

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
CÂMPUS DOIS VIZINHOS  
CURSO DE BACHARELADO EM ZOOTECNIA

MAYARA DEVIDE ALTOE

**ATIVIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Eugenia uniflora* L.  
(MYRTACEAE) SOBRE *Sitophilus zeamais* MOTS. (COLEOPTERA:  
CURCULIONIDAE)**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

DOIS VIZINHOS  
2016

MAYARA DEVIDE ALTOE

**ATIVIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Eugenia uniflora* L.  
(MYRTACEAE) SOBRE *Sitophilus zeamais* MOTS. (COLEOPTERA:  
CURCULIONIDAE)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Zootecnia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Dois Vizinhos, como requisito parcial à obtenção do título de Zootecnista.

Orientador: Prof. Dr. Everton R. Lozano da Silva

DOIS VIZINHOS

2016



9Ministério da Educação  
**Universidade Tecnológica Federal do Paraná**  
Campus Dois Vizinhos  
Gerência de Ensino e Pesquisa  
**Curso de Zootecnia**



**TERMO DE APROVAÇÃO**  
**TCC**

**ATIVIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Eugenia uniflora* L.  
(MYRTACEAE) SOBRE *Sitophilus zeamais* MOTS. (COLEOPTERA:  
CURCULIONIDAE)**

Autor(a): Mayara Devidé Altoe

Orientador: Prof. Dr. Everton R. Lozano da Silva

TITULAÇÃO: Zootecnista

APROVADO em        de        de 2016.

---

**Prof. Dr. (Orientador) Everton Ricardi Lozano da Silva**

A minha família, especialmente a minha mãe Paula Cristina Devidе, ao meu avô Claudio Devidе, e a minha avó Maria Aparecida Martins Devidе, que me deram forças e depositaram toda confiança em mim para que esse trabalho fosse realizado.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus que sempre iluminou meus passos e minhas decisões;

A minha família, na qual sempre acreditou em minha capacidade, dando sempre o apoio necessário para que eu pudesse ir em frente;

Ao meu orientador Prof. Dr. Everton Ricardi Lozano, pela orientação e confiança ao meu trabalho, e por principalmente estar disposto sempre a me ensinar;

À Profª Dra Michele Potrich, que sempre esteve disposta a me auxiliar;

Aos meus amigos que sempre estiveram ao meu lado dando força para continuar.

“Ultrapassar barreiras e ir além.  
Acreditar que é possível e alcançar.  
Não desistir, jamais.  
Vencer os desafios, sempre.

Você é bem mais capaz do que imagina.”

Cláudio M. Assunção

## RESUMO

ALTOE, Mayara Devidé. **Atividade do óleo essencial de *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) sobre *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae)**. 35f. TCC (Curso Bacharelado em Zootecnia), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, 2016.

O armazenamento de grãos está suscetível ao ataque de insetos-praga, com destaque ao gorgulho-do-milho, *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). Para o controle deste inseto são usados inseticidas sintéticos, os quais deixam resíduos, causando problemas a saúde do homem e ao meio ambiente. Visando a redução na utilização dos inseticidas químicos sintéticos, novas estratégias de controle vêm sendo estudadas, como a utilização de óleos essenciais com efeito inseticida. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito inseticida e repelente do óleo essencial de *Eugenia uniflora* (Myrtaceae) sobre *S. zeamais* e identificar os compostos químicos deste. Para tal, foram realizados quatro experimentos: três para avaliação do efeito inseticida e um para o efeito repelente. Nos experimentos para avaliação do efeito inseticida, o óleo foi aplicado pelo método de imersão sobre o inseto, volatilização e pulverização sobre grãos de milho. Para isto foram preparadas diferentes concentrações do óleo de *E. uniflora* (0; 0,31; 0,62; 1,25; 2,5; 5; 10%), diluídos com água destilada e Tween 80 (0,01%). Foram preparadas sete placas (repetições) por tratamento e, em cada placa foram acondicionados 15 insetos, não sexados, de até 60 dias de idade. As placas foram acondicionadas em câmara climatizada à temperatura de  $27 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade relativa  $60 \pm 10\%$  e fotoperíodo de 12 horas. Para o experimento de imersão e pulverização, as avaliações foram realizadas nos intervalos de 1; 6; 12; 24; 48; 72; 96 horas. Já para o experimento de volatilização, a avaliação foi feita nos intervalos de 12; 24; 48; 72 e 96 horas, quantificando-se os insetos mortos. Para o experimento de repelência o óleo de *E. uniflora* foi avaliado na concentração de 2,5%, em uma arena com quatro recipientes plásticos interligados por tubos transparentes a um recipiente central. Em dois recipientes foram colocados o milho pulverizado com o óleo e em dois foram colocados o milho pulverizado com água destilada e, no recipiente central foram liberados 30 insetos. O experimento foi mantido nas mesmas condições descritas acima. A avaliação foi realizada após 24 horas, quantificando-se o número de insetos em cada recipiente. Para identificação dos compostos químicos do óleo essencial foi realizada análise de Cromatografia Gasosa em Espectrômetro de massas. Verificou-se no experimento de imersão que o óleo a 10% causou mortalidade de 54,29%, diferindo significativamente da testemunha. Já no experimento de volatilização não se verificou mortalidade significativa dentro e entre os tempos, em nenhum dos tratamentos. No experimento de pulverização sobre os grãos de milho, verificou-se que as concentrações de 2,5%, 5% e 10% causaram os maiores percentuais de mortalidade, respectivamente de 85,71%, 100% e 100%, diferindo da testemunha e do tratamento na concentração de 0,31%. O óleo de *E. uniflora* a 2,5% possui efeito repelente para adultos de *S. zeamais*. Com relação à identificação dos compostos do óleo essencial, os sesquiterpenos foram os compostos majoritários, com maior abundância de Calamen-10-ona e Silfiperferol-6-em-5-ona. O óleo essencial de *E. uniflora* apresenta potencial inseticida e repelente sobre *S. zeamais*, contendo sesquiterpenos como constituintes majoritários.

**Palavra-chave:** controle alternativo; gorgulho-do-milho; inseticida botânico.

## ABSTRACT

ALTOE, Mayara Devide. **Activity of essential oil *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) on *Sitophilus zeamais* Mots. (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE).** 35f. TCC (Curso Bacharelado em Zootecnia), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, 2016.

The grain storage is susceptible to pest-insects attack, especially on corn weevil, *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). For control these pests, are used synthetic insecticides, which leave residues, bringing problems to human health and the environment. In order to reduce to use synthetic chemical insecticides, new control strategies have been studied, like the use of essential oils with insecticidal effect. Thus, the objective this work was to evaluate the insecticidal and repellent effect of *Eugenia uniflora* (Myrtaceae) essential oil on *S. zeamais* and to identify the chemical compounds of this oil. For that, four experiments were carried out: three for the evaluation of the insecticidal effect and one for repellent effect. In the experiments to evaluate the insecticidal effect, the oil was applied by the immersion method on the insect, volatilization and spraying on corn grains. For this, different concentrations of *E. uniflora* oil (0; 0.31; 0.62; 1.25; 2.5; 5; 10%) diluted with distilled water with Tween 80% (0.01%) were prepared. Seven Petri dishes (replicates) were prepared per treatment and, on each dishes, 15 non-sexed insects were conditioned up to 60 days old. The dishes were kept in a climatic chamber at a temperature of  $27 \pm 2$  ° C, HR:  $60 \pm 10$  % and photoperiod of 12 hours. For the immersion and spraying experiment, the evaluations were performed at intervals of 1; 6; 12; 24; 48; 72; 96 hours. Already for the volatilization experiment, the evaluation was done in the intervals of 12; 24; 48; 72 and 96 hours, quantifying the dead insects. For the repellency experiment the *E. uniflora* oil was evaluated in the concentration at 2.5% in an arena with four plastic containers interconnected by transparent tubes in a central containers. In two containers the grains corn was sprayed with the oil and in two the corn was sprayed with distilled water and 30 insects were released in the central container. The experiment was maintained under the same conditions described above. The evaluation was performed after 24 hours, quantifying the number of insects in each container. In order to identify the chemical compounds of the essential oil, Gas Chromatography analysis was performed in Mass spectrometer. It was found, in immersion experiment, mortality of caused in concentration 10%, differing signify cautly, from the control. In the volatilization experiment, there was no significant mortality within and between the times, in any of the treatments. In the corn grains spreying experiment, were found that concentrations 2.5%, 5% and 10% caused highest mortality rates, respectively, of 85.71%, 100% and 100%, differing from the control and treatment at the concentrations of 0,31%. The 2.5% *E. uniflora* oil has a repellent effect for *S. zeamais* adults. Regarding the identification of the essential oil compounds were found the major compounds, were sesquiterpenes of Calamen-10-one and Silfiperferol-6-in-5-one. The *E. uniflora* essential oil has insecticidal and repellent potential on *S. zeamais*, containing sesquiterpenes as major constituents.

**Key-words:** alternative control; corn weevil; botanical insecticide.



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>9</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>11</b>
2.1 GRÃOS ARMAZENADOS E PRINCIPAIS PRAGAS .....	11
2.2 <i>Sitophilus Zeamais</i> MOTS. (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE).....	12
2.3 CONTROLE DE INSETOS-PRAGA COM INSETICIDAS DE ORIGEM VEGETAL..	13
2.3.1. Óleos essenciais para o controle de insetos .....	13
2.4 ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Eugenia uniflora</i> L. (MYRTACEAE) .....	15
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>17</b>
3.1 CRIAÇÃO DE <i>Sitophilus zeamais</i> .....	17
3.2 OBTENÇÃO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Eugenia uniflora</i> .....	17
3.3 EFEITO DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Eugenia. uniflora</i> SOBRE <i>Sitophilus zeamais</i> .....	18
3.3.1 Efeito inseticida .....	18
3.3.2 Efeito repelente.....	19
3.4 ANÁLISE DO ÓLEO ESSENCIAL POR CROMATOGRAFIA GASOSA EM ESPECTRÔMETRO DE MASSAS .....	20
3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	21
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>22</b>
4.1 EFEITO INSETICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Eugenia uniflora</i> SOBRE <i>Sitophilus zeamais</i> .....	22
4.2 EFEITO REPELENTE: TESTE COM LIVRE CHANCE DE ESCOLHA.....	25
4.3 ANÁLISE DO ÓLEO ESSENCIAL POR CROMATOGRAFIA GASOSA EM ESPECTRÔMETRO DE MASSAS.....	27
<b>6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>31</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos países que mais se destaca na produção de grãos armazenados, porém, ainda sofre perdas no processamento e armazenamento, ocasionada principalmente pelo ataque de pragas, dentre as quais destaca-se *Sitophilus zeamais* MOTS. (Coleoptera: Curculionidae).

*Sitophilus zeamais*, também conhecido como caruncho ou gorgulho-do-milho, é considerado uma das principais pragas de grãos armazenados no Brasil, causando perdas significativas como cargas inteiras de grãos durante as exportações. Este inseto é um besouro com três mm de comprimento, de coloração castanho-escuro, e possui quatro manchas avermelhadas nos élitros. Possui a cabeça prolongada para frente, com rostro recurvado, sendo que nos machos o rostro é mais curto e grosso e nas fêmeas mais longo e afilado (GALLO et al., 2002). Tanto as larvas como os adultos danificam os grãos, ocasionando perdas qualitativas e quantitativas (LAZZARI; LAZZARI, 2009).

O controle de insetos-praga de grãos armazenados é, frequentemente, realizado com inseticidas químicos sintéticos, pois apresentam ação rápida, sendo de fácil aplicação. Estes possuem desvantagens, pois como são inflamáveis, podem causar explosões; deixam resíduos; causam toxicidade ao homem e selecionam populações de insetos resistentes (FARONI; SILVA, 2000).

O controle alternativo com extratos vegetais e óleos essenciais são alternativas potenciais viáveis que podem ser utilizadas para o controle de *S. zeamais*, uma vez que são, em sua maioria, mais seguros do que moléculas químicas sintéticas. Atualmente, essas alternativas de controle vêm se desenvolvendo cada vez mais, com a realização de várias pesquisas. Um método que vem sendo bastante estudado é o uso de óleo essencial, o qual é extraído de determinadas plantas, e possui compostos químicos que podem ter efeito inseticida e/ou repelente sobre estas pragas.

Os óleos essenciais causam vários efeitos sobre os insetos, como efeito de repelência, e efeito inseticida. Sendo os efeitos inseticidas: redução do crescimento e da fecundidade, rompimento de cutícula, inibição da motilidade e da respiração, deterrência e efeito sobre os ciclos bioquímicos (ISMAN, 2000; COPPING; MENN, 2000; ENAN, 2001).

Uma das espécies de plantas que vem sendo bastante estudada é *Eugenia uniflora* L. conhecida como pitangueira, é nativa do Brasil e pode ser encontrada em todas as regiões. Esta produz óleo em suas folhas, flores e frutos, e o principal componente químico encontrado

nos óleos essenciais são os sesquiterpenos (GROSSMAN et al., 2010). Segundo Picman (1986), os sesquiterpenos possuem efeito fagoinibidor, afetam o desenvolvimento, diminuição do peso da pupa, e podem levar o inseto a morte.

Restello et al. (2009) avaliaram o efeito inseticida e repelente do óleo essencial de *Tagetes patula* L. (Asteraceae) sobre *S. zeamais* e verificaram que o óleo essencial desta apresenta resultados significativos. Na avaliação inseticida, demonstraram que quanto maior a concentração, maior é o índice de mortalidade, pois para 30  $\mu$ L e 50  $\mu$ L o índice de mortalidade foi de 100% e para 20  $\mu$ L, 10  $\mu$ L e 5  $\mu$ L os índices de mortalidade foram de 97%, 94% e 81% respectivamente. No teste de repelência, o óleo essencial de *T. patula* causou repelência a *S. zeamais* na concentração de 10  $\mu$ L.

Em estudo do efeito inseticida do óleo essencial de *Salvia officinalis* L. (Lamiaceae) sobre *S. zeamais* foi verificado que quanto maior a concentração do óleo essencial e o tempo de exposição a esse óleo, maior é o índice de mortalidade (SILVA et al., 2015). Segundo os autores, na aplicação das doses de 100 e 50  $\mu$ L em 20g de milho, os percentuais de mortalidade foram respectivamente 98% e 48%, 48 horas após aplicação. As menores concentrações (10  $\mu$ L e 20  $\mu$ L) não causaram mortalidade significativa.

Nesse sentido, considerando-se a importância de *S. zeamais* no processamento e armazenamento de grãos armazenados, a disponibilidade de material vegetal, bem como a necessidade de se desenvolver novas estratégias de controle que sejam toxicologicamente mais seguras e ambientalmente corretas em relação a produtos químicos sintéticos, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito inseticida e repelente do óleo essencial de *E. uniflora* (Myrtaceae) sobre *S. zeamais* e identificar os compostos químicos deste.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 GRÃOS ARMAZENADOS E PRINCIPAIS PRAGAS

O termo grãos armazenados é atribuído aos grãos estocados em silos ou em sacas em seu estágio de dormência, com objetivo de diminuir perdas quantitativas e qualitativas. Estes possuem papel fundamental na área zootécnica, pois estão presentes na nutrição dos animais, possuindo ligação ao preço final dos produtos por conta de fatores, como, a oferta e demanda, a sazonalidade e as perdas que podem ser por umidade, temperatura e principalmente por insetos-pragas.

Os principais insetos-praga que acometem os grãos armazenados pertencem as ordens Coleoptera e Lepidoptera, mas também há espécies de outras ordens, como Psocoptera, Hymenoptera, Hemiptera e Diptera (ATHIÉ; PAULA, 2002; LAZZARI; LAZZARI, 2009). Dentre as espécies de insetos-praga dos grãos armazenados, *S. zeamais* (Coleoptera: Curculionidae), conhecido como caruncho ou gorgulho-do-milho, se destaca como uma das principais pragas (GALLO et al., 2002).

Os insetos-pragas são divididos em pragas primárias ou internas, e pragas secundárias ou externas. As pragas primárias ou internas são aquelas que fazem orifícios na película dos grãos íntegros, para se desenvolver e multiplicar, se alimentando de endosperma e/ou embrião, o qual possuem melhor valor nutritivo, facilitando a entrada para outras pragas no interior dos grãos, como por exemplo: *S. zeamais* e *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae), entre outras. Já as pragas secundárias ou externas são aquelas que se alojam no grão já danificado, se alimentam, desenvolvem e multiplicam-se, como por exemplo: *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae) e *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrinidae) (LAZZARI; LAZZARI, 2009). Ainda, segundo os autores, tanto as larvas quanto os adultos danificam os grãos, acarretando em redução do valor nutricional, perda de peso, de germinação e/ou vigor e redução do padrão comercial.

## 2.2 *Sitophilus Zeamais* MOTS. (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE)

O gorgulho-do-milho é encontrado em regiões quentes e tropicais do mundo, atacando principalmente milho, trigo, arroz, sorgo, cevada, triticale, aveia e também produtos processados (GALLO et al., 2002; PIMENTEL et al., 2011). Possui potencial biótico elevado, grande número de hospedeiros, infestação cruzada e facilidade de penetração para o interior dos grãos (GALLO et al., 2002).

Segundo Gallo et al. (2002), os adultos de *S. zeamais* são pequenos besouros, que possuem em média três mm de comprimento. Possuem uma coloração castanho-escuro, na qual possuem quatro manchas avermelhadas nos élitros, sendo mais bem visualizada após a emergência. Sua cabeça é prolongada para frente, com o rostro recurvado, no qual estão as peças bucais, sendo que nos machos é mais curto e grosso e nas fêmeas, mais longo e afilado. Na fase larval, possuem coloração amarelo bem claro e a cabeça mais escura. Já as pupas possuem coloração branca.

Para reprodução, as fêmeas perfuram com suas mandíbulas os grãos de milho, fazendo orifícios e, em seguida, fazem a postura dos ovos fechando o orifício com uma substância gelatinosa que é produzida pelas glândulas associadas ao ovipositor (COTTON; WILBUR, 1974; EVANS, 1981 apud ANTUNES; DIONELLO, 2010). Após três a seis dias ocorre a eclosão das larvas que se alimentam do interior do grão, permanecendo por quatro instares completando seu estágio larval. Após esse estágio larval, empupa, e ao atingir a fase adulta sai do interior dos grãos de milho (LOECK, 2002 apud ANTUNES; DIONELLO, 2010), sendo que a duração do seu ciclo completo é em torno de 34 dias (GALLO et al., 2002). Santos (1993) afirma que o ciclo de *S. zeamais*, pode ser interferido pela umidade relativa do ar, temperatura e o teor de umidade dos grãos de milho. Quando a temperatura está em 28°C, a umidade relativa do ar em 70% e os grãos possuem um teor de umidade de 13% seu ciclo é mais curto.

Com relação aos danos causados por *S. zeamais*, Santos e Cruz (1987) mostram que ocorrem perdas em relação ao peso dos grãos, valor nutritivo e comercial. Mallmann et al. (1988) afirmam que o ataque da praga diminui o poder germinativo dos grãos.

O método de controle para *S. zeamais* mais comumente utilizado é o controle químico, o qual é utilizado de duas formas: método preventivo e método curativo. O método preventivo é usado para evitar que estes insetos se alojem nos grãos de milho, os quais são tratados na hora do transporte, ao ensacar ou armazenar nos silos. Já o método curativo, é aplicado

quando os grãos já estão infestados com o inseto-praga, pelo método de fumigação nos grãos, sendo que o local onde será feita a fumigação deve ser bem vedado, para que evite a saída do produto, garantindo a eficiência do mesmo (LORINI et al., 2010). Esta forma de controle possui algumas desvantagens por conta dos produtos sintéticos utilizados, como a seleção de populações resistentes, resíduos ao meio ambiente e toxicidade ao homem (FARONI; SILVA, 2000). Com relação a isso, é preciso buscar novos métodos de controle como o controle alternativo, visando à redução dos produtos químicos sintéticos que causam mal ao homem e ao meio ambiente.

### 2.3 CONTROLE DE INSETOS-PRAGA COM INSETICIDAS DE ORIGEM VEGETAL

Os inseticidas de origem vegetal são produtos provenientes dos metabólitos secundários das plantas (RESTELLO et al., 2009). São compostos por terpenoides, limonoides, rocglamidas, furanocumarinas, cromenos, alcaloides e acetogeninas (VIEIRA et al., 2007). Estes produtos vegetais podem causar nos insetos deterrência, repelência, reduzir o crescimento, afetar a oviposição e causar deformações nos adultos (ISMAN, 2006).

A vantagem de se utilizar inseticidas de origem vegetal, é que estes possuem degradação mais rápida no meio ambiente, ação rápida ao inseto, baixa toxicidade ao homem e plantas, e são menos prejudiciais a organismos benéficos (CLOYD, 2004).

#### 2.3.1. Óleos essenciais para o controle de insetos

Os óleos essenciais são produtos extraídos das partes das plantas e possuem características voláteis, lipofílicas, líquida e maioria das vezes odoríferas (OLIVEIRA, 2012). As partes das plantas as quais estes produtos podem ser extraídos são: folhas, flores, frutos, cascas, raízes e rizomas (SILVA, 2010).

Os óleos essenciais são extraídos de plantas restritas a poucas famílias, como Myrtaceae, Lauraceae, Rutaceae, Lamiaceae, Asteraceae, Apiaceae, Cupressaceae, Poaceae, Zingiberaceae e Piperaceae (ENAN, 2001). Dentre essas famílias, a que mais se destaca é a

Myrtaceae, com cerca de 3.500 espécies distribuídas em todo o mundo (JOLY, 1979 apud SIANI, 2000).

Os principais compostos dos óleos essenciais são os monoterpenos e sesquiterpenos (VIEIRA et al., 2007). Essa composição química pode variar de acordo com a forma de extração (CASSEL; VARGAS, 2006; BRUN; MOSSI, 2010), com a variabilidade genética das plantas, o ambiente e a estação do ano em que estas se encontram (BRUN; MOSSI, 2010), bem como a idade das folhas (SANTOS et al., 2014).

Os óleos essenciais desempenham várias funções necessárias á sobrevivência do vegetal, pois atua na defesa contra microrganismos e herbívoros, além da atração de insetos e outros agentes fecundadores (SIANI, 2000).

Com relação aos insetos, os óleos essenciais podem causar efeito repelente e efeitos inseticidas, como: redução do crescimento e da fecundidade, rompimento de cutícula, inibição da motilidade e da respiração, deterrência e efeito sobre os ciclos bioquímicos (ISMAN, 2000; COPPING; MENN, 2000; ENAN, 2001).

Estrela et al. (2006) avaliaram a toxicidade dos óleos essenciais de *Piper aduncun* L. (Piperaceae) e *Piper hispidinervum* C.DC. (Piperaceae) sobre *S. zeamais* pelo método de contato em superfície papel-filtro, fumigação e aplicação tópica. Verificaram que os métodos por contato e fumigação foram mais eficazes, pois apresenta percentuais de mortalidade do *S. zeamais* próximos a 100%, nas concentrações de 2,0 e 5,0 % (m/v), por contato em superfície de papel-filtro e nas concentrações de 4,0 e 5,0% (m/v), por fumigação. Já para o método de aplicação tópica, apenas nas concentrações mais altas (8,0 e 10,0 %) verificaram mortalidade do *S. zeamais* acima de 80%.

Coitinho et al. (2006) realizaram um experimento com vários óleos essenciais sobre *S. zeamais* em grãos armazenados. Foram utilizados os óleos de andiroba - *Carapa guianensis* Aubl. (Meliaceae), copaína - *Copaifera* sp. (Leguminosae), eucalipto - *Eucaliptus globulus* Labill e *Corymbia citriodora* (Myrtaceae), eugenol, cedro - *Cedrela fissilis* Vell. (Meliaceae), pequi - *Caryocar brasiliense* Camb. (Caryocaraceae), alecrim - *Lippia gracillis* HBK. (Verbenaceae) e nim - *Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae). Na avaliação inseticida, verificaram que os óleos *E. globulus*, eugenol, *L. gracillis* e *A. indica* aplicados na dose de 50 µL em 20g de milho, causaram 100% de mortalidade. Já os óleos de *C. brasiliense*, *C. fissilis*, *C. guianensis*, *E. citriodora* e *Copaifera* sp., causaram, respectivamente, mortalidade de 95; 92,5; 90; 87,5; e 20%. Ainda, de acordo com os autores, na avaliação de repelência, os óleos de *L. gracillis*, *E. citriodora*, eugenol e *Copaifera* sp. foram os mais eficazes causando acima de 87% de repelência.

Também, em estudo do óleo essencial de cipó de “kangàrà kanê” - *Tanaecium nocturnum* Bur e K. Shum (Bignoniaceae) sobre *S. zeamais*, Fazolin et al. (2007) observaram que este óleo, aplicado pelos métodos de contato em papel-filtro e fumigação, apresentou os melhores resultados comparado com o método de aplicação tópica, causando mortalidade próximo a 100%. De forma semelhante, a atividade inseticida e repelente dos óleos essenciais de Eucalipto – *C. citriodora* (Myrtaceae) e Citronela - *Cymbopogon nardu* (Poaceae) foram avaliadas sobre *S. zeamais*, sendo que ambos foram eficazes, tanto para atividade inseticida, quanto para repelente (OOTANI et al., 2011).

Em trabalho mais recente, Reichert - Junior et al. (2013) estudaram o efeito inseticida e repelente do óleo essencial de Alecrim-do-Campo - *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae) sobre *S. zeamais*, aplicado o óleo em grãos de milho nas doses de: 10; 20; 30; 50 e 100  $\mu$ L. Como resultado, verificaram que apresenta efeito inseticida significativo na concentração mais alta (100  $\mu$ l) e após 48 horas, com mortalidade de 93%. Com relação ao efeito repelente, todas as doses foram eficazes, repelindo os insetos, com melhores resultados, proporcionalmente ao aumento da concentração do óleo.

#### 2.4 ÓLEO ESSENCIAL DE *Eugenia uniflora* L. (MYRTACEAE)

*Eugenia uniflora*, popularmente conhecida como pitangueira, é nativa do Brasil e pode ser encontrada em todas as regiões do país. Foi disseminada por todo o mundo, principalmente nas Américas, Austrália e leste Asiático (GROSSMAN et al., 2010). Esta planta produz óleo em suas folhas, flores e frutos, sendo que nas folhas possui em maior proporção, isso devido a não dependência da sazonalidade, pois somente as folhas são produzidas o ano todo. Os principais componentes químicos presentes no óleo essencial são os sesquiterpenos (GROSSMAN et al., 2010). Segundo Picman (1986), os sesquiterpenos possuem efeito fagoinibidor, afetam o desenvolvimento, diminuição do peso da pupa, e podem levar o inseto a morte.

Dequech et al. (2008) avaliaram o efeito inseticida de vários extratos, sendo um deles o extrato de *E. uniflora* em *Microtheca ochroloma* Stal (Coleoptera: Chrysomelidae) e observaram que o extrato de *E. uniflora* causou mortalidade de 1,67 a 6,67% sobre insetos adultos, sendo que os outros extratos não mostraram diferença significativa entre eles, e ao extrato de *E. uniflora*.



Coitinho et al. (2010) também avaliaram o efeito inseticida de vários óleos essenciais sobre adultos de *S. zeamais*, sendo um deles o de *E. uniflora*. Os autores impregnaram o óleo essencial de *E. uniflora* em 40g de milho, em um volume de 35  $\mu$ L, e colocaram os insetos em diferentes tempos após impregnação, sendo estes: (T0); 1 mês (T1); 2 meses (T2); 3 meses (T3) e 4 meses (T4). De acordo com os autores, a mortalidade dos insetos colocados logo após impregnação do óleo essencial foi de 100% e nos demais tempos caiu significativamente, variando de 4,7% a 6,3%.

Jung et al. (2013) avaliaram a atividade inseticida de *E. uniflora*, em diferentes métodos de extração sobre soldados de *Atta laevigata* Smith (Hymenoptera: Formicidae) e verificaram que em todos os tipos de extração, *E. uniflora* foi eficaz na maior concentração (10%), exceto óleo essencial, pois apresentou efeito inseticida em todas as concentrações (1,25; 2,5; 5 e 10%).

Os trabalhos apresentados na revisão de literatura evidenciam que óleos essenciais de diversas plantas, e até mesmo por outras formas de extração, apresentam efeito inseticida e repelente significativo sobre diversos insetos-praga, podendo ser usados para controle destes, pois possuem ação fagoinibidora, como por exemplo, o óleo de *E. uniflora*, sendo mais seguros ao meio ambiente, ao homem e organismos benéficos.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Controle Biológico da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos (UTFPR-DV).

#### 3.1 CRIAÇÃO DE *Sitophilus zeamais*

Os insetos adultos utilizados no experimento foram provenientes da criação mantida em laboratório. Para a criação, os adultos de *S. zeamais* foram obtidos de grãos de milho infestados. Estes foram colocados em recipientes de vidro com capacidade de volume de três litros, juntamente com grãos de milho orgânico, sendo os recipientes fechados com tecido tipo *voil* para permitir aeração. Os recipientes de vidro foram mantidos em ambiente climatizado com temperatura de  $25 \pm 5^{\circ}\text{C}$ , umidade de  $60 \pm 10\%$  e fotoperíodo de 12 horas. Os insetos foram acondicionados durante 25-30 dias, período para a postura dos ovos e desenvolvimento larval. Em seguida, os adultos foram retirados dos grãos de milho e acondicionados em outro recipiente com milho, para nova postura. O recipiente contendo o milho com as larvas foi mantido nas mesmas condições já descritas, por um período de sete dias, até a emergência dos adultos. Este procedimento foi efetuado por contínuas gerações para a execução dos experimentos, conforme metodologia adaptada de Procópio et al. (2003) e Restello et al. (2009).

#### 3.2 OBTENÇÃO ÓLEO ESSENCIAL DE *Eugenia uniflora*

O óleo essencial de folhas de *E. uniflora*, obtido por destilação por arraste de vapor, foi fornecido pela empresa Garden City - São Paulo.

### 3.3 EFEITO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Eugenia. uniflora* SOBRE *Sitophilus zeamais*

Para a avaliação dos possíveis efeitos do óleo essencial, foram realizados quatro experimentos, descritos abaixo. O milho utilizado para a montagem de todos os experimentos foi deixado em freezer por três dias, com temperatura em torno de  $-2^{\circ}\text{C}$ , para eliminação de qualquer outro tipo de inseto que pudesse, eventualmente, ocorrer. Toda vidraria utilizada para o procedimento, foi esterilizada.

#### 3.3.1 Efeito inseticida

O possível efeito inseticida foi avaliado por contato direto e indireto. Contato direto: o experimento foi realizado de duas formas: **a) por imersão** do inseto nas diferentes concentrações do óleo e **b) por pulverização** de diferentes concentrações do óleo sobre os grãos de milho. Já o contato indireto foi por volatilização. Em todos os experimentos, o óleo essencial de *E. uniflora* foi avaliado nas concentrações de 0 (testemunha); 0,31; 0,62; 1,25; 2,5; 5; 10% (tratamentos), diluído em água destilada e Tween 80 (0,01%). As placas foram envoltas com plástico filme para que os insetos não escapassem e acondicionadas em câmara climatizada à temperatura de  $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , umidade relativa de  $60 \pm 10\%$  e fotoperíodo de 12 horas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com sete repetições por tratamento.

**Contato direto por imersão:** Grupos de 15 insetos adultos de *S. zeamais* de uma mesma geração, não sexados, e com idade de até 60 dias, foram imersos por 10 segundos em um recipiente de plástico contendo um mL dos diferentes tratamentos. Após a imersão os insetos foram colocados em placas de Petri (150 mm de diâmetro), contendo 15g de milho em cada placa. As avaliações foram realizadas nos tempos de 1; 6; 12; 24; 48; 72; 96 horas, quantificando-se o número de indivíduos mortos.

**Contato direto por pulverização sobre o grão:** Porções de 15g de milho foram colocados em placas de Petri (150 mm de diâmetro) e pulverizados um mL dos tratamentos, com o auxílio de um aerógrafo acoplado a uma bomba a vácuo, da marca Fanen<sup>®</sup>, calibrada a 1,2

kgf/cm<sup>2</sup>. Em seguida foram colocados 15 adultos de *S. zeamais* de uma mesma geração, não sexados e com idade de até 60 dias em cada placa. As avaliações foram realizadas nos tempos de 1; 6; 12; 24; 48; 72; 96 horas, quantificando-se o número de indivíduos mortos.

**Contato indireto por volatilização:** Foi colocado ao fundo de cada placa de Petri (100 mm de diâmetro), discos de papel filtro com o mesmo diâmetro da placa, contendo um mL dos diferentes tratamentos. Sobre estes discos de papel foram colocadas pérolas de vidro (nº 4) e colocando sobre estas, outro disco de papel filtro (100 mm diâmetro), sem tratamento e sobre este, 5g de grãos de milho, conforme metodologia adaptada de Restello et al. (2009). Em seguida, foram colocados 15 insetos adultos de *S. zeamais* de uma mesma geração, não sexados, e com idade de até 60 dias. As avaliações foram realizadas nos tempos de 12, 24, 48, 72 e 96 horas, quantificando-se o número de indivíduos mortos.

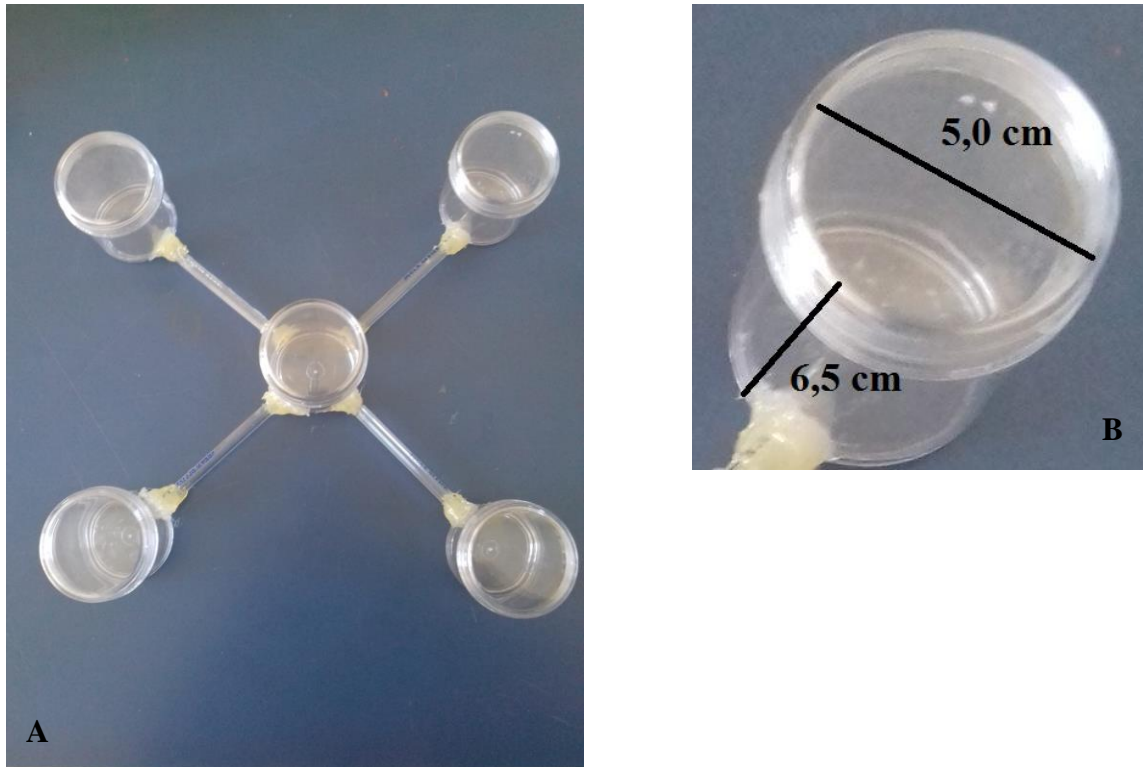
### 3.3.2 Efeito repelente

#### Teste com livre chance de escolha

Para este teste foi utilizado à concentração de 2,5% do óleo de *E. uniflora*, selecionada a partir dos resultados dos experimentos anteriores. Foram confeccionadas sete arenas, constituídas por cinco recipientes de acrílico (5,0 cm de diâmetro e 6,5 cm de altura) interligados por tubos transparentes (10 cm), conforme metodologia adaptada de Procópio et al. (2003) (Figura 1). Dois dos recipientes externos receberam 5g de milho pulverizados com 0,5 ml de água destilada (testemunha) e dois receberam 5g de milho pulverizado o óleo essencial à 2,5% (tratamento). Os procedimentos para pulverização foram os mesmos descritos para o experimento de contato indireto por pulverização sobre o grão. No recipiente do centro foram liberados 30 insetos adultos de uma mesma geração, não sexados e com idade de até 60 dias. Todos os recipientes foram fechados com tampa e vedados com plástico filme para evitar a fuga dos insetos. As arenas foram acondicionadas em ambiente climatizado à temperatura de  $25 \pm 5^\circ\text{C}$ , umidade de  $60 \pm 10\%$  e fotoperíodo de 12 horas. A avaliação foi realizada após 24 horas, quantificando-se o número de insetos em cada recipiente, conforme metodologia adaptada de Procópio et al. (2003).

Também foi calculado o índice de Preferência (I.P.), em que:  $\text{I.P.} = (\% \text{ de insetos na planta-teste} - \% \text{ de insetos na testemunha}) / (\% \text{ de insetos na planta-teste} + \% \text{ de insetos na$

testemunha), em que: I.P.: -1,00 a -0,10, planta-teste repelente; I.P.: -0,10 a +0,10, planta-teste neutra; I.P.: +0,10 a +1,00, planta-teste atraente.



**Figura 1: A) Arena para experimento de repelência do óleo essencial de *E. uniflora* sobre *S. zeamais*; B) Dimensionamento do recipiente de acrílico que compõe a arena.**

### 3.4 ANÁLISE DO ÓLEO ESSENCIAL POR CROMATOGRÁFIA GASOSA EM ESPECTRÔMETRO DE MASSAS

A análise cromatográfica foi realizada pela empresa Garden City – São Paulo, utilizando injeção automática (TripPlus As, Thermo) em um cromatógrafo gasoso (Focus GC, Thermo) acoplado a um espectrômetro de massas de íon trap (Polaris Q, Thermo). A amostra foi injetada com divisão de fluxo (Split) 1:50 (1 $\mu$ L) e separada através de coluna cromatográfica modelo DB-5 (30 m x 0,025mm, Agilent). A separação dos compostos foi feita com temperatura a 230°C, linha de transferência 250°C, com fluxo constante e compensação a vácuo. Programação de temperatura do forno; 40°C, isoterma de 6 min, aquecimento até 300°C na taxa de 3°C.min<sup>-1</sup>, com isoterma final de 5 min. O espectrômetro de massas foi

operado no modo positivo de ionização por impacto de elétrons á 70 eV, com temperatura da fonte de íons em 200°C.

### 3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para todos os experimentos inseticidas os dados foram analisados quanto à distribuição da normalidade, utilizando-se o teste de Shapiro-Wilk. Como todos os dados não apresentaram normalidade, utilizou-se o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis. Já o experimento de repelência foi submetido à análise de variância (teste F), sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância ( $p < 0,05$ ). Em todos os experimentos as análises foram realizadas com o auxílio do programa estatístico Assistat 7.7 (SILVA, 2014).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 EFEITO INSETICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Eugenia uniflora* SOBRE *Sitophilus zeamais*

No experimento de contato direto por imersão verificou-se que apenas a concentração a 10% de *E. uniflora* causou mortalidade acumulada significativa (54,29%) sobre *S. zeamais*, diferindo da testemunha. O mesmo se observa na análise de mortalidade dentro dos tempos, sendo que somente no tempo de 0-24 horas, na concentração a 10%, ocorreu mortalidade significativa (51,43%) em relação à testemunha. Da mesma forma, ao se fazer uma análise entre os tempos, verificou-se que apenas no tempo de 0-24 horas, as concentrações de 5% e 10% causaram mortalidade (21,90% e 51,43%, respectivamente), diferindo significativamente dos demais tempos. Para os demais tratamentos os percentuais de mortalidade dentro e entre os tempos não diferiram significativamente da testemunha (Tabela 1).

**Tabela 1.** Porcentagem média de mortalidade ( $\pm$  EP) de adultos de *S. zeamais* causada após imersão em diferentes concentrações do óleo essencial de *E. uniflora*, ao longo de 96 horas.

Tratamento	% de mortalidade ao longo do tempo				
	0-24 hrs	48 hrs	72-96 hrs	p	Acumulada
0%	0,00 $\pm$ 0,00bA	0,00 $\pm$ 0,00aA	0,00 $\pm$ 0,00aA	>0,05	0,00 $\pm$ 0,00b
0,31%	0,00 $\pm$ 0,00bA	0,00 $\pm$ 0,00aA	0,00 $\pm$ 0,00aA	>0,05	0,00 $\pm$ 0,00b
0,62%	0,00 $\pm$ 0,00bA	0,00 $\pm$ 0,00aA	0,95 $\pm$ 0,80aA	>0,05	0,95 $\pm$ 0,80b
1,25%	0,00 $\pm$ 0,00bA	0,00 $\pm$ 0,00aA	0,00 $\pm$ 0,00aA	>0,05	0,00 $\pm$ 0,00b
2,5%	0,00 $\pm$ 0,00bA	0,00 $\pm$ 0,00aA	0,00 $\pm$ 0,00aA	>0,05	0,00 $\pm$ 0,00b
5%	21,90 $\pm$ 6,63abA	0,00 $\pm$ 0,00aB	0,00 $\pm$ 0,00aB	<0,05	21,90 $\pm$ 6,63ab
10%	51,43 $\pm$ 4,34aA	0,00 $\pm$ 0,00aB	2,86 $\pm$ 1,66aB	<0,05	54,29 $\pm$ 3,53a
<b>P</b>	<0,05	>0,05	>0,05		<0,05

Médias ( $\pm$ EP) seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem significativamente entre si pelo teste de Kruskal-Wallis ( $p < 0,05$ ). Legenda: Tratamento = diferentes concentrações do óleo essencial de *E. uniflora*.

Já no experimento de contato direto por pulverização sobre o grão de milho, verificou-se que as concentrações de 2,5%, 5% e 10% causaram os maiores percentuais de mortalidade acumulada de *S. zeamais*, respectivamente 85,71%, 100% e 100%, diferindo

significativamente da testemunha e do tratamento na concentração de 0,31%. Ao se fazer uma análise dentro e entre os tempos, observa-se que os maiores percentuais de mortalidade de *S. zeamais* ocorreram no tempo de 0-24 horas e foram proporcionais às concentrações, sendo que quanto maior a concentração, maior a mortalidade. Neste intervalo de tempo, nas concentrações do óleo de *E. uniflora* à 2,5%, 5% e 10% causaram mortalidade que variou de 66,67% a 100,00%, diferindo significativamente da testemunha. Por outro lado, na análise entre os tempos, verificou-se que as concentrações de 0,62%, 1,25%, 5% e 10% os maiores percentuais de mortalidade ocorreram no tempo de 0-24 horas diferindo significativamente dos demais tempos (Tabela 2).

**Tabela 2.** Porcentagem média de mortalidade ( $\pm$  EP) de adultos de *S. zeamais* em grãos de milho pulverizados em diferentes concentrações do óleo essencial de *E. uniflora*, ao longo de 96 horas.

Tratamento	% de mortalidade ao longo do tempo				
	0-24 hrs	48 hrs	72-96 hrs	p	Acumulada
0%	0,00 $\pm$ 0,00dA	0,00 $\pm$ 0,00aA	0,00 $\pm$ 0,00bA	>0,05	0,00 $\pm$ 0,00b
0,31%	7,62 $\pm$ 4,78cdA	0,00 $\pm$ 0,00aA	0,00 $\pm$ 0,00bA	>0,05	7,62 $\pm$ 4,78b
0,62%	20,00 $\pm$ 4,04bcdA	0,00 $\pm$ 0,00aB	0,00 $\pm$ 0,00bB	<0,05	20,00 $\pm$ 4,04ab
1,25%	25,71 $\pm$ 3,32abcdA	0,00 $\pm$ 0,00aB	4,76 $\pm$ 2,01abB	<0,05	30,48 $\pm$ 4,19ab
2,5%	66,67 $\pm$ 7,20abcA	2,85 $\pm$ 1,13aB	17,78 $\pm$ 3,44aAB	<0,05	85,71 $\pm$ 5,76a
5%	94,29 $\pm$ 1,90abA	3,81 $\pm$ 1,13aB	1,90 $\pm$ 1,03bB	<0,05	100,00 $\pm$ 0,00a
10%	100,00 $\pm$ 0,00aA	0,00 $\pm$ 0,00aB	0,00 $\pm$ 0,00bB	<0,05	100,00 $\pm$ 0,00a
<b>P</b>	<0,05	>0,05	<0,05		<0,05

Médias ( $\pm$ EP) seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem significativamente entre si pelo teste de Kruskal-Wallis ( $p < 0,05$ ). Legenda: Tratamento = diferentes concentrações do óleo essencial de *E. uniflora*.

No experimento de contato direto por volatilização, tanto nas avaliações dentro, quanto nas avaliações entre os tempos, não houve diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 3).



**Tabela 3.** Porcentagem média de mortalidade ( $\pm$  EP) de adultos de *S. zeamais* submetidos á volatilização de diferentes concentrações do óleo essencial de *E. uniflora*, ao longo de 96 horas.

Tratamento	% de mortalidade ao longo do tempo				
	12-24 hrs	48 hrs	72-96 hrs	p	Acumulada
<b>0%</b>	0,00 $\pm$ 0,00aA	0,95 $\pm$ 0,80 aA	0,95 $\pm$ 0,80 aA	>0,05	1,90 $\pm$ 1,03a
<b>0,31%</b>	1,90 $\pm$ 1,03 aA	0,00 $\pm$ 0,00 aA	0,00 $\pm$ 0,00 aA	>0,05	1,90 $\pm$ 1,03a
<b>0,62%</b>	1,90 $\pm$ 1,59 aA	0,95 $\pm$ 0,80 aA	1,90 $\pm$ 1,03 aA	>0,05	4,76 $\pm$ 3,15a
<b>1,25%</b>	1,90 $\pm$ 1,03 aA	0,00 $\pm$ 0,00 aA	0,95 $\pm$ 0,80 aA	>0,05	2,86 $\pm$ 1,66a
<b>2,5%</b>	0,95 $\pm$ 0,80 aA	0,95 $\pm$ 0,80 aA	2,86 $\pm$ 1,66 aA	>0,05	4,76 $\pm$ 2,01a
<b>5%</b>	0,00 $\pm$ 0,00 aA	0,95 $\pm$ 0,80 aA	0,00 $\pm$ 0,00 aA	>0,05	0,95 $\pm$ 0,80a
<b>10%</b>	1,90 $\pm$ 1,03 aA	0,95 $\pm$ 0,80 aA	1,90 $\pm$ 1,03 aA	>0,05	4,76 $\pm$ 2,01a
<b>P</b>	>0,05	>0,05	>0,05		>0,05

Médias ( $\pm$  EP) seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem significativamente entre si pelo teste de Kruskal-Wallis ( $p < 0,05$ ). Legenda: Tratamento = diferentes concentrações do óleo essencial de *E. uniflora*.

Em trabalho semelhante, pulverizando-se óleo essencial de *E. uniflora*, nas concentrações 1,25%, 2,5%, 5% e 10% sobre soldados de *A. laevigata*, Jung et al. (2013) verificaram que todas as concentrações do óleo essencial de *E. uniflora* causaram mortalidade significativa de 84,4%, 94,1%, 100% e 97,2% respectivamente, diferindo da testemunha e não diferindo entre si, sendo que quanto maior a concentração, maior foi o índice de mortalidade, como verificado neste trabalho no teste de pulverização sobre os grãos de milho.

Coitinho et al. (2010) também avaliaram o efeito inseticida de vários óleos essenciais sobre adultos de *S. zeamais*, sendo um deles o de *E. uniflora*, aplicando-se o óleo no milho como neste trabalho. Os autores impregnaram o óleo essencial de *E. uniflora* em 40g de milho, em um volume de 35  $\mu$ L, e colocaram os insetos em diferentes tempos após impregnação, sendo estes: (T0); 1 mês (T1); 2 meses (T2); 3 meses (T3) e 4 meses (T4). De acordo com os autores, a mortalidade dos insetos colocados logo após impregnação do óleo essencial foi de 100% e nos demais tempos caiu significativamente, variando de 4,7% a 6,3%, evidenciando que o efeito inseticida do óleo é de ação imediata, como mostrado neste trabalho no experimento de pulverização sobre os grãos de milho, no qual demonstrou que quanto mais tempo de avaliação, menor é a porcentagem de mortalidade do inseto.

Coitinho et al. (2006) realizaram um experimento com vários óleos essenciais sobre *S. zeamais*, entre os quais óleos da família Myrtaceae (*E. globulus* e *C. citriodora*). Os autores impregnaram, em 20g de milho um volume de 50  $\mu$ L do óleo essencial dessas duas espécies e verificaram que após cinco dias o óleo de *E. globulus* e *C. citriodora* causaram mortalidade de

100% e 87,5% respectivamente, diferindo da testemunha, e não diferindo entre si. Resultados como este evidenciam o potencial inseticida de espécies da família Myrtaceae sobre o controle de insetos-praga.

Fazolin et al. (2007) avaliaram o óleo essencial de *T. nocturnum* sobre *S. zeamais* utilizando-se de três metodologias: contato em papel filtro, aplicação tópica e fumigação sobre o grão equivalentes aos experimentos de volatilização, imersão do inseto e pulverização sobre o grão, utilizados neste trabalho. Segundo os autores, o óleo essencial, causou os maiores percentuais de mortalidade nos métodos de contato em papel filtro e fumigação. Já no presente estudo os métodos que apresentaram maiores porcentagens de mortalidade foram o método imersão e pulverização sobre o grão, sendo que o método de imersão equivale ao método de aplicação tópica.

#### 4.2 EFEITO REPELENTE: TESTE COM LIVRE CHANCE DE ESCOLHA

A partir dos resultados obtidos no experimento por contato indireto por pulverização sobre os grãos de milho, selecionou-se a concentração de 2,5% do óleo essencial de *E. uniflora* para a realização do teste de repelência. Verificou-se que a referida concentração causou repelência para adultos de *S. zeamais*, diferindo significativamente da testemunha (Figura 3). Calculando-se o índice de Preferência (I.P.), verificou-se um índice de preferência de -0,48 o que mostra que os insetos são atraídos pela testemunha e, conseqüentemente, repelidos pelo óleo essencial de *E. uniflora*.

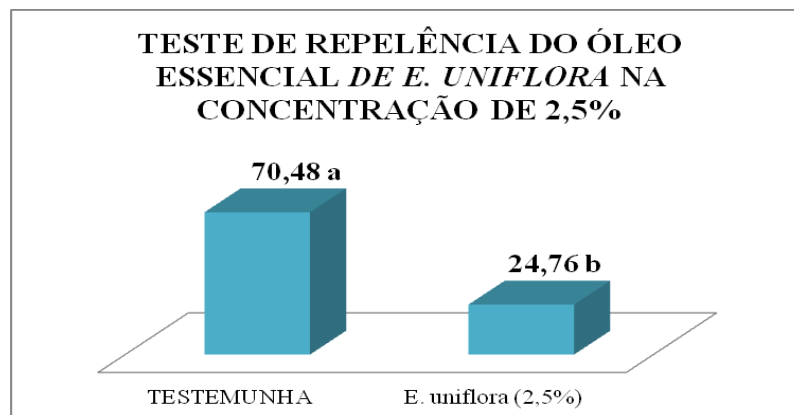


Figura 2. Percentual de adultos de de *S. zeamais*, nos tratamentos testemunha e óleo essencial de *E.uniflora*, à 2,5%, após 24 horas.

Em trabalho semelhante a este, Procópio et al. (2003) avaliaram o efeito repelente de seis pós vegetais nim – *A. indica*, Pimenta malagueta - *Capsicum frutescens* (Solanaceae), Erva-de-Santa-Maria - *Chenopodium ambrosioides* (Amaranthaceae), Cinamomo - *Melia azedarach* (Meliaceae), Eucalipto – *C. citriodora* e mamona - *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) sobre *S. zeamais*. As espécies foram avaliadas separadamente em uma proporção de 0,3g de pó vegetal para 10g de milho. Segundo os autores, entre as seis espécies, somente *C. citriodora* apresentou efeito repelente sobre adultos de *S. zeamais*, diferindo das demais espécies, sendo que esta pertence a mesma família de *E. uniflora*, utilizada neste trabalho. Coitinho et al. (2006) também avaliaram a repelência de óleos essenciais de plantas da família Myrtaceae eucalipto – *E. globulus* e *C. citriodora* sobre *S. zeamais*, e observaram que estes, respectivamente causaram 92,2% e 71,1% de repelência, o que evidencia o potencial da família Myrtaceae como repelente de insetos.

Em outro trabalho utilizando o mesmo inseto-praga e metodologia semelhante Restello et al. (2009) avaliaram efeito repelente com óleo essencial de cravo-de-defunto – *T. patula* (Asteraceae) sobre *S. zeamais*, em um volume de 10  $\mu$ L sobre 30g de milho e observaram que este possui efeito repelente sobre adultos de *S. zeamais*, repelindo até 98% dos insetos. Também calcularam o I.P, e verificaram valores de até -96, o que evidencia que a testemunha é atrativa para os insetos e o óleo essencial *T. patula* apresenta repelência a estes.

Em estudo do potencial de repelência de outras famílias de plantas sobre outras espécies de insetos-praga, Oliveira e Vendramim (1999) avaliaram o efeito repelente de óleos essenciais de louro - *Laurus nobilis* (Lauraceae), canela - *Cinnamomum verum* (Lauraceae) e nim – *A. indica* sobre *Zabrotes subfasciatus* (Coleoptera: Bruchidae). Os óleos foram avaliados em diferentes volumes (0,5; 2,5 e 5,0 mL/kg/sementes) e, de acordo com os autores, após 24 horas, as três plantas, em todas as concentrações apresentaram efeito de repelência. O índice de repelência variou proporcionalmente ao volume do óleo, sendo que para o óleo de canela variou de 63,5% á 96,2%, para o óleo de louro a variação foi de 62,0% a 74,6% e para o óleo de nim de 29,6% a 89,4%.. Campos et al. (2014) também analisaram o óleo essencial de carqueja-doce *Baccharis articulata* (Asteraceae) sobre *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera: Curculionidae), nos volumes de 10  $\mu$ L, 20  $\mu$ L, 30  $\mu$ L, 50  $\mu$ L e 100  $\mu$ L/20g/feijão, nos tempos de 24, 48 e 72 horas, e verificaram que este apresentou efeito repelente nos diferentes volumes e tempo.

#### 4.3 ANÁLISE DO ÓLEO ESSENCIAL POR CROMATOGRAFIA GASOSA EM ESPECTRÔMETRO DE MASSAS

Os compostos encontrados no óleo essencial de *E. uniflora* em proporções decrescentes foram : Calamen-10-ona; Silfiperferol-6-em-5-ona; Germacrona; A-Germagreno B; Curzereno;  $\delta$ -Amorfeno; *E*-Carofileno;  $\alpha$ -Cubeno;  $\alpha$ -Gurjuneno;  $\beta$ -Elemeno; *E*- $\beta$  – Cimeno;  $\alpha$ -Ciclosativeno (Figura 4).

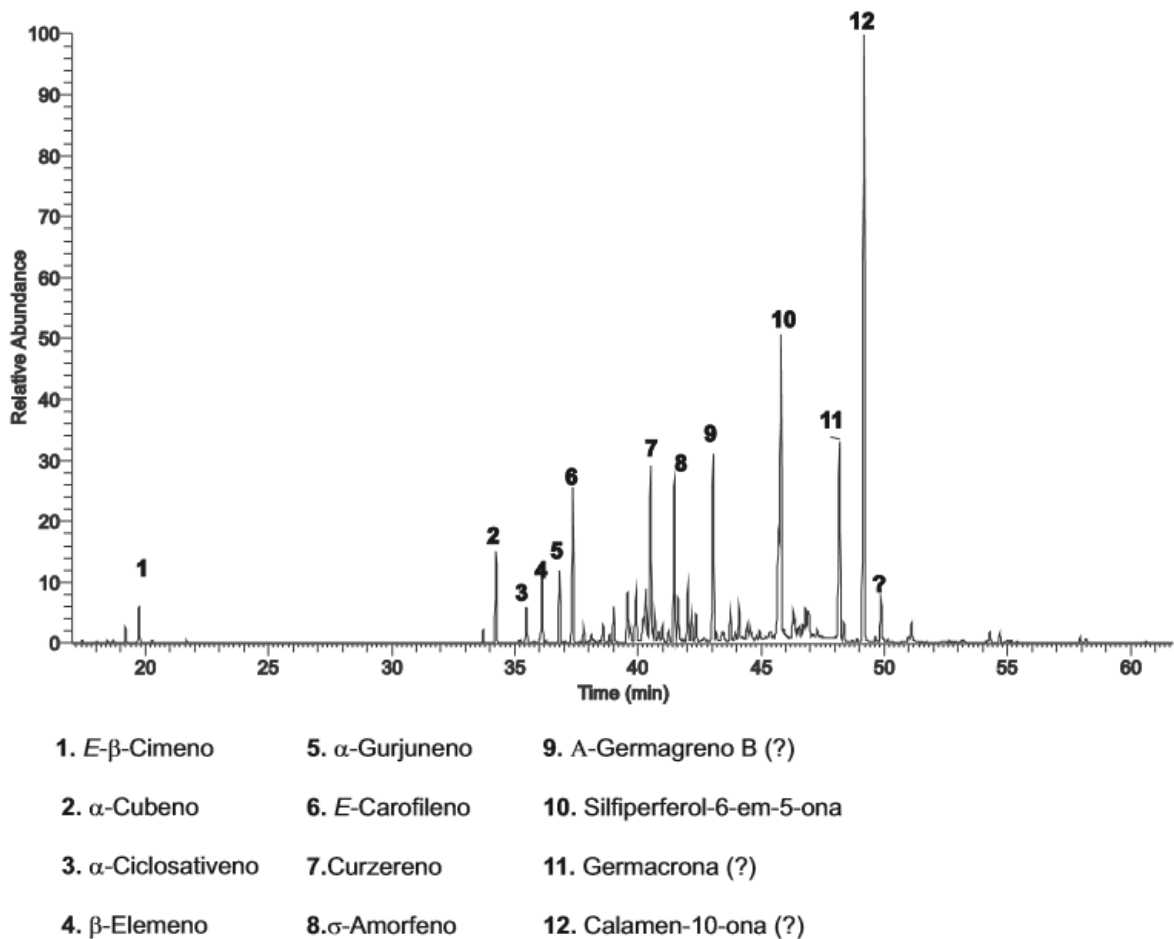


Figura 3: Abundância em percentual dos compostos químicos encontrados no óleo essencial de *E. uniflora*.

Brun e Mossi (2010) encontraram 15 compostos no óleo essencial de *E. uniflora*, sendo eles: Ocimeno,  $\beta$ -Elemeno,  $\beta$ -cariofileno, Selina- 1, 3,7(11)-trien-8-ona, Atractilona,

Elemeno, Transcariofileno, Oxidoselina- 1,3,7(11)-trien-8-ona, Curzereno, Germacreno B, Espatuleno, Germacrona, Bicyclogermacreno, Furanodiona e Cadineno. Esta variação na composição química pode ocorrer de acordo com a forma de extração (CASSEL & VARGAS, 2006; BRUN & MOSSI, 2010), com a variabilidade genética das plantas, o ambiente e a estação do ano em que estas se encontram (BRUN & MOSSI, 2010), bem como a idade das folhas (SANTOS et al., 2014).

O potencial do óleo essencial de *E. uniflora* pode estar relacionado a quantidade de compostos que este possui (JUNG et al., 2013). Segundo Isman (2006) e Vieira et al. (2007), a ação dos óleos essenciais contra algumas pragas é neurotóxica, tendo evidências na interferência com a octopamina neuromodular e/ou com os canais de cloro e cálcio GABAérgicos. A octopamina possui a função de regular os batimentos cardíacos, o metabolismo, os movimentos e o comportamento dos insetos, pois age como neurotransmissor, neuromodulador e neuromônio (VIEIRA et al., 2007).

Os compostos majoritários do óleo essencial de *E. uniflora* são os terpenos, principalmente os sesquiterpenos. De acordo com Picman (1986) os sesquiterpenos possuem efeito fagoinibidor, afetam o desenvolvimento, diminuem o peso da pupa, e podem levar o inseto a morte. Ainda no grupo dos terpenos, encontramos compostos como a 1,2-epoxipulegona, que inibe a acetilcolinesterase nos insetos, os diterpenos rodojaponina III que possui efeito fagoinibidor, e os diterpenos do grupo labdano que são inibidores do crescimento larval (VIEIRA et al., 2007).

Os resultados de efeito inseticida verificados neste trabalho variaram conforme a metodologia (pulverização sobre o grão de milho, imersão do inseto e volatilização), sendo que o experimento de pulverização sobre o grão e imersão do inseto apresentaram resultados significativos, assim como o experimento de repelência. Quando se trata de efeito inseticida e repelente, em uma situação de manejo de controle de insetos-praga, ao aplicar o óleo em grãos de milho, pode-se verificar que estes efeitos são complementares, pois terá tanto o efeito inseticida, quanto o efeito de repelência destas pragas sobre os grãos. Ainda é importante destacar que de maneira geral os maiores percentuais de mortalidade ocorreram nas primeiras horas de avaliação, o que evidencia que além do potencial inseticida apresentado pelo óleo de *E. uniflora* o tempo de ação deste pode ser um fator importante no controle da praga testada.

De maneira geral, considerando-se os resultados obtidos neste estudo, o óleo essencial de *E. uniflora* pode ser uma alternativa potencialmente viável para o controle de *S. zeamais*. Entretanto, devem ser realizados outros estudos mais aprofundados como exemplos: o efeito inseticida do óleo sobre larvas de *S. zeamais*, a associação do óleo de *E. uniflora* com outros

óleos que apresentam efeito inseticida visando potencializar o efeito inseticida e/ou repelente destes, e estudos referentes ao efeito residual do óleo essencial aos grãos tendo em vista a volatilização deste. Com estes resultados será possível complementar as informações para produtores e pessoas da área agrícola e zootécnica podendo contribuir para uma melhor produção, tanto em quantidade, quanto em qualidade.

## 5 CONCLUSÃO

O óleo essencial de *E. uniflora* tanto na imersão do inseto (10%), quanto na pulverização sobre os grãos de milho (2,5; 5 e 10%) possui efeito inseticida sobre *S. zeamais* nas maiores concentrações, sendo que quanto maior a concentração do óleo, mais rápido é o efeito inseticida .

O óleo essencial de *E. uniflora* aplicado pelo método de volatilização não apresentou efeito inseticida sobre *S. zeamais*.

O óleo essencial de *E. uniflora* à 2,5% é repelente para adultos de *S. zeamais*.

O óleo essencial de *E. uniflora* possui como compostos majoritários sesquiterpenos, com maior abundância Calamen-10-ona e Silfiperferol-6-em-5-ona.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

ANTUNES, Luidi.E.G.; DIONELLO, Rafael.G. **Bioecologia de *Sitophilus zeamais* Motschulsky 1885 (Coleoptera: Curculionidae)**. 2010. Artigo em Hypertexto. Disponível em: <[http://www.infobibos.com/Artigos/2010\\_2/Sitophilus/index.htm](http://www.infobibos.com/Artigos/2010_2/Sitophilus/index.htm)>. Acesso em: 30/5/2016.

ATHIÉ, Ivânia.; PAULA, Dalmo Cesar. Insetos de grãos armazenados: aspectos biológicos e identificação. 2. ed. São Paulo: Varela, p. 28-29, 2002.

CASSEL, Eduardo.; VARGAS, Rubem M. F. Experiments and Modeling of the *Cymbopogon winterianus*: Essential Oil Extraction by Steam Distillation. **Journal of Mexican Chemical Society**. v. 50, n. 3, p. 126-129, 2006.

CLOYD, Raymond A. Natural indeed: Are natural insecticide safer and better then conventional insecticide?. **Illinois Pesticide Review**, v.17, n.3, 2004.

COITINHO, Rodrigo Leandro B. de C. ; OLIVEIRA, José V. de; GONDIM JUNIOR, Manoel G. C.; CÂMARA, Cláudio Augusto G. da. Persistência de óleos essenciais em milho armazenado, submetido à infestação de gorgulho do milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 7, p. 1492-1496, jul. 2010.

COITINHO, Rodrigo Leandro B. de C.; OLIVEIRA, José V. de; GONDIM JUNIOR, Manoel G. C.; CÂMARA, Cláudio Augusto G. da. Atividade inseticida de óleos vegetais sobre *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae) em milho armazenado. **Caatinga** (Mossoró,Brasil), v.19, n.2, p.176-182, abr-jun. 2006.

COPPING,Leonard G.; MENN, Julius J. Review Biopesticides: a review of their action, applications and efficacy. **Pest Manag Sci**, v. 56, p. 651-676, 2000.

DEQUECH, Sônia T. B.; SAUSEN, Carla Daniele; LIMA, Cíntia G.; EGEWARTH, Rafael. Efeito de extratos de plantas com atividade inseticida no controle de *Microtheca ochroloma* Stal (Col.: Chrysomelidae), em laboratório **Biotemas**, Santa Maria, v. 21, n. 1, p. 41-46, mar. 2008.

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



ESTRELA, Joelma L. V.; FAZOLIN, Murilo; CATANI, Valdomiro; ALÉCIO, Marcio R.; LIMA, Marilene S. de. Toxicidade de óleos essenciais de *Piper aduncum* e *Piper hispidinervum* em *Sitophilus zeamais*. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v. 41, n. 2, p. 217-222, fev. 2006.

FARONI, Lêda Rita D' Antonino.; SILVA, Juarez de Sousa. Manejo de pragas no ecossistema de grãos armazenados. In: SILVA, Juarez de Sousa et al. **Secagem e armazenamento de produtos agrícolas**. 1.ed. Viçosa: Aprenda fácil, cap.15, p. 345-382, 2000.

FAZOLIN, Murilo; ESTRELA, Joelma L. V.; CATANI, Valdomiro; ALÉCIO, Márcio Rodrigo; LIMA, Marilene S. de. Atividade inseticida do óleo essencial de *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. & K. Shum (Bignoneaceae) sobre *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae). **Acta Amazonica**. v. 37, n. 4, p. 599 – 604, 2007.

GALLO, Domingos.; NAKANO, Octavio.; NETO, Sinval Silveira.; CARVALHO, Ricardo P. L.; BAPTISTA, Gilberto Cadasei.; FILHO, Evoneo Berti.; PARRA, José Roberto Postali.; ZUCCHI, Roberto Antonio.; ALVES, Sérgio Batista.; VENDRAMIM, José Djair.; MARCHINI, Luís Carlos.; LOPES, João Roberto Spotti.; OMOTO, Celso. **Entomologia Agrícola**. Piracicaba: FEALQ, p. 839-840, 2002.

GROSSMAN, Luiz.; ZITUNE, Gabriel.; BERTAZZI, Leticia. **Pitanga mágica: a mais brasileira das frutas na culinária, cosmética e saúde**. 1. ed. São Paulo: Optionline, 2010.

ISMAN, Murray B. Plant essential oils for pest and disease management. **Crop Protection**, v. 19, p. 603-608, 2000.

ISMAN, Murray B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annu. Rev. Entomol.** v. 51, p. 45–66, 2006.

JUNG, Paulo Henrique; SILVEIRA, Ana Cláudia da; NIERI, Erick Martins; POTRICH, Michele; SILVA, Everton Ricardi L. da; REFATTI, Margarida. Atividade Inseticida de *Eugenia uniflora* L. e *Melia azedarach* L. sobre *Atta laevigata* Smith. **Floresta e Ambiente**.v. 20, n. 2, p. 191-196, abr-jun. 2013.

LAZZARI, Sonia M. N.; LAZZARI, Flavio A. Insetos de grãos armazenados. In: ALBUQUERQUE, Gilberto S.; ALMEIDA, Lúcia M.; BELLANDA, Helen C. H. B et al. **Bioecologia e nutrição de insetos: Base para o manejo integrado de pragas**. 1. ed. Brasília: Embrapa, Cap. 17, p. 667-680, 2009.

LORINI, Irineu; KRZYZANOWSKI, Francisco Carlos; FRANÇA-NETO, José de B.; HENNING, Ademir A. Principais Pragas e métodos de controle em sementes durante o armazenamento – Série Sementes. **Circular técnica 73**. Embrapa: Londrina, jan. 2010.

MALLMANN, Irno Luiz.; STOCRK, Lindolfo.; LINK, Dionisio. Avaliação do dano de *Sitophilus zeamais* em sementes em diferentes tipos de milho. **Revista Centro de Ciências Rurais**. Santa Maria, v. 18, p. 209-218, 1988.

OLIVEIRA, José V.; VENDRAMIM, José D. Repelência de Óleos Essenciais e Pós Vegetais sobre Adultos de *Zabrotes subfasciatus* (Boh.) (Coleoptera: Bruchidae) em Sementes de Feijoeiro. **An. Soc. Entomol. Brasil**. Piracicaba, v.28, n.3, p.549-555, 1999.

OLIVEIRA, Maria Alcionéia C. de. **Investigação das propriedades anticariogênicas de óleos essenciais: atividade antimicrobiana e caracterização química**. 2012. 96f. Dissertação (Mestrado em biopatologia bucal). Programa de Pós Graduação em biopatologia bucal, Faculdade de Odontologia de São José dos Campos, Universidade Estadual Paulista, 2012.

OOTANI, Marcio Akio; AGUIAR, Raimundo Wagner de S.; MELLO, Aurélio V. de; DIDONET, Julcemar; PORTELLA, Augustus Caesar Franke; NASCIMENTO, Ildon R. do. Toxicidade de óleos essenciais de eucalipto e citronela sobre *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 27, n. 4, p. 609-618, jul-ago. 2011.

PICMAN, Anna K. Biological Activities of Sesquiterpene Lactones. Review Article Number 7. **Biochemical Systematics and Ecology**, Ottawa – Canadá, v. 14, n. 3, p. 255-281, 1986.

PROCÓPIO, Sérgio de O.; VENDRAMIM, José D.; RIBEIRO JÚNIOR, José Ivo; SANTOS, José B. dos. Bioatividade de diversos pós de origem vegetal em relação a *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). **Ciênc. agrotec.**, Lavras. v. 27, n.6, p.1231-1236, nov-dez. 2003.

REICHERT JÚNIOR, Francisco W.; SCARIOT, Mauricio A.; ECKER, Scheila L.; CAMPOS, Ahlana C. T. de; MENEGUZZO, Michele; RADUNZ, Andre Luiz; RADUNZ, Lauri Lourenco; GALON, Leandro, TREICHEL, Helen, MOSSI, Altemir J. Estudo do efeito repelente, inseticida do óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia* DC no controle de insetos (*Sitophilus zeamais*) em grãos de milho armazenados. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE AGROECOLOGIA, 8, 2013. Porto Alegre, RS. **Anais...** Porto Alegre, 2013.

RESTELLO, Rozane Maria; MENEGATT, Cristiane; MOSSI, Altemir José. Efeito do óleo essencial de *Tagetes patula* L. (Asteraceae) sobre *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera, Curculionidae). **Revista Brasileira de Entomologia**. v. 53, n. 2, p. 304–307, jun. 2009.

SANTOS, Jamilton Pereira.; CRUZ, Ivan. **Armazenamento e controle de pragas do milho**. 4. ed. Sete Lagoas: EMBRAPA, 1987.

SANTOS, Jamilton Pereira. Recomendações para o controle de pragas de grãos e de sementes armazenadas. In: SIMPÓSIO SOBRE FATORES QUE AFETAM A PRODUTIVIDADE DO MILHO E DO SORGO, Piracicaba, SP. **Anais...** Piracicaba: POTAFOS, 1993.

SANTOS, Frances Regiane.; FILHO, Raimundo Braz.; CASTRO, Rosane Nora. Óleo essencial de folhas frescas de pitanga (*Eugenia uniflora* L.): composição química versus idade das folhas. **37ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**. Rio de Janeiro, 2014.

SIANI, Antônio Carlos; SAMPAIO, André Luiz F.; SOUSA, Mariana C. de; HENRIQUES, Maria das Graças M. O.; RAMOS, Mônica F. de S. Óleos essenciais. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*. p. 38-43, 2000.

SILVA, Aline do Nascimento. **Estudo da composição química e da atividade antimicrobiana *in vitro* dos óleos essenciais de espécies do gênero *Myrcia* dc. (*Myrtaceae*)**. 2010. 168 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana – Bahia, 2010.

SILVA, Francisco. **Assistat 7.7. Software Estatístico**. A. S. Campina Grande. Paraíba, 2014.

SILVA, M. F.; TREICHEL, H.; SCARIOT, M. A.; GOLUNSKI, S.; MENEGUZZO, M. R. R.; MOSSI, A. J. Controle alternativo do *Sitophilus zeamais* em grãos de milho armazenado, com o uso de óleo essencial de *Salvia officinalis*. In: SIMPÓSIO DE SEGURANÇA ALIMENTAR, ALIMENTAÇÃO E SAÚDE, 5, 2015. Bento Gonçalves, RS. **Anais...** Bento Gonçalves, RS.: SBCTA-RS. 2015.

VIEIRA, Paulo Cezar.; MAFEZOLI, Jair.; BIAVATTI, Maique W. Inseticidas de origem vegetal. In: CORRÊA, Arlene G.; VIEIRA, Paulo C. **Produtos Naturais no Controle de insetos**. 2.ed. São Carlos: Ufscar. p.75-89, 2007.