevba 2006). Essa influência pode ter se manifestado em *S. zeamais*, mas não comprovada experimentalmente no presente trabalho. Os óleos essenciais também podem ser utilizados como repelentes de mosquitos como, por exemplo, o óleo de citronela ou o constituinte citronelal, bem como no controle de baratas e cupins em residências ou edifícios (Isman 2006). Estudos complementares sobre o

comportamento de insetos de grãos armazenados em relação à óleos essenciais e seus componentes precisam ser efetuados (ex. eletroantenografia e olfatometria), visando elucidar os mecanismos envolvidos na repelência.

Diversos óleos essenciais e componentes foram repelentes para *S. zeamais*, como os extraídos de plantas *E. saligna* e *C. sempervirens* (Tapondjou *et al.* 2005); o composto metil silicato, principal componente volátil de *Securidaca longepedunculata* Fers (Polygalaceae) (Jayasekara *et al.* 2005); os óleos de *Lippia gracillis* HBK (Verbenaceae), *Eucalyptus citriodora* Hook. (Myrtaceae), *Copaifera* sp. (Leguminosae) e o composto eugenol (Coitinho *et al.* 2006b); *X. aethiopica* e *V. amygdalina* (Asawalam *et al.* 2006, Asawalam & Hassanali 2006) e *Piper guinense* Schum & Thonn (Piperaceae) (Asawalam 2006). O efeito repelente é uma propriedade relevante a ser considerada na escolha de um óleo essencial para o controle de pragas de grãos armazenados. De modo geral, quanto maior a repelência, menor será a infestação, resultando na redução ou supressão da postura e, conseqüentemente, do número de insetos emergidos.

Em relação a outras pragas de grãos armazenados, o ácido propiônico, mistura de compostos voláteis emitidos por grãos de cevada, *Hordeum vulgare* L. (Poaceae), apresentou efeito repelente nas concentrações de 100µg a 1000µg, para adultos de *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) e *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) (Germinara *et al.* 2007). Os óleos essenciais de *Laurus nobilis* L. (Lauraceae), *Rosmarinus officinalis* L. (Labiatae), *Eucalyptus globulus* Labill. (Myrtaceae), *Juniperus oxycedrus* L. (Cupressaceae), *Lavandula hybrida* Briq. (Labiatae), *Mentha microphylla* C. Koch (Lamiaceae), *Mentha viridis* L. (Lamiaceae), *Origanum vulgare* L. (Lamiaceae) e *Apium graveolens* L. (Apiaceae) foram repelentes para adultos de *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae) (Papachristos & Stamapoulos 2002).

Persistência de Óleos Essenciais em Milho Armazenado. No período inicial de armazenamento, os óleos essenciais e eugenol não diferiram estatisticamente ($P > 0,05$). As mortalidades variaram entre 93,8 (folhas de *P. hispidinervum*, folhas de *M. leucadendron* e eugenol) a 100% (folhas de *E. uniflora*, frutos verdes de *S. terebinthifolius* e folhas de *P. marginatum*). A partir dos 30 dias, as mortalidades, de um modo geral, decresceram, com exceção de *P. marginatum*, que provocou mortalidades, respectivamente, de 92,2; 89,1; 93,8 e 53,1% , aos 30, 60, 90 e 120 dias de armazenamento (Tabela 3). De acordo com as equações de regressão ajustadas para o número de *S. zeamais* emergidos em todo o período de armazenamento, apenas não houve significância para os óleos de folhas de *S. terebinthifolius* e de *P. marginatum* e testemunha. Em relação à média geral, o óleo de *P. marginatum* foi o mais persistente, proporcionando emergência de apenas 0,30 insetos, diferindo dos óleos restantes, eugenol e da testemunha. Os demais tratamentos só diferiram da testemunha (Tabela 4).

De um modo geral, o decréscimo na persistência dos óleos essenciais com o prolongamento do período de armazenamento do milho parece ter sido decorrente das diferenças de volatilidade dos mesmos, resultando em uma persistência limitada, conforme observações de Isman (2006). Coitinho *et al.* (2006a) constataram que no período inicial de armazenamento (logo após a impregnação), os óleos de *E. globulus*, o composto eugenol, *L. gracillis*, *Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae) e *Caryocar brasiliense* Camb. (Caryocaraceae) provocaram 100,0% de mortalidade de adultos de *S. zeamais*, porém aos 60 e 120 dias de armazenamento, a mortalidade foi inexpressiva. Por outro lado, os óleos fixos de girassol, *Helianthus annuus* L. (Asteraceae), milho, *Zea mays*, oliva, *Olea europaea* L. (Oleaceae) e soja, *Glycine max* (L.) Merr. (Fabaceae), na concentração de 5 mL/ Kg de grãos de milho ocasionaram, respectivamente, 53,2%; 56,4%; 58,8% e 67,7% de mortalidade sobre adultos de *S. zeamais* após sete meses de armazenamento (Demissie *et al.* 2008). Os óleos de coco, *Cocos nucifera* L. (Arecaceae), amendoim, *Arachis*

hypogaea L. (Fabaceae) e soja, *G. max*, na concentração de 10 mL/kg de grãos de milho, não provocaram mortalidade de adultos de *S. zeamais*, após 60 dias de armazenamento (Obeng-Ofori & Amiteye 2005).

A redução da emergência de *S. zeamais* deve estar relacionada ao efeito tóxico dos óleos ao embrião do inseto, em virtude da privação de oxigênio (Schoonhoven 1978), mas é de se esperar que essa toxicidade seja reduzida com o tempo, devido a sua baixa persistência (Isman 2006). Essa informação, em relação à redução da emergência com o prolongamento do período de armazenamento, foi comprovada em pesquisas desenvolvidas por diversos autores (Coitinho *et al.* 2006b, Asawalam *et al.* 2006, Asawalam & Hassanali 2006, Abulude *et al.* 2007, Demissie *et al.* 2008). Essa propriedade pode limitar o uso de óleos essenciais por períodos prolongados de armazenamento.

O modo de ação neurotóxico dos óleos essenciais está relacionado com a rapidez no controle de pragas. Há evidências sobre a interferência no neuromodulador octopamina, que é encontrado em todos os invertebrados, mas não nos mamíferos, ou nos canais de cálcio modulados pelo GABA (Isman 2006). A octopamina é semelhante à noradrenalina e age como neurohormônio, neuromodulador e neurotransmissor, regulando os batimentos cardíacos, os movimentos, o comportamento e metabolismo dos insetos (Roeder 1999).

Os resultados obtidos neste trabalho indicam que os óleos essenciais e eugenol são repelentes para adultos de *S. zeamais*, e o óleo de *P. marginatum* exibiu a maior persistência em grãos de milho. Deste modo, são promissores para o manejo de *S. zeamais* em milho armazenado, principalmente para os agricultores de cultivos familiares e de produção orgânica, pelo fato da liberação desses compostos ser mais fácil de ser obtida, em relação ao registro de inseticidas sintéticos, aliada às suas vantagens, como eficiência, degradabilidade e segurança para os aplicadores e consumidores de grãos.

Agradecimentos

À FACEPE e CNPq, pelas bolsas concedidas ao primeiro e segundo autores. Ao Prof. Jorge Braz Torres pelas sugestões e a Alicely Araújo Correia, Alberto Belo Esteves Filho e Solange Maria de França pelos auxílios prestados.

Literatura Citada

- Abulude, F.O., M.O. Ogunkoyal, R.F. Ogunleye, A.O. Akinola & A.O. Adeyemi. 2007.** Effect of palm oil in protecting stored grains from *Sitophilus zeamais* and *Callosobruchus maculatus*. J. Entomol. 4: 393-396.
- Adams R.P. 1995.** Identification of essential oil component by chromatography/mass spectroscopy. Carol Stream, Allured Publishing Co., 468p.
- Asawalam, E.F. & A. Hassanali. 2006.** Constituents of the essential oil of *Vernonia amygdalina* as maize weevil protectants. Trop. Subtrop. Agroec. 6: 95-102.
- Asawalam, E.F. 2006.** Insecticidal and repellent properties of *Piper guineense* seed oil extract for the control of maize weevil, *Sitophilus zeamais*. Electron. J. Agric. Food Chem. 5: 1389-1394.
- Asawalan, 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). Electron. J. Agric. Food Chem. 5:1195-1204.
- Coitinho, R.L.B.C., J.V. Oliveira, M.G.C. Gondim Júnior & C.A.G. Câmara. 2006a.** Efeito residual de inseticidas naturais no controle de *Sitophilus zeamais* Mots. (em milho armazenado). Rev. Caatinga 19: 183-191.
- Coitinho, R.L.B.C., J.V. Oliveira, M.G.C. Gondim Júnior & C.A.G. Câmara. 2006b.** Atividade inseticida de óleos vegetais sobre *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae) em milho armazenado. Rev. Caatinga 19: 176-182.
- Demissie, G., A. Teshome, D. Abakemal, A. & Tadesse. 2008.** Cooking oils and “Triplex” in the control of *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). J. Stored Prod. Res. 44: 173-178.

- Estrela, J.L.V., M. Fazolin, V. Catani, M.R. Alécio & M.S. Lima. 2006.** Toxicidade de óleos essenciais de *Piper aduncum* e *Piper hispidinervum* em *Sitophilus zeamais*. *Pesqu. Agropecu. Bras.* 41: 217-222.
- Fazolin, M., J.L.V. Estrela, V. Catani, M.R. Alécio & M.S. Lima. 2007a.** Atividade inseticida do óleo de *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. & K. Schum (Bignoneaceae) sobre *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae). *Acta Amazonica* 37: 599-604.
- Fazolin, M., J.L.V. Estrela, V. Catani, M.R. Alécio & M.S. Lima. 2007b.** 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.
- Garcia, M.J.D.M., W.A. Ferreira, M.A.M Biaggioni, A.M. Almeida. 2000.** Desenvolvimento de insetos em milho armazenado em sistema vedado. *Arq. Inst.Biol.* 72: 1-16.
- Germinara, G.S., G. Rotundo & Cristofaro, A. de. 2007.** Repellence and fumigant toxicity of propionic acid against adults of *Sitophilus granarius* (L.) and *S. oryzae* (L.). *J. Stored Prod. Res.* 43: 229-233.
- Huang, Y., J.M.W.L. Tan, R.M. Kini & S.H. Ho. 1997.** Toxic and antifeedant action of nutmeg oil against *Tribolium castaneum* (Herbst) and *Sitophilus zeamais* Mots., 1865. *J. Stored Prod. Res.* 33: 289-298.
- Huang, Y., S.L. Lam & S.H. Ho. 2000.** Bioactivities of essential oil from *Ellateraria cardamomum* (L.) Maton. to *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium castaneum* (Herbst). *J. Stored Prod. Res.* 36: 107-117.
- Isman, M.B. 2006.** Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annu. Rev. Entomol.* 51: 45-66.
- Jayasekara, T.K., P.C. Stevenson, D.R. Hall & S.R. Belmain. 2005.** Effect of volatile constituents from *Securidaca longepedunculata* on insect pests of stored grain. *J. Chem. Ecol.* 31:303-313.

- Kabeh, J.D. & M.G.D.S.S. Jalingo. 2007.** Pesticidal effect of bitter leaf plant *Vernonia amygdalina* (Compositae) leaves and pirimiphos-methyl on larvae of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) and *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *Int. J. Agri. Biol.* 9: 452-454.
- Ketoh, G.K., 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) (Hymenoptera: Pteromalidae). *J. Stored Prod. Res.* 41: 363-371.
- Ketoh, G.K., H.K. Koumaglo, I.A. Glitho & J. Huignard 2006.** Comparative effects of *Cymbopogon schoenanthus* essential oil and piperitone on *Callosobruchus maculatus* development. *Fitoterapia* 77: 506-510.
- 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.
- Law-Ogbomo K.E. & R.K.A. Egharevba. 2006.** The use of vegetable oils in the control of *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) in three cowpea varieties. *Asian J. Plant Sci.* 5: 547-552.
- Lee, B.H., P.C. Annis, Tumaalli, F. & Choi, W.S. 2004.** Fumigant toxicity of essential oils from the Myrtaceae family and 1,8-cineole against 3 major stored-grain insect. *J. Stored Prod. Res.* 40: 553-564.
- Lorini, I. 1998.** Controle integrado de pragas de grãos armazenados. Passo Fundo: EMBRAPA-CNPT, 60p. (EMBRAPA-CNPT. Documento, 48).
- Lorini, I. 2003.** Manual técnico para o manejo integrado de pragas de grãos de cereais armazenados. Passo Fundo, Embrapa Trigo, 80p.
- Maia, J.G.S., M.G.B. Zohhbi, E.H.A. Andrade, A.S. Santos, M.H.L. Silva, A.I.R. Luz & C.N. Bastos. 1998.** Constituents of the essential oil of *Piper aduncum* L. growing wild in the Amazon region. *Flavour Frag. J.* 13: 269-272.

- Moreira, D.M., M.C. Picanço, L.C.A. Barbosa, R.N.C. Guedes, M.R. Campos, G.A. Silva & J.C. Martins. 2007.** Plant compounds insecticide activity against coleoptera pests of stored products. *Pesqu. Agropecu. Bras.* 42: 909-915.
- Obeng-Ofori, D. 1995.** Plant oils as grain protectants against infestations of *Cryptolestes pussilus* and *Rhyzopertha dominica* in stored grain. *Entomol. Exp. Appl.* 77: 133-139.
- 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.
- Papachristos, D.P. & D.C. Stamopoulos. 2002.** Toxicity of vapours of three essential oils to immature stages of *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *J. Stored Prod. Res.* 38: 365-373.
- Papachristos, D.P. & D.C. Stamopoulos. 2004.** Fumigant toxicity of three essential oils on the eggs of *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *J. Stored Prod. Res.* 40: 517-525.
- Pungitore, C.R., M. García, J.C. Gianello, M.E. Sosa & C.E. Tonn. 2005.** Insecticidal and antifeedant effects of *Junellia aspera* (Verbenaceae) triterpenes and derivatives on *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). *J. Stored Prod. Res.* 41: 433-443.
- Rajendran, S. & V. Sriranjini. 2008.** Plant products as fumigants for stored-product insect control. *J. Stored Prod. Res.* 44: 126-135.
- Roeder, T. 1999.** "Octopamine in invertebrates". *Prog. Neurobiol.* 59: 533-561.
- Sahaf, B.Z., S. Moharramipour. 2008.** Fumigant toxicity of *Carum copticum* and *Vitex pseudo-negundo* essential oils against eggs, larvae and adults of *Callosobruchus maculatus*. *J. Pest. Sci.* 81:213-220.
- SAS Institute. 2002.** SAS/Stat User's Guide. Cary, NC.
- Schoonhoven, A.V. 1978.** Use of vegetable oils to protect store bean from bruchid attack. *J. Econ. Entomol.* 71:254-256.

- Tapondjou, L.A., C. Adler, D.A. Fontem, H. Bouda & C. Reichmuth. 2005.** Bioactivities of cymol and essencial 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. 2005a.** Atividade inseticida da erva-de-santa-maria *Chenopodium ambrosioides* L. (Chenopodiaceae), em relação a *Sitophilus zeamais* Mots., 1855 (Col: Curculionidae). Arq. Inst.Biol. 72: 51-55.
- Tavares, M.A.G.C. & J.D. Vendramim. 2005b.** Bioatividade da erva-de-santa-maria, *Chenopodium ambrosioides* L. (Chenopodiaceae), sobre *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). Neotrop. Entomol. 34: 319-323.
- 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.
- Viglianco, A.I., R.J. Novo, C.I. Cragnolini, M. Nassetta & A. Cavallo. 2008.** Antifeedant and repellent effects of extracts of three plants from Córdoba (Argentina) against *Sitophilus oryzae* (L.). (Coleoptera: Curculionidae). BioAssay 3: 1-4.

Tabela 1. Plantas utilizadas e compostos majoritários extraídos dos óleos essenciais.

Espécie vegetal/Composto	Estrutura	Compostos majoritários	(%)	Fonte
<i>Eugenia uniflora</i>	Folhas	Selina-1,3,7,(11)-trien-8 one	23,4	1
		Selina-1,3,7,(11)-trien-8 one epoxide	10,6	
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	Folhas	Benzyl benzoate	64,4	1
		p-Cymen-7-ol	22,5	
<i>Schinus terebinthifolius</i>	Folhas/Frutos	9-epi-(E)-Cariophyllene	10,1	1
<i>Melaleuca leucadendron</i>	Folhas	(E)-nerolidol	92,5	1
<i>Piper marginatum</i>	Folhas	(Z)-azaroneno	30,5	1
<i>Piper aduncum</i>	Folhas	Dilapiol	73,9	Fazolin <i>et al.</i> 2007b
<i>Piper hispidinervum</i>	Folhas	Safrol	94,7	Maia <i>et al.</i> 1998
Eugenol	-	-	-	2

¹C.A.G. Câmara, dados não publicados.

²Não foi analisado.

Tabela 2. Efeito repelente de óleos essenciais em adultos de *S. zeamais* em sementes de milho tratadas com óleos essenciais e eugenol. Temp.: 27,7± 0,95 °C, UR: 67,0 ± 6,00% e fotofase: 12 horas.

Tratamento	Estrutura vegetal	Concentração (µL/20g)	Adultos Atraídos (%)		Repelência (%) ¹
			Testemunha	Óleo	
<i>Piper marginatum</i>	Folhas	30,0	98,7 ± 0,86	1,29 ± 0,86*	97,4
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	Folhas	30,0	98,7 ± 0,86	1,29 ± 0,86*	97,4
<i>Schinus terebinthifolius</i>	Frutos verdes	62,5	97,5 ± 1,04	2,54 ± 1,04*	94,9
Eugenol	–	10,0	96,7 ± 1,08	3,25 ± 1,08*	93,6
<i>Melaleuca leucadendron</i>	Folhas	60,0	96,1 ± 1,06	3,88 ± 1,06*	92,2
<i>Eugenia uniflora</i>	Folhas	17,5	94,3 ± 2,18	5,71 ± 2,18*	88,5
<i>Schinus terebinthifolius</i>	Folhas	40,0	94,6 ± 2,61	5,36 ± 2,61*	89,3
<i>Piper hispidinervum</i>	Folhas	10,0	90,6 ± 1,04	9,42 ± 3,63*	81,0

*Médias (± EP) na vertical diferem significativamente entre si pelo teste “t” (P < 0,05).

¹PR = [(NC – NT) / (NC + NT) x 100], PR= percentual médio de repelência, NC= média de insetos na testemunha e NT= média de insetos no tratamento.

Tabela 3. Porcentagens de mortalidade (média \pm EP) de *Sitophilus zeamais* em sementes de milho tratadas com óleos essenciais, em diferentes concentrações, após a impregnação e aos 30, 60, 90 e 120 dias de armazenamento. Temp: $27,4 \pm 0,91$ °C, UR: $62,5 \pm 2,33\%$ e fotofase de 12 h.

Tratamento	Estrutura Vegetal	Concentração ($\mu\text{L}/40\text{g}$)	Períodos de armazenamento (dias) ^{1,2}				
			Após a impregnação	30	60	90	120
<i>Piper hispidinervum</i>	Folhas	2,8	93,8 \pm 2,55a	14,1 \pm 2,99b	4,7 \pm 2,99b	4,7 \pm 2,99bc	-
<i>Melaleuca leucadendron</i>	Folhas	120,0	93,8 \pm 2,55a	1,6 \pm 1,56d	-	1,6 \pm 1,56c	-
Eugenol	-	19,0	93,8 \pm 2,55a	10,9 \pm 1,56bc	3,1 \pm 1,80b	3,1 \pm 3,13bc	1,6 \pm 1,56b
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	Folhas	30,0	96,9 \pm 1,80a	5,0 \pm 0,20cd	3,1 \pm 1,80b	1,6 \pm 1,56c	-
<i>Schinus terebinthifolius</i>	Frutos Verdes	125,0	100,0 \pm 0,00a	4,7 \pm 2,99cd	9,4 \pm 4,03b	15,6 \pm 3,13b	-
<i>Eugenia uniflora</i>	Folhas	35,0	100,0 \pm 0,00a	6,3 \pm 0,00bcd	4,7 \pm 2,99b	6,3 \pm 2,55bc	4,7 \pm 4,69b
<i>Piper marginatum</i>	Folhas	40,0	100,0 \pm 0,00a	92,2 \pm 1,56a	89,1 \pm 8,98a	93,8 \pm 4,42a	53,1 \pm 4,03a
<i>Schinus terebinthifolius</i>	Folhas	80,0	98,4 \pm 1,56a	3,1 \pm 1,80cd	-	10,9 \pm 3,93bc	-
Testemunha	-	0,0	- ³	-	-	-	-

¹Médias seguidas de mesma letra na vertical não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey HSD ($P > 0,05$).

²Dados transformados em arco seno $(x/100)^{0,5}$.

³Não houve mortalidade.

Tabela 4. Número (média ± EP) de *Sitophilus zeamais* emergidos em milho, tratado com óleos vegetais, em diferentes concentrações, após a impregnação e aos 30, 60, 90 e 120 dias de armazenamento. Temp.: 27,4 ± 0,91 °C, UR: 62,5 ± 2,33% e fotofase de 12 h.

Tratamento	Estrutura Vegetal	Concentração (µL/40g)	Equação de regressão ¹	Média Geral ^{2,4}
Testemunha	Folhas	0	Y = 40,10 ³	40,1 ± 1,18 a
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	Folhas	30	Y = 4,19 + 19,19t - 2,80t ² R ² = 0,72; P < 0,0001	25,8 ± 3,31 b
Eugenol	–	19	Y = 3,08 + 22,42t - 3,91t ² R ² = 0,53; P < 0,0016	24,5 ± 3,65 b
<i>Piper hispidinervum</i>	Folhas	2,8	Y = 12,7 + 5,18t R ² = 0,53; P < 0,0003	23,1 ± 2,31 b
<i>Schinus terebinthifolius</i>	Folhas	80	Y = 21,75 ³	21,8 ± 1,30 b
<i>Schinus terebinthifolius</i>	Frutos Verdes	125	Y = 0,67 + 37,77t - 16,21t ² + 2,08t ³ R ² = 0,77; P < 0,0001	20,6 ± 2,63 b
<i>Melaleuca leucadendron</i>	Folhas	120	Y = 0,10 + 10,00t R ² = 0,84; P < 0,0001	20,1 ± 3,54 b
<i>Eugenia uniflora</i>	Folhas	35	Y = 0,55 + 27,34t - 12,59t ² + 1,77t ³ R ² = 0,81; P < 0,0001	15,1 ± 1,90 b
<i>Piper marginatum</i>	Folhas	40	Y = 0,30 ³	0,30 ± 0,15 c

¹Equação de regressão ajustada para número de adultos emergidos nos períodos após a impregnação a 120 dias de armazenamento.

²Dados transformados em (X+1)^{0,5}.

³Efeito residual (tempo após tratamento) não significativo.

⁴Médias seguidas da mesma letra na vertical não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey HSD (P > 0,05).