## VALDEANY NÚBIA DE SOUZA

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL INSETICIDA DE ÓLEOS ESSENCIAIS SOBRE Rhyzopertha dominica F. (COLEOPTERA: BOSTRICHIDAE) EM MILHO ARMAZENADO.

#### VALDEANY NÚBIA DE SOUZA

### AVALIAÇÃO DO POTENCIAL INSETICIDA DE ÓLEOS ESSENCIAIS SOBRE Rhyzopertha dominica F. (COLEOPTERA: BOSTRICHIDAE) EM MILHO ARMAZENADO.

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Serra Talhada, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, para obtenção do título de Mestre ou Doutor em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Romero Ferreira

de Oliveira

Co-orientador: Dra. Cláudia Helena Cysneiros

Matos de Oliveira

## FICHA CATALOGRÁFICA

## VALDEANY NÚBIA DE SOUZA

## AVALIAÇÃO DO POTENCIAL INSETICIDA DE ÓLEOS ESSENCIAIS SOBRE Rhyzopertha dominica F. (COLEOPTERA: BOSTRICHIDAE) EM MILHO ARMAZENADO.

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Serra Talhada, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, para obtenção do título de Mestre ou Doutor em Produção Vegetal.

, 1
APROVADO em/
Banca Examinadora
Prof. Dr Carlos Romero Ferreira de Oliveira – UAST/UFRPE Orientador
Prof. Dr <sup>a</sup> . Cláudia Helena Cysneiros Matos de Oliveira – UAST/UFRPE Co-orientador, Examinador Interno
Examinador Externo
Examinador Externo

Ao meu filho Augusto Daniel, pois foi por você meu filho, que eu consegui superar todos os desafios. Dedico

#### **AGRADECIMENTOS**

Neste momento tão especial, me vem na memória todos os momentos de preocupação, mas também os momentos de alegria e conquistas, em fim tudo o que se passou durante todo este tempo ficarão guardados na lembrança e deixarão muitas saudades.

Quero agradecer primeiramente a Deus, pois sem ele não teria chegado a lugar algum, pois só a fé para nos fazer para enfrentar e superar todas as dificuldades.

Aos meus pais, Noé e Vandineide, esses sim são guerreiros, são a fortaleza, o pilar mais forte, o porto seguro onde sempre estive amparada. Meus amados pais é a vocês que agradeço do fundo do meu coração, por tudo, por tudo mesmo, pois sem a dedicação de vocês não teria conseguido.

Ao meu marido, Daniel, que me apoiou muito, teve paciência e compreenção sempre esteve comigo.

As minhas queridas irmãs, Valdylane e Valéria, que sempre estiveram ao meu lado e pelo companheirismo em todos os momentos difíceis e sem você não teria concluído esse trabalho, que para mim foi o mais importante de todos.

Ao professor Dr Carlos Romero Ferreira de Oliveira, pela paciência, pelo apoio, pela dedicação e principalmente pela orientação deste trabalho que ocorreu em um momento muito especial em minha vida.

A professora Dr<sup>a</sup>. Cláudia Helena Cysneiros Matos de Oliveira pelo incentivo e por acreditar em meu potencial.

Não poderia deixar de agradecer a todos os companheiros e amigos que estudaram comigo, a toda a equipe do laboratório de entomologia, em especial ao grupo de óleos essenciais.

E finalmente, agradeço a CAPES pela bolsa de estudo que me ajudou ao longo desta pesquisa.

## **RESUMO GERAL**

**GENERAL ABSTRACT** 

**Keywords:** 

## LISTA DE FIGURAS

## CAPITÚLO 1

Figura 1 Processo de hidrodestilação utilizando o equipamento tipo Cle						
	obtenção do óleo essencial (A), Funil de separação (B) e rota-evaporador					
	acoplado à bomba de vácuo e pressão (C), para extração de óleo					
	essencial					
Figura 2	Mortalidade média de R. dominica em função das concentrações no teste de					
	Fumigação para os óleos essenciais de Manjericão (A), Laranja (B) e Hortelã					
	pimenta (C) e Velaminho (D)					
CAPITÚL	O II					
Eiguro 1	Processo de hidrodestileção utilizando e equipemente tipo Clevenços pero					
Figura 1	Processo de hidrodestilação utilizando o equipamento tipo Clevenger, para					
	obtenção do óleo essencial (A), Funil de separação (B) e rota-evaporador					
	acoplado à bomba de vácuo e pressão (C), para extração de óleo					
	essencial					
Figura 2	Mortalidade média de R. dominica em função das concentrações no teste de					
	Fumigação para os óleos essenciais de Manjericão (A), Laranja (B) e Hortelã					
	pimenta (C) e Velaminho (D)					

## LISTA DE TABELAS

# CAPITÚLO 1

Tabela 1 Valores das CL50 e CL100 por fumigação de óleos essenciais adultos						
	dominica em milho.					
Tabela 2	Resultados de análises de solo. Serra Talhada-PE, UFRPE/UAST					
	2014					
CAPITÚL	O 1I					
Tabela 1	Valores das CL50 e CL100 por fumigação de óleos essenciais adultos de R.					
	dominica em milho.					
Tabela 2	Porcentagem e Índice de repelência dos óleos essenciais de Manjericão					
	(Ocimum basilicum), Laranja amarga (Citrus aurantium), Hortelã pimenta					
	(Mentha spicata) e Velaminho (Croton pulegiodorus) sobre R. dominica no					
	período de 24h.					

# SUMÁRIO

<b>APRESENTAÇ</b> Â	OĂ			
CAPÍTULO 1 –	· TOXICIDA	DE POR FUMIC	SAÇÃO DE Ó	LEOS ESSENCIAIS
SOBRE Rhyzope	ertha dominic	a (COLEOPTER	A: BOSTRICE	IIDAE) EM MILHO
ARMAZENAD(	<b>).</b>	•••••		
1 INTRODUÇÃ	0			
2 MATERIAL E	MÉTODOS.			
3 RESULTADO	S E DISCUSS	SÃO		
4 CONCLUSÃO	)			
REFERÊNCIAS	)			
CAPÍTULO 2 –	TOXICIDA	DE POR CONTA	TO E REPEL	ÊNCIA DE ÓLEOS
ESSENCIAIS	SOBRE	Rhyzopertha	dominica	(COLEOPTERA:
BOSTRICHIDA	E) EM MILE	IO ARMAZENAI	00	
1 INTRODUÇÃ	0			
2 MATERIAL E	MÉTODOS.			
3 RESULTADO	S E DISCUSS	SÃO		
4 CONCLUSÃO	)			
REFERÊNCIAS	)			

## **APRESENTAÇÃO**

O coleóptero *R. dominica* é uma das principais pragas primárias de grão armazenados no Brasil e no mundo. Durante o armazenamento os grãos, sementes e seus subprodutos estão sujeitos ao ataque de pragas, estas pragas ocasionam perdas qualitativas e quantitativas, como redução dos valores nutricionais e comerciais do produto. Com a necessidade de buscar alternativas ao uso do controle químico em produtos armazenados, devido ao desenvolvimento de resistência em insetos-praga e à possibilidade de contaminação dos alimentos por resíduos, as pesquisas têm dado maior ênfase a metodologias alternativas, como o uso de substâncias naturais.

Os óleos essenciais mostram-se como alternativa promissora no controle de insetos praga, esses óleos devem ser utilizados como um método de controle eficaz, para redução dos custos, preservação do ambiente e dos alimentos da contaminação química, tornando-se prática adequada à agricultura sustentável.

Contudo, devem ser ampliadas as pesquisas com outros extratos e óleos essenciais, ensaios em condições de campo e estudos de controle de qualidade para viabilizar uma maior adoção desses produtos naturais pelos técnicos e agricultores.

#### CAPITULO I: TOXICIDADE POR FUMIGAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS SOBRE Rhyzopertha dominica (COLEOPTERA: BOSTRICHIDAE) EM MILHO ARMAZENADO.

#### **Resumo:**

O coleóptero *Rhyzopertha dominica* é uma das principais pragas de produtos armazenados, ocasionando perdas qualitativas e quantitativas, como redução dos valores nutricionais e comerciais do produto. Com a necessidade de se buscar alternativas ao uso do controle químico, o uso de substâncias naturais como os óleos essenciais vem se mostrando uma alternativa promissora. Neste trabalho avaliou-se a atividade fumigante de *Ocimum basilicum*, *Citrus aurantium*, *Mentha spicata* e *Croton pulegiodorus*, sobre adultos de *R. dominica* em milho armazenado. De acordo com as CL50 e CL100 a toxicidade dos óleos essenciais decresceu na seguinte ordem: *Citrus aurantium* > *Croton pulegiodorus* > *Mentha spicata* > *Ocimum basilicum*. O óleo essencial de *Ocimum basilicum* e *Mentha spicata* apresentaram maior efeito inseticida para *R.dominica*. Já os óleos essenciais de *Citrus aurantium* e *Croton pulegiodorus* apesar de apresentarem concentrações mais altas promoveram a mortalidade em *R. dominica*. Contudo todos os óleos estudados no presente trabalho apresentaram propriedades fumigantes para promover o controle de *R. dominica*.

**Palavras-chave:** Ocimum basilicum, Citrus aurantium, Mentha spicata e Croton pulegiodorus

## INTRODUÇÃO

A cultura do milho é de grande importância por ser um cereal que constitui a base da alimentação humana e animal, é o cereal mais consumido do mundo. Nos próximos oito anos, a produção do milho no Brasil deverá situar-se em 70,4 milhões de toneladas, e o consumo em 58,8 milhões (MAPA, 2014). A área plantada de milho deverá aumentar cerca de 700 mil hectares, enquanto que a sua produtividade tem crescido 3,62% ao ano. A produção de milho situa-se dentre as principais atividades agrícolas praticadas no Brasil (CONAB, 2012). Porém a cultura do milho vem sofrendo muitos problemas que podem estar relacionados à baixa renda dos agricultores, ao baixo nível de tecnologia e também à incidência de pragas, que causam grandes prejuízos por atacarem em todas as fases do seu ciclo (NÉRI et al., 2005; OLIVEIRA et al., 2007).

Perdas qualitativas e quantitativas são as principais dificuldades encontradas durante o armazenamento dos grãos, pela ação de insetos-praga, e o milho é uma das culturas mais afetadas. Dentre os insetos-praga de armazenamento, *Sitophilus zeamais, Sitophilus oryzae*,

Rhyzopertha dominica, Ephestia kuehniella e Ephestia elutella podem ser responsáveis pela deterioração física, fisiológica e sanitária no armazenamento (LORINI, 2008).

O coleóptero *R. dominica*, conhecido como besourinho dos cereais, importante por atacar cereais, principalmente trigo, arroz, milho, cevada, centeio, entre outros (GALLO et al., 2002), destrói consideravelmente os grãos deixando-os perfurados e produzindo grande quantidade de resíduos na forma de farinha em decorrência de seus hábitos alimentares, chegando a destruir de 5 a 6 vezes o seu próprio peso em uma semana (GALLO *et al.*, 2002). É uma das principais pragas do trigo e do milho armazenado no nosso país, sendo considerada uma das pragas mais destrutivas de grãos armazenados no mundo, devido à alta incidência e a grande dificuldade de se evitar os prejuízos que causa aos grãos (LORINI, 2008).

O controle químico, principalmente na forma de fumigação, tem sido uma prática corriqueira na desinfestação de grãos armazenados infestados por insetos-praga como *R. dominica*, destacando-se a fosfina como principal fumigante. Entretanto, relatos sobre mecanismos de resistência a tratamentos químicos em várias espécies de insetos associados à sua alta toxicidade aos animais e ao homem têm sido cada vez mais constantes. Tabalhos realizados por Paheco *et al* (1990) e Sartori *et al* (1990) constaram a resistencia à fosfina em populações de *R. dominica* provenientes de diversos estados brasileiros.

Alternativas a esses inseticidas convencionais são necessárias para o controle de insetos, que causam menos danos ao ambiente e que sejam menos tóxicos aos animais e ao homem. Vários estudos demostram que a utilização de produtos naturais de origem vegetal é fonte promissora na obtenção de inseticidas. O uso de diferentes partes do vegetal na forma de pó, extratos orgânico e aquoso, óleos fixos e voláteis tem sido muito utilizado, pricipalmente por serem tóxicos a vários tipos de artropodes (ISMAN, 2006).

Recentemente pesquisas com pós, óleos essenciais e extratos de origem vegetal tem sido desenvolvidas em programas de manejo integrado, principalmente de *C. maculatus*, *R. dominica* e *S. zeamais* (ALMEIDA *et al.*, 2005; BRITO *et al.*, 2006).

No Brasil existem diversas famílias de plantas para exploração de óleos essenciais, tais como, Piperaceae, Myrtaceae, Lauraceae, Euphorbiaceae, Verbenaceae, Lamiaceae, Rutaceae, e até mesmo Poaceae (COITINHO et al., 2011).

O manjericão (*Ocimum basilicum L.*), pertencente à família Lamiaceae, é uma planta anual originária do Sudoeste Asiático e da África Central, utilizada como planta medicinal, aromática, apresentando substâncias de interesse para as indústrias alimentícia, farmacêutica, cosmética e também para a medicina tradicional, principalmente devido ao teor e composição

química do seu óleo essencial (SILVA et al., 2005; HANIF, et al., 2011; ROSADO et al., 2011). Trabalhos realizados com a composição de óleos essenciais em variedades de manjericão identificaram como constituintes majoritários metil chavicol, linalol, geranial e estragol (SAJJADI, 2006; OTTAI et al., 2012).

A laranja amarga (Citrus aurantium L) pertencente à família Rutaceae é cultivada na América Central e do Sul e em países do Mediterrâneo, como variedade copa visando a extração de óleos essenciais (DONADIO & FIGURREDO, 1995). Os óleos essenciais cítricos, que se enquadram na categoria de metabólitos secundários, são matérias-primas de aplicação na cadeia produtiva das indústrias de perfumaria, cosmética, farmacêutica, alimentícia e de polímeros (SILVA-SANTOS & ANTUNES, 2007).

Mentha spicata L pertence à família Lamiaceae, é originária da Europa, sendo uma das espécies de hortelã mais cultivadas no Brasil, devido a sua adaptação ao clima subtropical. Esta espécie possui, dentre outras, propriedade inseticida (CHOUDHURY et al, 2006), a qual tem sido atribuída aos monoterpenos pulegona, mentona e carvona, os principais constituintes do seu óleo essencial (FRANZIOS et al., 1997; CUNHA, SILVA, ROQUE, 2006).

O *Croton pulegiodorus* Baill, pertence à família Euphorbiaceae, é um arbusto com cerca de 1 metro de altura, aromático, com forte odor caprílico, folhas membranáceas e flores brancas. É popularmente conhecido como velame ou velaminho. Na medicina popular ele é utilizado como expectorante, bem como no tratamento de problemas das vias urinárias, reumatismo e doenças da pele (SILVA, 2006).

Dentro desse contexto o trabalho tem-se como objetivo avaliar a atividade fumigante de Manjericão (*Ocimum basilicum*), Laranja amarga (*Citrus aurantium*), Hortelã pimenta (*Mentha spicata*) e Velaminho (*Croton pulegiodorus*), sobre adultos de *R. dominica* em milho armazenado.

#### MATERIAL E MÉTODOS

Os bioensaios foram desenvolvidos nos Laboratórios de Entomologia e do PGPV da Unidade Acadêmica de Serra Talhada (UAST/UFRPE).

#### Criação de R. dominica

Os insetos foram criados em grãos de milho à temperatura de  $30 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , umidade relativa de 60% em B.O.D., acondicionados em recipientes, fechados com tampa plástica perfurada e revestida internamente com tecido fino para permitir as trocas gasosas. Foram confinados durante sete dias para efetuarem a postura, em seguida retirados e os recipientes estocados até a emergência da geração  $F_1$ . Este procedimento será efetuado por sucessivas gerações, de modo a assegurar a quantidade de adultos necessários para a execução dos experimentos.

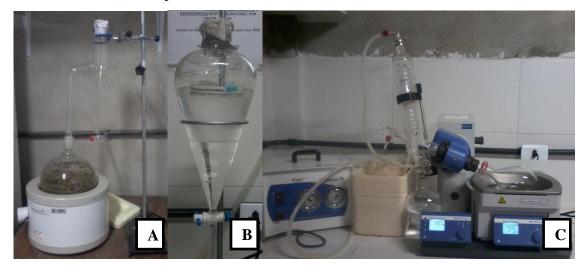
#### Eliminação da infestação e equilíbrio da umidade dos grãos.

Grãos de milho limpos e secos, utilizados para a criação e bioensaios com *R. dominica*, foram acondicionados em sacos plásticos mantidos em freezer sob temperatura de -10°C, durante sete dias, para eliminação de eventuais infestações de insetos provenientes do campo. Após este período no freezer, os grãos foram transferidos para frascos de vidro e mantidos no laboratório à temperatura ambiente.

#### Obtenção do óleo essencial

O óleo essencial de Manjericão (*Ocimum basilicum*), Laranja amarga (*Citrus aurantium*), Hortelã pimenta (*Mentha spicata*), foram adquiridos pela empresa Terra-flor Ind. e Com. de aromaterápicos LTDA (Tabela1). O óleo essencial de Velaminho (*Croton pulegiodorus*) foi obtido no laboratório do PGPV-UFRPE/UAST. O material botânico utilizado para a produção do óleo essencial foi coletado no Município de Triunfo – PE. A identificação da planta foi realizada por especialista do Herbário do Semiárido do Brasil (HESBRA) com Voucher - S.S. Matos 104. O óleo foi obtido de folhas frescas no qual foram utilizadas 200g de folhas trituraras e 3L de água destilada. O material vegetal coletado foi submetido à hidrodestilação por 2 horas, em um balão de 3L, em um aparelho do tipo Clevenger (Figura 1A). A emulsão obtida por esse processo foi colocada no funil de bromo com diclorometano sendo posteriormente agitada. Alguns minutos depois, quando o solvente e o óleo decantaram (Figura 1B), transferiu-se o material que estava no funil de bromo para um balão, utilizou-se um funil de vidro contendo algodão e sulfato de sódio na sua parte inferior para evitar que o material fosse contaminado com a água. Esse balão foi encaixado ao

rota-evaporador e o solvente separado do óleo a vácuo, permanecendo assim somente o óleo essencial dentro do balão, o qual foi armazenado em recipiente âmbar, hermeticamente fechado, em baixas temperaturas.



**FIGURA 1.** Processo de hidrodestilação utilizando o equipamento tipo Clevenger, para obtenção do óleo essencial (A), Funil de separação (B) e rota-evaporador acoplado à bomba de vácuo e pressão (C), para extração de óleo essencial.

#### Fumigação

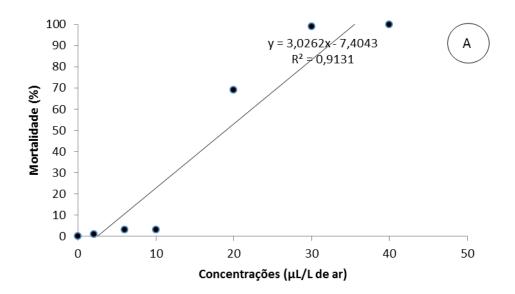
Na avaliação do efeito fumigante sobre adultos de *R. dominica*, foram utilizadas câmaras de fumigação (Adaptado de ASLAN et al., 2004), compostas de recipientes de vidro, tipo bomboniere, de 1 L de capacidade. Os óleos essenciais foram testados em diferentes concentrações definidas previamente por testes preliminares. O óleo essencial de Manjericão (*Ocimum basilicum*), foi testado nas concentrações 5, 10, 15, 20, 30 e 40μL/L de ar. O óleo essencial de Laranja amarga (*Citrus aurantium*), foi testado nas concentrações 10, 20, 30, 40, 50 e 60μL/L de ar. O óleo essencial de Hortelã pimenta (*Mentha spicata*), foi testado nas concentrações 5, 10, 15, 20, 30 e 40μL/L de ar. O óleo essencial de Velaminho (*Croton pulegiodorus*), foi testado nas concentrações 10, 20, 30, 50, 70 e 90μL/L de ar. Os óleos essenciais foram impregnados com pipetador automático, em tiras de papel de filtro de 5 x 2 cm, fixadas na superfície inferior da tampa dos recipientes, a tampa e recipiente propriamente dito ficam separados por um tecido fino poroso para evitar o contato do inseto com o papel impregnado com o óleo. No fundo de cada recipiente foram colocados 20g de milho e liberados 10 insetos adultos de *R. dominica* sem sexagem. Foram utilizadas 10 repetições por tratamento e após 48 horas realizaram-se as avaliações de mortalidade dos insetos. Os

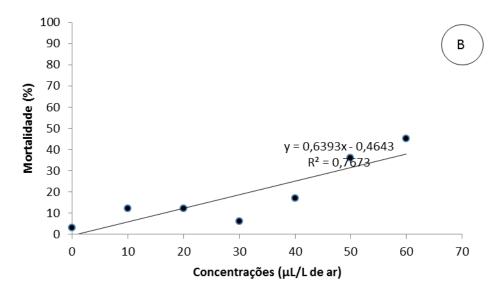
resultados foram submetidos a análise de variância pelo programa ASSISTAT e análise de probit pelo Programa STATPLUS para obtenção das CL50 e CL 100.

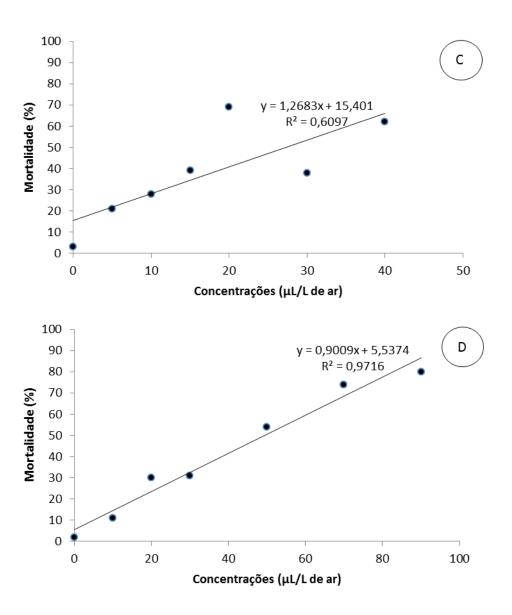
## RESULTADOS E DISCURSÃO

As mortalidades causadas pelos óleos essenciais se ajustaram aos modelos de regressão linear sendo todos significativos ao nível de 1% de probabilidade (p <0.01) (Figura 2).

A mortalidade ocasionada pelo óleo essencial de Manjericão aumentou diretamente com as concentrações, sendo que as concentrações de 30 e  $40\mu L/L$  de ar obtiveram-se, respectivamente, mortalidades de 99 e 100% (Figura 2A). Já para o óleo essencial de laranja houve uma redução na mortalidade com a concentração de  $30\mu L/L$  de ar, porém com o aumento das concentrações foram encontradas 36 e 45% de mortalidade para as concentrações de 50 e  $60\mu L/L$  de ar (Figura 2B). O mesmo ocorreu para o óleo essencial de hortelã, ouve um declínio da mortalidade na concentração de  $30\mu L/L$  de ar mais com o aumento das concentrações houve também um aumento mas mortalidades chegando a 62% com  $40\mu L/L$  de ar, em comparação com concentrações do óleo essencial de laranja (Figura 2C). As concentrações de 70 e  $90\mu L/L$  de ar do óleo essencial do Velaminho causaram mortalidades médias, respectivamente, de 74 e 80% (Figura 2D).







**FIGURA 2-** Mortalidade média de *R. dominica* em função das concentrações no teste de Fumigação para os óleos essenciais de Manjericão (A), Laranja (B) e Hortelã pimenta (C) e Velaminho (D).

De acordo com as CL50 e CL100 a toxicidade dos óleos essenciais decresceu na seguinte ordem: Laranja> Velaminho > Hortelã pimenta > Manjericão (Tabela 1). Os valores das CL50 variaram de 17,67 a 69,36µL/L de ar com as maiores toxicidades alcançadas para os óleos essenciais de Manjericão e Hortelã pimenta que apresentaram as menores concentrações para promover a mortalidade de 50% dos indivíduos. Nas CL100 seguiram-se os mesmos princípios com as maiores toxicidades alcançados para os óleos essenciais de Manjericão e Hortelã pimenta que apresentaram as menores concentrações para promover a mortalidade de 100% dos indivíduos. Todos os óleos essencial testados apresentaram potencial para promover a mortalidade de *R. dominica* porém

**TABELA 1** – Valores das CL50 e CL100 por fumigação de óleos essenciais adultos de *R. dominica* em milho.

Óleos essenciais	CL50(µL/L de ar)	CL100(µL/L de ar)	Erro Padrão
Manjericão (Ocimum basilicum)	17,67	27,15	0,89
Laranja amarga (Citrus aurantium)	69,36	130,68	2,58
Hortelã pimenta (Mentha spicata)	27,51	86,31	2,26
Velaminho (Croton pulegiodorus)	48,66	110,57	2,38

O óleo essencial de Manjericão (*Ocimum basilicum*) e Hortelã pimenta (*Mentha spicata*) apresentaram maior efeito inseticida para *R.dominica*. Segundo Gomes & Favero (2011) a toxicidade por fumigação dos óleos essenciais é influenciada pela composição química do óleo e essa toxicidade se dá pela inalação, ingestão ou pela absorção pelo tegumento.

Trabalhos com o gênero Ocimum apresentaram resultados satisfatórios em relação ao efeito inseticida contra insetos pragas. Lopes et al. (2008) realizaram um fracionamento dos óleo essencial de coentro, cominho e manjericão com o objetivo de determinar quais compostos eram responsável pela toxicidade contra *S. oryzae* e *R. dominica*. O composto ativo do óleo essencial de coentro contra *S. oryzae* e *R. dominica* foi o linalol. Na análise do óleo essencial de cominho revelou que carvone, limoneno, (E) -anethole foram os principais produtos. O carvone matou 100% dos adultos de S. oryza e após 24 h de exposição e o (E) -anethole contra *R. dominica* rendeu 86-100% insetos mortos. Para o óleo essencial de manjericão foram identificada o metil eugenol, estragol e linalol como principais produtos. As fracções com metil eugenol como o principal produto, foram mais ativos contra *R. dominica* e *S. oryzae*.

Kéita et al (2001) avaliaram o efeito fumigante de *Ocimum basilicum* e *O. gratissimum* para o controle de *Callosobruchus maculatus* [Coleoptera: Bruchidae] no qual obtiveram 80 e 70% de mortalidade com 25μL em recipiente de 8mL para *O. basilicum* e *O. gratissimum*, respectivamente. Apesar dos autores utilizarem concentrações relativamente mais altas que o presente trabalho, os resultados corroboram com o potencial inseticida para insetos pragas.

Resultados satisfatórios foram descritos para o gênero Mentha no controle de *R. dominica*. Khalfi et al. (2006) estudaram a influência da composição do óleo essencial de *Mentha spicata* L. com diferentes proporções de 1,8 cineole e carvone em seu efeito inseticida

sobre *Rhyzopertha dominica*. Os resultados mostram um efeito sinergístico dos dois compostos contra *Rhyzopertha dominica*. No estudo desenvolvido por Benayad et al. (2012) foram avaliadas a composição química e inseticida do óleo essencial de *Mentha suaveolens L. e Mentha pulegium L.* em *Sitophilus oryzae e Rizopertha dominica* em Marrocos. Os principais compostos de *Mentha Suaveolens* L. foram piperitenone (33,03%), pulegona (17,61%), piperitona (9,18%); e de *Mentha pulegium* L. foram pulegona (73,33%), mentona (8,63%). O óleo essencial de *Mentha pulegium* é provado ser muito tóxico para as duas espécies de coleópteros nas primeiras 24 h. O óleo essencial de *Mentha suaveolens* revelou efeito tóxico para as duas espécies de coleópteros, o percentual de mortalidade é de 100% para os montantes de 50μL e 12μL. Já Franz et al. (2011) avaliaram óleos essenciais para controlar *S. oryzae* nos testes de fumigação e aplicação tópica, porém apresentou baixa mortalidade de *S. oryzae* para o óleo essencial de *Mentha sp* cujo principal componente é o monoterpeno mentol (91%), em comparação com os óleos essenciais de *Cymbopogon citratus* e *Zingiber officinale*.

Esmaili et al. (2013) fumigação do óleo essencial de *Mentha pulegium* foi avaliada sobre os adultos de *Callosobruchus maculatus*, *Tribolium castaneum*, *Lasioderma serricorne* e *Sitophilus oryzae*. No qual encontraram concentrações relativamente elevada para promover a mortalidade em adultos de *C. maculatus*, *T. castaneum*, *L.* e *S. oryzae serricorne*. Os resultados mostraram que os adultos de pragas testadas foram susceptíveis a *M. pulegium*.

Os óleos essenciais de Laranja amarga (*Citrus aurantium*) e Velaminho (*Croton pulegiodorus*) apresentaram concentrações mais elevadas em relação aos demais óleos utilizados, para promover a mortalidade contra *R. dominica*. Porém concentrações estas ainda consideradas baixas e com potencial inseticida contra o *R. dominica*. As plantas voláteis óleos essenciais de cascas de frutas de algumas espécies de citros foram relatados para ter propriedades inseticidas contra pragas de insetos de grãos armazenados. Forouzan et al. (2013) avaliaram o potencial do óleo essencial da casca de *Citrus reticulata* em diferentes tempos de exposição na qual obtiveram os valores das LC50 e CL95 estimado 18.30 e 78.15µl/L de ar e 15,52 e 57,97 µl/L de ar, respectivamente, na 24 e 48 horas. Os resultados mostraram que o óleo essencial de *C. reticulata* mostrou-se bom fumigante contra adultos de *R. dominica*. Segundo os autores a atividade inseticida variaram com as espécies de insetos, as concentrações do óleo e extensão dos tempos de exposição.

Prates et al. (1998) avaliaram o Cineol (componente de Eucalyptus spp) e limoneno (constituinte de Citrus spp) para determinar possível atividade fumigante, contato e ingestão

contra *Rhyzopertha dominica e Tribolium castaneum*. O cineol monoterpenos e limonene, apresentaram propriedades inseticidas, sendo letal para tanto *R. dominica e T. castaneum*, na qual essas substâncias são tóxicas por penetrar no corpo do inseto através do o sistema respiratório (fumigante), a cutícula (entre em contato) ou o sistema digestivo (ingestão ). O limoneno foi mais eficaz para *T. castaneum* do que para *R. dominica*.

Brito et al. (2014a) avaliaram os efeitos de óleos essenciais de *Croton pulegiodorus* e *Ocimum basilicum* sobre *Callosobruchus maculatus* em diferentes dosagens (0.0, 5, 10, 15 e 20 μL / L de ar). Para o efeito fumigante o *O. basilicum* ocasionou 100% de mortalidade já o *C. pulegiodorus* as concentrações utilizadas não apresentaram diferenças significativas. Em outro trabalho, Brito et al. (2014b) avaliaram os óleos essenciais de *Croton pulegiodorus* e *Ocimum basilicum* sobre *Zabrotes subfasciatus* nas diferentes dosagens (0. 0, 5, 10, 15 e 20 μL / L de ar), apresentando 100% de mortalidade *O. basilicum* e *C. pulegiodorus*. Já Magalhães et al. (2014a) avaliaram os óleos essenciais de *Croton pulegiodorus* e *Ocimum basilicum* sobre *Sitophilus zeamais*. Para o efeito fumigante *C. pulegiodorus* 20 μL- 90% de mortalidade já o *O. basilicum* não houve diferenças significativas. Em outro trabalho, Magalhães *et al.*(2014b) avaliaram os óleos essenciais de *Croton pulegiodorus* e *Ocimum basilicum* sobre *Tribolium castaneum*. Porem não houve diferenças significativas entre as concentrações testadas.

#### CONCLUSÃO

O óleo essencial de Manjericão e hortelã pimenta apresentaram os menores valores das CL50 e CL100 para promover a mortalidade de *R. dominica*. Já os óleos essenciais de laranja amarga e velaminho apesar de apresentarem concentrações mais altas promoveram a mortalidade em *R. dominica*. Contudo todos os óleos estudados no presente trabalho apresentaram propriedades fumigantes para promover o controle de *R. dominica*.

#### REFERÊNCIAS

ALMEIDA, F.A.C., S.A. ALMEIDA, N.R. SANTOS, J.P. GOMES & M.E.R. ARAÚJO. Efeito de extratos alcoólicos de plantas sobre o caruncho do feijão vigna (*Callosobruchus maculatus*). **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental,** Campina Grande, v.9, p.585-590. 2005.

ASLAN, I.; H. OZBEK; O. ÇALMASUR & F. SAHIN. Toxicity of essential oil vapours to two greenhouse pests, Tetranychus urticae Koch and Bemisia tabaci Genn. **Industrial Crops and Products**, v. 19, p.167-173, 2004.

BENAYAD, N.; EBRAHIM W.; HAKIKI, A.; MOSADDAK, M. Chemical characterization and Insecticidal evaluation of the essential oil of *Mentha suaveolens* L. and *Mentha pulegium* L. growing in Morocco. **Scientific Study & Research Chemistry & Chemical Engineering, Biotechnology, Food Industry**, v. 13, n. 1, p. 027 – 032, 2012.

BRITO, J.P., J.E.M. OLIVEIRA & S.A. BORTOLI, Toxicidade de óleos essenciais de *Eucalyptus* spp. sobre *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) (Coleoptera: Bruchidae). **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v.6, p.96-103, 2006.

BRITO, S. S. S. Atividade inseticida de óleos essenciais sobre *Zabrotes subfasciatus* boh. (Coleoptera: Chrysomelidae) em feijão comum armazenado p.46, 2014b dissertação (mestrado em Produção Agrícola), Garanhuns, PE.

BRITO, S. S. S. Controle de *Callosobruchus maculatus* (fabr.) (coleoptera: chrysomelidae) em feijão Caupi armazenado com óleos essenciais. p.13, 2014a dissertação (mestrado em Produção Agrícola), Garanhuns – PE.

CHOUDHURY, R. P., R. P., KUMAR, A., GARG, A. N. Analysis of Indian mint (*Mentha spicata*) for essential, trace and toxic elements and its antioxidant behaviour. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis,** v.41, n.3, p.825-832, 2006.

COITINHO, R. L. B. C.; OLIVEIRA, J. V.; GONDIM JUNIOR, M. G. C.; CÂMARA, C. A. G. Toxicidade por fumigação, contato e ingestão de óleos essenciais para *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1885 (Coleoptera: Curculionidae) **Ciência e agrotecnologia**, v. 35, n. 1, p. 172-178, 2011.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento de safra brasileira: grãos, décimo primeiro levantamento. Brasília: Conab, 2014

CUNHA, A. P., SILVA, A. P., ROQUE, O. R. **Plantas e produtos vegetais em fitoterapia.** Fundação Claouste Gul Benkian. 2ª Edição. P.386-533. 2006.

DONADIO, L.C.; FIGUEIREDO, J.O.; PIO, R.M. Variedades cítricas brasileiras. Jaboticabal: FUNEP, 1995. 228p.

ESMAILI, M.; VOJOUDI, S. & PARSAEYAN E. Fumigant toxicity of essential oils of Mentha pulegium L. on adults of *Callosobruchus maculatus, Tribolium castaneum, Lasioderma serricorne* and *Sitophilus oryzae* in laboratory conditions, **Technical Journal of Engineering and Applied Sciences**, V.3, n.9, P.732-735, 2013.

FOROUZAN, M.; REZAEI, M.; EIVAZI, A. & HASSANZADEH, M. Fumigant toxicity of essential oils from *citrus reticulate*Blanco fruit peels against *Rhyzopertha dominica* F. (Col.:Bostrichidae). **Scientia Agriculturae**, v.1, n.3, p.67-69, 2013.

FRANZ, A. R.; KNAAK, N. & FIUZA, L. M. Toxic effects of essential plant oils in adult *Sitophilus oryzae* (Linnaeus) (Coleoptera, Curculionidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v.55, n.1, p.116–120, 2011.

FRANZIOS, G.; MIROTSOU, M.; HATZIAPOSTOLOU, E.; KRAL, J.; COURAS, Z. G.; MAVRAGANI-TSIPIDOU, P.; J. **Agricultural and Food Chemistry**., V.45, p.2690, 1997.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BAPTISTA, G. C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTTO, C. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALO, P. 920. 2002.

GOMES, S.P.; FAVERO, S. Avaliação de óleos essenciais de plantas aromáticas com atividade inseticida em *Triatoma infestans* (Klug, 1834) (Hemiptera: Reduviidae). **Acta Scientiarum Health Sciences**, v. 33, n. 2, p. 147-151, 2011.

HANIF, M.A.; AL-MASKARI, M.Y.; AL-MASKARI, A.; AL-SHUKAILI, A.; AL-MASKARI, A.Y.; AL-SABAHI, J.N. Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant

activities of unexplored Omani basil. **Journal of Medicinal Plants Research**, v.5, n.5, p.751-757, 2011.

ISMAN, M. B. Botanical inseticides, deterrentes, and inmodern agriculture and na increasingle regulated Word. **Annual Review of Entomologia**. v.51, p.45-66, 2006.

KEITA, S. M, VINCENT C.; SCHMIT, J. P.; ARNASON, J.T.; BELANGER, A. Efficacy of essential oil of *Ocimum basilicum* L. and *O. gratissimum* L. applied as an insecticidal fumigant and powder to control *Callosobruchus maculatus* (Fab.) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*. V. 37, n. 4, p. 339–349, 2001.

KHALFI, O.; BENYOUSSEF, EL-HADI & YAHIAOUI, N. Extraction, Analysis and Insecticidal Activity of Spearmint Essential Oil from Algeria Against *Rhyzopertha dominica* (F.). **Journal of essential oil-bearing plants**, v.9, n.1, p.17-21, 2006

LOPEZ, M. D.; JORDAN, M. J. & PASCUAL-VILLALOBOS, M. J. Toxic compounds in essential oils of coriander, caraway and basil active against stored rice pests. **Journal of Stored Products Research**, v.44, p. 273–278, 2008.

LORINI, I. **Manejo integrado de pragas de grãos de cereais armazenados**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, p.72, 2008.

MAGALHÃES, C. R. I. Potencial inseticida de óleos essenciais sobre *sitophilus zeamais* (motschulsky, 1885) (Coleoptera: Curculionidae) em milho armazenado. P. 20, 2014a. Dissertação (mestrado em Produção Vegetal), Serra Talhada- PE.

MAGALHÃES, C. R. I. Potencial inseticida de óleos essenciais sobre *tribolium castaneum* (herbst, 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae) em milho armazenado. p.49, 2014b. Dissertação (mestrado em Produção Vegetal), Serra Talhada- PE.

NÉRI, D. K. P. et al. Interação silício com inseticida regulador de crescimento no manejo da lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho. **Revista Ciência e Agrotecnologia,** Lavras, v.29, n.6, p.1167-1174, 2005.

OLIVEIRA, M. S. S. et al. Eficiência de produtos vegetais no controle da lagarta-do-cartucho-domilho *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Ciência e Agrotecnologia,** Lavras, v.31, n.2, p.326-331, 2007.

OTTAI, M.E.S.; SAYEDA S.A.; EL DIN, M.M. Genetic Variability Among Some Quantitative Characters, Insecticidal Activity and Essential Oil Composition of Two Egyptian and French Sweet Basil Varieties. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, v.6, n.3, p.185-192, 2012.

PACHECO, I. A. M. R. SARTORI & R. W. D. TAYLOR. Levantamento de resistencia de insetos-praga de grãos armazenados á fosfina, no estado de São Paulo. **Coletânea do ITAL** v.20, p.144-154, 1990.

PRATES, H. T.; SANTOS, J. P. dos. Óleos essenciais no controle de pragas de grãos armazenados. In: LORINI, I.; MIIKE, L.H.; SCUSSEL, V.M. (Org.). **Armazenagem de grãos.** Campinas: IBG, 2002. p.443-461.

ROSADO, L.D.S.; PINTO, J.E.B.P.; BOTREL, P.P.; BERTOLUCCI, S.K.V.; NICULAU, E.S.; ALVES, P.B. Influência do processamento da folha e tipo de secagem no teor e composição química do óleo essencial de manjericão cv. Maria Bonita. **Ciência e Agrotecnologia**, v.35, n.2, p.291-296, 2011.

SAJJADI, S.E. Analysis of the essential oils of two cultivated basil (*Ocimum basilicum* L.) from Iran. **Daru**, v.14, n.3, p.128-130, 2006.

SARTORI, M. R; I. A. PACHECO; M. IADEROZA & R. W. D. TAYLOR. Ocorrência e especificidade de resistência ao malatiom em insetos praga de grãos armazenados no Estado de São Paulo. **Coletânea ITAL.** v. 20, p.194-209, 1990.

SILVA, W. J. Atividade larvicida do óleo essencial de plantas existentes no estado de sergipe contra *Aedes aegypti* Linn. 2006, p.57. Dissertação (Mestrado Desenvolvimento e Meio Ambiente) Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão – SE

SILVA, F.; SANTOS, R.H.S.; ANDRADE, N.J.; BARBOSA, L.C.A.; CASALI, V.W.D.; LIMA, R.R.; PASSARINHO, R.V.M. Basil conservation affected by cropping season, harvest time and storage period. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.40, n.4, p.323-328, 2005.

SILVA-SANTOS, A.; ANTUNES, A. M. S. Óleos Essenciais: A Fonte dos Aromas e Fragrâncias. Setores da Indústria Química Orgânica. 1ed. Rio de Janeiro: E-papersv, p. 145-160, 2007.

# CAPITULO II: TOXICIDADE POR CONTATO E REPELÊNCIA DE ÓLEOS ESSENCIAIS SOBRE Rhyzopertha dominica (COLEOPTERA: BOSTRICHIDAE) EM MILHO ARMAZENADO.

#### **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 de contato e repelência dos óleos essenciais *Ocimum basilicum, Citrus aurantium, Mentha spicata* e *Croton pulegiodorus*, sobre adultos de *R. dominica* em milho armazenado. De acordo com as CL50 a toxicidade dos óleos essenciais decresceu na seguinte ordem: *Mentha spicata* > *Croton pulegiodorus* > *Ocimum basilicum* > *Citrus aurantium*, os valores das CL50 variaram de 0,05 a 2,80 µL/cm². O óleo essencial de *Croton pulegiodorus* e *Croton pulegiodorus* apresentaram maior toxicidade por contato. Já para o teste de repelência todos os óleos essenciais foram considerados repelentes. Contudo todos os óleos estudados no presente trabalho apresentaram propriedades fumigantes para promover o controle de *R. dominica*.

**Palavras-chave:** Ocimum basilicum, Citrus aurantium, Mentha spicata e Croton pulegiodorus.

## INTRODUÇÃO

O inseto *Rhyzopertha dominica* (F.), Coleoptera, Bostrichidae, descrito primeiramente por Fabricius em 1792, é uma das pragas mais destrutivas dos grãos armazenados em todo o mundo, considera a praga mais séria em cereais armazenados no Brasil (LORINI, 2008). É considerado de grande nocividade no armazenamento do trigo e arroz beneficiado ou com casca, ocorrendo também em sorgo, milho, cevada e centeio (GALLO et al., 2002). A espécie é caracterizada pela seguinte combinação de características morfológicas: corpo cilíndrico, pronoto com saliências dorsais semelhantes a dentes; cabeça geralmente escondida sob o pronoto; antena com clava composta de três a quatro segmentos; tarsos com cinco segmentos delgados e simples (ATTHIÉ & PAULA, 2002).

O controle preventivo desta praga é feito com pós inertes ou inseticidas químicos como deltametrina e o controle curativo é feito com fumigantes principalmente a fosfina. Entretanto, falhas de controle à esta praga têm sido observados sendo o principal motivo a resistência dessa espécie ao inseticida deltametrina (LORINI & GALLEY, 1999) e relatos sobre mecanismos de resistência a tratamentos químicos em várias espécies de insetos associados à sua alta toxicidade aos animais e ao homem têm sido cada vez mais constantes.

Tabalhos realizados por Paheco et al. (1990) e Sartori et al. (1990) constaram a resistencia à fosfina em populações de *R. dominica* provenientes de diversos estados brasileiros.

Assim, existe uma necessidade de desenvolver novos tipos de alternativas para controlo de insetos pragas, com ação inseticida. Na verdade, a administração de pragas de produtos armazenados, utilizando substâncias de origem natural, é hoje objeto de muitos estudos (ISMAN, 2006). Muitas plantas são conhecidos por ter várias atividades contra diferentes grãos armazenados de insetos pragas, muitas destas plantas são plantas aromáticas produção de óleos essenciais e têm sido amplamente investigados contra insetos praga de produto armazenado(NGAMO et al., 2007).

A utilização de produtos vegetais com atividade inseticida promove, nos insetos, ação diversificada tais como: repelência, fago inibição, inibição do crescimento, alterações no comportamento sexual, esterilização dos adultos, mortalidade na fase imatura ou adulta (BENZI et al., 2009)

Recentemente pesquisas com pós, óleos essenciais e extratos de origem vegetal tem sido desenvolvidas em programas de manejo integrado, principalmente de *C. maculatus*, *R. dominica* e *S. zeamais* (ALMEIDA et al., 2005; BRITO et al., 2006).

No Brasil existem diversas famílias de plantas para exploração de óleos essenciais, tais como, Piperaceae, Myrtaceae, Lauraceae, Euphorbiaceae, Verbenaceae, Lamiaceae, Rutaceae, e até mesmo Poaceae (COITINHO et al., 2011).

O manjericão (*Ocimum basilicum L.*), pertencente à família Lamiaceae, é uma planta anual originária do Sudoeste Asiático e da África Central, utilizada como planta medicinal, aromática, apresentando substâncias de interesse para as indústrias alimentícia, farmacêutica, cosmética e também para a medicina tradicional, principalmente devido ao teor e composição química do seu óleo essencial (SILVA et al., 2005; HANIF, et al., 2011; ROSADO et al., 2011).

A laranja amarga (Citrus aurantium L) pertencente à família Rutaceae é cultivada na América Central e do Sul e em países do Mediterrâneo, como variedade copa visando a extração de óleos essenciais (DONADIO & FIGURREDO, 1995). Os óleos essenciais cítricos, que se enquadram na categoria de metabólitos secundários, são matérias-primas de aplicação na cadeia produtiva das indústrias de perfumaria, cosmética, farmacêutica, alimentícia e de polímeros (SILVA-SANTOS & ANTUNES, 2007).

Mentha spicata L pertence à família Lamiaceae, é originária da Europa, sendo uma das espécies de hortelã mais cultivadas no Brasil, devido a sua adaptação ao clima

subtropical. Esta espécie possui, dentre outras, propriedade inseticida (CHOUDHURY et al, 2006), a qual tem sido atribuída aos monoterpenos pulegona, mentona e carvona, os principais constituintes do seu óleo essencial (FRANZIOS et al., 1997; CUNHA, SILVA, ROQUE, 2006).

O *Croton pulegiodorus* Baill, pertence à família Euphorbiaceae, é um arbusto com cerca de 1 metro de altura, aromático, com forte odor caprílico, folhas membranáceas e flores brancas. É popularmente conhecido como velame ou velaminho. Na medicina popular ele é utilizado como expectorante, bem como no tratamento de problemas das vias urinárias, reumatismo e doenças da pele (SILVA, 2006).

Dentro desse contexto o trabalho tem-se como objetivo avaliar o efeito de contato e repelência dos óleos essenciais de Manjericão (*Ocimum basilicum*), Laranja amarga (*Citrus aurantium*), Hortelã pimenta (*Mentha spicata*) e Velaminho (*Croton pulegiodorus*), sobre adultos de *R. dominica* em milho armazenado.

#### MATÉRIAL E MÉTODOS

Os bioensaios foram desenvolvidos nos Laboratórios de Entomologia e do PGPV da Unidade Acadêmica de Serra Talhada (UAST/UFRPE).

#### Criação de R. dominica

Os insetos foram criados em grãos de milho à temperatura de  $30 \pm 2^{\circ}$ C, umidade relativa de 60% em B.O.D., acondicionados em recipientes, fechados com tampa plástica perfurada e revestida internamente com tecido fino para permitir as trocas gasosas. Foram confinados durante sete dias para efetuarem a postura, em seguida retirados e os recipientes estocados até a emergência da geração  $F_1$ . Este procedimento será efetuado por sucessivas gerações, de modo a assegurar a quantidade de adultos necessários para a execução dos experimentos.

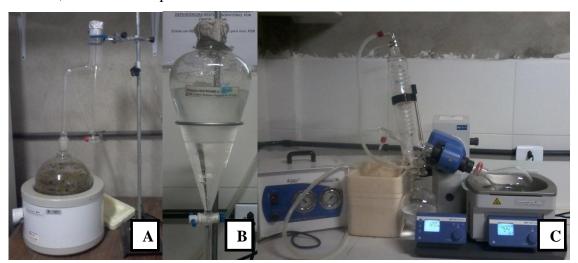
#### Eliminação da infestação e equilíbrio da umidade dos grãos.

Grãos de milho limpos e secos, utilizados para a criação e bioensaios com *R*. *dominica*, foram acondicionados em sacos plásticos mantidos em freezer sob temperatura de - 10°C, durante sete dias, para eliminação de eventuais infestações de insetos provenientes do

campo. Após este período no freezer, os grãos foram transferidos para frascos de vidro e mantidos no laboratório à temperatura ambiente.

#### Obtenção do óleo essencial

O óleo essencial de Manjericão (Ocimum basilicum), Laranja amarga (Citrus aurantium), Hortelã pimenta (Mentha spicata), foram adquiridos pela empresa Terra-flor Ind. e Com. de aromaterápicos LTDA (Tabela1). O óleo essencial de Velaminho (Croton pulegiodorus) foi obtido no laboratório do PGPV-UFRPE/UAST. O material botânico utilizado para a produção do óleo essencial foi coletado no Município de Triunfo – PE. A identificação da planta foi realizada por especialista do Herbário do Semiárido do Brasil (HESBRA) com Voucher - S.S. Matos 104. O óleo foi obtido de folhas frescas no qual foram utilizadas 200g de folhas trituraras e 3L de água destilada. O material vegetal coletado foi submetido à hidrodestilação por 2 horas, em um balão de 3L, em um aparelho do tipo Clevenger (Figura 1A). A emulsão obtida por esse processo foi colocada no funil de bromo com diclorometano sendo posteriormente agitada. Alguns minutos depois, quando o solvente e o óleo decantaram (Figura 1B), transferiu-se o material que estava no funil de bromo para um balão, utilizou-se um funil de vidro contendo algodão e sulfato de sódio na sua parte inferior para evitar que o material fosse contaminado com a água. Esse balão foi encaixado ao rota-evaporador e o solvente separado do óleo a vácuo, permanecendo assim somente o óleo essencial dentro do balão, o qual foi armazenado em recipiente âmbar, hermeticamente fechado, em baixas temperaturas.



**Figura 1.** Processo de hidrodestilação utilizando o equipamento tipo Clevenger, para obtenção do óleo essencial (A), Funil de separação (B) e rota-evaporador acoplado à bomba de vácuo e pressão (C), para extração de óleo essencial.

#### **Contato**

Os óleos essenciais utilizados foram diluídos em 500μL de acetona em diferentes concentrações definidas previamente por testes preliminares à temperatura 30 ± 2°C, umidade relativa de 60% como testemunha foi utilizado apenas 0,5mL de solvente para o controle. Para óleo essencial de Manjericão (*Ocimum basilicum*) foram utilizadas as doses de 0.17, 0.35, 0.53, 0.63, 0.70 e 1.23μL/cm². O óleo essencial de Laranja amarga (*Citrus aurantium*), nas doses de 1.76, 2.12, 2.47, 2.83, 3.18, e 3.53μL/cm². Óleo essencial de Hortelã pimenta (*Mentha spicata*), nas doses de 0.07, 0.14, 0.21, 0.35 e 0.53μL/cm². Óleo essencial de Velaminho (*Croton pulegiodorus*), nas doses de 0.07, 0.14, 0.21, 0.28 e 0.35μL/cm². O ensaio foi realizado em exposição de superfície de contato, onde as doses dos óleos essenciais foram aplicadas em papel filtro de 6cm de diâmetro. Após a evaporação do solvente, os papéis foram colocados em placas de Petri do mesmo diâmetro e liberados sobre o papel 10 insetos adultos de *R. dominica*. Foram utilizadas 10 repetições por tratamento e após 24 horas realizaram-se as avaliações de mortalidade dos insetos. Os resultados foram submetidos à análise de variância pelo programa ASSISTAT e análise de probit pelo Programa STATPLUS para obtenção das DL50 e DL 100.

#### Repelência

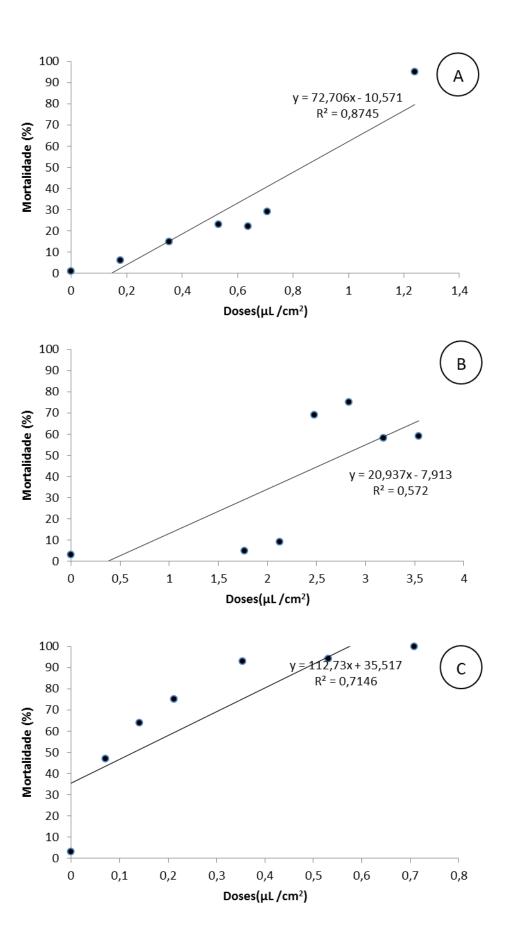
Para avaliação da repelência dos óleos essenciais, foi utilizado duas concentrações sub-letais estimadas no teste de superfície de contato da DL50. Para o óleo essencial de manjericão foram utilizadas as doses 0.20, 0.40 e 0.81μL/cm², com o óleo essencial de Laranja amarga foram utilizadas as doses: 0.70, 1.40 e 2,80 μL/cm², para o óleo essencial de hortelã pimenta foram utilizadas nas doses: 0.41, 0.82 e 1.64 μL/cm². Enquanto que para o óleo essencial de velaminho foram utilizadas as doses: 0.82, 1.65 e 3.31μL/cm². Para o teste de repelência utilizou-se discos de papel filtro com 6cm de diâmetro, divididos ao meio para a aplicação do óleo diluído em 500 μL de acetona e as diferentes doses em uma das metades e na outra aplicou-se apenas 500 μL do solvente acetona como controle. Após a secagem, os

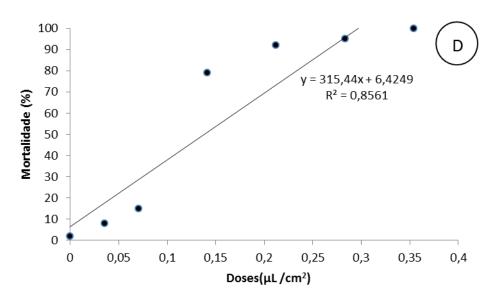
discos foram colocados em placas de Petri com mesmo diâmetro, em seguida foram liberados 10 insetos adultos de *R. dominica* sem sexagem. Após 24h foi avaliados o número de insetos encontrados na superfície tratada com o óleo essencial e o número de insetos encontrados na superfície tratada apenas com o solvente. O Índice de Repelência (IR) foi calculado pela fórmula: IR = 2G/(G + P), onde G = % de insetos atraídos no tratamento e P = % de insetos atraídos na testemunha. Os valores de IR variam entre zero e dois, sendo que IR = 1 indica repelência semelhante entre o tratamento e a testemunha (tratamento neutro), IR > 1 indica menor repelência do tratamento em relação à testemunha (tratamento atraente) e IR < 1 corresponde à maior repelência do tratamento em relação à testemunha (tratamento repelente). Foram utilizadas 10 repetições por tratamento.

#### RESULTADO E DISCURSÃO

As mortalidades causadas pelos óleos essenciais se ajustaram aos modelos de regressão linear sendo todos significativos ao nível de 1% de probabilidade (p <0.01) (Figura 1).

Os óleos essenciais apresentaram propriedades inseticidas sobre o *R. dominica*. A mortalidade ocasionada pelo óleo essencial de Manjericão atingiu cerca de 90% para a concentração de 1,23μL/cm² (Figura 2A). Já para o óleo essencial de laranja a mortalidade teve um aumento considerável atingindo 75% de mortalidade com a aplicação de 2,83μL/cm², já nas doses seguintes a mortalidade caiu e se estabilizou (Figura 2B). Para o óleo essencial de Hortelã pimenta a mortalidade aumentou diretamente com o aumento das concentrações, promovendo 100% de mortalidade na dose de 0,70 μL/cm² (Figura 2C). Em relação a todos os óleos essenciais utilizados, o óleo essencial de velaminho foi o mais eficiente, promovendo 100% de mortalidade na dose de 0,35 μL/cm², cerca de 50% a menos em comparação com o óleo essencial de Hortelã pimenta (Figura 2 D).





**Figura 2**- Mortalidade média de *R. dominica* em função das doses no teste de contato para os óleos essenciais de Manjericão (A), Laranja (B) e Hortelã pimenta (C) e Velaminho (D).

De acordo com as CL50 a toxicidade dos óleos essenciais decresceu na seguinte ordem: Hortelã pimenta > Velaminho > Manjericão > Laranja (Tabela 1). Os valores das CL50 variaram de 0,05 a 2,80 μL/cm² com as maiores toxicidades alcançadas para os óleos essenciais de Hortelã pimenta e Velaminho que apresentaram as menores concentrações para promover a mortalidade de 50% dos indivíduos. Já nas CL100 as maiores toxicidades alcançados foi para o óleo essencial de Velaminho e Hortelã pimenta, uma inversão em relação a CL50, que pode ser atribuída ao modo de absorção do óleo essencial. Todos os óleos essencial testados apresentaram potencial para promover a mortalidade de *R. dominica*.

O óleo essencial de Velaminho e hortelã pimenta apresentaram maior toxicidade por contato, este contato pode atuar em enzimas digestivas e neurológicas e também interagir com o tegumento do inseto (ISMAN 2006).

Os componentes majoritários dos óleos essenciais estudados no presente trabalho provavelmente devem ter sido responsáveis pela ação inseticida. Segundo Silva et al (2006) o óleo essencial de Velaminho apresentam como componente majoritários b-Cariofileno (21,80%), Germacreno D (10,16%), Biciclogermacreno (17,49%) e já o óleo essencial hortelã pimenta segundo a empresa produtora; Terra flor, apresentou o Menthol (35,20%) Menthyl acetate(6,22%) e o Pulegone (3,62%), como principais constituinte.

A ação dos monoterpenóides dos óleos essenciais sobre insetos são a hiperatividade, seguida de hiperextenção das pernas e abdôme, um breve espasmo e uma rápida imobilização seguida de morte (ENAN, 2001). Os monoterpenos e seus análogos são considerados os mais

importantes, tendo grande abundância nos óleos essenciais, com potencial tóxico nos processos bioquímicos básicos com consequências fisiológicas e comportamentais dos insetos (COITINHO et al., 2011).

Os óleos essenciais possuem ação neurotóxica e o sítio de ligação nos insetos é o octopaminérgico, logo, a ação é sobre a octopamina, que aumenta o estado de excitação do inseto, podendo provocar uma ação disruptiva do neurônio despareado (CHAPMAN, 1998; ENAN, 2001).

Resultados semelhantes tem sido descrito para *R. dominica* em relação ao efeito inseticida por contato. Aggarwal et al (2001) isolou o componente L-mentol e seus derivados do óleo essencial de *Mentha arvensis* o qual foram testadas quanto à sua toxicidade contra *Callosobruchus maculatus, Rhyzopertha dominica, Sitophilus oryzae* e *Tribolium castaneum*. O L-mentol foi altamente repelente para todas as espécies a uma dose de 0,353 mg/cm², indicando que a L-mentol, acetato de mentilo, e propionato de mentilo são altamente ativa como repelente, ovicida e contato tóxico, respectivamente. Provavelmente o mentol pode ser o responsável pela alta mortalidade de *R. dominica* no presente trabalho.

O poder inseticida do gênero cróton vem sendo estudados recentemente. Brito *et al.* (2014a) avaliaram os efeitos de óleos essenciais de *Croton pulegiodorus* e sobre *Callosobruchus*, porém nas concentrações utilizadas não apresentaram diferenças significativas. Diferentemente ao encontrado no presente trabalho que se obteve excelente mortalidade com concentrações baixas. Em outro trabalho, Brito et al (2014b) o *Croton pulegiodorus* foi testado sobre *Zabrotes subfasciatus* que apresentou 100% de mortalidade, resultados estes que corroboram com os resultados do presente estudo. Já Magalhães et al. (2014a) avaliaram o óleos essencial de *Croton pulegiodorus* sobre *Sitophilus zeamais*. Apresentando 90% de mortalidade em 20 μL. Em outro trabalho, Magalhães *et al.* (2014b) avaliaram os óleos essenciais de *Croton pulegiodorus* e sobre *Tribolium castaneum*. Porem não houve diferenças significativas entre as concentrações testadas.

**Tabela 1** – Valores das CL50 e CL100 por contato de óleos essenciais adultos de *R*. *dominica* em milho.

Óleos essenciais	$CL50(\mu L/cm^2)$	$CL100(\mu L/cm^2)$	Erro Padrão
Manjericão (Ocimum basilicum)	0,81	1,36	0,02
Laranja amarga (Citrus aurantium)	2,80	4,58	0,07
Hortelã pimenta (Mentha spicata)	0,05	0,44	0.02

Para o teste de repelência todos os óleos essenciais foram considerados repelentes, com exceção do velaminho na dose de 3,31μL/cm², que apresentou efeito neutro. Para o óleo essencial de Manjericão e velaminho, as menores doses proporcionaram uma maior porcentagem de repelência, já para o óleo essencial de laranja amarga a maior porcentagem de repelência (80%) foi encontrada para a dose de 39,66μL/cm², enquanto que para o óleo essencial de hortelã pimenta a maior porcentagem foi encontrada com a maior dose (Tabela 2).

0,11

**Tabela 2**: Porcentagem e Índice de repelência dos óleos essenciais de Manjericão (*Ocimum basilicum*), Laranja amarga (*Citrus aurantium*), Hortelã pimenta (*Mentha spicata*) e Velaminho (*Croton pulegiodorus*) sobre *R. dominica* no período de 24h.

Óleo essencial	Doses (µL/cm <sup>2</sup> )	ST (%)	SNT (%)	IR	Classificação
Manjericão (Ocimum basilicum)	0,20	27	73	0,54	Repelente
	0,40	32	68	0,64	Repelente
	0,81	32	68	0,74	Repelente
Laranja amarga (Citrus aurantium)	0,70	27	73	0,54	Repelente
	1,40	15	85	0,3	Repelente
	2,80	20	80	0,4	Repelente
Hortelã pimenta (Mentha spicata)	0,02	22	78	0,44	Repelente
	0,14	30	70	0,6	Repelente
	0,05	18	82	0,36	Repelente
Velaminho (Croton pulegiodorus)	0,02	29	71	0,58	Repelente
	0,05	38	62	0,76	Repelente
	0,11	53	47	1,06	Neutro

ST=superfície tratada com óleo essencial

SNT=Superfície não tratada

IR=Índice de repelência

Já no teste de repelência o efeito repelente dos óleos essenciais foram observadas em todas as concentrações sub-letais testadas, porém com maior porcentagem de repelência para a menor concentração (Tabela 2). Dessa mesma forma Pauliquevis, Conte & Favero (2013) também encontraram maior efeito repelente do óleo essencial de *P. umbellata* sobre *R. dominica* na CL5 (0,02μL/cm²). Segundo os autores nas concentrações mais altas foram observadas a não movimentação dos insetos até uma hora e, após 24 horas, esses se espalharam aleatoriamente pela arena, não obtendo o efeito repelente. Ainda segundo os autores algumas substâncias vegetais, dependendo da concentração, podem provocar outros

efeitos fisiológicos ou comportamentais, diminuindo ou interrompendo o movimento do inseto nas concentrações mais altas.

A repelência é uma propriedade de extrema importância para o controle de pragas de grãos armazenados e pode ser um fator primordial na escolha do óleo essencial. De maneira geral, quanto maior for o efeito repelente menor será a infestação, consequentemente reduz o número de posturas e também o número de insetos emergidos (COITINHO et al., 2006).

Os óleos essenciais de *Mentha piperita* e C.citratus apresentaram efeito repelente sobre o *S. zeamais* (CONTE et al., 2001) demonstrando o potencial para utilização de material botânico para o controle de pragas de grãos armazenados.

Oliveira & Vendramim (1999) atribuíram à repelência de *Zabrotes subfasciatus* (Boh.) sobre o efeito óleo de folhas de canela (*Cinnamomum zeylanicum* Ness) aos compostos voláteis májoritários, destacando-se, eugenol (70,1%) sendo, provavelmente, os principais compostos responsáveis pelo efeito repelente. A repelência do eugenol foi comprovada em bioensaios com *Sitophilus zeamais* Mots., *Rhyzopertha dominica* (Fabr.) e *Sitotroga cerealella* (Oliv.) (BEKELE et al. 1996).

Segundo Pedotti & Striquer et al. (2006), a ação repelente das plantas sobre insetos se dá pelos alomônios, substâncias químicas que favorecem a planta contra herbívoros.

#### CONCLUSÃO

O óleo essencial de *Croton pulegiodorus* e *Mentha spicata* apresentaram maior efeito inseticida por contato para *R.dominica*. Já os óleos essenciais de *Citrus aurantium* e *Ocimum basilicum* apesar de apresentarem concentrações mais altas promoveram a mortalidade em *R. dominica*. Já para o teste de repelência todos os óleos essenciais foram considerados repelentes, com maior porcentagem de repelência para os óleos essenciais *Mentha spicata*. Contudo todos os óleos estudados no presente trabalho apresentaram propriedades fumigantes para promover o controle de *R. dominica* 

#### REFERÊNCIAS

ALMEIDA, F.A.C., S.A. ALMEIDA, N.R. SANTOS, J.P. GOMES & M.E.R. ARAÚJO. Efeito de extratos alcoólicos de plantas sobre o caruncho do feijão vigna (*Callosobruchus maculatus*). **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental,** Campina Grande, v.9, p.585-590. 2005.

BRITO, J.P., J.E.M. OLIVEIRA & S.A. BORTOLI, Toxicidade de óleos essenciais de *Eucalyptus* spp. sobre *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) (Coleoptera: Bruchidae). **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v.6, p.96-103, 2006.

COITINHO, R. L. B. C.; OLIVEIRA, J. V.; GONDIM JUNIOR, M. G. C.; CÂMARA, C. A. G. Toxicidade por fumigação, contato e ingestão de óleos essenciais para *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1885 (Coleoptera: Curculionidae) **Ciência e agrotecnologia**, v. 35, n. 1, p. 172-178, 2011.

SILVA, F.; SANTOS, R.H.S.; ANDRADE, N.J.; BARBOSA, L.C.A.; CASALI, V.W.D.; LIMA, R.R.; PASSARINHO, R.V.M. Basil conservation affected by cropping season, harvest time and storage period. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.40, n.4, p.323-328, 2005.

HANIF, M.A.; AL-MASKARI, M.Y.; AL-MASKARI, A.; AL-SHUKAILI, A.; AL-MASKARI, A.Y.; AL-SABAHI, J.N. Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of unexplored Omani basil. **Journal of Medicinal Plants Research**, v.5, n.5, p.751-757, 2011.

SILVA-SANTOS, A.; ANTUNES, A. M. S. Óleos Essenciais: A Fonte dos Aromas e Fragrâncias. Setores da Indústria Química Orgânica. 1ed. Rio de Janeiro: E-papersv, p. 145-160, 2007.

CHOUDHURY, R. P., R. P., KUMAR, A., GARG, A. N. Analysis of Indian mint (*Mentha spicata*) for essential, trace and toxic elements and its antioxidant behaviour. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.** v.41, n.3, p.825-832, 2006.

FRANZIOS, G.; MIROTSOU, M.; HATZIAPOSTOLOU, E.; KRAL, J.; COURAS, Z. G.; MAVRAGANI-TSIPIDOU, P.; J. **Agricultural and Food Chemistry**., V.45, p.2690, 1997.

CUNHA, A. P., SILVA, A. P., ROQUE, O. R. **Plantas e produtos vegetais em fitoterapia.** Fundação Claouste Gul Benkian. 2ª Edição. P.386-533. 2006.

SILVA, W. J. Atividade larvicida do óleo essencial de plantas existentes no estado de sergipe contra *Aedes aegypti* Linn. 2006, p.57. Dissertação (Mestrado Desenvolvimento e Meio Ambiente) Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão – SE.

DONADIO, L.C.; FIGUEIREDO, J.O.; PIO, R.M. Variedades cítricas brasileiras. Jaboticabal: FUNEP, 1995. 228p.

ROSADO, L.D.S.; PINTO, J.E.B.P.; BOTREL, P.P.; BERTOLUCCI, S.K.V.; NICULAU, E.S.; ALVES, P.B. Influência do processamento da folha e tipo de secagem no teor e composição química do óleo essencial de manjericão cv. Maria Bonita. **Ciência e Agrotecnologia**, v.35, n.2, p.291-296, 2011.

LORINI, I. **Manejo integrado de pragas de grãos de cereais armazenados**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, p.72, 2008.

ATHIÉ, I. & PAULA, D.C. Insetos de grãos armazenados: aspectos biológicos e identificação. São Paulo: Livraria Varela, 2002. 244 p.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BAPTISTA, G. C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTTO, C. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, P. 920. 2002.

LORINI, I. & D. J. GALLEY. Deltamethrin resistance in *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrychidae), a pest of stored grain in Brazil. **Journal of Stored Products Research**, v.35, p.37–45, 1999.

PACHECO, I. A. M. R. SARTORI & R. W. D. TAYLOR. Levantamento de resistencia de insetos-praga de grãos armazenados á fosfina, no estado de São Paulo. **Coletânea do ITAL** v.20, p.144-154, 1990.

SARTORI, M. R; I. A. PACHECO; M. IADEROZA & R. W. D. TAYLOR. Ocorrência e especificidade de resistência ao malatiom em insetos praga de grãos armazenados no Estado de São Paulo. **Coletânea ITAL.** v. 20, p.194-209, 1990.

ISMAN, M. B. Botanical inseticides, deterrentes, and inmodern agriculture and na increasingle regulated Word. **Annual Review of Entomologia**. v.51, p.45-66, 2006.

ENAN, E. Insecticidal activity of essential oils: octopaminergic sites of action. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.130, p. 325- 337, 2001.

CHAPMAN, R.F. The insect: Structure and Function 4 ed. Cambridge: U. K. p.771, 1998.

MAGALHÃES, C. R. I. Potencial inseticida de óleos essenciais sobre *sitophilus zeamais* (motschulsky, 1885) (Coleoptera: Curculionidae) em milho armazenado. P. 20, 2014a. Dissertação (mestrado em Produção Vegetal), Serra Talhada- PE.

MAGALHÃES, C. R. I. Potencial inseticida de óleos essenciais sobre *tribolium castaneum* (herbst, 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae) em milho armazenado. p.49, 2014b. Dissertação (mestrado em Produção Vegetal), Serra Talhada- PE.

COITINHO, R.L.B.C.; OLIVEIRA, J.V.; GONDIM JÚNIOR, M.G.C.; CÂMARA, C.A.G. Toxicidade de óleos para adultos de *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera, Curculionidae) em grãos de milho armazenados. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, v.31, n.1, p.29-34, 2006.

CONTE, C.O. et al. Rendimento de óleo essencial de alfavaca por arraste à vapor em Clevenger, em diferentes formas de processamento das folhas. **Horticultura Brasileira**. v.19 (suplemento), CD ROM, 2001.

OLIVEIRA, J.V; VENDRAMIM, J.D. Repelência de óleos essenciais e pós-vegetais sobre adultos de *Zabrotes subfasciatus* (Boh.) (Coleoptera:Bruchidae) em sementes de feijoeiro. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil,** v.28, n.3, p.549-555, 1999.

BEKELE, A.J.; OBENG-OFORI, D.; HASSANALI, A. Evaluation of *Ocimum suave* (Wild) as source of repellents, toxicants and protectants in storage against three stored product insect pests **. Journal Pest Management**, v.42, p.139-142, 1996.

PAULIQUEVIS, C. F.; CONTE, C. O. & FAVERO, S. Atividade insetistática do óleo essencial de *Pothomorphe umbellata* (L.) Miq. Sobre *Rhyzopertha dominica* (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Bostrichidae). Revista Brasileira de Agroecologia, p.8, n.3, p. 39-45, 2013.

BRITO, S. S. S. Atividade inseticida de óleos essenciais sobre *Zabrotes subfasciatus* boh. (Coleoptera: Chrysomelidae) em feijão comum armazenado, p.46, 2014b dissertação (mestrado em Produção Agrícola), Garanhuns, PE.

BRITO, S. S. S. Controle de *Callosobruchus maculatus* (fabr.) (coleoptera: chrysomelidae) em feijão Caupi armazenado com óleos essenciais. p.13, 2014a dissertação (mestrado em Produção Agrícola), Garanhuns – PE.