



RODRIGO DE CARVALHO BRITO

**USO DE ÓLEOS ESSENCIAIS E α -PINENO NO MANEJO
DE PRAGAS DE PRODUTOS ARMAZENADOS E SEUS
EFEITOS SOBRE A GERMINAÇÃO DO MILHO E
FEIJÃO-CAUPI.**

TERESINA – PI

2020

RODRIGO DE CARVALHO BRITO

**USO DE ÓLEOS ESSENCIAIS E α -PINENO NO MANEJO DE PRAGAS DE
PRODUTOS ARMAZENADOS E SEUS EFEITOS SOBRE A GERMINAÇÃO
DO MILHO E FEIJÃO-CAUPI.**

Tese apresentada à Universidade Federal do Piauí, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia-Agricultura Tropical, para obtenção do título de Doutor em Ciências

Orientador

Dr. Luiz Evaldo de Moura Pádua

Coorientadora

Dr. ^a Solange Maria de França

TERESINA-PI

2020

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Piauí
Biblioteca Comunitária Jornalista Carlos Castello Branco
Divisão de Processos Técnicos

B858u Brito, Rodrigo de Carvalho.
Usos de óleos essenciais e α -pinero no manejo de pragas de produtos armazenados e seis efeitos sobre a germinação do milho e feijão-caupi. / Rodrigo de Carvalho Brito. – 2020.
159 p.: il.
Tese (Doutorado) – Pós-Graduação em Agronomia - Agricultura Tropical, Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2020.
“Orientação: Prof. Dr. Luis Evaldo de Moura Pádua”.
1. Toxidade. 2. Repelência. 3. Persistência. 4. Vigor de sementes. 5. Qualidade fisiológica. I. Título.
CDD 632.951

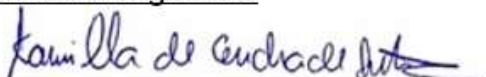
RODRIGO DE CARVALHO BRITO

USO DE ÓLEOS ESSENCIAIS E α -PINENO NO MANEJO DE PRAGAS DE
GRÃOS ARMAZENADOS E SEUS EFEITOS SOBRE A FISIOLOGIA DA
MILHO E FEIJÃO-CAUPI.

Tese apresentada à Universidade Federal do Piauí, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia-Agricultura Tropical, para obtenção do título de Doutor em Ciências.

APROVADA em 28 de setembro de 2020.

Comissão Julgadora:



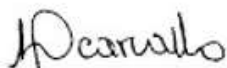
Profa. Dra. Kamilla de Andrade Dutra – UFRPE



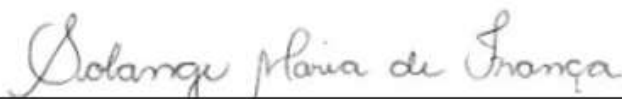
Prof. Dr. Douglas Rafael e Silva Barbosa – IFMA



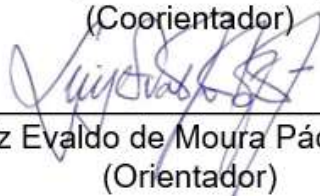
Profa. Dra. Maria da Conceição Sampaio Alves – UESPI



Profa. Dra. Luzineide Fernandes de Carvalho – CTT/UFPI



Profa. Dra. Solange Maria de França – PNP/UFPI
(Coorientador)



Prof. Dr. Luiz Evaldo de Moura Pádua – CCA/UFPI
(Orientador)

TERESINA-PI

2020

Dedico este estudo à minha família,
em especial, aos meus pais
Raimundo de Sousa Brito e Paula de
Carvalho Bráulio Brito.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por escrever esse momento lindo na minha história e por guiar meus passos ao longo da caminhada.

À Universidade Federal do Piauí (UFPI) e ao Programa de Pós-graduação em Agronomia – Agricultura Tropical pela oportunidade de cursar o doutorado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa.

A mim mesmo por não ter desistido, mesmo com todas as dificuldades ao longo de todo processo e por ser a minha melhor companhia, solitude.

Aos meus pais, Paula de Carvalho Bráulio Brito e Raimundo de Sousa Brito e ao meu irmão Roberth de Carvalho Brito, por todo amor, alicerce e provimento durante a realização deste sonho. Por serem meus melhores amigos e me incentivarem a ir atrás dos meus objetivos. Para sempre serão minhas inspirações, eu amo vocês.

À minha avó, Raimundinha Carvalho, em nome de toda família pelo suporte e atenção ao longo do curso. Gratidão vó!

Ao professor Dr. Luiz Evaldo de Moura Pádua pela amizade, orientação e por acreditar na minha proposta e execução dos trabalhos, bem como pela oportunidade e acompanhamento no estágio docente na disciplina de Controle Biológico no curso de Agronomia. Obrigado por tudo!

À professora Dr.^a Solange Maria de França por aceitar nosso convite de coorientação e por conduzir tão bem essa função. Me faltam palavras para agradecer pelo tamanho carinho, amizade e consideração ao longo dos dias no nosso laboratório e fora dele, nada seria possível se não tivessem os seus esforços. Você é essencial e continua a me inspirar todos os dias de que é possível chegar aonde almejamos.

À professora Dr.^a Sandra Regina Cardoso Vitorino pela amizade, parcerias ao longo do curso, pelos valiosos ensinamentos na disciplina de Controle Biológico, bem como pela oportunidade e acompanhamento no estágio docente na disciplina de Ecologia no curso de Licenciatura em Educação do Campo.

À professora Dr.^a Lúcia da Silva Fontes pela amizade e por disponibilizar o Laboratório de Entomologia – CCN, bem como pelos exemplares de criação de insetos cedidos.

À Dr.^a Kamilla de Andrade Dutra pela parceria na análise cromatográfica e de espectrometria de massas dos óleos essenciais, bem como na interpretação dos resultados.

À professora Dr.^a Luzineide Fernandes de Carvalho pela amizade, apoio e orientação nos experimentos de germinação conduzidos sob sua supervisão no Laboratório de Sementes do Colégio Técnico de Teresina - CTT- UFPI.

À Dr.^a Graça Citó pela realização da extração do óleo essencial de almecega no Laboratório de Química Orgânica – LAGO/UFPI.

A minha eterna professora, amiga e “mãe” na pesquisa, Dr.^a Maria da Conceição Sampaio Alves, por ter sido meu incentivo ainda na graduação e por ser tão presente na minha vida ao longo desses anos. A senhora será sempre minha inspiração. Gratidão!

Ao meu querido amigo, Dr. Ruberval Rodrigues de Sousa, por ser um exemplo, por me acompanhar ao longo do curso, dando-me força em diversos momentos e por se dispor a revisar a escrita de toda a tese. Gratidão!

Aos professores do curso de Pós-Graduação em Agronomia – PPGA- AT pelos ensinamentos preciosos em especial Aurenívia Bonifácio, Douglas Barbosa, Sandra Regina Cardoso Vitorino e Evando Aguiar.

À minha amiga e parceira de pesquisa, Me. Rosalba Maria Borges de Andrade pelo positivismo e por me ajudar no processo de busca de matéria-prima e extração do óleo essencial almecega.

Aos secretários Vicente (in memoriam), Alan e Silas pela disposição em ajudar sempre.

Aos amigos e colegas que compõem o Laboratório de Entomologia, em nome de Ana Cristina, Ynayanna Medeiros e Gomes Neto, pela ajuda nos experimentos, mas principalmente pelos momentos de descontração, sorrisos, cafés e bolos compartilhados. Vocês são incríveis.

Aos meus queridos PIBICs, Letícia Rodrigues da Silva e Egídio Brito Junior por ajudarem sempre que possível na manutenção das criações e na execução dos experimentos.

Ao meu amado primo Egídio Bráulio de Brito (In memoriam) que tanto vibrou comigo quando passei na seleção do doutorado. Você sempre esteve disposto em ajudar e eu me sinto muito honrado em dizer que você tem parte nesta conquista. Saudades.

Aos integrantes do “Caça&Pesca”, Adriana Conceição da Silva, Mírya Grazielle Tôres Portela, Claudyanne do Nascimento Costa, Jayara Dayany da Costa e Silva e Welder Jose dos Santos Silva pela união, força e amizade. Sem vocês, tudo seria mais difícil.

À minha querida amiga Geane Mayra Lopes Monteiro (In memoriam) que um dia sonhou em ser Doutora junto comigo. Amiga, divido essa vitória com você e sua família. Saudades.

Ao meu querido amigo Francisco das Chagas Martins – Secretário Renorbio - (in memoriam) pelo carinho, pela amizade, pelo otimismo de sempre, por cada palavra, por me levantar em momentos que eu pensei em desistir. Obrigado por tudo. Saudades.

“Quero dias diferentes, pessoas que me acrescentem, quero vida e muita alegria ao meu redor, quero luzes coloridas e brilhantes, quero paz, quero amor, quero a liberdade de saber quem eu sou!”

Sumário

| | | |
|--|--|----|
| 1 | INTRODUÇÃO GERAL | 13 |
| 2 | REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 15 |
| 2.1 | Classificação, origem e importância socioeconômica | 15 |
| 2.1.1. | Milho [<i>Zea mays</i> (L.)] | 15 |
| 2.1.2. | Feijão-caupi [<i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp.] | 15 |
| 2.1.3. | Feijão comum (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.)..... | 17 |
| 2.2 | Pragas de grãos armazenados | 18 |
| 2.2.1. | <i>Sitophilus zeamais</i> (Motschulsky 1885) (Coleoptera: Curculionidae) .. | 18 |
| 2.2.2. | <i>Callosobruchus maculatus</i> (Fabricius, 1775) (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae) | 19 |
| 2.2.3. | <i>Zabrotes subfasciatus</i> (Bohemann, 1833) (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae)..... | 20 |
| 2.3 | Perdas por infestação de insetos e a resistência destes à inseticidas sintéticos | 21 |
| 2.4 | Óleos essenciais: composição, potencial inseticida e mecanismos de ação | 23 |
| 2.5 | Plantas estudadas: <i>Gaultheria procumbens</i>, <i>Juniperus communis</i>, <i>Protium pallidum</i> e <i>Protium heptaphyllum</i> | 24 |
| 2.6 | Efeito de óleos essenciais sobre sementes | 27 |
| 3 | REFERÊNCIAS | 29 |
| Capítulo 1: Óleos essenciais e α-pineno no manejo de <i>Sitophilus zeamais</i> (Mots. 1855) (Coleoptera: Curculionidae) em condição de armazenamento e seus efeitos sobre a germinação de sementes de milho | | 41 |
| 1 | INTRODUÇÃO | 45 |
| 2 | MATERIAL E MÉTODOS | 46 |
| 2.1 | <i>Eliminação da infestação e equilíbrio da umidade das sementes</i> | 46 |
| 2.2 | <i>Criação de <i>Sitophilus zeamais</i></i> | 47 |
| 2.3 | <i>Obtenção dos óleos essenciais e α-pineno</i> | 47 |
| 2.4 | <i>Identificação dos compostos: Cromatografia Gasosa e Espectrometria de Massas</i> | 48 |
| 2.5 | <i>Teste de toxicidade por contato</i> | 49 |
| 2.6 | <i>Efeito repelente de óleos essenciais e α-pineno sobre <i>S. zeamais</i></i> | 50 |
| 2.7 | <i>Testes de Toxicidade por Fumigação</i> | 51 |
| 2.8 | <i>Persistência do efeito inseticida de óleos essenciais e α-pineno em sementes de milho armazenadas</i> | 52 |
| 2.9 | <i>Efeito residual de óleos essenciais e α-pineno na germinação de sementes de milho armazenadas</i> | 53 |
| 2.10 | <i>Análise estatística e delineamento experimental</i> | 54 |
| 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 55 |
| 3.1 | <i>Identificação dos compostos</i> | 55 |
| 3.2 | <i>Efeito da toxicidade por contato dos óleos essenciais e α-pineno sobre <i>Sitophilus zeamais</i></i> | 61 |
| 3.3 | <i>Efeito repelente de óleos essenciais e α-pineno sobre <i>Sitophilus zeamais</i></i> | 65 |
| 3.4 | <i>Efeito da toxicidade por fumigação dos óleos essenciais e α-pineno sobre <i>Sitophilus zeamais</i></i> | 67 |
| 3.5 | <i>Avaliação da persistência de óleos essenciais e α-pineno em sementes de milho armazenadas</i> | 71 |
| 3.6 | <i>Avaliação do efeito de óleos essenciais e α-pineno sobre a germinação da semente de milho</i> | 72 |

| | | |
|----------|---|-----|
| 4 | CONCLUSÕES | 78 |
| 5 | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 79 |
| | Capítulo 2: Uso de óleos essenciais e α-pineno no manejo de <i>Callosobruchus maculatus</i> (Fabr. 1775) (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae) em condição de armazenamento e seus efeitos sobre a germinação de sementes de feijão-caupi | 86 |
| 1 | INTRODUÇÃO | 89 |
| 2 | MATERIAL E MÉTODOS | 91 |
| 2.1 | <i>Eliminação da infestação e equilíbrio da umidade dos grãos</i> | 91 |
| 2.2 | <i>Criação de <i>Callosobruchus maculatus</i></i> | 91 |
| 2.3 | <i>Obtenção dos óleos essenciais e α-pineno</i> | 92 |
| 2.4 | <i>Efeito da toxicidade por contato dos óleos essenciais e α-pineno sobre <i>Callosobruchus maculatus</i></i> | 92 |
| 2.5 | <i>Efeito repelente de óleos essenciais e α-pineno sobre <i>Callosobruchus maculatus</i></i> | 93 |
| 2.6 | <i>Teste de toxicidade por fumigação</i> | 93 |
| 2.7 | <i>Efeito residual de óleos essenciais e α-pineno na germinação de sementes de feijão-caupi armazenadas</i> | 94 |
| 2.8 | <i>Análise estatística e delineamento experimental</i> | 95 |
| 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 96 |
| 3.1 | <i>Efeito de toxicidade por contato dos óleos essenciais e α-pineno sobre <i>C. maculatus</i></i> | 96 |
| 3.2 | <i>Efeito repelente de óleos essenciais e α-pineno sobre <i>C. maculatus</i></i> . | 101 |
| 3.3 | <i>Efeito da toxicidade por fumigação dos óleos essenciais e α-pineno em <i>C. maculatus</i></i> | 110 |
| 3.4 | <i>Avaliação do efeito de óleos essenciais e α-pineno sobre a germinação de feijão-caupi</i> | 114 |
| 4 | CONCLUSÕES | 119 |
| 5 | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 120 |
| | Capítulo 3: Toxicidade e repelência de óleos essenciais e α-pineno no manejo de <i>Zabrotes subfasciatus</i> (Bohemann, 1833) (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae) em feijão comum | 128 |
| 1 | INTRODUÇÃO | 131 |
| 2 | MATERIAL E MÉTODOS | 132 |
| 2.1 | <i>Eliminação da infestação e equilíbrio da umidade dos grãos</i> | 133 |
| 2.2 | <i>Criação de <i>Zabrotes subfasciatus</i></i> | 133 |
| 2.3 | <i>Obtenção dos óleos essenciais e α-pineno</i> | 133 |
| 2.4 | <i>Teste de toxicidade por contato</i> | 134 |
| 2.5 | <i>Efeito repelente</i> | 134 |
| 2.6 | <i>Teste de toxicidade por fumigação</i> | 135 |
| 2.7 | <i>Análise estatística e delineamento experimental</i> | 136 |
| 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 137 |
| 3.1 | <i>Efeito de toxicidade por contato dos óleos essenciais e α-pineno sobre <i>Z. subfasciatus</i></i> | 137 |
| 3.2 | <i>Efeito repelente de óleos essenciais e α-pineno sobre <i>Z. subfasciatus</i></i> | 142 |
| 3.3 | <i>Efeito da toxicidade por fumigação dos óleos essenciais e α-pineno em <i>Z. subfasciatus</i></i> | 148 |
| 4 | CONCLUSÕES | 152 |
| 5 | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 153 |

RESUMO GERAL

O manejo de pragas de grãos armazenados feito com óleos essenciais e seus compostos é indicado como meio alternativo à fosfina, e tem trazido resultados promissores. O objetivo deste trabalho foi investigar a eficiência de óleos essenciais e α -pineno no tratamento de grãos de feijão comum, sementes de milho e feijão-caupi em condições de armazenamento, para o manejo de *Zabrotes subfasciatus*, *Sitophilus zeamais* e *Callosobruchus maculatus*, respectivamente, bem como avaliar os possíveis efeitos dos tratamentos sobre a germinação das sementes de milho e feijão-caupi. O estudo avaliou a toxicidade por contato (efeito letal e subletal), fumigação e repelência de óleos essenciais (*Gaultheria procumbens*, *Juniperus communis*, *Protium heptaphyllum* e *Protium pallidum*) e do composto (α -pineno) sobre *Z. subfasciatus*, *S. zeamais* e *C. maculatus*, a persistência em sementes de milho e o efeito residual em sementes de milho e feijão-caupi. Os componentes majoritários dos óleos essenciais foram: Salicilato de metila (Índice de retenção - IR: 1202, 96%) para *G. procumbens*, α -pineno (IR: 930; 67%) para *J. communis*, limoneno (IR: 102; 40,1%) para *P. heptaphyllum* e o-cimeno (IR: 1025; 31,17%) e α -pineno (IR: 932; 16,99%) para *P. pallidum*. Para *S. zeamais* as CL_{50} foram: 26,83 μ L / 20 g para *G. procumbens*, 79,97 μ L / 20 g para *J. communis*, 45,78 μ L / 20 g para *P. heptaphyllum*, 57,98 μ L / 20 g para *P. pallidum* e 51,35 μ L / 20 g para α -pineno no teste de contato. A toxicidade por fumigação dos produtos decresceu nesta ordem: *G. procumbens* \geq *P. heptaphyllum* > α -pineno > *J. communis* > *P. pallidum* para CL_{50} . Todos os produtos testados são repelentes a *S. zeamais*. A persistência de *G. procumbens* permaneceu por 71 dias. O óleo de *J. communis* e composto α -pineno não afetam a viabilidade e o vigor da semente de milho. Para *C. maculatus* as CL_{50} foram de 0,47 μ L / 20 g para *G. procumbens*; 11,65 μ L / 20 g para *P. pallidum*; 24,43 μ L / 20 g para α -pineno no teste de contato. Todos os produtos diminuíram a oviposição e a emergência de adultos. Para toxicidade por fumigação as CL_{50} foram de 12,14; 252,34; 259,40 μ L / L para *G. procumbens*, *P. pallidum* e α -pineno, respectivamente. Os óleos de *J. communis*, *P. heptaphyllum* e *P. pallidum* e o α -pineno foram repelentes, diminuindo o número de ovos e de emergidos de *C. maculatus*. Os óleos de *G. procumbens*, *J. communis* e o composto α -pineno não diminuem a germinação e o vigor na germinação de sementes de feijão-caupi. Para *Z. subfasciatus* em teste de contato as CL_{50} foram de 1,09 μ L / 20 g para *G. procumbens*, 4,32 μ L / 20 g para *P. heptaphyllum*, 4,06 μ L / 20 g para *P. pallidum*, 9,53 μ L / 20 g para *J. communis*, 17,83 μ L / 20 g para α -pineno. Todos os produtos diminuíram oviposição e a emergência de novos adultos. As CL_{50} por fumigação foram de 31,60; 48,97; 112,92; 183,46 e 241,57 μ L / L de ar para *G. procumbens*, *P. heptaphyllum*, *P. pallidum*, *J. communis* e α -pineno, respectivamente. Todos os óleos repeliram adultos de *Z. subfasciatus* significativamente, reduzindo a oviposição e emergência. Conclui-se que os produtos testados são tóxicos às três pragas e podem ser usados como ferramentas no manejo dessas espécies.

Palavras-chave: Toxicidade, Repelência, Persistência, Vigor de sementes, Qualidade fisiológica

ABSTRACT

The management of stored grain pests using essential oils and their compounds is indicated as an alternative to phosphine and has brought promising results. The objective of this work was to investigate the efficiency of essential oils and α -pinene in the treatment of common bean grains, corn seeds and cowpea under storage conditions, for the management of *Zabrotes subfasciatus*, *Sitophilus zeamais* and *Callosobruchus maculatus*, respectively, as well as to evaluate the possible effects of treatments on the germination of corn and cowpea seeds. The study evaluated contact toxicity (lethal and sublethal effect), fumigation and repellency of essential oils (*Gaultheria procumbens*, *Juniperus communis*, *Protium heptaphyllum* and *Protium pallidum*) and the compound (α -pinene) on *Z. subfasciatus*, *S. zeamais* and *C. maculatus*, persistence in corn seeds and the residual effect in corn and cowpea seeds. The major components of essential oils were: Methyl salicylate (Retention index - IR: 1202, 96%) for *G. procumbens*, α -pinene (IR: 930; 67%) for *J. communis*, limonene (IR: 102 ; 40.1%) for *P. heptaphyllum* and o-cymene (IR: 1025; 31.17%) and α -pinene (IR: 932; 16.99%) for *P. pallidum*. For *S. zeamais* the CL₅₀ were: 26.83 μ L / 20 g for *G. procumbens*, 79.97 μ L / 20 g for *J. communis*, 45.78 μ L / 20 g for *P. heptaphyllum*, 57.98 μ L / 20 g for *P. pallidum* and 51, 35 μ L / 20 g for α -pinene in the contact test. The fumigation toxicity of the products decreased in this order: *G. procumbens* \geq *P. heptaphyllum* > α -pinene > *J. communis* > *P. pallidum* for LC₅₀. All tested products are repellent to *S. zeamais*. The persistence of *G. procumbens* remained for 71 days. *J. communis* oil and α -pinene compound do not affect the viability and vigor of the corn seed. For *C. maculatus*, the LC₅₀ was 0.47 μ L / 20 g for *G. procumbens*; 11.65 μ L / 20 g for *P. pallidum*; 24.43 μ L / 20 g for α -pinene in the contact test. All products reduced oviposition and the emergence of adults. For fumigation toxicity, the LC₅₀ was 12.14; 252.34; 259.40 μ L / L for *G. procumbens*, *P. pallidum* and α -pinene, respectively. The oils of *J. communis*, *P. heptaphyllum* and *P. pallidum* and α -pinene were repellent, decreasing the number of eggs and emerged of *C. maculatus*. The oils of *G. procumbens*, *J. communis* and the compound α -pinene do not decrease germination and vigor in the germination of cowpea seeds. For *Z. subfasciatus* in contact test, the LC₅₀ was 1.09 μ L / 20 g for *G. procumbens*, 4.32 μ L / 20 g for *P. heptaphyllum*, 4.06 μ L / 20 g for *P. pallidum*, 9.53 μ L / 20 g for *J. communis*, 17.83 μ L / 20 g for α -pinene. All products reduced oviposition and the emergence of new adults. The LC₅₀ by fumigation was 31.60; 48.97; 112.92; 183.46 and 241.57 μ L / L of air for *G. procumbens*, *P. heptaphyllum*, *P. pallidum*, *J. communis* and α -pinene, respectively. All oils repelled adults from *Z. subfasciatus* significantly, reducing oviposition and emergence. It is concluded that the tested products are toxic to the three pests and can be used as tools in the management of these species.

Keywords: Toxicity, Repellency, Persistence, Vigor, Physiological quality

1 INTRODUÇÃO GERAL

A produção de grãos e sementes deve seguir um protocolo rigoroso, para que se mantenha a qualidade do produto final. A atenção deve ser empregada em todas as fases de produção, desde o plantio, colheita e destino do produto. Porém, muitas são as dificuldades que aparecem nesse percurso. Uma delas são as pragas de grãos/sementes armazenadas, que iniciam sua infestação no campo, prolongando-se até o armazém de comercialização.

Sitophilus zeamais (Mots), *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) e *Zabrotes subfasciatus* (Boh.) são elencadas como as principais pragas de grãos e sementes armazenadas de milho, feijão-caupi e feijão comum, respectivamente. Essas pragas são cosmopolitas, porém bem mais adaptadas em regiões de clima tropical, como é no Brasil. Pragas de grãos/sementes armazenadas podem causar prejuízo de cerca de 5 a 10% nos países desenvolvidos e mais de 20% de grãos nos países em desenvolvimento, já que todos os ínstaes larvais ocorrem dentro do grão/semente, liberando excretas e exúvias, que favorecem a contaminação por fungos oportunistas. Todos esses fatores depreciam a qualidade do produto final, causando prejuízos.

O ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento tem em seu banco de dados o Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários (Agrofit) alguns produtos registrados como fosfetos magnésio e alumínio (fosfina); pirimifós-metílico e fenitrotiona (organofosforado); deltametrina e bifentrina (piretróide) para o controle de *S. zeamais*; fosfetos magnésio (fosfina) para o controle *C. maculatus*; fosfeto de magnésio e alumínio (fosfina); deltametrina (piretroide) para o controle de *Z. subfasciatus*. Porém o uso indiscriminado de inseticidas químicos trouxe consigo problemas atrelados ao meio ambiente e a saúde, além de selecionar populações de insetos resistentes a esses produtos.

Um novo olhar foi necessário, e a partir de então, universidades e centros de pesquisas de diversos países têm buscado formas de controle/manejo eficazes, que não ocasionem toxicidade a organismos não-alvo e que não causem impacto ao meio ambiente. Produtos à base de plantas, como óleos essenciais e seus compostos isolados, têm se mostrado promissores nesse cenário.

Em geral, os óleos essenciais, provenientes do metabolismo secundário das plantas, são ricos em terpenos (monoterpenos e sesquiterpenos) e são

constituídos por uma mistura de 20 a 70 compostos orgânicos. Sendo misturas complexas, cada efeito biológico exibido por um óleo essencial é devido às ações de um ou mais dos seus constituintes.

Conhecer a composição de um óleo essencial, bem como isolar os seus principais compostos, são essenciais para elucidar o seu efeito inseticida. Óleos essenciais contendo um único composto predominante, geralmente tem a sua atividade inseticida atribuída a esse, ao contrário, a atividade inseticida pode ser resultado do efeito sinérgico entre compostos majoritários e minoritários presentes no óleo essencial. Por isso, sempre que possível, há a necessidade de se testar isoladamente os compostos para revelar qual confere a atividade inseticida do óleo essencial.

Os óleos essenciais e seus compostos são fontes inseticidas confiáveis, muitas vezes em concentrações muito baixas para pragas de produtos armazenados, todavia a recomendação deve ser cautelosa, levando em consideração organismos não-alvo e efeitos deletérios não desejáveis, especificamente, quando utilizados no tratamento de sementes, pois podem ser fitotóxicos no processo de germinação.

Resumidamente, é possível medir o vigor de sementes tratadas em processo de germinação com base em testes aferidores do percentual de germinação, índice de velocidade de germinação, tempo médio de germinação, peso de massa fresca e seca de plântulas, dentre outros.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi investigar a eficiência de óleos essenciais (*Gaultheria procumbens*, *Juniperus communis*, *Protium heptaphyllum* e *Protium pallidum*) e α -pineno no tratamento de grãos de feijão comum, sementes de milho e feijão-caupi em condições de armazenamento, para o manejo de *Zabrotes subfasciatus* (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae), *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) e *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae) respectivamente, bem como avaliar os possíveis efeitos dos tratamentos sobre a germinação das sementes de milho e feijão-caupi.

O estudo foi dividido em três capítulos, cada um dedicado a um inseto praga e seu respectivo hospedeiro, para avaliações de toxicidade e fitotoxicidade dos produtos {óleos essenciais [*Gaultheria procumbens* L. (Ericaceae) (Wintergreen), *Juniperus communis* L. (Cupressaceae) (Zimbro),

Protium pallidum Cuatrec. (Burseraceae) (Breu branco) e *Protium heptaphyllum* (Aubl.) March. (Burseraceae) (Almécega)] e composto isolado (α -pineno).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Classificação, origem e importância socioeconômica

2.1.1. Milho [*Zea mays* (L.)]

O Milho [*Zea mays* (L.)] pertence ao reino Plantae, divisão Anthophata, classe Monocotyledonae, ordem Poales, família Poaceae, gênero *Zea*, sendo referência como cultura comercial em destaque (SILOTO, 2002; DOEBLEY, 1990). Tem seu centro de origem e domesticação nas américas, apresentando grande diversidade nesta mesma região (ZEVEN; WET, 1982; LEÓN, 2000).

O milho se espalhou pelo mundo após a descoberta europeia das Américas no século XV, especificamente em zonas temperadas (PALIWAL, 2000; FARNHAM; BENSON; PEARCE, 2003). Por ser uma cultura proeminente do Novo Mundo, esta foi amplamente cultivada na época do contato europeu em ambos os hemisférios, e era tido como alimento básico de muitas sociedades pré-históricas (PIPERNO; FLANNERY, 2001). Com o passar dos anos, o milho tornou-se um dos cereais mais importantes cultivados em todo o mundo, em uma ampla gama de ambientes por causa de sua maior adaptabilidade (KOGBE; ADEDIRAN, 2003).

Usado principalmente como fonte de alimento, o milho tem sido a matéria-prima mais importante para a alimentação animal (PIMENTEL; PATZEK, 2005), sendo este uma das principais fontes de cereais para alimentação, forragem e produtos industriais (PARVATHI, 2015). Especificamente, o Brasil, contribui de forma significativa com o panorama geral de produção, exportação e estocagem de milho, sendo considerado personagem relevante no mercado mundial (FIESPI, 2020).

2.1.2. Feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]

O feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp] é uma planta Eudicotyledonea, da ordem Fabales, família Fabaceae, subfamília Faboideae, tribo Phaseoleae, subtribo Phaseolineae, gênero *Vigna*, subgênero *Vigna*, secção *catyang*, espécie *Vigna unguiculata* (L.) Walp. e subespécie *unguiculata*, subdividida em quatro cultigrupos: *Unguiculata*, *Sesquipedalis*,

Biflora e Textilis (ALLANTOSPERMUM, 2016; MARÉCHAL; MASCHERPA; STAINIER, 1978; PADULOSI; NG, 1997; SMARTT, 1990; VERDCOURT, 1970).

V. unguiculata, é uma leguminosa herbácea comestível de grande importância em diversas regiões do mundo, principalmente nas regiões tropicais e subtropicais do planeta (LOPES et al., 2018).

O nome popular desta leguminosa varia de acordo com a região do país em que se encontra. No norte de Minas Gerais e em algumas regiões da Bahia é conhecido como feijão gurutuba e feijão catador, na região sul como feijão miúdo, no estado do Rio de Janeiro como feijão fradinho, já no norte é conhecido como feijão-de-corda e na região nordeste, de uma forma geral, recebe o nome de feijão macassar (FREIRE FILHO et al., 2005).

Várias hipóteses foram levantadas com o intuito de se definir o centro de origem do feijão-caupi. Há uma concordância de que o seu centro de origem incidu no continente africano, uma vez que as formas selvagens da espécie têm sido encontradas apenas nesse continente, sendo este um forte indício da sua origem (FREIRE FILHO, 1988). Ng e Maréchal (1985) afirmam que a região do oeste da África, mais especificamente a Nigéria, seja o centro primário de diversidade dessa espécie.

O feijão-caupi foi introduzido no Brasil por colonizadores portugueses na metade do século XVI, especificamente pelo estado da Bahia (FREIRE FILHO, 1988). A partir de então, este foi se adaptando ao longo do tempo através do processo de seleção natural feita pelas novas condições de habitat, principalmente nas Regiões Nordeste e Norte, até ser disseminado por todo o país (FREIRE FILHO, 1981). Já no estado do Piauí, o cultivo do feijão-caupi foi relatado pela primeira vez no ano de 1697 (FREIRE FILHO, 1988; DIAS, 2008), um século depois da sua introdução no Brasil. Tal fato é justificado pelo modo como o Piauí foi colonizado, do sertão para o litoral, evidenciando que nesta época, a comunicação e o comércio eram difíceis (FREIRE FILHO, 2011).

Tanto na África quanto no Brasil, principalmente nas regiões semiáridas, o feijão-caupi é uma das leguminosas de subsistência de maior relevância cultivada por agricultores, com finalidade para o consumo humano, bem como para alimentar animais (FREIRE FILHO, 2011; HUANG et al., 2012; NSA; KAREEM, 2015), sendo assim uma fonte importante de nutrientes essenciais

em vários países em desenvolvimento, devido a razões nutricionais e socioeconômicas. Estas plantas são consideradas como a principal fonte de proteína para populações na Ásia, África e América Latina (KATO et al., 2015, SANTOS et al., 2013; RAVELOMBOLA et al., 2017; TIMKO; SINGH, 2008).

2.1.3. Feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.)

O gênero *Phaseolus* pertence à ordem Rosales, subtribo Phaseolinae, tribo Phaseoleae, subfamília Papilionoideae e família Leguminosae (MELCHIOR et al., 1964). Já Cronquist (1988) classifica-o como pertencente à subclasse Rosidae, ordem Fabales e família Fabaceae, que compreende aproximadamente 650 gêneros e 18.000 espécies, distribuídas nas subfamílias Caesalpinioideae, Faboideae e Mimosoideae.

Segundo Vavilov (1931) a origem evolutiva do gênero *Phaseolus* e sua diversificação primária ocorreram nas Américas. Porém o local exato onde isto se deu é ainda motivo de controvérsia (GEPTS; DEBOUCK, 1991).

Populações selvagens de feijão não são encontradas naturalmente no Brasil, mas crescem facilmente desde o Norte do México até o Norte da Argentina, em altitudes entre 500 e 2.000 m (DEBOUCK, 1986).

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma das leguminosas mais importantes e diversificado, consumido em todo o mundo (BROUGHTON et al., 2003). Sugerem-se que as variedades atuais de feijão são o resultado de múltiplos eventos de domesticação, com dois centros primários, um na América Central e o outro ao Sul dos Andes (Sul do Peru, Bolívia, Norte da Argentina). Um terceiro centro é ainda sugerido na região da Colômbia (DEBOUCK, 1986; GEPTS; DEBOUCK, 1991).

Suas espécies, principalmente o feijão comum, são amplamente distribuídas no mundo todo e, além de cultivadas nos trópicos, também se desenvolvem em zonas temperadas dos hemisférios Norte e Sul, no entanto, o seu número exato ainda é desconhecido. Alguns levantamentos sobre o gênero indicam que esse número pode variar de 31 a 52 espécies, todas originárias do Continente Americano, sendo que somente cinco são cultivadas: *P. vulgaris*, *Phaseolus lunatus* L., *Phaseolus coccineus* L., *Phaseolus acutifolius* A. Gray e *Phaseolus polyanthus* Greeman (DEBOUCK, 1991, 1999).

O feijão tem um papel importante na dieta alimentar da população e na geração de renda. A produção desse grão é bastante difundida em todo o

território nacional e distribuída em três safras ao longo do ano, sendo o Brasil o terceiro maior produtor mundial (CONAB, 2018).

2.2 Pragas de grãos armazenados

2.2.1. *Sitophilus zeamais* (Motschulsky 1885) (Coleoptera: Curculionidae)

Diversas pragas estão associadas ao milho armazenado, sendo distribuídas em mais de 37 espécies de insetos (SOIJANYA et al., 2016). Destaca-se o *S. zeamais*, importante na secagem, transporte e armazenamento no campo pré-colheita de ocorrência em toda América do Sul (OLIVEIRA, et al., 2014) e na região leste e sul da África (TEFERA et al., 2013).

Sendo uma das pragas mais destrutivas em cereais armazenados no mundo, o gorgulho do milho, *S. zeamais*, não só causa perdas quantitativas extensivas em grãos armazenados, mas também altera a qualidade dos grãos e seus subprodutos, resultando na deterioração da viabilidade das sementes (HADID et al., 2015; HERRERA et al., 2015).

Os adultos desta espécie variam em tamanho (2,0 a 3,5 mm) e são de coloração escura com manchas mais claras nos élitros e cabeça projetada a frente. As fêmeas apresentam rostro alongado e afilado, enquanto os machos apresentam rostro curto e grosso (LORINI; SCHNEIDER, 1994; LOECK, 2002), porém a identificação a olho nu quase não é possível (Figura 1).



Figura 1 Adulto de *Sitophilus zeamais*.

O Ciclo biológico de *S. zeamais* compreende as fases de ovo, larva (quatro instares), pré-pupa/pupa e adulto; em condições controladas (24-30 °C; 60 ± 10% de HR; Fotofase de 12 horas) e o período de oviposição, de

incubação de ovos, larval, pré-pupal/pupal, ovo-adulto dura em média 22,2; 5,25; 23,1; 6,3 e 34,7 dias, respectivamente. A longevidade de adultos dura em média 123 dias (OJO; OMOLOYE, 2016).

2.2.2. *Callosobruchus maculatus* (Fabricius, 1775) (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae)

Em leguminosas alimentares armazenadas, a infestação é causada por mais de 150 insetos, no entanto, *Callosobruchus chinensis* (L.), *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) e *Callosobruchus analis* (Fabr.) pertencentes à ordem Coleoptera, Família Chrysomelidae e subfamília Bruchinae, são os principais insetos ameaçadores da família Bruchinae (KEDIA et al., 2015).

O caruncho, *C. maculatus*, é considerada a mais importante entre as principais pragas que atacam o feijão-caupi (MEDEIROS et al., 2017). Segundo Oliveira et al., (1984) esta praga inicia o seu ataque no campo, ocorrendo ao longo da colheita até o armazenamento.

O macho e a fêmea desta espécie são facilmente distinguidos um do outro pela aparência geral (BECK; BLUMER, 2014). O macho adulto é menor em tamanho e possui uma forma mais arredondada do que a fêmea, enquanto o besouro fêmea adulto apresenta faixas escuras de cada lado do dorso abdominal (AHMADY et al., 2016). A característica mais marcante do dimorfismo sexual dessa espécie é a exposição do último segmento do abdômen, o pigídio, que é visto nitidamente nas fêmeas por conta do encurtamento dos élitros (BECK; BLUMER, 2014) (Figura 2).



Figura 2 Macho (A) e fêmea (B) de *Callosobruchus maculatus*.

O ciclo de vida do *C. maculatus* consiste de ovo, quatro instares larvais (L1, L2, L3 e L4), pupa e adulto; em condições de laboratório ($28,5 \pm 2,0$ °C e $78.5 \pm 3.0\%$ UR) e após a emergência o período de oviposição dura de 6-7 dias e os ovos inicialmente são translúcidos, lisos, brilhantes e mais tarde tornam-se

brancos amarelados; o período larval pode variar entre 18-22 dias, e as larvas no último instar são brancas-amareladas e ligeiramente apresentam formato de “C”; a fase pupal varia entre 6-7 e 5-6 para machos e fêmeas, respectivamente; o período de desenvolvimento do ovo para o adulto é de 45-48 dias em feijão mungu (*Vigna radiata*) (DEVI; DEVI, 2014), mas em sementes de *V. unguiculata* o ciclo de vida levou 30-37, 19-26 e 20-27 dias para conclusão a 25, 30 e 35 °C e umidade relativa constante de 65% (AHMADY et al., 2016).

2.2.3. *Zabrotes subfasciatus* (Bohemann, 1833) (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae)

O feijão comum tem duas principais pragas no armazenamento conhecidas mundialmente: *Zabrotes subfasciatus* e *Acanthoscelides obtectus* Say. (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae). *Z. subfasciatus* está presente em áreas mais quentes (regiões tropicais da América Latina) (ROSSETTO, 1966) e é uma praga de armazém (CARDONA et al., 1990). Enquanto, *A. obtectus*, anteriormente era descrita como uma praga de áreas mais frias (regiões temperadas) (GALLO et al., 2002), porém, está adaptada tanto para viver e reproduzir em regiões tropicais como nas temperadas, em condições de baixa umidade (LORINI et al., 2015), causando infestação de grãos tanto no campo quanto no armazém (CARDONA, 1990).

O bruquídeo *Z. subfasciatus* quando adulto, tem coloração castanho escura, com manchas claras no pronoto fortemente pubescente; apresenta dimorfismo sexual, onde os machos são menores que as fêmeas; especificamente nas fêmeas há a presença de uma mancha clara de formato triangular na parte posterior da cabeça, outra de mesma forma próximo ao escutelo e duas outras no ângulo do pronoto, porém, nos machos só é visível a mancha pré-escutelar. Os adultos desta espécie, podem chegar até 2,5 mm de comprimento (FERREIRA, 1960) (Figura 3).



Figura 3 Macho (A) e fêmea (B) de *Zabrotes subfasciatus*.

Os ovos desta espécie, quando viáveis são opacos, apresentando formato ovoide ligeiramente arredondado (FERREIRA, 1960). As larvas são de coloração branco leitosa e do tipo curculioniforme. As pupas são glabras da mesma coloração dos adultos e o estágio pupal dura de 5 a 6 dias (GALLO et al., 2002).

Diversos trabalhos aferiram a quantidade de dias do período que compreende ovo-adulto para *Z. subfasciatus*. Howe e Currie, (1964), quantificaram 24,5 dias a 32 °C e 70% de UR, Ferreira (1960) 36 dias a 27 °C e 75% de UR, Carvalho e Rossetto, (1968) contabilizaram entre 23 e 33 dias a 32 °C e 70% de UR. Silva et al., (2018) quantificaram 28,02; 35,39 e 29,39 dias a $29 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e $47 \pm 10\%$ UR em *V. unguiculata*, *P. vulgaris*, e *P. lunatus*, respectivamente.

2.3 Perdas por infestação de insetos e a resistência destes a inseticidas sintéticos

Em todo o mundo, as pragas (especialmente ervas daninhas, patógenos e insetos) são as maiores competidoras de culturas agrícolas, reduzindo drasticamente a produção na faixa de 25 a 50% (PIMENTEL et al., 1991; OERKE, 2006).

Cerca de 20% a 40% das perdas pós-colheita, ocorrem durante as operações de campo e pós-colheita e, entre essas perdas, 55% destas ocorrem durante o armazenamento (WORLD BANK, 2011).

O dano aos grãos devido à infestação de insetos é estimado como sendo de 10-40% anualmente (ASRAR et al., 2016). Especificamente em grãos armazenados as perdas devido à infestação de insetos podem variar em 5-10%

e 20-30% ou mais, para zonas temperadas e regiões tropicais/subtropicais, respectivamente (RAJENDRA; SRIRANJINI, 2008; PHILLIPS; THRONE, 2010).

Quando se trata de grãos armazenados, a infestação de insetos pode reduzir o conteúdo quantitativo e qualitativo dos grãos (MADRID et al., 1990), causando a diminuição do peso dos grãos, alteração nas propriedades físicas dos grãos e aumentando a invasão de microrganismos (BALDIN; LARA, 2008).

Inseticidas químicos são usados para reduzir o impacto negativo das infestações de insetos (OSMAN et al., 2013). O uso de fumigantes químicos, incluindo fosfina e brometo de metila, é atualmente um dos métodos mais utilizados para controlar insetos de produtos armazenados (THOPSON; REDDY, 2016; ATHANASSIOU et al., 2015).

Porém, alguns fumigantes, em especial o brometo de metila, vem sofrendo sanções por causar impactos destrutivos na camada de ozônio (NAYAK; DAGLISH; PHILLIPS, 2015) efeitos residuais e serem carcinógenos (JAGADEESAN, et al., 2015; RAJASHEKAR; RAVINDRA; BAKTHAVATSALAM, 2014).

Além disso, o uso frequente e difundido de químicos levou ao desenvolvimento de resistência em insetos de produtos armazenados (ABOUSEADAA et al., 2015; GBAYE; OYENIYI; OJO, 2016).

Tentativas estão sendo feitas para encontrar substitutos para o brometo de metila e alternativas à fosfina. O sulfeto de carbonila, o formiato de etila e o fluoreto de sulfurila mostram alguma promessa no nível da pesquisa (NAYAK, DAGLISH; PHILLIPS, 2015; ANNIS, 2016).

Para superar esse problema, inseticidas naturais baseados em produtos derivados de plantas têm sido sugeridos como abordagens adequadas para o manejo de insetos pragas (JUMBO et al., 2014).

Ishaaya et al., (2007) afirmam que um inseticida ideal deve ser um composto ou mistura que é altamente tóxico para atacar insetos-praga, mas de baixa toxicidade para organismos não-alvo, bem como de baixo impacto ambiental e resistência lentamente desenvolvida.

2.4 Óleos essenciais: composição, potencial inseticida e mecanismos de ação

Produtos naturais, à base de plantas, são conhecidos por suas propriedades, como baixa formação de resíduos, alta seletividade e dificuldade para gerar resistência cruzada (DIPPEL et al., 2014).

Óleos essenciais são misturas complexas de compostos voláteis produzidos por organismos vivos e isolados por meios físicos (prensagem e destilação) de uma planta inteira ou parte da planta de origem taxonômica conhecida (FRANZ; NOVAK, 2009). Estes são relatados mostrando efeitos letais e subletais em um amplo espectro de organismos, e ainda mais importante, as misturas podem retardar a formação de resistência (ISMAN, 2000).

Os constituintes dos óleos essenciais pertencem principalmente a dois grupos fitoquímicos: terpenóides (monoterpenos e sesquiterpenos de baixo peso molecular, são os mais abundantes) e em menor quantidade fenilpropanóides. Os monoterpenos presentes nos óleos essenciais podem conter terpenos que são hidrocarbonetos (α -pineno), álcoois (mentol, geraniol, linalol, terpinen-4-ol, *p*-mentano-3,8-diol), aldeídos (cuminaldeído), cetonas (tujona), éteres (1,8-cineole) e lactonas (nepetalactona) (REGNAULTL-ROGER; VICENTE; ARNASON, 2012).

Segundo Viegas Júnior (2003), os óleos essenciais e seus principais compostos são considerados substâncias “geralmente reconhecidas como seguras” e podem ser uma alternativa eficaz para o controle de insetos, pois são moléculas que têm menos impacto na saúde humana e são ambientalmente corretas.

Diversas famílias botânicas têm o seu potencial inseticida descrito para pragas que acometem os grãos armazenados: Myrtaceae (LIAO et al., 2016; NOURI-GANBALANI, EBADOLLAHI; NOURI, 2016), Lamiaceae (POLATOGLU et al., 2017; RAJKUMAR et al., 2019), Rutaceae (CAO et al., 2018; CAO et al., 2019), Cyperaceae (JANAKI et al., 2018), Apiaceae (POLATOGLU et al., 2016); Ericaceae (KIRAN; PRAKASH, 2015; LIANG et al., 2016) dentre outras.

A eficácia dos óleos essenciais e seus constituintes varia de acordo com o perfil fitoquímico do extrato da planta e do alvo entomológico (REGNAULT-ROGER; VICENTE; ARNASON, 2012) e a sua atividade inseticida é atribuída principalmente aos seus constituintes complexos e novos modos de ação contra insetos (PROPHIRO et al., 2012).

Os óleos essenciais atuam desorganizando as funções neurofisiológicas do inseto, assumindo papel neurotóxico: têm como alvo os receptores do ácido γ -aminobutírico (neurotransmissor GABA) (PRIESTLEY et al., 2003) e o sistema octopaminérgico (ENAN, 2001, 2005), onde o hormônio octopamina possui um amplo espectro de papéis biológicos em insetos, atuando como um neurotransmissor, neuro-hormônio e neuromodulador circulante (EVANS, 1980; ORCHARD et al., 1981; ORCHARD, 1982; HOLLINGWORTH et al., 1984) e inibem a acetilcolinesterase (LÓPEZ; PASCUAL-VILLALOBOS, 2010), que é responsável pela regulação da transmissão do impulso nervoso através das sinapses colinérgicas de células nervosas para células nervosas ou musculares (SIEGFRIED; SCOTT, 1992).

É importante destacar que por serem uma soma de compostos, quaisquer efeitos dos óleos essenciais devem ser um conjunto de efeitos de todos os compostos e suas interações (ZHI et al., 2018), no entanto, 2 ou 3 compostos podem representar até 85% da mistura total, ganhando mais evidência, em comparação com os menores (MIGUEL, 2010).

2.5 Plantas estudadas: *Gaultheria procumbens*, *Juniperus communis*, *Protium pallidum* e *Protium heptaphyllum*

Gaultheria procumbens (L.) (Ericaceae), vulgarmente conhecida como wintergreen, é um arbusto perene da família Ericaceae nativa das partes orientais da América do Norte. O óleo desta espécie de planta tem um agradável sabor de “gaultéria”. Seu óleo é usado para dar sabor a gomas de mascar (chiclete de teaberry), doces, pasta de dente e enxaguantes bucais (FACCIOLA, 1998).

Análises cromatográficas realizadas por Kiran e Prakash (2015) e Nikolic et al. (2013) apontaram o salicilato de metila como composto majoritário no óleo de Wintergreen, sendo este responsável por mais de 95% de sua composição.

Sua aplicação como agente antimicrobiano, antileishmanial, antioxidante e antidiabético têm sido bem explorados na literatura (SCHNITZLER; NOLAN; LABBE, 1996; MCCUNE; JOHNS, 2002; NIKOLIC et al., 2013). O óleo essencial de *G. procumbens* tem sido relatado por suas atividades inseticidas em *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae) e *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera, Bostrichidae) (ISMAN, 2002; YAZDGERDIAN; AKHTAR; ISMAN, 2015; KIRAN; PRAKASH, 2015), porém não há relatos de sua atividade inseticida em *S. zeamais*, *C. maculatus* e *Z. subfasciatus*.

Juniperus communis (L.) (Cupressaceae), comumente chamado de zimbro comum, é uma conífera dioica, agulhada e perene que cresce em uma variedade de formas em áreas frias do Hemisfério Norte, além de uma população isolada crescendo nas Montanhas Atlas da África, sendo esta a conífera mais difundida que cresce no mundo hoje (MISSOURI BOTANICAL GARDEM, 2019).

As bagas de cone de *J. communis* (conhecidas como Juniperi pseudofrutos) são ricas em óleos essenciais, com aroma característico de coníferas com sabor amargo, estes são utilizados desde a antiguidade na medicina folclórica para curar cistite digestiva, na terapia da artrite crônica e outras indicações (MAJEWSKA et al., 2017).

A composição do óleo essencial varia de acordo com a origem das bagas, mas consiste principalmente em hidrocarbonetos monoterpenos (cerca de 60% do óleo essencial). O constituinte principal do óleo essencial da baga verde de *J. communis* de países europeus é α -pineno, podendo variar de 35% a 59% na composição (DAMJANOWIĆ et al., 2003; ANGIONI et al., 2003, HÖFERL et al., 2014; STOILOVA et al., 2014; BUTKIENĖ; NIVINSKIENĖ; MOCKUTĖ, 2006; CHATZOPOULOU; KATSIOTIS, 1993; KOUKOS; PAPADOPOULOU, 1997; HASHEMI; ROSTAEFAR, 2014).

Muitos constituintes presentes no óleo essencial de zimbro são responsáveis por suas propriedades biológicas, a exemplo de ações sobre doenças em humanos. Bais et al. (2014) relataram algumas delas em uma revisão: diurética, com propriedades anti-inflamatórias, atividade antifúngica, atividade analgésica, atividade hepatoprotetora, atividade antidiabética, atividade anti-hiperlipidêmica, atividade antimicrobiana, atividade antioxidante, atividade anti-hipercolesterolêmica, atividade antibacteriana, atividade

antioxidante, atividade hipercolesterolêmica, atividade anticataleptica e atividade neuroproterora da doença de Parkinson.

A atividade inseticida do óleo essencial de frutos de *J. communis* subsp. *Hemisphaerica* tem sido relatada em *R. dominica* e *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae), cujo efeito por fumigação em diferentes tempos de exposição (HASHEMI; ROSTAEFAR, 2014), porém não há relatos de sua atividade inseticida em *S. zeamais* e *Z. subfasciatus*.

Protium é o gênero com cerca de 146 espécies, ocorrendo predominantemente na Amazônia Legal e apesar desse número de espécies, poucas foram estudadas sob o ponto de vista químico (MELO et al., 2007). Pertence à família Burseraceae, difundida nas regiões tropicais e subtropicais, inclui espécies de árvores caracterizadas por alto teor de resina nos troncos e consiste em aproximadamente 750 espécies distribuídas em 19 gêneros (CORREIA, 1984; DALY et al., 2012).

Sabe-se que as espécies de *Protium* produzem metabolitos secundários com diferentes tipos de terpenos com mais de 100 mono e sesquiterpenos diferentes já caracterizados (SIANI et al., 2004; SILVA et al., 2009; MARQUES et al., 2010). Seu óleo é utilizado na fabricação de produtos da indústria cosmética de perfumes, sabonetes e aromatizantes, e estes são comercializados em vários países (FERRAZ; COSTA, 2004).

Segundo Revilla (2002) a espécie *Protium heptaphyllum* (Aubl.) Marchand (Burseraceae) é usada popularmente para indicações terapêuticas em casos de dores de cabeça, esquistossomose, enfermidades venéreas, contra úlcera gangrenosa, inflamações em geral, hérnia, além de ser sonífera e antidiarreico. Essa ainda é usada como repelente de moscas, mosquitos e “carapanãs” (BANDEIRAS, 2003; REVILLA, 2002). O óleo essencial demonstrou ter efeito anti-alimentar sobre larvas de *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae) (lagarta-do-cartucho do milho) (SILVA et al., 2002). Rodrigues (2018) avaliou a toxicidade do óleo proveniente da resina de *P. heptaphyllum* por contato e fumigação, além da repelência sobre *C. maculatus* e obteve resultados satisfatórios, concluindo que sua utilização representa uma alternativa promissora no controle desta praga de grãos armazenados.

Porém não há relatos do efeito inseticida das espécies *P. heptaphyllum* sobre *S. zeamais* e *Z. subfasciatus* e nem dos seus efeitos subletais sobre *C. maculatus*. O mesmo acontece para a espécie *P. pallidum*, para a qual até o momento não foram encontrados relatos de sua atividade inseticida em *S. zeamais*, *C. maculatus* e *Z. subfasciatus*, sendo esta espécie pouco estudada quando comparada com a *P. heptaphyllum*.

2.6 Efeito de óleos essenciais sobre sementes

Segundo Evert et al. (2014) alelopatia (do grego: *allelon*, de um outro + *pathos*, sofrimento) é a inibição de uma espécie vegetal por substâncias produzidas por outra planta, como por exemplo, na germinação de outras sementes ao redor delas, prevenindo o crescimento de competidores.

Óleos essenciais usados com finalidades inseticidas, fungicidas ou herbicidas podem causar efeitos secundários em sementes, pois estes têm sido relatados como causadores de diminuição ou do aumento de vigor a depender do estudo (DOMENE et al., 2016; HILLEN et al., 2012; ROSSI et al., 2012; ALVES et al., 2014).

O efeito de óleos essenciais sobre sementes pode ser benéfico, neutro ou negativo, devem considerar vários fatores, como espécies das sementes, seus lotes e óleos essencial em questão. O óleo de *Corymbia citriodora* (Hook.) K.D. Hill & L.A.S. Johnson (Myrtaceae) reduziu a germinação do lote Bernadinho, mas não afetou o lote Avaré de sementes de milho (DOMENE et al., 2016). Enquanto os óleos de *Cymbopogon martinii* L. (Poaceae) e *Eremanthuse erythropappus* (DC.) MacLeisch (Asteraceae) aprimoraram a germinação das sementes de milho expostas à fumigação com os voláteis desses óleos, enquanto os voláteis do óleo *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiaceae) afetam negativamente (HILLEN et al., 2012). Os óleos essenciais de *Lavandula hybrida* Briq. (Lamiaceae), *Citrus bergamia* Risso (Rutaceae), *Laurus nobilis* L. (Lauraceae) possuem efeitos inibitórios sobre a germinação de sementes de milho e trigo quando a dose na solução de tratamento era de 50% (ROSSI et al., 2012).

O efeito dos óleos essenciais sobre a germinação das sementes parece ser dependente do óleo essencial utilizado e da concentração empregada, podendo este influenciar apenas em um ou mais caracteres avaliados, como

percentual de germinação e comprimento de plântula (DOMENE et al., 2016). Alves et al., (2004) ao estudarem o efeito dos óleos essenciais de canela [*Cinnamomum zeylanicum* Blume (Lauraceae)], alecrim-pimenta [*Lippia sidoides* Cham. (Verbenaceae)], capim-citronela [*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf (Poaceae)], alfavaca-cravo [*Ocimum gratissimum* L. (Lamiaceae)] e jaborandi [*Policarpus microphyllus* Stapf ex Holm. (Rutaceae)] sobre sementes de alface observaram que o efeito depende da concentração, reduzindo, inibindo ou estimulando crescimento de plântulas.

Deste modo, é de extrema relevância estudar o efeito dos óleos essenciais sobre as pragas e sobre as sementes, uma vez que a toxicidade de cada óleo varia de acordo com a praga em estudo. Porém, à luz da literatura não há relatos sobre os efeitos de α -pineno e dos óleos essenciais de *G. procumbens* e *J. communis* sobre a germinação de sementes de milho e feijão-caupi.

3 REFERÊNCIAS

- ABOUSEADAA, H. H; OSMAN, G. H; RAMADAN, A. M; HASSANEIN, S. E; ABDELSATTAR, M. T; MORSY, Y. B. Development of transgenic wheat (*Triticum aestivum* L.) expressing avidin gene conferring resistance to stored product insects. **BMC plant biology**, v. 15, n. 1, p. 183, 2015.
- AHMADY, A; RAHMATZAI, N; HAZIM, Z; MOUSA, M. A; ZAITOUN, A. A. Effect of temperature on the biology and morphometric measurement of cowpea beetle, *Callosobruchus maculatus* fabr.(Coleoptera: Chrysomelidae) in cowpea seed. **International Journal of Entomology Research**, v.1, n° 1, p. 05-09, 2016.
- ALLANTOSPERMUM, A. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 181, n. 1, p. 1-20, 2016.
- ALVES, M.C.S.; MEDEIROS FILHO, S.M.; INNECCO, R.; TORRES, S.B. Alelopatia de extratos voláteis na germinação de sementes e no comprimento da raiz de alface. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.39, n.11, p.1083-1086, 2004.
- ANGIONI, A; BARRA, A; RUSSO, M. T; CORONEO, V; DESSÍ, S; CABRAS, P. Chemical composition of the essential oils of *Juniperus* from ripe and unripe berries and leaves and their antimicrobial activity. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 51, n. 10, p. 3073-3078, 2003.
- ANNIS, P. C. **STORED GRAIN | Invertebrate Pests**. Reference Module in Food Science, Elsevier, 2016.
- ASRAR, M; ASHRAF, N; GOGI, M. D; HUSSAIN, S. M; ZIA, K; RASOOL, B. Toxicity and repellence of plant oils against *Tribolium castaneum* (herbst), *Rhyzopertha dominica* (f.) and *Trogoderma granarium* (e.) **Pakistan entomologista**, v. 38, n° 1, pp. 55-63, 2016.
- ATHANASSIOU, C. G; HASAN, M. M; PHILLIPS, T. W; AIKINS, M. J; THRONE, J. E. Efficacy of methyl bromide for control of different life stages of stored-product psocids. **Journal of economic entomology**, v. 108, n. 3, p. 1422-1428, 2015.
- BAIS, S; GILL, N. S; RANA, N; SHANDIL, S. A phytopharmacological review on a medicinal plant: *Juniperus communis*. **International scholarly research notices**, v. 2014, 2014.
- BALDIN, E. L. L; LARA, F. M. Resistance of stored bean varieties to *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera: Bruchidae). **Insect science**, v. 15, n. 4, p. 317-326, 2008.
- BANDEIRA, P.N. **Contribuição ao estudo químico de plantas *Protium Heptaphyllum* March**. Tese de doutorado. Universidade Federal do Ceará. Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Fortaleza, 2003.

- BECK, C. W.; BLUMER, L. S. A handbook on bean beetles, *Callosobruchus maculatus*. National Science Foundation. URL: <http://www.beanbeetles.org/handbook.pdf>, 2014.
- BROUGHTON, W. J; HERNANDEZ, G; BLAIR, M; BEEBE, S; GEPTS, P; VANDERLEYDEN, J. Beans (*Phaseolus* spp.)—model food legumes. **Plant and soil**, v. 252, n. 1, p. 55-128, 2003.
- BUTKIENĖ, R; NIVINSKIENĖ, O; MOCKUTĖ, D. Differences in the essential oils of the leaves (needles), unripe and ripe berries of *Juniperus communis* L. growing wild in Vilnius district (Lithuania). **Journal of Essential Oil Research**, v. 18, n. 5, p. 489-494, 2006.
- CAO, J. Q; GUO, S. S; WANG, Y; PANG, X; GENG, Z. F; DU, S. S. Toxicity and repellency of essential oil from *Evodia lenticellata* Huang fruits and its major monoterpenes against three stored-product insects. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 160, p. 342-348, 2018.
- CAO, J. Q; PANG, X; GUO, S. S; WANG, Y; GENG, Z. F; SANG, Y. L; DU, S. S. Pinene-rich essential oils from *Haplophyllum dauricum* (L.) G. Don display anti-insect activity on two stored-product insects. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 140, p. 1-8, 2019.
- CARDONA, C; KORNEGAY, J; POSSO, C.E; MORALES, F; RAMIREZ, H. Comparative value of four arcelin variants in the development of dry bean lines resistant to the Mexican bean weevil. **Entomologia experimentalis et applicata**, v. 56, n. 2, p. 197-206, 1990.
- CARVALHO, R. P. L; ROSSETTO, C. J. Biologia de *Zabrotes subfasciatus* (Boheman) (Coleoptera, Bruchidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v.13, p. 105-117, 1968.
- CHATZOPOULOU, P. S.; KATSIOTIS, S. T. Study of the essential oil from *Juniperus communis* "Berries"(Cones) growing wild in Greece. **Planta medica**, v. 59, n. 06, p. 554-556, 1993.
- CORREIA, M. P. **Dicionário das Plantas Úteis**. v. 4. Mossoró: ESAM, 1984.
- CRONQUIST, A. **Devolution and classification of flowering plants**. New York: Botanical Garden, 1988. 555 p.
- DALY, D. C. New taxa and combinations in *Protium* Burm. f. studies in neotropical Burseraceae VI. **Brittonia**, v. 44, n. 3, p. 280-299, 1992.
- DAMJANOVIC, B. M; SKALA, D; PETROVIC-DJAKOV, D; BARAS, J. A comparison between the oil, hexane extract and supercritical carbon dioxide extract of *Juniperus communis* L. **Journal of Essential Oil Research**, v. 15, n. 2, p. 90-92, 2003.
- DEBOUCK, D.G. Diversity in *Phaseolus* species in relation to the common bean. In: SINGH, S.P. **Common bean improvement in the twenty-first century**. Dordrecht: Kluwer, p. 25-52, 1999.

- DEBOUCK, D.G. Phaseolus germplasm exploration. In: GEPTS, P. (Ed.). **Genetic resources of Phaseolus beans**. Dordrecht: Kluwer, 1986. p. 3-29.
- DEBOUCK, D.G. Systematics and morphology. In: SCHOONHOVEN, A. & VOYSEST, V.O. **Common beans: research for crop improvement**. Cali: CIAT, p. 55- 118, 1991.
- DEVI, M. B; DEVI, N. V. Biology and morphometric measurement of cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus* fabr.(Coleoptera: Chrysomelidae) in green gram. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 2, p. 74-76, 2014.
- DIAS, C. de C. **Paiuhy: das origens à nova capital**. Teresina: Nova Expressão, 2008. p. 324-333.
- DIPPEL, S; OBERHOFER, G; KAHNT, J; GERISCHER, L; OPITZ, L; SCHACHTNER, J. Tissue-specific transcriptomics, chromosomal localization, and phylogeny of chemosensory and odorant binding proteins from the red flour beetle *Tribolium castaneum* reveal subgroup specificities for olfaction or more general functions. **BMC genomics**, v. 15, n. 1, p. 1141, 2014.
- DOEBLEY, J. Molecular evidence and the evolution of maize. **Economic Botany**, v. 44, n. 3, p. 6-27, 1990.
- DOMENE, M. P; GLÓRIA, E. M. D; BIAGI, J. D., BENEDETTI, B. C; MARTINS, L. Efeito do tratamento com óleos essenciais sobre a qualidade fisiológica e sanitária das sementes de milho (*Zea mays*). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 83, 2016.
- ENAN, E. Insecticidal activity of essential oils: octopaminergic sites of action. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 130, n. 3, p. 325-337, 2001.
- ENAN, E. Molecular and pharmacological analysis of an octopamine receptor from American cockroach and fruit fly in response to plant essential oils. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology: Published in Collaboration with the Entomological Society of America**, v. 59, n. 3, p. 161-171, 2005.
- EVANS, P. D. Biogenic amines in the insect nervous system. In: **Advances in insect physiology**. Academic Press, 1980. p. 317-473.
- EVERT, RAYF; EICHHORN, S. E.; RAVEN, P. H. **Biologia vegetal**, 8ª. Ed., Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2014.
- FARNHAM, D.E; BENSON, G.O; PEARCE, R.B. (2003). Corn perspective and culture. Chapter 1. In: PJ White, LA Johnson, eds. **Corn: chemistry and technology**, Edition 2nd. American Association of Cereal Chemists, Inc. St. Paul, Minnesota, USA. pp 1-33, 2003.
- FERRAZ, I.D.K; COSTA, M.M. Morphology and germination of breu-branco a dormant non-orthodox tree seed from the Amazon. **International Seed Testing**

Association: 1, ISBN: Inglês, Meio digital. **Seed Symposium Abstracts**; p.22-32, 2004.

FERREIRA, A.M. Subsídios para o estudo de uma praga do feijão (*Zabrotes subfasciatus* Boh. - Coleoptera, Bruchidae) dos climas tropicais. **Garcia de Orta**, v.8, n.3, p.559-581, 1960.

FIESP. Safra Mundial de Milho 2020/21 - 2º Levantamento do USDA. Disponível em: <https://www.fiesp.com.br/arquivo-download/?id=265889>, acessado em 01 de julho de 2020.

FRANZ, C; NOVAK, J. Sources of essential oils. In: **Handbook of Essential Oils**. CRC Press, 2009. p. 39-82.

FREIRE FILHO, F. R. Feijão-caupi no Brasil: produção, melhoramento genético, avanços e desafios. **Embrapa Meio-Norte-Livro científico (ALICE)**, 2011.

FREIRE FILHO, F. R. **Origem, evolução e domesticação do caupi**. In: ARAÚJO, J. P. P.; WATT, E. E. (Org.). O caupi no Brasil. Brasília, DF: IITA: EMBRAPA, 1988. p. 26-46.

GALLO, D.; NAKANO, O. SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BAPTISTA, G. C. de; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, C. Entomologia agrícola. Piracicaba: FEALQ, 2002. p. 714-769.

GBAYE, O. A.; OYENIYI, E. A.; OJO, O. B. Resistance of *Callosobruchus maculatus* (Fabricius)(Coleoptera: Bruchidae) populations in Nigeria to dichlorvos. **Jordan Journal of Biological Sciences**, v. 147, n. 3384, p. 1-6, 2016.

GEPTS, P.; DEBOUCK, D.G. Origin, domestication, and evolution of the common bean (*Phaseolus vulgaris*). In: SCHOONHOVEN, A. van; VOYSEST, O. **Common beans: research for crop improvement**. Cali: CIAT, p.7-53. 1991.

HADDI, K; MENDONÇA, L. P; SANTOS, M. F; GUEDES, R. N. C; OLIVEIRA, E. E. Metabolic and behavioral mechanisms of indoxacarb resistance in *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 108, n. 1, p. 362-369, 2015.

HASHEMI, S. M; ROSTAEFAR, A. Insecticidal Activity of Essential Oil from *Juniperus communis* L. subsp. hemisphaerica (Presl) Nyman against Two Stored Product Beetles. **Ecologia Balkanica**, v. 6, n. 1, 2014.

HERRERA, J. M; ZUNINO, M. P; DAMBOLENA, J. S; PIZZOLITTO, R. P; GAÑAN, N. A; LUCINI, E. I; ZYGADLO, J. A. Terpene ketones as natural insecticides against *Sitophilus zeamais*. **Industrial Crops and Products**, v. 70, p. 435-442, 2015.

HILLEN, T.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; MESQUINI, R.M.; CRUZ, M.E.S.; STANGARLIN, J.R.; NOKAZI, M. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais

no controle de fitopatógenos fúngicos *in vitro* e no tratamento de sementes. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.14, n.3, p.439-445, 2012.

HÖFERL, M; STOILOVA, I; SCHMIDT, E; WANNER, J; JIROVETZ, L; TRIFONOVA, D; KRASTANOV, A. Chemical composition and antioxidant properties of Juniper berry (*Juniperus communis* L.) essential oil. Action of the essential oil on the antioxidant protection of *Saccharomyces cerevisiae* model organism. **Antioxidants**, v. 3, n. 1, p. 81-98, 2014.

HOLLINGWORTH, R. M; JOHNSTONE, E.M; WRIGHT, N. MAGE, P. S; KOHN, G. K.; MENN., J.J. Pesticide Synthesis through Rational Approaches, ACS Symposium Series No. 255, American Chemical Society, Washington, DC (1984), pp. 103-125.

HOWE, R.W.; CURRIE, J.E. Some laboratory observations on the rates of development, mortality and oviposition of several species of bruchidae breeding in stored pulses. **Bulletin of Entomological Research**, v.55, n.3, p. 437-477, 1964.

IBGE. SIDRA – Levantamento Sistemico da Produção Agrícola. Junho/2018. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/188#resultado> acessado em 23 de agosto de 2018.

ISHAAYA, I; NAUEN, R; HOROWITZ, A. R. **Insecticides design using advanced technologies**. Berlin Heidelberg: Springer, 2007.

ISMAN, M. B. Plant essential oils for pest and disease management. **Crop protection**, v. 19, n. 8-10, p. 603-608, 2000.

ISMAN, Murray. Insect antifeedants. **Pesticide outlook**, v. 13, n. 4, p. 152-157, 2002.

JAGADEESAN, R; NAYAK, M. K; PAVIC, H; CHANDRA, K; COLLINS, P. J. Susceptibility to sulfuryl fluoride and lack of cross-resistance to phosphine in developmental stages of the red flour beetle, *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). **Pest management science**, v. 71, n. 10, p. 1379-1386, 2015.

JANAKI, S; ZANDI-SOHANI, N; RAMEZANI, L; SZUMNY, A. Chemical composition and insecticidal efficacy of *Cyperus rotundus* essential oil against three stored product pests. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 133, p. 93-98, 2018.

JUMBO, L. O. V; FARONI, L. R; OLIVEIRA, E. E; PIMENTEL, M. A; SILVA, G. N. Potential use of clove and cinnamon essential oils to control the bean weevil, *Acanthoscelides obtectus* Say, in small storage units. **Industrial Crops and Products**, v. 56, p. 27-34, 2014.

KATO, L. S. FERNANDES, E. A. D. N; BACCHI, M. A; SARRIÉS, G> A; REYES, A. E. L. Elemental characterization of Brazilian beans using neutron activation analysis. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 306, n. 3, p. 701-706, 2015.

- KEDIA, A; PRAKASH, B; MISHRA, P. K; SINGH, P; DUBEY, N. K. Botanicals as eco-friendly biorational alternatives of synthetic pesticides against *Callosobruchus* spp.(Coleoptera: Bruchidae)—a review. **Journal of food science and technology**, v. 52, n. 3, p. 1239-1257, 2015.
- KIRAN, S.; PRAKASH, B. Assessment of Toxicity, Antifeedant Activity, and Biochemical Responses in Stored-Grain Insects Exposed to Lethal and Sublethal Doses of *Gaultheria procumbens* L. Essential Oil. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 63, n. 48, p. 10518-10524, 2015.
- KOGBE, J. O. S.; ADEDIRAN, J. A. Influence of nitrogen, phosphorus and potassium application on the yield of maize in the savanna zone of Nigeria. **African journal of biotechnology**, v. 2, n. 10, p. 345-349, 2003.
- KOUKOS, P. K.; PAPADOPOULOU, K. I. Essential oil of *Juniperus communis* L. grown in northern Greece: variation of fruit oil yield and composition. **Journal of Essential Oil Research**, v. 9, n. 1, p. 35-39, 1997.
- LEÓN, J. **Botánica de los cultivos tropicales**. 3a. ed. Rev. y aum. – San José, Costa Rica, IICA, 2000, pp. 522.
- LIANG, J. Y; YOU, C. X; GUO, S. S; ZHANG, W. J; LI, Y; GENG, Z. F; ZHANG, J. Chemical constituents of the essential oil extracted from *Rhododendron thymifolium* and their insecticidal activities against *Liposcelis bostrychophila* or *Tribolium castaneum*. **Industrial Crops and Products**, v. 79, p. 267-273, 2016.
- LIAO, M; XIAO, J. J; ZHOU, L. J; LIU, Y; WU, X. W; HUA, R. M; Insecticidal activity of *Melaleuca alternifolia* essential oil and RNA-Seq analysis of *Sitophilus zeamais* transcriptome in response to oil fumigation. **PloS one**, v. 11, n. 12, 2016.
- LOECK, A. E. **Pragas de Produtos Armazenados**. Pelotas: EGUFPPEL, 2002. 113 p.
- LOPES, L. M.; SOUSA, A. H; SANTOS, V. B; SILVA, G. N. ABREU, A. O. Development rates of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae) in landrace cowpea varieties occurring in southwestern Amazonia. **Journal of Stored Products Research**, v. 76, p. 111-115, 2018.
- LÓPEZ, M. D.; PASCUAL-VILLALOBOS, M. J. Mode of inhibition of acetylcholinesterase by monoterpenoids and implications for pest control. **Industrial Crops and Products**, v. 31, n. 2, p. 284-288, 2010.
- LORINI, I.; SCHNEIDER, S. **Pragas de grãos armazenados: resultados de pesquisa**. Passo Fundo: EMBRAPA–CNPT, 1994. 47 p.
- MADRID, F. J.; WHITE, N. D. G.; LOSCHIAVO, S. R. Insects in stored cereals, and their association with farming practices in southern Manitoba. **The Canadian Entomologist**, v. 122, n. 3, p. 515-523, 1990.

- MAJEWSKA, E; KOZŁOWSKA, M; KOWALSKA, D; GRUCZYŃSKA, E. Characterization of the essential oil from cone-berries of *Juniperus communis* L.(Cupressaceae). **Herba Polonica**, v. 63, n. 3, p. 48-55, 2017.
- MARÉCHAL, R.; MASCHERPA, J. M.; STAINIER, F. **Étude taxonomique d'un groupe complexe d'espèces de genres *Phaseolus* et *Vigna* (Papilionaceae) sur la base de données morphologiques et polliniques, traitées par l'analyse informatique.** Boissiera, Geneve, v. 28, p. 1-273, 1978.
- MARQUES, D. D; SARTORI, R. A; LEMOS, T. L. G; MACHADO, L. L; SOUZA, J. S. N. D; MONTE, F. J. Q. Chemical composition of the essential oils from two subspecies of *Protium heptaphyllum*. **Acta Amazonica**, v. 40, n. 1, p. 227-230, 2010.
- MCCUNE, L. M.; JOHNS, T. Antioxidant activity in medicinal plants associated with the symptoms of diabetes mellitus used by the indigenous peoples of the North American boreal forest. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 82, n. 2-3, p. 197-205, 2002.
- MEDEIROS, W. R; SILVA, J. D. C; SILVA, P. R. R. GIRÃO FILHO, J. E; PADUA, L. E. M; FRANÇA, S. M. Resistência de genótipos de feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] ao Ataque do Caruncho *Callosobruchus maculatus* (Fabr.)(Coleoptera: Chrysomelidae). **EntomoBrasilis**, v. 10, n. 1, p. 19-25, 2017.
- MELCHIOR, H.; UNTER MITARBEIT VON BUCHHEIM, G.; ECKARDT, T.; HAMANN, U.; POTZTAL, E.; SCHOLZ, H.; SCHULTZE-MOTEL, W.; SCHULZEMENZ, G.K.; WAGENITZ, G.A. **Engler's Syllabus der Pflanzenfamilien, mit besonderer Berücksichtigung der Nutzpflanzen nebst einer Übersicht über die Florenreiche und Florengebiete der Erde**, ed. 12. Gebrueder Borntraeger, BerlinNikolassee, pp. 341–345. 1964.
- MELO, M. F. F; MACEDO, S. T; DALY, D. C. Morfologia de frutos, sementes e plântulas de nove espécies de *Protium Burm. f.* (Burseraceae) da Amazônia Central, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 21, n. 3, p. 503-520, 2007.
- MIGUEL, M. G. Antioxidant activity of medicinal and aromatic plants. A review. **Flavor and Fragrance Journal**, v. 25, n. 5, p. 291-312, 2010.
- MISSOURI BOTANICAL GARDEM. Disponível na URL: <https://www.missouribotanicalgarden.org/PlantFinder/PlantFinderDetails.aspx?taxonid=249863&isprofile=0&>, acessado em 26/09/2019.
- NAYAK, M. K; DAGLISH, G. J.; PHILLIPS, T. W. Managing resistance to chemical treatments in stored products pests. **Stewart Postharvest Rev**, v. 11, n. 1, p. 1-6, 2015.
- NG, N. Q; MARECHAL, R. Cowpea taxonomy, origin and germplasm. **Cowpea research, production and utilization**, p. 11-21, 1985.
- NIKOLIĆ, M; MARKOVIĆ, T; MOJOVIĆ, M; PEJIN, B; SAVIĆ, A; PERIĆ, T; SOKOVIĆ, M. Chemical composition and biological activity of *Gaultheria*

procumbens L. essential oil. **Industrial crops and products**, v. 49, p. 561-567, 2013.

NOURI-GANBALANI, G; EBADOLLAHI, A; NOURI, A. Chemical composition of the essential oil of *Eucalyptus procera* dehn. and its insecticidal effects against two stored product insects. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 19, n. 5, p. 1234-1242, 2016.

NSA, I. Y; KAREEM, K. T. Additive interactions of unrelated viruses in mixed infections of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp). **Frontiers in plant science**, v. 6, p. 812, 2015.

OERKE, E.C. Crop losses to pests. **The Journal of Agricultural Science**, v. 144, n. 1, p. 31-43, 2006.

OJO, J. A; OMOLOYE, A. A. Development and life history of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) on cereal crops. **Advances in Agriculture**, v. 2016, 2016.

OLIVEIRA, C. M; AUAD, A. M; MENDES, S. M; FRIZZAS, M. R. Crop losses and the economic impact of insect pests on Brazilian agriculture. **Crop Protection**, v. 56, p. 50-54, 2014.

OLIVEIRA, F. J; SANTOS, J. H. R; ALVES, J. F; PAIVA, J. B; ASSUNÇÃO, M. V. Perdas de peso em sementes de cultivares de caupi, atacadas pelo caruncho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 19, n. 1, p. 47-52, 1984.

ORCHARD, I. Octopamine in insects: neurotransmitter, neurohormone, and neuromodulator. **Canadian Journal of Zoology**, v. 60, n. 4, p. 659-669, 1982.

ORCHARD, I.; LOUGHTON, B. G.; WEBB, R. A. Octopamine and short-term hyperlipaemia in the locust. **General and comparative endocrinology**, v. 45, n. 2, p. 175-180, 1981.

OSMAN, G; ASSAEEDI, A; OSMAN, Y; EL-GHAREEB, D; ALREEDY, R. Purification and characterization of *Bacillus thuringiensis* vegetative insecticidal toxin protein (s). **Letters in applied microbiology**, v. 57, n. 4, p. 310-316, 2013.

PADULOSI, S.; NG, N. Q. **Origin taxonomy, and morphology of *Vigna unguiculata* (L.) Walp.** In: SINGH, B. B.; MOHAN RAJ, D. R.; DASHIELL, K. E.; JACKAI, L. E. N. (Ed.). *Advances in cowpea research*. Ibadan: International Institute of Tropical Agriculture; Tsukuba: Japan International Research Center for Agricultural Sciences, 1997. p. 1-12. Selected works from Second World Cowpea Research Conference, 1995, Accra, Ghana.

PALIWAL, R.L. Origin, Evolution and Spread of Maize. In: RL Paliwal, G Granados, HR Lafitte, AD Vlolc, eds. **Tropical Maize: Improvement and Production**. Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome. pp 5-11. 2000.

- PARVATHI, K. **Studies on seed borne fungi associated with maize in central tamil nadu india.** Manonmaniam Sundaranar University. Tese. ix, 189p. 2015.
- PHILLIPS, T. W.; THRONE, J. E. Biorational approaches to managing stored-product insects. **Annual Review of Entomology**. v. 55, p. 375–397, 2010.
- PIMENTEL, D; MCLAUGHLIN, L; ZEPP, A; LAKITAN, B; KRAUS, T; KLEINMAN, P. Environmental and economic effects of reducing pesticide use. **BioScience**, v. 41, n. 6, p. 402-409, 1991.
- PIMENTEL, D; PATZEK, T. W. Ethanol production using corn, switchgrass, and wood; biodiesel production using soybean and sunflower. **Natural resources research**, v. 14, n. 1, p. 65-76, 2005.
- PIPERNO, D. R; FLANNERY, K. V. “The Earliest Archaeological Maize (*Zea Mays* L.) from Highland Mexico: New Accelerator Mass Spectrometry Dates and Their Implications.” **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 98.4: 2101–2103. 2001.
- POLATOĞLU, K; KARAKOÇ, Ö. C; YÜCEL, Y. Y; GÜCEL, S; DEMIRCI, B; BAŞER, K. H. C; DEMIRCI, F. Insecticidal activity of edible *Crithmum maritimum* L. essential oil against Coleopteran and Lepidopteran insects. **Industrial Crops and Products**, v. 89, p. 383-389, 2016.
- POLATOĞLU, K; KARAKOÇ, Ö. C; YÜCEL, Y. Y; GÜCEL, S; DEMIRCI, B; DEMIRCI, F; BAŞER, K. H. C. Insecticidal activity of *Salvia veneris* Hedge. Essential oil against coleopteran stored product insects and *Spodoptera exigua* (Lepidoptera). **Industrial Crops and Products**, v. 97, p. 93-100, 2017.
- PRIESTLEY, C. M; WILLIAMSON, E. M; WAFFORD, K. A; SATTELLE, D. B. Thymol, a constituent of thyme essential oil, is a positive allosteric modulator of human GABAA receptors and a homo-oligomeric GABA receptor from *Drosophila melanogaster*. **British journal of pharmacology**, v. 140, n. 8, p. 1363-1372, 2003.
- PROPHIRO, J. S; SILVA, M. A. N; KANIS, L. A; SILVA, B. M; DUQUE-LUNA, J. E; SILVA, O. S. Evaluation of time toxicity, residual effect, and growth-inhibiting property of *Carapa guianensis* and *Copaifera* sp. in *Aedes aegypti*. **Parasitology research**, v. 110, n. 2, p. 713-719, 2012.
- RAJASHEKAR, Y.; RAVINDRA, K. V.; BAKTHAVATSALAM, N. Leaves of *Lantana camara* Linn.(Verbenaceae) as a potential insecticide for the management of three species of stored grain insect pests. **Journal of food science and technology**, v. 51, n. 11, p. 3494-3499, 2014.
- RAJKUMAR, V; GUNASEKARAN, C; CHRISTY, I. K; DHARMARAJ, J; CHINNARAJ, P; PAUL, C. A. Toxicity, antifeedant and biochemical efficacy of *Mentha piperita* L. essential oil and their major constituents against stored grain pest. **Pesticide biochemistry and physiology**, v. 156, p. 138-144, 2019.

RAVELOMBOLA, W. S; SHI, A; WENG, Y; CLARK, J; MOTES, D; CHEN, P; SRIVASTAVA, V. Evaluation of salt tolerance at germination stage in cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp]. **HortScience**, v. 52, n. 9, p. 1168-1176, 2017.

REGNAULT-ROGER, C; VINCENT, C; ARNASON, J. T. Essential oils in insect control: low-risk products in a high-stakes world. **Annual review of entomology**, v. 57, p. 405-424, 2012.

REVILLA, J. **Apontamentos para a cosmética amazônica**. Manaus: SEBRAEAM/ INPA, 2002. 532p.

RODRIGUES, R.M. B. A. **Bioatividade do óleo essencial de *Protium heptaphyllum* (aubi.) e Limoneno no controle de *Callosobruchus maculatus***. 2018, 48f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal do Piauí, Programa de Pós-graduação em Agronomia. 2018.

ROSSETTO, C.J. Sugestões para armazenamento de grãos no Brasil. **O Agrônomo**, v.18, n. 9/10, p. 38-51, 1966.

ROSSI, E.; COSIMI, S.; LONI, A. Bioactivity of essential oils from Mediterranean plants: Insecticidal properties on *Sitophilus zeamais* and effects on seed germination. **Journal of Entomology**, v.9, n.6, p.403-412, 2012.

SANTOS, W. P. C; SANTOS, D. C. M. B; FERNANDES, A. P; CASTRO, J. T; KORN, M. G. A. Geographical characterization of beans based on trace elements after microwave-assisted digestion using diluted nitric acid. **Food Analytical Methods**, v. 4, n. 6, p. 1133-1143, 2013.

SCHNITZLER, A. C; NOLAN, L. L; LABBE, R. Screening of medicinal plants for antileishmanial and antimicrobial activity. In: **International Symposium on Medicinal and Aromatic Plants 426**. p. 235-242, 1996.

SIANI, A. C; GARRIDO, I. S; MONTEIRO, S. S; CARVALHO, E. S; RAMOS, M. F. *Protium icariba* as a source of volatile essences. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 32, n. 5, p. 477-489, 2004.

SIEGFRIED, B. D.; SCOTT, J. G. Biochemical characterization of hydrolytic and oxidative enzymes in insecticide resistant and susceptible strains of the *German cockroach* (Dictyoptera: Blattellidae). **Journal of economic entomology**, v. 85, n. 4, p. 1092-1098, 1992.

SILOTO, R.C. **Danos e biologia de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1997) (Lepidoptera: Noctuidae) em genótipos de milho**. Dissertação de Mestrado, ESALQ, Piracicaba, 93p. 2002.

SILVA, G.T.F.L.; BAPTISTA, A.P.; FAVERO, S. **Bioatividade de óleos essenciais de plantas aromáticas sobre a lagarta-do-cartucho-do-milho (Lepidoptera: Noctuidae)**. In: encontro internacional de integração técnico-científica para o desenvolvimento sustentável do cerrado e pantanal, 2., 2002, Corumbá.

SILVA, J. D. C; GIRÃO FILHO, J. E; MEDEIROS, W. R; SILVA NETO, J. S; DE FRANÇA, S. M; SILVA, P. R. R. Bean weevil biology in different hosts. **Revista de Ciências Agrárias Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, v. 61, 2018.

SILVA, J. R. D. A; ZOGHBI, M. D. G; PINTO, A. D. C; GODOY, R. L; AMARAL, A. C. F. Analysis of the hexane extracts from seven oleoresins of *Protium* species. **Journal of Essential Oil Research**, v. 21, n. 4, p. 305-308, 2009.

SMARTT, J. **Grain legumes: evolution and genetic resources**. Cambridge: Cambridge University Press, 1990. 333 p.

SOUJANYA, P. L; SEKHAR, J. C; KUMAR, P; SUNIL, N; PRASAD, C. V; MALLAVADHANI, U. V. Potentiality of botanical agents for the management of post harvest insects of maize: a review. **Journal of food science and technology**, v. 53, n. 5, p. 2169-2184, 2016.

FACCIOLA, S. **Cornucopia II: A Source Book of Edible Plants**, second ed. Kampong Publications, UK, 1998.

STOILOVA, I. S; WANNER, J; JIROVETZ, L; TRIFONOVA, D; KRASTEVA, L; STOYANOVA, A. Chemical composition and antioxidant properties of juniper berry (*Juniperus communis* L.) essential oil. **Bulgarian Journal of Agricultural Science**, v. 20, n. 2, p. 227-237, 2014.

TEFERA, T; DEMISSIE, G; MUGO, S; BEYENE, Y. Yield and agronomic performance of maize hybrids resistant to the maize weevil *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). **Crop Protection**, v. 46, p. 94-99, 2013.

TIMKO, M. P.; SINGH, B. B. Cowpea, a multifunctional legume. In: **Genomics of tropical crop plants**. Springer, New York, NY, 2008. p. 227-258.

VAVILOV, N.I. Linnaeus species as a system. **Bulletin Applied Botanic Genetic**, v.26, n.3, p. 109-134, 1931.

VERDCOURT, B. **Studies in the leguminosae: papilionoideae** for the 'Flora of tropical East Africa'. Kew Bulletin, London, v. 24, p. 507-569, 1970.

VIEGAS JÚNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, v. 26, n. 3, p. 390-400, 2003.

WORLD BANK, FAO, NRI missing food: The case of post-harvest grain losses in sub-saharan Africa Economic Sector Work Report No. 60371-AFRWorld Bank, Washington, DC (2011).

YAZDGERDIAN, A. R.; AKHTAR, Y.; ISMAN, M. B. Insecticidal effects of essential oils against woolly beech aphid, *Phyllaphis fagi* (Hemiptera: Aphididae) and rice weevil, *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 3, n. 3, p. 265-271, 2015.

ZEVEN, A. C.; ZHUKOVSKY, P. M. **Dictionary of cultivated plants and their centres of diversity: excluding ornamentals, forest trees and lower plants.** Pudoc, 1975.

ZHAI, H; LIU, H; WANG, S; WU, J; KLUENTER, A. M. Potential of essential oils for poultry and pigs. **Animal nutrition**, v. 4, n. 2, p. 179-186, 2018.

Capítulo 1: Óleos essenciais e α -pineno no manejo de *Sitophilus zeamais* (Mots. 1855) (Coleoptera: Curculionidae) em condição de armazenamento e seus efeitos sobre a germinação de sementes de milho.

RESUMO

Objetivou-se investigar a eficiência do uso de α -pineno, bem como dos óleos essenciais de *Gaultheria procumbens*, *Juniperus communis*, *Protium heptaphyllum* e *Protium pallidum* no tratamento de sementes de milho (*Zea mays*) em condições de armazenamento, para o manejo de *Sitophilus zeamais* bem como avaliar os possíveis efeitos sobre a germinação das sementes. Foram realizados testes de toxicidade por contato, fumigação, repelência, persistência e efeito residual na germinação. Os compostos majoritários encontrados foram: salicilato de metila (96%) para *G. procumbens*, α -pineno (67%) e β -pineno (13%) para *J. communis*, limoneno (40,1%) e α -terpineol (17,4%), para *P. heptaphyllum* e o-cimeno (31,17%), β -felandreno (25,9%) e α -pineno (16,99%) para *P. pallidum*. No teste de contato a CL_{50} foi 26,83 μ L / 20 g para *G. procumbens*, 79,97 μ L / 20 g para *J. communis*, 45,78 μ L / 20 g para *P. heptaphyllum*, 57,98 μ L / 20 g para *P. pallidum* e 51,35 μ L / 20 g para α -pineno. A toxicidade por fumigação dos produtos decresceu nesta ordem: *G. procumbens* \geq *P. heptaphyllum* > α -pineno > *J. communis* > *P. pallidum* para CL_{50} . Todos os produtos testados são repelentes. A persistência de *G. procumbens* permaneceu por 71 dias, já para *J. communis* diminuiu ao longo dos dias do armazenamento. O composto α -pineno tem baixa persistência, causando baixa mortalidade logo após 5 dias da aplicação. O óleo de *J. communis* e o α -pineno não afetam a germinação e o vigor da semente de milho. Todos os produtos testados são potenciais inseticidas à *S. zeamais*.

Palavras-chave: Inseticidas botânicos, fumigação, contato, repelência, qualidade fisiológica.

ABSTRACT

The objective was to investigate the efficiency of the use of α -pinene, as well as the essential oils of *Gaultheria procumbens*, *Juniperus communis*, *Protium heptaphyllum* and *Protium pallidum* in the treatment of corn seeds (*Zea mays*) under storage conditions, for the management of *Sitophilus zeamais* as well as to evaluate the possible effects on the germination of the seeds. Contact toxicity, fumigation, repellency, persistence and residual effect on germination were performed. The major compounds found were: methyl salicylate (96%) for *G. procumbens*, α -pinene (67%) and β -pinene (13%) for *J. communis*, limonene (40.1%) and α -terpineol (17.4%), for *P. heptaphyllum* and o-cymene (31.17%), β -phellandrene (25.9%) and α -pinene (16.99%) for *P. pallidum*. In the contact test, the CL₅₀ was 26.83 μ L / 20 g for *G. procumbens*, 79.97 μ L / 20 g for *J. communis*, 45.78 μ L / 20 g for *P. heptaphyllum*, 57.98 μ L / 20 g for *P. pallidum* and 51.35 μ L / 20 g for α -pinene. Fumigation toxicity of the products decreased in this order: *G. procumbens* \geq *P. heptaphyllum* > α -pinene > *J. communis* > *P. pallidum* for CL₅₀. All tested products are repellent. The persistence of *G. procumbens* remained for 71 days, while for *J. communis* decreased over the days of storage. The α -pinene has low persistence, causing low mortality after 5 days of the application. *J. communis* oil and α -pinene compound do not affect the germination and vigor of the corn seed.

Keywords: Botanical insecticides, fumigation, contact, repellency, physiological quality.

Lista de tabelas

| | |
|--|----|
| Tabela 1 Composição química dos óleos essenciais de <i>Gaultheria procumbens</i> , <i>Juniperus communis</i> , <i>Protium heptaphyllum</i> e <i>Protium pallidum</i> | 58 |
| Tabela 2 Toxicidade por contato de óleos essenciais e α -pineno em adultos de <i>Sitophilus zeamais</i> | 64 |
| Tabela 3 Toxicidade por fumigação de óleos essenciais e α -pineno em adultos de <i>Sitophilus zeamais</i> | 70 |
| Tabela 4 Toxicidade percentual de óleos essenciais e α -pineno sobre <i>Sitophilus zeamais</i> após diferentes períodos de armazenamento das sementes tratadas..... | 71 |
| Tabela 5 Percentual de germinação, índice de velocidade de germinação e peso de massa fresca do milho submetido a diferentes tratamentos após diferentes períodos de armazenamento das sementes tratadas..... | 73 |
| Tabela 6 Tempo médio de germinação, velocidade média de germinação e peso da massa seca do milho submetido a diferentes tratamentos em tempos de armazenamento..... | 75 |

Lista de figuras

- Figura 1 Resina de *Protium heptaphyllum* (A); Aparelho tipo *Clevenger* em processo de hidrodestilação (B).....48
- Figura 2 Esquema da impregnação dos óleos nas sementes (teste de contato) de milho com auxílio de micropipetador automático.....50
- Figura 3 Arenas dos testes de repelência, compostas pela arena central onde ocorre a liberação dos insetos, e as arenas laterais, uma contendo sementes tratadas e outra sementes não-tratadas.....51
- Figura 4 Câmara fumigante. Na parte superior da câmara estão os papéis filtros onde serão aplicados os óleos e as câmaras finalizadas com detalhes da vedação.....52
- Figura 5 Número médio de *Sitophilus zeamais* atraídos (n = 480) em grãos de milho tratados e não tratados com os óleos de *Glautheria procumbens*, *Juniperus communis*, *Protium heptaphyllum*, *Protium pallidum* e α -pineno. *Significativo pelo teste Qui-quadrado ($P < 0,05$).....66

1 INTRODUÇÃO

Embora mais de 37 espécies de insetos tenham sido relatadas como pragas associadas ao milho armazenado (SOIJANYA et al., 2016), o gorgulho do milho [*Sitophilus zeamais* L. (Coleoptera: Curculionidae)] é o mais importante na secagem, transporte e armazenamento nesta cultura na América do Sul (OLIVEIRA et al., 2014) e na região leste e sul da África (TEFERA et al., 2013).

A batalha contra a infestação de alimentos armazenados geralmente requer o uso de químicos fumigantes, que tem consequências indesejáveis, como efeitos deletérios sob o meio ambiente e a biodiversidade (MOSHI; MATOJU, 2017). Além disso, muitos insetos, pragas de grãos armazenados, desenvolveram resistência contra esses fumigantes (NAYAK et al., 2014). Portanto, existe uma necessidade ativa em desenvolver técnicas seguras e obter produtos que tenham potencialidade para substituir fumigantes químicos por produtos naturais (RAJKUMAR et al., 2019).

Provenientes do metabolismo secundários das plantas, os óleos essenciais têm sido usados como inseticidas e foram elencados como uma fonte promissora devido a sua disponibilidade mundial e custo-benefício satisfatório (PAVELA, 2015; SMITH; BARKER; ZHU, 2006; WALTERS, 2011; ZUZARTE; SALGUEIRO, 2015). Eles são constituídos principalmente por monoterpenos e sesquiterpenos sintetizados no citoplasma e nos plastídios, representando uma mistura complexa de compostos orgânicos, alguns dos quais representam mais de 80% da composição dos óleos, onde geralmente estes caracterizam a sua atividade biológica (CAMPOLO et al., 2018).

As espécies vegetais que produzem óleos essenciais são chamadas de plantas aromáticas e são distribuídas em todo o mundo (TENUTA, 2019; PONTES et al., 2007; SVOBODA; GREENWAY, 2003; BRUNETON, 1999). Óleos essenciais das espécies vegetais, *Gaultheria procumbens* L. (Ericaceae) (KIRAN; PRAKASH, 2015; YAZDGERDIAN, AKHTAR; ISMAN, 2015), *Juniperus communis* L. (Cupressaceae) (SHAFIIE et al., 2019) e do gênero *Protium* (RODRIGUES, 2018), bem como o composto α -pineno (KIM; LEE, 2014; CHAUBEY, 2012; LEE et al., 2001), apresentaram toxicidade a pragas que atacam produtos armazenados.

Porém, a recomendação do uso de óleos essenciais e seus compostos isoladamente para a proteção de sementes armazenadas deve ser feita com cautela, pois diversos trabalhos têm demonstrado que estes podem causar efeitos fitotóxicos na germinação (DOMENE et al., 2016; RIBEIRO; LIMA, 2012).

Diante destas possibilidades, cabe incentivar a realização de novas pesquisas, para que cada vez mais produtos à base de plantas sejam estudados tanto a sua toxicidade sobre os insetos-praga quanto a fitotoxicidade sobre vegetais, sendo assim, enfatizada a exploração de forma consciente, sob todos os aspectos. Portanto, objetivou-se investigar a toxicidade do composto α -pineno e quatro óleos essenciais [*Gaultheria procumbens* L. (Ericaceae), *Juniperus communis* L. (Cupressaceae), *Protium pallidum* Cuatrec. (Burseraceae) e *Protium heptaphyllum* (Aubl.) March. (Burseraceae)] sob *S. zeamais* em condições de armazenamento e seus efeitos sobre a germinação das sementes de milho [*Zea mays* L. (Poaceae)].

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos de toxicidade por contato, fumigação e repelência foram desenvolvidos no Laboratório de Entomologia no Centro de Ciências Agrárias - CCA da Universidade Federal do Piauí - UFPI e os testes de germinação de sementes de milho foram realizados no Laboratório de Sementes do Colégio Técnico de Teresina – CTT/UFPI, sob condições controladas de temperatura e umidade relativa.

2.1 *Eliminação da infestação e equilíbrio da umidade das sementes*

As sementes de milho utilizadas para a criação dos insetos e experimentos, foram pré-selecionadas e secas, acondicionadas em sacos plásticos e mantidas em freezer sob temperatura de -10°C , durante sete dias, para a eliminação de eventuais infestações de insetos provenientes do campo. Após a retirada, as sementes foram transferidas para frascos de vidro e mantidas no laboratório durante 10 dias com a finalidade de atingirem o equilíbrio higroscópico em temperatura de $27^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de 60%.

2.2 Criação de *Sitophilus zeamais*

A criação estoque mantida no Laboratório de Entomologia é multiplicada por diversas gerações em sementes de milho (BR-106) em recipiente de vidro ou plásticos, com tampa perfurada para permitir as trocas gasosas. Os insetos foram confinados por 20 dias nos recipientes com milho para efetuarem a oviposição. Após o confinamento os grãos eram peneirados e os insetos descartados. Os recipientes eram mantidos em sala de criação com temperatura controlada em aproximadamente $27^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $60 \pm 5\%$, até a emergência dos adultos. Tal procedimento foi repetido por sucessivas gerações até se findar a montagem dos experimentos, com finalidade de garantir a quantidade de adultos necessária para a realização dos testes.

2.3 Obtenção dos óleos essenciais e α -pineno

O composto α -pineno com 98% de pureza foi adquirido da empresa Sigma-Aldrich Brasil LTDA e os óleos essenciais de *Gaultheria procumbens* L. (Ericaceae) (Wintergreen) e *Juniperus communis* L. (Cupressaceae) (Zimbro) ambos porveninetes de frutos, foram adquiridos da empresa FERQUIMA® Indústria e Comércio LTDA; já o óleo essencial proveniente da resina de *Protium pallidum* Cuatrec. (Burseraceae) (Breu branco) foi adquirido na empresa Terra Flor Industria e Comércio de Aromaterápicos LTDA e *Protium heptaphyllum* (Aubl.) March. (Burseraceae) (Almécega) obtido pelo processo de hidrodestilação da resina descrito a seguir:

A resina foi adquirida no comércio local de Teresina – PI, com centro de origem na cidade de Timon-MA. O processo de extração do óleo da resina de *P. heptaphyllum* foi realizado no Laboratório de Química Orgânica localizado no Centro de Ciências da Natureza – CCN, pelo método de hidrodestilação em aparelho do tipo *Clevenger* modificado (CRAVEIRO,1981; SILVA et al., 2019). Em um balão de fundo redondo, foram utilizados 500 g de resina triturada e 3 litros de água destilada. O processo de extração ocorreu por cerca de 4 h, em temperatura constante para a manutenção da ebulição. Decorrido esse tempo, coletou-se o hidrolato, sendo este particionado em funil de separação para a eliminação da fase aquosa e recuperação do óleo essencial. Após a extração, o óleo ficou mantido sob refrigeração em temperatura de -10°C (Figura 1).

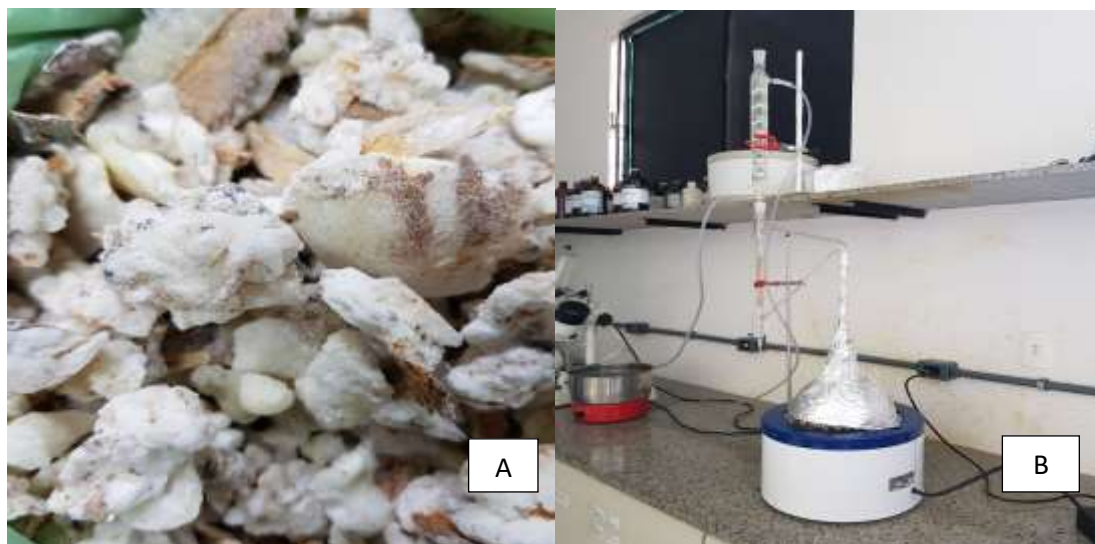


Figura 1 Resina de *Protium heptaphyllum* (A); Aparelho tipo *Clevenger* em processo de hidrodestilação (B).

2.4 Identificação dos compostos: Cromatografia Gasosa e Espectrometria de Massas.

A identificação dos compostos foi realizada no Laboratório de Ecologia Química da Universidade Federal de Pernambuco, através de cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas em um sistema quadrupolo Agilent 5975C Series GC/EM (Agilent Technologies, Palo Alto, EUA), equipado com uma coluna apolar DB-5 (Agilent J&W; 60 m x 0,25 mm d.i., 0,25 μm espessura da película). Uma solução de 1 μL de concentração conhecida, contendo o respectivo óleo essencial diluído em hexano foi injetada em split 1:20, assim como a solução da mistura de padrões de hidrocarbonetos: C9-C34, sendo esta solução hexânica composta por padrões comerciais da sigma-Aldrich®. A temperatura do GC foi ajustada em 60 $^{\circ}\text{C}$ por 3 minutos, sendo então aumentada em 2,5 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até alcançar 240 $^{\circ}\text{C}$ e mantida nessa temperatura por 10 minutos. O fluxo do hélio foi mantido em pressão constante de 100 Kpa. A interface do EM foi definido em 200 $^{\circ}\text{C}$ e os espectros de massa registrados em 70eV (em modo EI) com uma velocidade de escaneamento de 0,5 scans de m/z 20-350.

A partir da obtenção dos tempos de retenção dos compostos na amostra do óleo essencial, no padrão de hidrocarboneto e na combinação do óleo essencial com a mistura deste padrão foi calculado o índice de retenção para cada composto do óleo, segundo a equação de Van Den Dool e Kratz (1963). Os compostos dos óleos essenciais foram previamente identificados por

similaridade dos valores dos índices de retenção e posteriormente confirmados por comparação dos respectivos espectros de massa com aqueles disponíveis na biblioteca do GC/EM: MassFinder 4, NIST08 e Wiley Registry™ 9th Edition e com os descritos por Adams (2005). As áreas dos picos nos cromatogramas foram integradas e seus valores utilizados para determinar as proporções relativas respectivas a cada composto.

2.5 *Teste de toxicidade por contato*

Foram utilizadas diferentes concentrações obtidas em testes preliminares para cada produto: óleos essenciais de *G. procumbens* (4, 8, 10, 13, 20, 26, 35, 48, 55, 65, 90, 100 e 110 μL / 20 g), *J. communis* (30, 40, 60, 70, 80, 100 e 110 μL / 20 g), *P. pallidum* (30, 50, 60 e 80 μL / 20 g) e *P. heptaphyllum* (10, 20, 40, 50, 60, 70, 80, 100 e 110 μL / 20 g) e o composto majoritário α -pineno (50, 60, 80 e 130 μL / 20 g). Cada unidade experimental foi constituída de 20 g de milho BR-106, tratados com os produtos individualmente e um controle (sem adição de produto). Esses produtos foram acondicionados em recipientes plásticos de 100 mL com tampa perfurada para permitir as trocas gasosas.

Os produtos foram impregnados nas sementes de milho por meio de micropipetador automático de volume variável (Figura 2). Em seguida, os recipientes foram submetidos a agitação manual por 1 minuto, para distribuir uniformemente os produtos nas sementes. Após esse processo em cada repetição foram adicionados 12 adultos não sexados de *S. zeamais* com 0-15 dias de idade. Para cada tratamento foram utilizadas cinco repetições. A avaliação de mortalidade foi realizada 48 h após a montagem do experimento, sendo considerado morto o inseto que não respondesse a estímulos mecânicos.



Figura 2 Esquema da impregnação dos óleos nas sementes (teste de contato) de milho com auxílio de micropipetador automático.

2.6 Efeito repelente de óleos essenciais e α -pineno sobre *S. zeamais*

Foram utilizadas as CL₁₅, CL₃₀ e CL₅₀ calculadas nos testes de contato, dos produtos, a fim de se observar o efeito repelente de cada produto nas diferentes concentrações. Os testes foram conduzidos em arenas formadas por três recipientes plásticos com volume de 100 mL cada (Figura 4). Estes foram alinhados de modo equidistante e interligados por tubos plásticos cilíndricos com 0,6 cm de diâmetro e 10 cm de comprimento.

Num dos recipientes laterais foram colocados 20 g de milho BR-106, sem o óleo (controle) e na outra a mesma quantidade de milho impregnado com a respectiva concentração de cada produto individualmente. No recipiente central foram liberados 16 adultos não sexados de *S. zeamais* com 0-15 dias de idade para cada repetição. As sementes que foram tratadas com os produtos, passaram pelo mesmo processo de uniformização que no teste de toxicidade por contato. Utilizou-se para cada experimento dois tratamentos (sementes tratadas e controle) e 10 repetições. A quantificação do número de insetos atraídos para cada recipiente foi realizada 24 h após a montagem do experimento.



Figura 3 Arenas dos testes de repelência, compostas pela arena central onde ocorre a liberação dos insetos e as arenas laterais, uma contendo sementes tratadas e outra sementes não-tradadas.

2.7 Testes de Toxicidade por Fumigação

Foram utilizadas diferentes concentrações para cada produto: óleos essenciais de *G. procumbens* (100, 200, 300, 500, 600, 700 e 800 $\mu\text{L} / \text{L}$ de ar), *J. communis* (200, 300, 400, 500, 600 e 700 $\mu\text{L} / \text{L}$ de ar), *P. pallidum* (350, 400, 500, 600, 700, 900 e 1000 $\mu\text{L} / \text{L}$ de ar) e *P. heptaphyllum* (200, 300, 400 e 500 $\mu\text{L} / \text{L}$) e o composto químico α -pineno (350, 400, 450 e 700 $\mu\text{L} / \text{L}$). Para avaliação do efeito fumigante dos produtos sobre adultos de *S. zeamais*, foram utilizados recipientes plásticos transparentes de polipropileno com tampa rosqueável, com volume de 100 mL, onde foram colocados 20 indivíduos não sexados com 0-15 dias de idade para cada repetição. Os produtos foram impregnados com auxílio de uma micropipeta automática, em tiras de papel de filtro de 5 x 2 cm, fixadas na superfície inferior da tampa dos recipientes. Para evitar o contato direto dos insetos com os produtos, foi utilizado um tecido poroso (*voil*), entre a tampa e o recipiente propriamente dito. Os recipientes foram vedados com fita adesiva, visando evitar a saída dos vapores (Figura 3). No teste de fumigação, para cada tratamento foram utilizadas quatro repetições. A avaliação de mortalidade no teste foi realizada 48h após a montagem do experimento, sendo considerado morto o inseto que não respondesse a estímulos mecânicos.

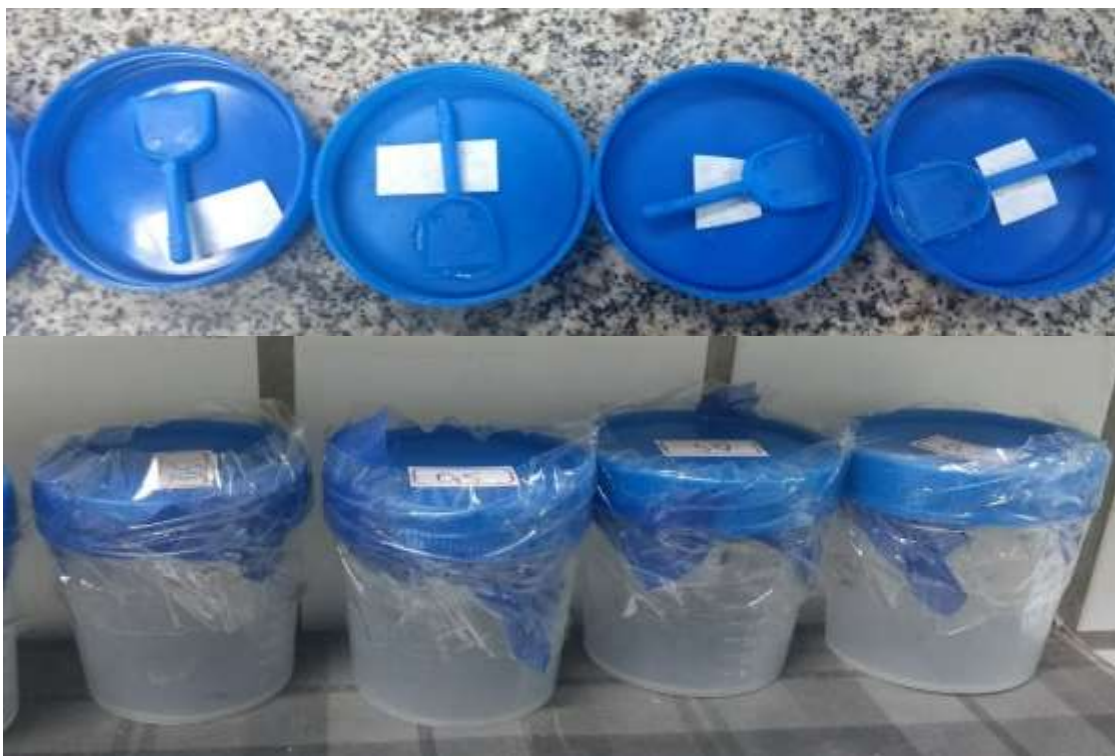


Figura 4 Câmara fumigante. Na parte superior da câmara estão os papéis filtros onde serão aplicados os óleos e as câmaras finalizadas com detalhes da vedação.

2.8 Persistência do efeito inseticida de óleos essenciais e α -pineno em sementes de milho armazenado

Foram utilizadas as CL₉₅ de *G. procumbens*, *J. communis* e α -pineno encontradas nos testes de toxicidade por contato, a fim de se observar por quanto tempo os óleos e o composto permanecem com suas propriedades inseticidas inalteradas. Para o teste de persistência foram utilizados 500 g de sementes de milho BR-106 para cada produto, sendo que 400 g destes foram tratados individualmente em amostras de 100 g e homogêneos conforme descrito anteriormente no teste de contato, seguido de armazenamento em saco transparente do tipo *zip lock*, envolto por papel alumínio e armazenado sob refrigeração a 10 C° até que se fosse montado o experimento. Os 100 g não tratados foram utilizados como testemunha. O experimento foi realizado sob condições controladas de temperatura $27 \pm 2^\circ\text{C}$ e umidade relativa de 60%. As avaliações de persistência foram feitas nos tempos de 5, 38, 46, 56 e 71 dias após as sementes serem tratadas. Chegado no tempo correspondente, uma amostra de sementes de milho foi aberta e dividida em 5 repetições de 20 g de milho, acondicionadas em recipiente plástico de 100 mL com tampa

perfurada acompanhada da adição de 12 adultos não sexados de *S. zeamais*, com 0-15 dias de idade. Após 7 dias o número de mortos foi contabilizado.

2.9 Efeito residual de óleos essenciais e α -pineno na germinação de sementes de milho armazenadas

Foram utilizadas as CL₉₅ de *G. procumbens*, *J. communis* e α -pineno encontradas nos testes de toxicidade por contato para *S. zeamais*, respeitando os mesmos tempos de avaliações observados no teste de persistência, exceto o tempo de 5 dias, a fim de observar se as concentrações encontradas para proteção de sementes influenciavam na germinação destas. Os testes de germinação foram instalados utilizando quatro repetições de 50 sementes por tratamento. As sementes foram semeadas sobre papel Germitest previamente umedecido com água destilada, em quantidade equivalente a 2,5 vezes o seu peso seco, os rolos confeccionados e acondicionados em sacos plásticos foram mantidos em germinador tipo Mangelsdorf mod. Luca-207A à temperatura de 25 °C. As avaliações foram diárias, durante 7 dias, considerando a porcentagem de plântulas normais (BRASIL, 2009).

As variáveis calculadas foram as seguintes:

Germinação total (G): calculada pela fórmula $G = (N / 200) \times 100$, em que: N = número de sementes germinadas ao final do teste. Unidade: %;

Índice de velocidade de germinação (IVG): calculado pela fórmula $IVG = \sum (n_i / t_i)$, em que: n_i = número de sementes que germinaram no tempo 'i'; t_i = dias após instalação do teste; $i = 1 \rightarrow 7$ dias. Unidade: adimensional (MAGUIRE, 1962);

Tempo médio de germinação (TMG): calculado pela fórmula $TMG = (\sum n_i t_i) / \sum n_i$, em que: n_i = número de sementes germinadas por dia; t_i = tempo de incubação; Unidade: dias.

Velocidade média de germinação (VMG): calculada pela fórmula $VMG = 1/t$ em que: t = tempo médio de germinação. Unidade: dias.

Massa fresca e seca de plântula: Todas as plântulas normais, provenientes do teste de germinação, foram pesadas para obtenção do peso médio fresco. Já para obtenção do peso seco, as plântulas foram acondicionadas em sacos de papel e levadas à estufa termoelétrica de circulação forçada de ar a $80 \pm 2^\circ\text{C}$, por 48 h para secagem. As massas foram

determinadas em balança de precisão 0,001 g, e os resultados foram expressos em gramas por plântula avaliada (g / plântula).

2.10 Análise estatística e delineamento experimental

Em todos os testes o delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado.

Para o teste de contato, as concentrações necessárias para matar 15, 30, 50 e 95% da população (CL_{15} , CL_{30} , CL_{50} e CL_{95}) dos óleos e α -pineno foram calculadas pelo PROC PROBIT. As razões de toxicidade (RT) foram obtidas individualmente para cada CL, através do quociente entre a CL_{15} , CL_{30} , CL_{50} e CL_{95} do produto que apresentou menor toxicidade (maior concentração) pelas CL_{15} , CL_{30} , CL_{50} e CL_{95} dos produtos restantes. Assim como descrito anteriormente para contato, as mesmas avaliações foram feitas para fumigação, porém apenas para CL_{50} e CL_{95} e suas respectivas razões de toxicidade.

Já para repelência, o número de insetos atraídos para cada recipiente foi comparado usando o Proc FREQ e interpretado pelo teste de Qui-quadrado ($P < 0,05$).

No teste de persistência o experimento foi executado em esquema fatorial 4x5 (4 produtos e 5 tempos de armazenamento) com 5 repetições, onde a testemunha, sem produtos, foi contabilizada para o fator produtos. Os resultados de mortalidade (%) foram submetidos à ANOVA, pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Os dados de germinação total, IVG e massa seca foram analisados em esquema fatorial 4x4 (4 produtos x 4 tempos de armazenamento) com 4 repetições, onde a testemunha, sem produto, foi contabilizada para o fator produtos. Os resultados foram submetidos à ANOVA, e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) individualmente para cada variável.

Enquanto as variáveis TMG, VMG e massa seca foram submetidos à ANOVA, sendo considerados os 4 tratamentos (óleos, α -pineno e testemunha) e as avaliações no tempo como medidas repetidas. De acordo com os resultados da ANOVA, quando significativas para tratamento, as médias entre tratamentos foram comparadas usando o teste de Tukey ($P < 0,05$).

Todas as análises foram realizadas utilizando o Programa Estatístico SAS version 8.02 (SAS INSTITUTE, 2001).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Identificação dos compostos

As composições dos óleos variaram entre si e os compostos majoritários foram identificados. O salicilato de metila (Índice de retenção calculado: 1202; Índice de retenção na literatura: 1190) é um éster e foi o único composto identificado para *G. procumbens* com 96%. No óleo essencial de *J. communis* foram encontrados um total de 33 compostos, em sua maioria monoterpenos (91%) e sesquiterpenos (6,72%), os compostos α -pineno, β -pineno e limoneno foram os mais abundantes com 67, 13 e 4%, respectivamente. Para o óleo de *P. heptaphyllum* foram quantificados 6 compostos, distribuídos entre monoterpenos (82,72%) e monoterpenos oxigenados (2,93%), onde os mais abundantes foram limoneno (66,30%), δ -3-careno (11,22%) e α -terpineol (2,93%), enquanto o óleo de *P. pallidum* possui em sua composição 88,76% de monoterpenos, 5,49% de monoterpenos oxigenados e 1,51% de sesquiterpenos, distribuídos em conjunto de 27 compostos, onde os mais abundantes foram o o-cimeno (31,17%), β -felandreno (25,9%) e α -pineno (16,99%) (Tabela 1).

O salicilato de metila tem sido reportado como composto majoritário do óleo essencial de *G. procumbens* com porcentagem de 96,90 (NIKOLIĆ et al., 2013) e 96,61% (KIRAN; PRAKASH, 2015), concordando assim com o resultado encontrado em nossa pesquisa.

Qualquer alteração nas condições ambientais, como temperatura, luz, status de nutrientes ou disponibilidade de água no verão ou no inverno, pode causar um desequilíbrio metabólico, o que pode afetar as vias biossintéticas (GRANDA et al., 2014) e conseqüentemente afetar a composição do óleo essencial de uma mesma espécie proveniente de regiões diferentes, como observado para o óleo de *J. communis* cujo principal composto observado neste trabalho foi o monoterpeno, α -pineno, mas em quantidades diferenciadas ao encontrado na literatura.

O óleo essencial de bagas de *J. communis* colhidas no Parque Nacional de Abruzzo, Lazio e Molise (PNALM, Central Itália) possui 90 compostos diferentes, onde o hidrocarboneto de monoterpeneo mais abundante foi α -pineno (13,43–32,34%) (FALASCA et al., 2016). O óleo essencial de *J. communis* var. *saxatilis* proveniente de material vegetal coletado na montanha Stara Planina, Sérvia, possui o α -pineno (23,61%) como majoritário seguidos dos demais compostos, δ -cadineno (10,71%), sabineno (9,53%), α -muuroleno (6,58%) e γ -cadineno (5,87%) foram os compostos mais dominantes (VASILJEVIC et al., 2018).

As espécies do gênero *Protium* produzem metabólitos secundários com diferentes tipos de terpenos, com mais de 100 mono e sesquiterpenos diferentes caracterizados (SIANI et al., 2004; SILVA et al., 2009; MARQUES et al., 2010). Óleos essenciais provenientes de espécies de um mesmo gênero podem apresentar composições químicas diferentes (COSTA et al., 2017) como visto aqui nessa pesquisa, onde limoneno e o-cimeno foram os compostos majoritários para *P. heptaphyllum* e *P. pallidum*, respectivamente.

Geralmente, alguns monoterpeneos, como limoneno, α -pineno, α -felandreno, sabine, terpinoleno e p-cimeno fazem parte da composição do óleo essencial de *P. heptaphyllum* (LIMA et al., 2016), todavia o composto majoritário varia, sendo o terpinoleno, p-cimeno (MARQUESI et al., 2010; LIMA et al., 2016; ALBINO et al., (2017) ou limoneno (MOBIN et al., 2016), já para *P. pallidum* o γ -elemeno é o composto majoritário (ANJOS et al., 2018).

O surgimento ou desaparecimento de um composto no óleo essencial pode estar ligado diretamente a diversos fatores como alto e o baixo ponto de ebulição, onde muitos compostos são simplesmente 'perdidos' devido à natureza do processo e de restrições no tempo de destilação (TISSERAND; YOUNG, 2014). Além disso, fatores endógenos (características anatômicas e fisiológicas das plantas e as vias biossintéticas dos voláteis) e exógenos (luz, precipitação, local de cultivo, solo e variação sazonal) podem ser os responsáveis por tamanha variação dos compostos em óleos essenciais (BARRA, 2009), por isso, a composição de um óleo essencial pode variar muito para espécies de um mesmo gênero, bem como, para espécies

idênticas oriundas de coletas em locais com características edafoclimáticas pertinentes.

Tabela 1 Composição química de óleos essenciais de *Juniperus communis*, *Protium heptaphyllum* e *Protium pallidum*.

| Nº do composto ^a | | <i>Juniperus communis</i> | | | <i>Protium heptaphyllum</i> | | <i>Protium pallidum</i> | |
|-----------------------------|------------------------------------|---------------------------|-----------------|--------------|-----------------------------|--------------|-------------------------|--------------|
| | | IR ^b | IR ^c | (%) | IR ^c | (%) | IR ^c | (%) |
| 1 | Tricyclene | 921 | 918 | 0,06 | - | - | - | - |
| 2 | α -Thujene | 924 | 925 | 0,34 | - | - | 926 | 0,27 |
| 3 | α -Pinene | 932 | 930 | 67,03 | 931 | 1,45 | 932 | 16,99 |
| 4 | Camphene | 946 | 945 | 0,63 | - | - | 946 | 0,57 |
| 5 | Sabinene | 972 | - | - | 969 | 1,67 | - | - |
| 6 | β -Pinene | 974 | 973 | 12,85 | - | - | 975 | 2,83 |
| 7 | Menthene<3-p-> | 984 | - | - | - | - | 983 | 0,29 |
| 8 | Myrcene | 988 | 990 | 3,95 | - | - | 992 | 0,11 |
| 9 | α -Phellandrene | 1002 | 1002 | 0,18 | 1003 | 2,08 | 1004 | 5,63 |
| 10 | δ -3-Carene | 1008 | - | - | 1009 | 11,22 | 1010 | 0,43 |
| 11 | α -Terpinene | 1014 | 1015 | 0,13 | - | - | 1016 | 2,45 |
| 12 | o-Cymene | 1022 | 1023 | 0,81 | - | - | 1025 | 31,17 |
| 13 | Limonene | 1024 | 1027 | 4,22 | 1027 | 66,30 | - | - |
| 14 | β - Phellandrene | 1025 | - | - | - | - | 1029 | 25,90 |
| 15 | γ -Terpinene | 1054 | 1058 | 0,51 | - | - | 1059 | 0,21 |
| 16 | Terpinolene | 1086 | 1087 | 0,58 | - | - | 1088 | 0,91 |
| 17 | α -Pinene oxide | 1099 | 1096 | 0,08 | - | - | - | - |
| 18 | Menth-2-en-1-ol<cis-p> | 1118 | - | - | - | - | 1122 | 0,08 |
| 19 | E-Pinocarveol | 1135 | 1137 | 0,08 | - | - | - | - |
| 20 | Terpineol<cis-dihydro- α -> | 1143 | - | - | - | - | 1144 | 1,59 |

Tabela 1 Continuação

| Nº do composto ^a | | <i>Juniperus communis</i> | | | <i>Protium heptaphyllum</i> | | <i>Protium pallidum</i> | |
|-----------------------------|-----------------------------|---------------------------|-----------------|------|-----------------------------|-------------|-------------------------|------|
| | | IR ^b | IR ^c | (%) | IR ^c | (%) | IR ^c | (%) |
| 21 | Terpinen-4-ol | 1174 | 1176 | 1,01 | - | - | 1178 | 0,29 |
| 22 | Cryptone | 1183 | - | - | - | - | 1186 | 0,66 |
| 23 | α -Terpineol | 1186 | 1190 | 0,43 | 1191 | 2,93 | 1191 | 2,25 |
| 24 | Myrtenol | 1194 | 1196 | 0,11 | - | - | - | - |
| 25 | Piperitone | 1249 | - | - | - | - | 1255 | 0,46 |
| 26 | Linalool acetate <dihydro-> | 1272 | - | - | - | - | 1276 | 0,16 |
| 27 | Isobornyl acetate | 1283 | 1386 | 0,14 | - | - | - | - |
| 28 | α -Cubebene | 1348 | 1350 | 0,28 | - | - | 1351 | 0,20 |
| 29 | α -Copaene | 1374 | 1376 | 0,19 | - | - | 1378 | 0,69 |
| 30 | β -Elemene | 1389 | 1392 | 0,20 | - | - | - | - |
| 31 | β -Longipinene | 1400 | 1405 | 1,25 | - | - | - | - |
| 32 | E-Caryophyllene | 1417 | 1420 | 2,72 | - | - | - | - |
| 33 | α -Humulene | 1452 | 1452 | 0,49 | - | - | 1456 | 0,09 |
| 34 | γ -Muurolene | 1478 | 1477 | 0,16 | - | - | - | - |
| 35 | Germacrene D | 1480 | 1482 | 0,32 | - | - | - | - |
| 36 | γ -Himachalene | 1481 | - | - | - | - | 1486 | 0,21 |
| 37 | β -Selinene | 1489 | 1487 | 0,06 | - | - | - | - |
| 38 | Valencene | 1496 | 1496 | 0,14 | - | - | - | - |
| 39 | α -Muurolene | 1500 | 1501 | 0,13 | - | - | 1503 | 0,07 |
| 40 | γ -Cadinene | 1513 | 1515 | 0,16 | - | - | 1517 | 0,09 |

Tabela 1 Continuação

| Nº do composto ^a | <i>Juniperus communis</i> | | | <i>Protium heptaphyllum</i> | | <i>Protium pallidum</i> | | |
|-----------------------------|--------------------------------|-----------------|------|-----------------------------|-----|-------------------------|------|--------------|
| | IR ^b | IR ^c | (%) | IR ^c | (%) | IR ^c | (%) | |
| 41 | δ-Cadinene | 1522 | 1524 | 0,61 | - | - | 1526 | 0,16 |
| 42 | Germacrene B | 1559 | 1558 | 0,17 | - | - | - | - |
| 43 | Caryophyllen oxide | 1582 | 1584 | 0,32 | - | - | - | - |
| | Monoterpeno | | | 91,32 | | 82,72 | | 88,76 |
| | Monoterpeno Oxigenado | | | 1,85 | | 2,93 | | 5,49 |
| | Sesquiterpeno | | | 6,72 | | - | | 1,51 |
| | Sesquiterpeno Oxigenado | | | 0,32 | | - | | - |
| | Total | | | 100 | | 86,65 | | 95,76 |

^a Constituintes listados em ordem de eluição na coluna apolar DB-5, detector GC-FID;

^b Índices de retenção de Kratz da literatura (Adams, 2009);

^d Índices de retenção de Kratz calculados através dos tempos de retenção em relação aos da série de n-alcenos (C₈-C₂₅);

% Porcentagem do composto no óleo essencial

3.2 Efeito da toxicidade por contato dos óleos essenciais e α -pineno sobre *Sitophilus zeamais*

A toxicidade dos óleos e α -pineno foi determinada usando curvas de concentração-mortalidade, onde verificou-se uma variação nas concentrações letais entre os produtos testados com CL₁₅, CL₃₀, CL₅₀ e CL₉₅ de 10,62; 16,79; 26,83 e 116,79 (μ L / 20 g de sementes) para *G. procumbens*; 54,97; 66,15; 79,97 e 144,99 para *J. communis*; 31,01; 37,59; 45,78 e 84,96 para *P. heptaphyllum*; 29,18; 40,96; 57,98 e 172,35 para *P. pallidum* e 41,60; 46,16; 51,35 e 71,74 para α -pineno (Tabela 2).

Compostos isolados e óleos essenciais provenientes de plantas de famílias botânicas iguais às aqui estudadas já tem tido sua toxicidade reportada a diversos insetos-praga. O óleo essencial de *G. procumbens* foi capaz de inibir a atividade enzimática em coleópteros (*Sitophilus oryzae* L. e *Rhyzopertha dominica* Fabr.) causando mortalidade dependente da concentração (KIRAN; PRAKASH, 2015). O mesmo efeito foi visto quando adultos de *S. oryzae* foram expostos ao óleo de *Gaultheria fragrantissima* Wall. (Ericaceae) (JAYAKUMAR et al., 2017). Já o óleo essencial de frutos de *J. communis* subsp. *hemisphaerica* foi tóxico contra *R. dominica* e *Tribolium castaneum* Herbst., sendo um potencial agente de controle (HASHEMI; ROSTAEFAR, 2014). Pesquisas anteriores demonstraram que o óleo essencial de *P. heptaphyllum*, rico em limoneno, foi tóxico por contato a *Callosobruchus maculatus* Fabr. (RODRIGUES, 2018). *S. zeamais* e *T. castaneum* (KIM; LEE, 2014), *Lasioderma serricorne* F. (CAO et al., 2019), tiveram mortalidade reportada causada pelo monoterpene hidrocarboneto presente em muitos óleos essenciais, o α -pineno. Sendo assim, os produtos aqui testados são fontes promissoras de inseticidas de contato.

O modelo de Probit foi adequado para analisar os dados de concentração-mortalidade, com baixos valores de χ^2 e altos valores de P para cada curva de concentração-mortalidade ($\chi^2 < 10,33$ e $P > 0,05$). Houve uma variação na inclinação dos produtos, sendo esta de 2,57 a 11,33, indicando alguma heterogeneidade toxicológica entre os produtos testados, onde valores mais elevados de inclinação da curva, indicam que pequenas variações na concentração dos óleos proporcionam grandes variações na mortalidade (Tabela 2).

A mortalidade de insetos adultos pode ser atribuída à toxicidade do contato do óleo essencial ou ao efeito abrasivo na cutícula da praga (MATHUR; SHANKER; RAM, 1985), o que também pode interferir no mecanismo respiratório do inseto (KIM et al., 2013; SCHOONHOVEN, 1978; ANJANA; SONE; GUPTA, 1988). Uma outra vertente esclarece que a toxicidade por contato de óleos essenciais ou compostos isolados pode variar, baseada na susceptibilidade de diferentes espécies de insetos que atacam grãos armazenados (CARDIET et al., 2012), bem como de onde a população-alvo é oriunda e se essa tem alta ou baixa resistência aos produtos (SANTOS et al., 2019), justificando assim a variação toxicológicas entres os produtos aqui testados.

O óleo de *G. procumbens* foi o mais tóxico para *S. zeamais* apresentando as maiores RT₅₀ de 2,98, quando comparados com óleo de menor toxicidade, *J. communis* (Tabela 2). No presente estudo, o óleo essencial de *G. procumbens* contém cerca de 96% de salicilato de metila . Composto esse, que naturalmente é um volátil induzido por herbívoros em planta com funções como atrair, repelir ou impedir organismos-alvo, dependendo da concentração (KOSCHIER et al., 2007), portanto este composto tem grandes chances de ser o causador de toxicidade de *G. procumbens* em *S. zeamais*. O óleo essencial de *G. procumbens*, contendo principalmente salicilato de metila (96,61%) em concentrações próximas às estudadas aqui, causou alterações na atividade da superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT) em *S. oryzae* e *R. dominica* , onde essa resposta foi dependente da concentração (KIRAN; PRAKASH, 2015). Provavelmente, o óleo de *G. procumbens* tenha o mesmo mecanismo de ação em *S. zeamais*, afetando principalmente a atividade de enzimas que atuem em processos de desintoxicação como é o caso da SOD e CAT em insetos.

O α -pineno mostrou maior inclinação (11,33 \pm 11,89) dentre os produtos testados, evidenciando que pequenos incrementos na concentração deste garantem altas respostas de mortalidade. As menores concentrações letais foram encontradas para o α -pineno (CL₃₀: 46,16; CL₅₀: 51,35 e CL₉₅: 71,74 μ L / 20 g), quando comparadas com as encontradas para o óleo de *J. communis* (CL₃₀: 66,15; CL₅₀: 79,97 e CL₉₅: 144,99 μ L / 20 g), evidenciando que este monoterpene possivelmente é o causador da mortalidade provocada pelo óleo

de *J. communis* sobre *S. zeamais* (Tabela 2). Geralmente, os monoterpenos têm forte toxicidade por contato e fumigação em insetos, devido às suas propriedades lipofílicas e de volatilidade (RICE; COATS, 1994).

Em estudos prévios, tanto óleos essenciais com α -pineno em sua composição, quanto esse composto isoladamente tem tido sua propriedade inseticida revelada contra diversas pragas de interesse agrícola. A toxicidade tópica do α -pineno foi comprovada sobre *S. zeamais* e *T. castaneum* (KIM; LEE, 2014). O α -pineno e o óleo essencial de *Haplophyllum dauricum* (L.) G.Don (Rutaceae) com 12,24% de α -pineno e 42,37% de β -pineno apresentam atividade inseticida por contato sobre *T. castaneum* e *L. serricorne*, o óleo em questão tem um potencial promissor como inseticida botânico ecológico (CAO et al., 2019). O óleo essencial de *Cupressus lusitanica* Mill. (Cupressaceae) com 24% de α -pineno em sua composição, mostrou toxicidade via contato contra três pragas de grãos armazenados (*T. castaneum*, *Acanthoscelides obtectus* Say e *S. zeamais*) (BETT et al., 2017). De um modo geral, o efeito inseticida de óleos essenciais é resultado da ação inibitória da acetilcolinesterase (AChE) causada especialmente por monoterpenos (PRAVEENA; SANJAYAN, 2011; LÓPEZ; PASCUAL-VILLALOBOS, 2010). O composto α -pineno é um monoterpeno hidrocarboneto que já teve a sua estrutura-atividade relacionada à inibição da acetilcolinesterase (AChE), sendo essa mais forte quando comparada com álcoois e cetonas (SOUZA et al., 2012, SAAD, ABOU-TALEB; ABDELGALEIL, 2018).

Tabela 2 Toxicidade por contato de óleos essenciais e α -pineno em adultos de *Sitophilus zeamais*.

| Tratamento | N | GL | Inclinação \pm EP | CL ₁₅ (IC)* | RT ₁₅ | CL ₃₀ (IC)* | RT ₃₀ | CL ₅₀ (IC)* | RT ₅₀ | CL ₉₅ (CI)* | RT ₉₅ | χ^2 | P ¹ |
|------------------------------|-----|----|---------------------|------------------------|------------------|--------------------------|------------------|--------------------------|------------------|-----------------------------|------------------|----------|----------------|
| <i>Gaultheria procumbens</i> | 780 | 11 | 2,57 \pm 0,15 | 10,62 (8,90-12,29) | 5,10 | 16,79 (14,74 – 18,80) | 3,93 | 26,83 (24,26 – 29,55) | 2,98 | 116,79 (98,95 – 142,99) | 1,47 | 5,09 | 0,92 |
| <i>Protium heptaphyllum</i> | 240 | 2 | 6,12 \pm 0.69 | 31,01 (26,39-34,62) | 1,74 | 37,59 (33,48 – 40,92) | 1,75 | 45,78 (42,21 – 49,14) | 1,74 | 84,96 (75,76 – 100,61) | 2,02 | 0,03 | 0,98 |
| <i>Protium pallidum</i> | 540 | 7 | 3,47 \pm 0,31 | 29,18 (24,30-33,40) | 1,85 | 40,96 (36,19 – 45,17) | 1,61 | 57,98 (53,25 – 62,91) | 1,37 | 172,35 (144,91 – 219,30) | - | 7,51 | 0,37 |
| <i>Juniperus communis</i> | 420 | 5 | 6,36 \pm 0,87 | 54,97 (43,94-62,37) | - | 66,15 (57,09 – 73,29) | - | 79,97 (72,08 – 89,52) | - | 144,99 (120,45 – 208,53) | 1,18 | 10,33 | 0,06 |
| α -pineno | 240 | 2 | 11,33 \pm 1,89 | 41,60 (35,57-45,26) | 1,30 | 46,16 (41,16 – 49,18) | 1,43 | 51,35 (47,91 – 53,89) | 1,55 | 71,74 (66,66 – 81,94) | 2,40 | 3,81 | 0,14 |

* μ L / 20 g de sementes, N = número de insetos usados no teste, GL = grau de liberdade; EP = erro padrão da média, IC = intervalo de confiança, RT = razão de toxicidade, χ^2 = Qui-quadrado., 1 = Valor de probabilidade para o modelo de Probit ($P > 0,05$).

3.3 Efeito repelente de óleos essenciais e α -pineno sobre *Sitophilus zeamais*

O número de adultos de *S. zeamais* atraídos para sementes de milho tratadas com óleos essenciais de *G. procumbens*, *J. communis*, *P. heptaphyllum*, *P. pallidum* e α -pineno foi significativamente menor ($P < 0,05$), quando comparados com as sementes não tratadas, indicando que os mesmos foram repelentes.

Todos os produtos exibiram atividade repelente independente da concentração testada (Figura 5). Efeitos subletais de óleos essenciais, a exemplo de repelência, têm sido investigados para diversas pragas de grãos armazenados. Os óleos essenciais de *Zingiber officinale* Roscoe (Zingiberaceae) e *Piper cubeba* L. (Piperaceae) e dois terpenos naturais puros, α -pineno e β -cariofileno possuem efeito de repelência sobre adultos de *S. oryzae* em concentrações subletais (CHAUBEY, 2012). A inibição da atividade da enzima acetilcolinesterase (AChE) foi observada em adultos de *S. oryzae* quando fumigados com concentrações subletais de óleos essenciais de *Z. officinale* e *P. cubeba*, α -pineno e β -cariofileno, sozinhos ou em combinações binárias subletais (CHAUBEY, 2012). Esses óleos essenciais e compostos puros, assim como os aqui testados neste trabalho, provavelmente induzem toxicidade ao inibir a atividade da enzima acetilcolinesterase.

Concentrações subletais podem ter variação de toxicidade dependente da fase de desenvolvimento do inseto, associadas com o tipo de metodologia de aplicação, seja contato, fumigação ou repelência, bem como pelo método de extração do princípio ativo (RAJABPOUR; MASHAHDI; GHORBANI, 2019).

Diversos óleos essenciais são promissores repelentes contra *S. zeamais*. Óleos essenciais de *Cymbopogon winterianus* Jowitt (Poaceae), *Eucalyptus globulus* Labill. (Myrtaceae), *Eucalyptus staigeriana* F. Muell. ex F.M. Bailey (Myrtaceae), *Foeniculum vulgare* Mill. (Apiaceae), *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae), *Ocimum gratissimum* L. (Lamiaceae), e *Piper hispidinervum* C. DC. (Piperaceae), causaram repelência de 81,82; 79,62; 96,25; 77,07; 91,19; 90 e 49,37% em *S. zeamais*, respectivamente (ARAUJO et al., 2019). Óleos essenciais extraídos de *Lippia origanoides* Herter (Verbenaceae) e *Eucalyptus citriodora* Hook (Myrtaceae) também foram repelentes a *S. zeamais* (NERIO; OLIVERO-VERBEL; STASHENKO, 2007).

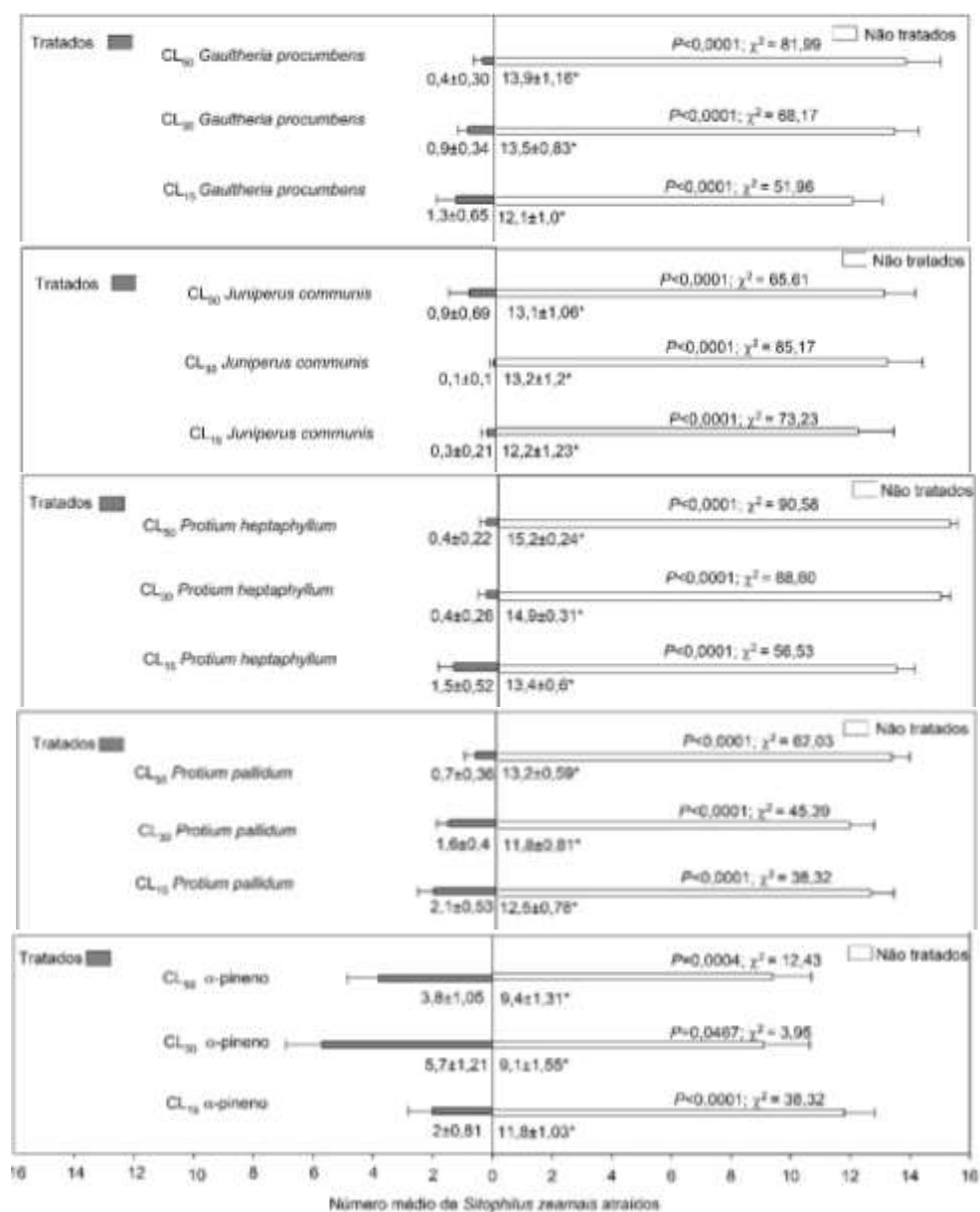


Figura 5 Número médio de *Sitophilus zeamais* atraídos (n = 480) em grãos de milho tratados e não tratados com os óleos de *Gaulltheria procumbens*, *Juniperus communis*, *Protium heptaphyllum*, *Protium pallidum* e α -pineno. *Significativo pelo teste Qui-quadrado ($P < 0,05$).

Sendo α -pineno o composto majoritário do óleo essencial de *J. communis*, podemos concluir que este isolado possivelmente é o responsável pela atividade repelente observada em *J. communis*. Assim como visto nos óleos, α -pineno é repelente, podendo este efeito repelente ser considerado subletal.

Óleos essenciais contendo α -pineno em quantidades consideráveis são vistos como fontes promissoras de repelentes a pragas de produtos armazenados. Atividade repelente do óleo essencial de *Pistacia lentiscus* L.

(Anacardiaceae), cujo o α -pineno é o composto majoritário, foi comprovada para diversas pragas de grãos armazenados, quando calculada RD_{50} (Concentração repelente que repele 50% dos insetos expostos) de 0,010, 0,037 e 0,025 $\mu\text{L cm}^{-2}$ para *S. zeamais*, *R. dominica* e *Tribolium confusum* J. du Val respectivamente, já α -pineno necessitou de 0,262, 0,706 e 0,225 $\mu\text{m cm}^{-2}$ (BOUGHERRA et al., 2015).

A investigação de concentrações de baixa letalidade, tanto de óleos essenciais quanto de compostos isolados que apresente efeito repelente, nos mostra uma possibilidade bem-aventurada do uso de concentrações efetivas contra *S. zeamais*. O composto α -pineno e todos os óleos aqui testados apresentam efeito repelente subletal em *S. zeamais*.

3.4 Efeito da toxicidade por fumigação dos óleos essenciais e α -pineno sobre *Sitophilus zeamais*

Os óleos apresentaram a seguinte ordem de toxicidade por fumigação: *G. procumbens* \geq *P. heptaphyllum* > α -pineno > *J. communis* > *P. pallidum* para CL_{50} (Tabela 3). O óleo essencial de *G. procumbens* apresentou maiores razões de toxicidade $RT_{30;50}$, quando comparado com o óleo de menor toxicidade, *P. pallidum*. Apesar do óleo essencial de *G. procumbens* apresentar menores $CL_{30;50}$ (172,3 e 231,65), não podemos indicá-lo como mais tóxico por conta da sobreposição do intervalo de confiança com o óleo de *P. heptaphyllum* (Tabela 3).

O método de controle mais explorado em busca de inseticidas botânicos é a fumigação, pois o produto comercial mais utilizado, a fosfina, é aplicado deste modo. Diversas pesquisas têm elencado óleos essenciais e seus compostos como promissores fumigantes sobre espécies do gênero *Sitophilus*. Tanto o óleo de *G. procumbens* (CL_{50} de 58,62 e CL_{90} de 89,79 $\mu\text{L} / \text{L}$), quanto seu majoritário salicato de metila (CL_{50} de 63,49 e CL_{90} de 110,82 $\mu\text{L} / \text{L}$), apresentam atividades inseticidas por fumigação sobre *S. oryzae*. Sendo ambos candidatos adequados para a formulação de inseticidas contra inseto-praga de grãos armazenados (KIRAN; PRAKASH, 2015). Entretanto, o óleo essencial de *G. procumbens* proveniente da Ecosafe Natural Products Inc. (Canadá) apresentou uma baixa CL_{50} sobre *S. oryzae* por fumigação (6,78 $\mu\text{L/L}$ de ar) (YAZDGERDIAN, AKHTAR; ISMAN, 2015). Em nossos resultados, maior

CL₅₀ foi necessária (231,65 µL / L) quando comparados com os trabalhos anteriormente citados. A variação toxicológica do óleo de *G. procumbens* usado no manejo de pragas do gênero *Sitophilus*, parece estar relacionada a diferentes níveis de susceptibilidade dos insetos em questão.

O óleo essencial de *P. heptaphyllum* é rico em limoneno e tem na sua composição outros compostos como α-terpineol, α-pineno e p-cimeno, que também foram identificados no óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Chell. (Myrtaceae). O óleo essencial de *M. alternifolia* teve a sua atividade fumigante proporcional ao aumento da concentração utilizada, onde a maior concentração de 11,97 mg / L de ar causou mortalidade de 82,22; 85,56 e 92,04% em *S. zeamais* após 24, 48 e 72h de tratamento com óleo, respectivamente. Ainda nesse trabalho, os valores correspondentes da concentração letal mediana (CL₅₀) foram 8,42; 7,70 e 6,78 mg / L de ar. O óleo de *M. alternifolia* inibiu significativamente importantes enzimas como acetilcolinesterase (AChE), glutationa S-transferase (GST) e carboxilesterase (CarE) (LIAO et al., 2016). O óleo de *P. heptaphyllum* e o composto limoneno foram tóxicos a *C. maculatus* por fumigação (RODRIGUES, 2018). Compostos como α-terpineol, α-pineno, limoneno e p-cimeno podem ser possíveis fatores de mortalidade do óleo essencial de *P. heptaphyllum*, já que são capazes de interferir em importantes grupos de enzimas que estão ligadas diretamente ao mecanismo inseticida dos produtos aqui testados.

O α-pineno mostrou maior inclinação (10,25 ± 1,38), evidenciando que pequenos incrementos na concentração garantem altas respostas de mortalidade, porém os demais produtos mostraram uma leve variação na inclinação de 4,05 a 6,24, indicando diferença toxicológica entre os produtos testados (Tabela 3). O composto α-pineno (67,03%) é o principal em *J. communis* (Tabela1). Quando testado individualmente, causou maior efeito fumigante em *S. zeamais*, portanto apresenta menor concentração letal em relação à mistura de compostos no óleo essencial de *J. communis*, logo α-pineno é o responsável pela mortalidade causada por *J. communis* (Tabela 3).

A atividade inseticida de α-pineno aumentou proporcional ao aumento da concentração e dos tempos de exposição sobre *S. zeamais*, causando 6,06;

17,17 e 49,49% de mortalidade na concentração 30 μ l / L após 48, 72 e 96h, respectivamente (YILDIRIM; EMSEN; KORDALI, 2013).

Tabela 3 Toxicidade por fumigação de óleos essenciais e α -pineno em adultos de *Sitophilus zeamais*.

| Tratamento | N | GL | Inclinação \pm EP | CL ₅₀ (IC)* | RT ₅₀ | CL ₉₅ (CI)* | RT ₉₅ | χ^2 | P ¹ |
|------------------------------|-----|----|---------------------|-----------------------------|------------------|-----------------------------|------------------|----------|----------------|
| <i>Gaultheria procumbens</i> | 560 | 5 | 4,05 \pm 0,28 | 231,65 (219,53 – 252,45) | 2,63 | 589,05 (525,72 – 677,40) | 1,95 | 7,95 | 0,15 |
| <i>Protium heptaphyllum</i> | 320 | 2 | 6,24 \pm 0,98 | 280,29 (188,67 – 353,23) | 2,18 | 514,27 (393,07 – 1625) | 2,23 | 5,13 | 0,07 |
| <i>Protium pallidum</i> | 560 | 5 | 5,98 \pm 0,43 | 611,09 (583,22 – 640,70) | - | 1150 (1049 – 1297) | - | 9,00 | 0,10 |
| <i>Juniperus communis</i> | 480 | 4 | 4,91 \pm 0,44 | 493,38 (464,54 – 526,03) | 1,23 | 1067 (929,30 – 1294) | 1,07 | 3,59 | 0,46 |
| α -pineno | 320 | 2 | 10,25 \pm 1,38 | 407,19 (392,18 – 422,97) | 1,50 | 589,74 (541,79 – 679,26) | 1,95 | 1,70 | 0,42 |

* μ L / L de ar; GL: grau de liberdade, N = número de insetos usados no teste, GL = grau de liberdade, EP = erro padrão da média, IC = intervalo de confiança, RT = razão de toxicidade, χ^2 = Qui-quadrado e 1 = Valor de probabilidade para o modelo de Probit ($P > 0,05$).

3.5 Avaliação da persistência de óleos essenciais e α -pineno em sementes de milho armazenadas

Houve interação significativa entre os fatores (tempos de armazenamento e tratamentos) ($P < 0,05$). O óleo de *G. procumbens* foi o mais persistente, causando 100% de mortalidade, independentemente do período de armazenamento, apontando assim, que o efeito inseticida pode durar até 71 dias se o armazenamento ocorrer nas mesmas condições prevista na metodologia posposta (Tabela 4). Entretanto, o óleo de *J. communis* causou 100% de mortalidade somente até o quinto dia de armazenamento. A partir do 38º dia o efeito inseticida decresceu, chegando a causar cerca de 30% de mortalidade aos 71 dias no inseto-alvo, mostrando que o efeito residual diminui com o passar do tempo. O composto, α -pineno, foi o que menos causou mortalidade, mesmo no primeiro tempo de avaliação (5 dias), logo esse apresenta baixa persistência (Tabela 4).

Tabela 4 Toxicidade percentual de óleos essenciais e α -pineno sobre *Sitophilus zeamais* após diferentes períodos de armazenamento das sementes tratadas.

| Tratamento | $\mu\text{L}/20\text{g}^1$ | -----Período de armazenamento (Dias)----- | | | | |
|------------------------------|----------------------------|---|---------|----------|----------|----------|
| | | 5 | 38 | 46 | 56 | 71 |
| Testemunha | 0,0 | 0,0 cA | 0,0 dA | 0,0 dA | 0,0 cA | 0,0dA |
| <i>Gaultheria procumbens</i> | 116,79 | 100,0 aA | 98,3 aA | 100,0 aA | 100,0 aA | 100,0 aA |
| <i>Juniperus communis</i> | 144,99 | 100,0 aA | 65,0 bB | 63,3 bB | 46,6 bC | 30,0 bD |
| α -pineno | 71,74 | 16,6 bB | 15,0 cB | 41,6 cA | 38,3 bA | 16,6 cB |

1-Concentrações; Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente na coluna (minúscula) e na linha (maiúscula) pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

A persistência de um determinado óleo essencial ou composto isolado, está diretamente ligada às propriedades físico-químicos inerentes de cada um. Geralmente, os óleos essenciais têm baixa persistência, porém diversas pesquisas têm identificado controvérsias para esta característica. Os óleos essenciais de *Clausena anisata* (Willd.) Hook. f. ex Benth (Rutaceae) e *Plectranthus glandulosus* Hook. f. (Lamiaceae) causaram mortalidade de 100% em *S. zeamais* até o quarto dia após a exposição via fumigação, porém essa estabilidade foi perdida e decresceu significativamente até o vigésimo dia (GOUDOUM et al., 2013). O óleo essencial de *Croton pulegioidorus* Baill

(Euphorbiaceae), apresentou efeito residual nas concentrações letais (CL₅₀ e CL₉₀) encontradas para cada população de *S. zeamais*, uma vez que afetou a emergência desse inseto, mesmo após 60 dias de armazenamento de grãos de milho tratados (SANTOS et al., 2019). O efeito residual de óleos essenciais de *Piper hispidinervum*, *Melaleuca leucadendron* L. (Myrtaceae), *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae), *Schinus terebinthifolius* Raddi. (Anacardiaceae) e *Piper marginatum* Jacq. (Piperaceae) e o composto eugenol, também foram avaliados através da simulação de diferentes tempos de armazenamento (0, 30, 60, 90 e 120 dias) e observaram que esses causavam mortalidade 93 a 100% a *S. zeamais* no período inicial, porém a partir dos 30 dias, as mortalidades decresceram, com exceção de *P. marginatum* (92,2% aos 90 dias), que alcançou 53,1% de mortalidade aos 120 dias de armazenamento, sendo esse o mais persistente (COITINHO et al., 2010). Sendo basicamente composto por um éster (Salicilato de metila) o óleo de *G. procumbens* persistiu mais devido a sua composição ser diferente das que normalmente são encontradas nos óleos essenciais.

G. procumbens persistiu melhor devido a sua composição ser diferente dos óleos normalmente encontrados, entretanto diversos óleos essenciais possuem elevada volatilidade, sendo essa uma das principais características desses compostos. A atividade inseticida de *J. communis* diminuiu rapidamente, porque seus compostos são moléculas vegetais pertencentes a grupos de monoterpenos, sesquiterpenos, que são voláteis por sua fotolabilidade (REGNAULT-ROGER; PHILOGENE; VINCENT, 2002). Além disso, a deterioração rápida de hidrocarbonetos monoterpenos, como o sabineno, 1,8 cineol e α -pineno, assim como os compostos alcoólicos, são devidos a uma alta velocidade de oxidação desses óleos essenciais (KIM et al., 2003; KIM; KIM, AHN, 2003), justificando a baixa persistência do α -pineno nos nossos resultados.

3.6 Avaliação do efeito de óleos essenciais e α -pineno sobre a germinação da semente de milho

Houve interação significativa entre os fatores (tempos de armazenamento e tratamentos) ($P < 0,05$). O óleo de *G. procumbens* diminuiu o percentual de germinação, ($P < 0,05$) atrasou a velocidade da germinação das

sementes de milho ($P<0,05$), diminuiu o peso da massa fresca ($P<0,05$) quando comparados com o tratamento controle, indicando perda de viabilidade e vigor. Apesar das diferenças de significância, o óleo essencial de *J. communis* e o composto α -pineno não interferiram na viabilidade das sementes de milho e nem no vigor, já que o percentual de germinação permaneceu acima de 85% e o índice de velocidade de germinação, bem como, o peso da massa fresca não foram afetados quando comparados com a testemunha ($P>0,05$), (Tabela 5).

Tabela 5 Percentual de germinação, índice de velocidade de germinação e peso de massa fresca do milho submetido a diferentes tratamentos após diferentes períodos de armazenamento das sementes tratadas.

| Variável | Tratamento | ---Período de armazenamento (Dias)--- | | | | |
|---------------------------|------------------------------|---------------------------------------|-----------|-----------|----------|----------|
| | | 38 | 46 | 56 | 71 | |
| %G ¹ | Testemunha | 99 aA | 99 aA | 99 aA | 99 aA | |
| | <i>Gaultheria procumbens</i> | 44 bC | 90 bA | 80 bB | 75 bB | |
| | <i>Juniperus communis</i> | 92 aAB | 85 bB | 91 aAB | 97 aA | |
| | α -pineno | 99 aA | 99 aA | 96 aA | 99 aA | |
| | IVG ² | Testemunha | 16,47 aA | 16,47 abA | 16,47 aA | 16,47 aA |
| | <i>Gaultheria procumbens</i> | 7,25 bC | 14,97 bcA | 13,28 bB | 12,47 bB | |
| | <i>Juniperus communis</i> | 15,3 aAB | 14,0 cB | 15,1 aAB | 16,1 aA | |
| | α -pineno | 16,58 aA | 16,56 aA | 16,0 aA | 16,52 aA | |
| | MF ³ | Testemunha | 1,04 aA | 1,04 bA | 1,04 aA | 1,04 aA |
| | | <i>Gaultheria procumbens</i> | 0,87 bB | 1,05 abA | 0,89 bB | 0,90 bB |
| <i>Juniperus communis</i> | | 1,09 aAB | 1,10 abA | 1,01 aB | 1,03 aAB | |
| α -pineno | | 1,10 aA | 1,13 aA | 1,01 aB | 1,09 aAB | |

Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente na coluna (minúscula) e na linha (maiúscula) pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade para cada variável analisada isoladamente; 1: Germinação (%); 2: Índice de velocidade de emergência; Massa fresca em g / plântula.

O óleo de *G. procumbens* utilizados no presente experimento é rico em salicilato de metila e contrário resultados obtidos, esse composto tem sido usado para melhorar a germinação das sementes de arroz e o crescimento das mudas. Anteriormente, diversas variedades de sementes de arroz tratadas com salicilato de metila apresentaram maiores valores de emergência, massa fresca e massa seca em comparação com o controle na maior concentração 100 mg/L de salicilato de metila (KALAIVANI; KALAISELVI; SENTHIL-NATHAN, 2016).

Porém, outro fato importante é que o salicilato de metila pode ser convertido em ácido salicílico pela ação enzimática carboxil metiltransferase, e o papel do ácido salicílico na germinação das sementes tem sido controverso, pois há relatos conflitantes sugerindo que ele pode inibir a germinação ou aumentar o vigor da semente (VICENTE; PLASENCIA, 2011). Por exemplo, a germinação do milho foi completamente inibida por concentrações de ácido salicílico variando de 3 mM a 5 mM (GUAN; SCANDALIOS, 1995) e esse possível efeito está diretamente ligado ao estresse oxidativo pelo aumento dos níveis de peróxido de hidrogênio causado pelo ácido salicílico, bem como pelo aumento das atividade enzimática de Cu, Zn-superóxido dismutase e inativação peróxido de hidrogênio por enzimas degradantes, catalase e ascorbato peroxidase (RAO et al., 1997). Curiosamente, quando baixas concentrações são aplicadas exogenamente, o ácido salicílico melhora significativamente a germinação de sementes de *Arabidopsis* e o estabelecimento de plântulas sob diferentes condições de estresse abiótico (RAJJOU et al., 2006; ALONSO-RAMÍREZ et al., 2009). Possivelmente, a alta concentração de salicilato de metila presente no óleo de *G. procumbens* e a possibilidade de conversão em ácido salicílico, podem ser responsáveis pela perda da qualidade das sementes de milho.

O tempo médio de germinação e a velocidade média de germinação das sementes de milho não foram afetados quando as sementes foram submetidas a diferentes períodos de exposição de óleos de *G. procumbens* e *J. communis* e ao composto α -pineno ($P > 0,05$) (Tabela 6). Embora, a massa seca das sementes de milho não tenha sido afetada após 38 dias da exposição aos produtos ($P > 0,05$), os demais tempos de exposições 46, 56 e 71 dias afetaram o peso de massa seca das plântulas de milho. Porém para *G. procumbens* nos tempos 46, 56 e 71, bem como *J. communis* no tempo 71 não diferiram da testemunha ($P > 0,05$) (Tabela 6).

A variação de fitotoxicidade de *J. communis* para massa seca não foi linear. Os monoterpenos, os principais constituintes dos óleos essenciais, constituem um grupo de compostos com uma gama diversificada de diferentes grupos funcionais, bem como isômeros ópticos de compostos específicos. Esses isômeros podem exibir propriedades diferenciais, inibindo ou não a germinação (ARECO et al., 2014). Possivelmente, a variação observada está

diretamente ligada a fatores como a composição do óleo, concentração e tempo de exposição.

Tabela 6 Tempo médio de germinação, velocidade média de germinação e peso da massa seca do milho submetido a diferentes tratamentos em tempos de armazenamento.

| Variável | Tratamento | ---Período de armazenamento (Dias)--- | | | |
|------------------------|------------------------------|---------------------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| | | 38 | 46 | 56 | 71 |
| TMG¹ | | | | | |
| | Testemunha | 3,00 ^(NS) | 3,005 ^(NS) | 3,005 ^(NS) | 3,005 ^(NS) |
| | <i>Gaultheria procumbens</i> | 3,06 | 3,005 | 3,042 | 3,034 |
| | <i>Juniperus communis</i> | 3,00 | 3,042 | 3,005 | 3,010 |
| | α -pineno | 3,00 | 3,005 | 3,000 | 3,015 |
| | CV | 1,44 | 0,88 | 0,90 | 0,79 |
| VGM² | | | | | |
| | Testemunha | 0,332 ^(NS) | 0,332 ^(NS) | 0,332 ^(NS) | 0,332 ^(NS) |
| | <i>Gaultheria procumbens</i> | 0,326 | 0,332 | 0,328 | 0,329 |
| | <i>Juniperus communis</i> | 0,332 | 0,328 | 0,332 | 0,332 |
| | α -pineno | 0,333 | 0,332 | 0,333 | 0,331 |
| | CV | 1,38 | 0,87 | 0,88 | 0,78 |
| MS³ | | | | | |
| | Testemunha | 0,270 ^(NS) | 0,270 a | 0,270 a | 0,270 ab |
| | <i>Gaultheria procumbens</i> | 0,273 | 0,267 ab | 0,254 ab | 0,285 a |
| | <i>Juniperus communis</i> | 0,262 | 0,253 b | 0,251 b | 0,274 ab |
| | α -pineno | 0,253 | 0,253 b | 0,249 b | 0,268 b |
| | CV | 3,98 | 2,93 | 2,95 | 2,75 |

NS: não significativo. Medias seguidas por letras desiguais na coluna diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ($P < 0,05$). 1: Tempo médio de germinação: em dias; 2: Velocidade média de germinação; 3: Massa seca: em g / plântula.

O uso de óleos essenciais no tratamento de sementes, seja para a proteção de fungos ou de insetos-praga, pode causar efeitos deletérios na germinação por razão do efeito fitotóxico que esses causam, porém existem exceções. Os óleos essenciais de *E. citriodora* e *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh, quando testados para avaliação de atividades antifúngicas, individualmente ou em misturas binárias não afetaram a germinação (>85%) de sementes de milho proveniente do lote Avaré, porém o óleo essencial de *E. citriodora* foi prejudicial ao lote Bernardino por apresentar percentual de germinação de 72%, impedindo a utilização desse para o tratamento de semente, segundo o padrão normatizado (de 85%) pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (DOMENE et al., 2016). Óleos essenciais de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* L.) (Myrtaceae) e de vatica (*Vatica diospyroides* Symington) (Dipterocarpaceae) tiveram suas atividades

antifúngicas e alelopática investigadas após serem usados para proteger sementes de milho armazenado, e concluíram que a atividade alelopática é dependente da concentração na germinação do milho, comprimento do caule e comprimento da raiz, sendo o óleo de vatica mais fitotóxico do que o óleo de cravo (BOUKAEW et al., 2017). Com exceção do óleo de *G. procumbens*, os dados de percentual médio de germinação nos dizem que nem os demais produtos e nem os tempos de armazenamento são capazes de interferir na viabilidade das sementes de milho, podendo estes serem usados no manejo de *S. zeamais*, sem que haja efeitos indesejáveis.

Alguns óleos podem não afetar o percentual de germinação, porém podem afetar outras variáveis como tempo médio de germinação, velocidade de germinação e peso da massa de plântulas, dentre outras variáveis que podem sinalizar a perda de vigor de lotes de sementes. Sementes de milho tratadas com óleos essenciais das espécies *Croton heliotropiifolius* Kunth. (Euphorbiaceae), *C. pulegioides* e *Ocimum basilicum* não tiveram o seu percentual de germinação afetado, porém IVE (Índice de velocidade de emergência) e CVE (Coeficiente de velocidade de emergência) obtida para após tratamento com o óleo de *O. basilicum* diferiu dos demais tratamentos para mais (MAGALHAES et al., 2014). Dados esses, corroboram aos observados no presente trabalho.

O óleo essencial de *J. communis* que tem o monoterpene α -pineno como componente majoritário, bem como esse composto testado, no presente trabalho não afetou o percentual de germinação, IVG, peso de massa fresca, TMG e VMG. Resultados parecidos foram encontrados quando sementes de milho foram tratadas com estereoisômeros de α -pineno sem que houvesse alteração no vigor das sementes baseado na velocidade de germinação quando comparado ao controle (ARECO, et al., 2014). A não interferência em variáveis como o percentual de germinação, IVG, peso de massa fresca, TMG e VMG é a devido baixa persistência do óleo *J. communis* e do monoterpene α -pineno, bem como sua maior volatilidade, quando comparado ao óleo de *G. procumbens*.

Resumidamente, o óleo de *J. communis*, exceto no tempo 46 e o composto α -pineno não afetam a viabilidade e o vigor de sementes de milho, porém o óleo de *G. procumbens* foi fitotóxico à germinação do milho.

Conclusivamente, todos os óleos apresentaram efeito letal e subletal sobre *S. zeamais* via contato, e o composto α -pineno presente no óleo essencial de *J. communis* possivelmente é o causador de mortalidade nesse óleo, pois apresentou CL₃₀, CL₅₀ e CL₉₅ com concentrações menores do que as determinadas para o óleo. Todos os produtos aqui testados são potenciais inseticidas fumigantes e podem ser usados no manejo de *S. zeamais* em condições de armazenamento. A persistência da atividade inseticida dos óleos essenciais, em especial *G. procumbens* e de α -pineno são importantes para o controle de *S. zeamais* em milho armazenado, uma vez que essas informações contribuem para a determinação do intervalo mínimo necessário para recomendar a aplicação deste inseticida natural. O óleo de *J. communis* e o composto α -pineno quando usado em concentração letal para manejo de *S. zeamais* não influenciam na germinação e no vigor de sementes de milho.

4 CONCLUSÕES

- Os óleos de *G. procumbens*, *J. communis*, *P. heptaphyllum* e *P. pallidum*, assim como o composto α -pineno, são tóxicos a *S. zeamais* por contato e fumigação.
- Os óleos de *G. procumbens*, *J. communis*, *P. heptaphyllum* e *P. pallidum* e α -pineno possuem efeito subletal de repelência sobre *S. zeamais*.
- O tratamento de sementes à base de óleo essencial de *J. communis* e o composto α -pineno não afetam o percentual de germinação, o índice de velocidade de germinação e o peso da massa fresca de plântulas, exceto no tempo 46.
- Sementes de milho tratadas com óleo de *G. procumbens* têm a germinação afetada, a velocidade de germinação atrasada e o peso da massa fresca de plântulas diminuída;
- Os óleos de *G. procumbens*, *J. communis* e o composto α -pineno não afetam tempo médio de germinação, e nem a velocidade média de germinação.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, R. P. Identification of essential oil components by gas chromatography quadrupole mass spectroscopy. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, v. 16, p. 1902-1903, 2005.

ALBINO, R. C.; OLIVEIRA, P. C; PROSDOCIMI, F; SILVA, O. F; BIZZO, H. R; GAMA, P. E; SAKURAGUI, C. M; FURTADO, C; OLIVEIRA, D. R Oxidation of monoterpenes in *Protium heptaphyllum* oleoresins. **Phytochemistry**, v. 136, p. 141-146, 2017.

ALONSO-RAMIREZ, T. H. E; RODRIGUEZ, D; KINGS, D; JIMENEZ, A. N. D; NICHOLAS, G; LÓPEZ-CLIMENT, M; GOMEZ-CADENAS, T. H. E; NICHOLAS, C. Evidence for a role of gibberellins in salicylic acid-modulated early plant responses to abiotic stress in Arabidopsis seeds. **Plant Physiology**, v. 150, n. 3, p. 1335-1344, 2009.

ANJANA, A; SONE, L. A.; GUPTA, K. C. Natural products as protectants of pulse beetles. **Bulletin of Grain Technology**, v. 26, p. 154-164, 1988.

ANJOS, T. O; SILVA, S. H. C. N; PEREIRA, S. F. M; SOUSA, E. M; MORAES, A. A. B; NASCIMENTO, L. D; CASCAES, M. M; PINHEIRO, R. O; ANDRADE, E. H. A. avaliação do rendimento e composição química do óleo essencial de *Protium pallidum* Cuatrec. (Burseraceae) por hidrodestilação e arraste a vapor. **58º CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA**, ISBN 978-85-85905-23-1, 2018, disponível em <http://www.abq.org.br/cbq/2018/trabalhos/7/2050-26916.html> acessado em 18/01/2020, às 21:13.

ARECO, V. A; FIGUEROA, S; COSA, M. T; DAMBOLENA, J. S; ZYGADLO, J. A; ZUNINO, M. P. Effect of pinene isomers on germination and growth of maize. **Biochemical systematics and ecology**, v. 55, p. 27-33, 2014.

BARRA, A. Factors affecting chemical variability of essential oils: a review of recent developments. **Natural product communications**, v. 4, n. 8, p. 1934578X0900400827, 2009.

BETT, P. K; DENG, A. L; OGENDO, J. O; KARIUKI, S. T; KAMATENESI-MUGISHA, M; MIHALE, J. M; TORTO, B. Residual contact toxicity and repellence of *Cupressus lusitanica* Miller and *Eucalyptus saligna* Smith essential oils against major stored product insect pests. **Industrial crops and products**, v. 110, p. 65-74, 2017.

BOUGHERRA, H. H; BEDINI, S; FLAMINI, G; COSCI, F; BELHAMEL, K; CONTI, B. *Pistacia lentiscus* essential oil has repellent effect against three major insect pests of pasta. **Industrial Crops and Products**, v. 63, p. 249-255, 2015.

BOUKAEW, S; PRASERTSAN, P; SATTAYASAMITSATHIT, S. Evaluation of antifungal activity of essential oils against aflatoxigenic *Aspergillus flavus* and their allelopathic activity from fumigation to protect maize seeds during storage. **Industrial crops and products**, v. 97, p. 558-566, 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. 1 ed. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 399p.

BRUNETON, J. **Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants**. Lavoisier Tec & Doc, Paris, France, 2nd edition, 1999.

CAMPOLO, O., GIUNTI, G., RUSSO, A., PALMERI, V., ZAPPALÀ, L. Essential oils in stored product insect pest control. **Journal of Food Quality**, v. 2018, 2018.

CAO, J; PANG, X; GUO, S; WANG, Y; GENG, Z; SANG, Y; GUO, P; DU, S. Pinene-rich essential oils from *Haplophyllum dauricum* (L.) G. Don display anti-insect activity on two stored-product insects. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 140, p. 1-8, 2019.

CARDIET, G; FUZEAU, B; BARREAU, C; FLEURAT-LESSARD, F. Contact and fumigant toxicity of some essential oil constituents against a grain insect pest *Sitophilus oryzae* and two fungi, *Aspergillus westerdijkiae* and *Fusarium graminearum*. **Journal of Pest Science**, v. 85, n. 3, p. 351-358, 2012.

CHAUBEY, M. K. Fumigant toxicity of essential oils and pure compounds against *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae). **Biological agriculture & horticulture**, v. 28, n. 2, p. 111-119, 2012.

COITINHO, R. L. B. C; OLIVEIRA, J. V; JÚNIOR, M. G. C. G; CÂMARA, C. A. G. Persistência de óleos essenciais em milho armazenado, submetido à infestação de gorgulho do milho. **Ciência Rural**, v. 40, n. 7, p. 1492-1496, 2010.

CAMPOLO, O; GIUNTI, G; RUSSO, A; PALMERI, V; ZAPPALA, L. Essential oils in stored product insect pest control. **Journal of Food Quality**, v. 2018, 2018.

COSTA, E. C. C; CHRISTOFOLI, M; SOUSA COSTA, G. C; PEIXOTO, M. F; FERNANDES, J. B; FORIM, M. R; PEREIRA, K. C; SILVA, F. G; CAZAL, C. M. Essential oil repellent action of plants of the genus *Zanthoxylum* against *Bemisia tabaci* biotype B (Homoptera: Aleyrodidae). **Scientia Horticulturae**, v. 226, p. 327-332, 2017.

CRAVEIRO, A. A. **Óleos essenciais de plantas do nordeste**. Fortaleza: UFC-Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, 1981. 210 p.

DOMENE, M. P. GLÓRIA, E. M; BIAGI, J. D; BENEDETTI, B. C; MARTINS, L. Efeito do tratamento com óleos essenciais sobre a qualidade fisiológica e sanitária das sementes de milho (*Zea mays*). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 83, e0072014, 2016.

FALASCA, A; CAPRARI, C; FELICE, V; FORTINI, P; SAVIANO, G; ZOLLO, F; IORIZZI, M. GC-MS analysis of the essential oils of *Juniperus communis* L. berries growing wild in the Molise region: Seasonal variability and in vitro antifungal activity. **Biochemical systematics and ecology**, v. 69, p. 166-175, 2016.

GOUDOUM, A; TINKEU, L. S. N; NGASSOUM, M. B; MBOFUNG, C. M. Persistence of active compounds of essential oils of *Clausena anisata* (Rutaceae) and *Plectranthus glandulosus* (Labiatae) used as insecticides on maize grains and flour. **African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development**, v. 13, n. 1, p. 7325-7338, 2013.

GRANDA, E; SCOFFONI, C; RUBIO-CASAL, A. E; SACK, L; VALLADARES, F. Leaf and stem physiological responses to summer and winter extremes of woody species across temperate ecosystems. **Oikos**, v. 123, n. 11, p. 1281-1290, 2014.

GUAN, L; SCANDALIOS, J. G. Developmentally related responses of maize catalase genes to salicylic acid. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 92, n. 13, p. 5930-5934, 1995.

HASHEMI, S. M; ROSTAEFAR, Ali. Insecticidal Activity of Essential Oil from *Juniperus communis* L. subsp. *hemisphaerica* (Presl) Nyman against Two Stored Product Beetles. **Ecologia Balkanica**, v. 6, n. 1, 2014.

JAYAKUMAR, M; ARIVOLI, S; RAVEEN, R; TENNYSON, S. Repellent activity and fumigant toxicity of a few plant oils against the adult rice weevil *Sitophilus oryzae* Linnaeus 1763 (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 5, n. 2, p. 324-335, 2017.

KALAIVANI, K; KALAISELVI, M. M; SENTHIL-NATHAN, S. Effect of methyl salicylate (MeSA), an elicitor on growth, physiology and pathology of resistant and susceptible rice varieties. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 1-11, 2016.

KIM, E; KIM, H; AHN, Y. Acaricidal activity of clove bud oil compounds against *Dermatophagoides farinae* and *Dermatophagoides pteronyssinus* (Acari: Pyroglyphidae). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 4, p. 885-889, 2003.

KIM, S. I; ROH, J. Y; KIM, D. H; LEE, H. S; AHN, Y. J. Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. **Journal of Stored products research**, v. 39, n. 3, p. 293-303, 2003.

KIM, S. I; ROH, J. Y; KIM, D. H; LEE, H. S; AHN, Y. J. Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. **Journal of Stored products research**, v. 39, n. 3, p. 293-303, 2003.

KIM, S; LEE, D. Toxicity of basil and orange essential oils and their components against two coleopteran stored products insect pests. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 17, n. 1, p. 13-17, 2014.

KIRAN, S.; PRAKASH, B. Assessment of Toxicity, Antifeedant Activity, and Biochemical Responses in Stored-Grain Insects Exposed to Lethal and Sublethal Doses of *Gaultheria procumbens* L. Essential Oil. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 63, n. 48, p. 10518-10524, 2015.

KOSCHIER, E. H; HOFFMANN, D; RIEFLER, J. Influence of salicylaldehyde and methyl salicylate on post-landing behaviour of *Frankliniella occidentalis* Pergande. **Journal of applied entomology**, v. 131, n. 5, p. 362-367, 2007.

LEE, S. E; LEE, B. H; CHOI, W. S; PARK, B. S; KIM, J. G; CAMPBELL, B. C. Fumigant toxicity of volatile natural products from Korean spices and medicinal plants towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L). **Pest Management Science: formerly Pesticide Science**, v. 57, n. 6, p. 548-553, 2001.

LIAO, M; XIAO, J; ZHOU, L; LIU, Y; WU, X; HUA, R; WANG, G; CAO, H. Insecticidal activity of *Melaleuca alternifolia* essential oil and RNA-Seq analysis of *Sitophilus zeamais* transcriptome in response to oil fumigation. **PLoS one**, v. 11, n. 12, p. e0167748, 2016.

LIMA, E. M; CAZELLI, D. S. P; PINTO, F. E; MAZUCO, R. A; KALIL, I. C; LENZ, D; SCHERER R; ANDRADE, T. U; ENDRINGER, D. C. Essential oil from the resin of *Protium heptaphyllum*: Chemical composition, cytotoxicity, antimicrobial activity, and antimutagenicity. **Pharmacognosy magazine**, v. 12, n. Suppl 1, p. S42, 2016.

LÓPEZ, M. D.; PASCUAL-VILLALOBOS, M. J. Mode of inhibition of acetylcholinesterase by monoterpenoids and implications for pest control. **Industrial Crops and Products**, v. 31, n. 2, p. 284-288, 2010.

MAGALHÃES, C. R. I; BRITO, S. S. S. MAGALHÃES, T. A. FERRAZ, M. S. S; OLIVEIRA, C. R. F. Óleos essenciais na emergência de grãos de milho (*Zea mays* L.). **Enciclopédia Biosfera**, v. 10, n. 19, p. 228-349, 2014.

MAGUIRE, J. D. **Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor**. Crop Science, Madison, v. 2, n. 1, jan./feb. 1962. 176-177p.

MARQUES, D. D; SARTORI, R. A; LEMOS, T. L. G; MACHADO, L. L; SOUZA, J. S. N. D; MONTE, F. J. Q. Chemical composition of the essential oils from two subspecies of *Protium heptaphyllum*. **Acta Amazonica**, v. 40, n. 1, p. 227-230, 2010.

MATHUR, Y. K.; SHANKER, K.; RAM, Salik. Evaluation of some grain protectants against *Callosobruchus chinensis* Linn. on black gram. **Bulletin of Grain technology**, v. 23, n. 3, p. 253-259, 1985.

MOBIN, M; LIMA, S. G; ALMEIDA, L. T. G; TAKAHASHI, J. P; TELES, J. B; SZESZS, M. W; MARTINS, M. A; CARVALHO, A. A; MELHEM, M. S. C. Análise de MDGC-MS de óleos essenciais de *Protium heptaphyllum* (Aubl.) e sua atividade antifúngica contra a espécie *Candida*. **Revista brasileira de plantas medicinais** vol.18, n.2, pp.531-538, 2016.

MOSHI, A. P.; MATOJU, I. The status of research on and application of biopesticides in Tanzania. Review. **Crop Protection**, v. 92, p. 16-28, 2017.

NAYAK, M. K., COLLINS, P. J., THRONE, J. E., WANG, J. J. Biology and management of psocids infesting stored products. **Annual Review of Entomology**, v. 59, p. 279-297, 2014.

NERIO, L. S.; OLIVERO-VERBEL, J; STASHENKO, E. E. Repellent activity of essential oils from seven aromatic plants grown in Colombia against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera). **Journal of Stored Products Research**, v. 45, n. 3, p. 212-214, 2009.

NIKOLIĆ, M. MARKOVIĆ, T; MOJOVIĆ, M; PEJIN, B; SAVIĆ, A; PERIĆ, T; MARKOVIĆ, D; STEVIĆ, T; SOKOVIĆ, M. Chemical composition and biological activity of *Gaultheria procumbens* L. essential oil. **Industrial crops and products**, v. 49, p. 561-567, 2013.

OLIVEIRA, C. M., AUAD, A. M., MENDES, S. M., FRIZZAS, M. R. Crop losses and the economic impact of insect pests on Brazilian agriculture. **Crop Protection**, v. 56, p. 50-54, 2014.

PAVELA, R. Essential oils for the development of eco-friendly mosquito larvicides: a review. **Industrial crops and products**, v. 76, p. 174-187, 2015.

PRAVEENA, A; SANJAYAN, K. P. Inhibition of acetylcholinesterase in three insects of economic importance by linalool, a monoterpene phytochemical. **Insect Pest Management, A Current Scenario**, p. 340-345, 2011.

PONTES, W. J. T; OLIVEIRA, J. C. G. D; CÂMARA, C. A. G. D; LOPES, A. C; GONDIM JÚNIOR, M. G. C; OLIVEIRA, J. V. D; SCHWARTZ, M. O. E. Chemical composition and acaricidal activity of the leaf and fruit essential oils of *Protium heptaphyllum* (Aubl.) Marchand (Burseraceae). **Acta Amazonica**, v. 37, n. 1, p. 103-109, 2007.

RAJABPOUR, A; MASHAHDI, A. R. A; GHORBANI, M. R. Chemical compositions of leaf extracts from *Conocarpus erectus* L.(Combretaceae) and their bioactivities against *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae). **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 22, n. 1, p. 333-337, 2019.

RAJKUMAR, V; GUNASEKARAN, C; CHRISTY, I. K; DHARMARAJ, J; CHINNARAJ, P; PAUL, C. A. Toxicity, antifeedant and biochemical efficacy of *Mentha piperita* L. essential oil and their major constituents against stored grain pest. **Pesticide biochemistry and physiology**, v. 156, p. 138-144, 2019.

RAO, M. V; PALIYATH, G; ORMROD, D. P; MURR, D. P; WATKINS, C. B. Influence of salicylic acid on H₂O₂ production, oxidative stress, and H₂O₂-metabolizing enzymes (salicylic acid-mediated oxidative damage requires H₂O₂). **Plant Physiology**, v. 115, n. 1, p. 137-149, 1997.

RAJJOU, L; BELGHAZI, M; HUGUET, R; ROBIN, C; MOREAU, A; JOB, C; JOB, D. Proteomic investigation of the effect of salicylic acid on Arabidopsis seed germination and establishment of early defense mechanisms. **Plant physiology**, v. 141, n. 3, p. 910-923, 2006.

REGNAULT-ROGER, C; PHILOGÈNE, B. J; VINCENT, C. **Biopesticides d'origines végétales**. Paris, v. 337, 2002.

RIBEIRO, J.P.N.; LIMA, M.I.S. Allelopathic effects of orange (*Citrus sinensis* L.) peel essential oil. **Acta Botanica Brasilica**, v.26, n.1, p.256-259, 2012.

RICE, P. J; COATS, J. R. Insecticidal properties of monoterpenoid derivatives to the house fly (Diptera: Muscidae) and red flour beetle (Coleoptera: Tenebrionidae). **Pesticide Science**, v. 41, n. 3, p. 195-202, 1994.

RODRIGUES, R.M. B. A. **Bioatividade do óleo essencial de *Protium heptaphyllum* (aubi.) e Limoneno no controle de *Callosobruchus maculatus***. 2018, 48f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal do Piauí, Programa de Pós-graduação em Agronomia. 2018.

SAAD, M. M. G; ABOU-TALEB, H. K; ABDELGALEIL, S. A. M. Insecticidal activities of monoterpenes and phenylpropenes against *Sitophilus oryzae* and their inhibitory effects on acetylcholinesterase and adenosine triphosphatases. **Applied entomology and zoology**, v. 53, n. 2, p. 173-181, 2018.

SAS INSTITUTE. SAS/STAT User's guide, version 8.02, TS level 2MO. **SAS Institute** Inc., Cary, NC.1999-2001.

SCHOONHOVEN, A. V. Use of vegetable oils to protect stored beans from bruchid attack. **Journal of Economic Entomology**, v. 71, n. 2, p. 254-256, 1978.

SHAFIAIE, F; ARAMIDEH, S. H. A. H. R. A. M; VALIZADEGAN, O. R. U. J; SAFARALIZADEH, M. H; HOSSEINI-GHARALARI, A. Efficacy of Herbal Essential Oils against Cowpea Weevil, *Callosobruchus maculatus* Fabricus, and Wheat Weevil, *Sitophilus granarius* L. **Oriental Journal of Chemistry**, v. 35, n. 3, p. 1174, 2019.

SIANI, A. C; GARRIDO, I. S; MONTEIRO, S. S; CARVALHO, E. S; RAMOS, M. F. *Protium icicariba* as a source of volatile essences. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 32, n. 5, p. 477-489, 2004.

SILVA, J. R. D. A; ZOGHBI, M. D. G; PINTO, A. D. C; GODOY, R. L; AMARAL, A. C. F. Analysis of the hexane extracts from seven oleoresins of *Protium* species. **Journal of Essential Oil Research**, v. 21, n. 4, p. 305-308, 2009.

SILVA, E. A. J; ESTEVAM, E. B. B; SILVA, T. S; NICOLELLA, H. D; FURTADO, R. A; ALVES, C. C. F; MIRANDA, M. L. D. Antibacterial and antiproliferative activities of the fresh leaf essential oil of *Psidium guajava* L.(Myrtaceae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 79, n. 4, p. 697-702, 2019.

SMITH, S. E; BARKER, S. J; ZHU, Y. Fast moves in arbuscular mycorrhizal symbiotic signalling. **Trends in plant science**, v. 11, n. 8, p. 369-371, 2006.

SOUJANYA, P. L., SEKHAR, J. C., KUMAR, P., SUNIL, N., PRASAD, C. V., MALLAVADHANI, U. V. Potentiality of botanical agents for the management of post harvest insects of maize: a review. **Journal of food science and technology**, v. 53, n. 5, p. 2169-2184, 2016.

- SOUZA, S. P. D; VALVERDE, S. S; SILVA, R. L; LIMA, K. D. S. C; LIMA, A. L. D. S. Óleos essenciais como inibidores da acetilcolinesterase. **Revista Fitos** v. 7, n. 04 - outubro / dezembro 2012.
- SVOBODA, K. P.; GREENAWAY, R. I. Investigation of volatile oil glands of *Satureja hortensis* L.(summer savory) and phytochemical comparison of different varieties. **The International Journal of Aromatherapy**, v. 4, n. 13, p. 196-202, 2003.
- TENUTA, M. C; TUNDIS, R; XIAO, J; LOIZZO, M. R; DUGAY, A; DEGUIN, B. Arbutus species (Ericaceae) as source of valuable bioactive products. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 59, n. 6, p. 864-881, 2019.
- TEFERA, T., DEMISSIE, G., MUGO, S., BEYENE, Y. Yield and agronomic performance of maize hybrids resistant to the maize weevil *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). **Crop Protection**, v. 46, p. 94-99, 2013.
- TISSERAND, R; YOUNG, R. **Essential oil Safety-E-Book: A guide for health care professionals**. Elsevier Health Sciences, 2014. p.5-22.
- VASILJEVIĆ, B; KNEŽEVIĆ-VUKČEVIĆ, J; MITIĆ-ĆULAFIĆ, D; ORČIĆ, D; FRANCIŠKOVIĆ, M; SRDIC-RAJIC, T; JOVANOVIĆA, M; NIKOLIĆ, B. Chemical characterization, antioxidant, genotoxic and in vitro cytotoxic activity assessment of *Juniperus communis* var. saxatilis. **Food and chemical toxicology**, v. 112, p. 118-125, 2018.
- VAN DEN DOLL, H.; KRATZ, P.D.J.A. Generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography**. v. 11, p. 463-471, 1963.
- VICENTE, M. R; PLASENCIA, J. Salicylic acid beyond defence: its role in plant growth and development. **Journal of experimental botany**, v. 62, n. 10, p. 3321-3338, 2011.
- WALTERS, D. **Plant defense: warding off attack by pathogens, herbivores and parasitic plants**. John Wiley & Sons, 2011.
- YAZDGERDIAN, A. R; AKHTAR, Y; ISMAN, M. B. Insecticidal effects of essential oils against woolly beech aphid, *Phyllaphis fagi* (Hemiptera: Aphididae) and rice weevil, *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 3, n. 3, p. 265-271, 2015.
- YILDIRIM, E; EMSEN, B; KORDALI, S. Insecticidal effects of monoterpenes on *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Applied Botany and Food Quality** v. 86, p. 198-204, 2013.
- ZUZARTE, M.; SALGUEIRO, L. Essential oils chemistry. In: **Bioactive essential oils and cancer**. Springer, 2015. p. 19-61.

Capítulo 2: Uso de óleos essenciais e α -pineno no manejo de *Callosobruchus maculatus* (Fabr. 1775) (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae) em condição de armazenamento e seus efeitos sobre a germinação de sementes de feijão-caupi

RESUMO

Callosobruchus maculatus, é a principal praga que infesta o feijão-caupi armazenado. Produtos à base de plantas têm sido sugeridos como fontes promissoras no manejo de *C. maculatus*. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a toxicidade dos óleos essenciais de *Gaultheria procumbens* e *Protium pallidum*, bem como, do composto α -pineno, seguido do efeito repelente dos óleos essenciais das espécies *G. procumbens*, *Juniperus communis*, *Protium heptaphyllum* e *P. pallidum* em concentrações subletais no manejo de *C. maculatus* em feijão-caupi armazenado, bem como avaliar os possíveis efeitos dos tratamentos sobre a germinação de sementes. Foram realizados testes de toxicidade por contato, fumigação, repelência e efeito residual na germinação. As CL_{50} para a toxicidade por contato foram de 0,47 μ L / 20 g para *G. procumbens*; 11,65 μ L / 20 g para *P. pallidum*; 24,43 μ L / 20 g para α -pineno. Todos os produtos diminuíram a oviposição e a emergência de adultos. Para a toxicidade por fumigação as CL_{50} foram de 12,14; 252,34 e 259,40 μ L / L para *G. procumbens*, *P. pallidum* e α -pineno, respectivamente. Os óleos essenciais de *J. communis*, *P. heptaphyllum* e *P. pallidum* e o α -pineno foram repelentes a *C. maculatus*. O número de ovos e de adultos emergidos em sementes de feijão-caupi tratadas com concentrações subletais dos óleos essenciais de *J. communis*, *P. heptaphyllum* e *P. pallidum* e α -pineno foram reduzidos. Os óleos essenciais de *G. procumbens*, *J. communis*, bem como o composto α -pineno não diminuem a germinação e nem o vigor na germinação de sementes de feijão-caupi.

Palavras-chave: Toxicidade, fumigação, deterrência, efeito subletal, qualidade fisiológica

ABSTRACT

Callosobruchus maculatus is the main insect pest of cowpea stored. Herbal products have been suggested as promising sources in the management of *C. maculatus*. Therefore, the objective of this study was to evaluate the toxicity of essential oils of *Gaultheria procumbens* and *Protium pallidum*, as well as the compound α -pinene followed by the repellent effect of the essential oils of the species *G. procumbens*, *Juniperus communis*, *Protium heptaphyllum* and *P. pallidum* in the management of *C. maculatus* in stored cowpea, as well as to evaluate the possible effects of treatments on seed germination. Contact toxicity, fumigation, repellency and residual effect on germination were performed. The LC₅₀ for contact toxicity was 0.47 μ L / 20 g for *G. procumbens*; 11.65 μ L / 20 g for *P. pallidum*; 24.43 μ L / 20 g for α -pinene in the contact test. All products reduced oviposition and the emergence of adults. For fumigation toxicity, the LC₅₀ was 12.14, 252.34, 259.40 μ L / L for *G. procumbens*, *P. pallidum* and α -pinene, respectively. The essential oils of *J. communis*, *P. heptaphyllum* and *P. pallidum* and α -pinene were repellent to *C. maculatus*. The number of eggs and adults emerging in cowpea seeds treated with sublethal concentrations of essential oils of *J. communis*, *P. heptaphyllum* and *P. pallidum* and α -pinene were reduced. The essential oils of *G. procumbens*, *J. communis*, as well as the α -pinene compound do not decrease the germination or the vigor in the germination of cowpea seeds.

Keywords: toxicity, fumigation, deterrence, sublethal effect, physiological quality

Lista de tabelas

| | |
|--|-----|
| Tabela 1 Toxicidade por contato de óleos essenciais e α -pineno em adultos de <i>Callosobruchus maculatus</i> | 99 |
| Tabela 2 Equações para oviposição e emergência de <i>Callosobruchus maculatus</i> após aplicação de produtos..... | 100 |
| Tabela 3 Índice e classificação de preferência para oviposição de <i>Callosobruchus maculatus</i> obtidos em feijão-caupi tratado e não tratado com óleos essenciais e α -pineno..... | 106 |
| Tabela 4 Porcentagem de redução de emergência de adultos de <i>C. maculatus</i> obtidos em feijão-caupi tratado e não tratado com óleos essenciais e α -pineno..... | 108 |
| Tabela 5 Toxicidade por fumigação de óleos essenciais e α -pineno em adultos de <i>Callosobruchus maculatus</i> | 113 |
| Tabela 6 Percentual de germinação, tempo médio de germinação, velocidade média de germinação e massa fresca de plântulas de feijão-caupi submetidos a diferentes tratamentos em tempo de armazenamento..... | 115 |
| Tabela 7 Índice de velocidade de germinação e massa fresca de plântulas de feijão-caupi submetidos a diferentes tratamentos e tempos de armazenamento..... | 116 |

1 INTRODUÇÃO

Vigna unguiculata (L.) (feijão-caupi) é uma leguminosa herbácea comestível de grande importância em diversas regiões do mundo, principalmente nas regiões tropicais e subtropicais do planeta (LOPES et al., 2018), fonte de proteínas, carboidratos, vitaminas e minerais além de possuir grande quantidade de fibras dietéticas e baixa quantidade de gordura (SILVA; FREIRE FILHO, 1999).

Insetos-praga de produtos armazenados são responsáveis por perdas econômicas significativas na indústria de armazenamento (SOUZA et al., 2018), onde mais 600 espécies de coleópteros, causam perdas quantitativas e qualitativas, desafiando os problemas de controle de qualidade nas indústrias de alimentos (YANG et al., 2010). O caruncho, *C. maculatus* é considerada a mais importante entre as principais pragas que atacam o feijão-caupi (MEDEIROS et al., 2017) iniciando sua infestação no campo e ao longo da colheita até o armazenamento (OLIVEIRA et al., 1984).

O dano devido à infestação de insetos é estimado como sendo de 10-40% anualmente (ASRAR et al., 2016). Especificamente em grãos armazenados as perdas devido à infestação de insetos podem variar entre 5-10% e 20-30% ou mais, para zonas temperadas e regiões tropicais/subtropicais, respectivamente (RAJENDRAN; SRIRANJINI, 2008; PHILLIPS; THRONE, 2010). Os impactos econômicos negativos causados por esse inseto estão relacionados à penetração larval e alimentação dentro dos grãos, produzindo significativa perda de peso e redução de valores nutritivos e potencial germinativo (ANDERSON et al., 1990). O método tradicional para controlar a infestação do caruncho do feijão-caupi é baseado em inseticidas fumigantes como a fosfina, mas essa prática tem efeitos negativos na germinação (NIU et al., 2013), além de deixar resíduos que diminuem a qualidade das sementes (PLIMMER, 1977).

Nos últimos anos, pesquisas têm se concentrado em produtos vegetais, incluindo óleos essenciais e seus compostos bioativos, como possíveis alternativas aos inseticidas químicos, que são estudados para efeito anti-alimentar, ação ovicida, repelente e inseticida contra as pragas de grãos armazenados (RAJKUMAR et al., 2019; JAYA; PRAKASH; DUBEY, 2014; KEDIA et al., 2015a; SHUKLA et al., 2011) bem como avaliar o efeito desses produtos sobre a germinação de sementes para a quantificação de vigor (KÉTIA et al., 2001a; KÉTIA et al., 2001b).

Os óleos essenciais e seus principais compostos são considerados substâncias “geralmente reconhecidas como seguras” e podem ser uma alternativa eficaz para o controle de insetos, pois são moléculas que têm menos impacto na saúde humana e são ambientalmente corretas (VIEGAS JUNIOR, 2013). Atuam como toxinas, impedindo a alimentação, sendo repelente, causando deterrência na oviposição ou até mesmo atraindo uma ampla variedade de insetos-praga (SENDI; EBADOLLAHI, 2014). A eficácia dos óleos essenciais e seus constituintes varia de acordo com o extrato da planta e do alvo entomológico (REGNAULT-ROGER; VICENTE; ARNASON, 2012) e a sua atividade inseticida é atribuída principalmente aos seus constituintes complexos e novos modos de ação contra insetos (PROPHIRO et al., 2012).

Os óleos essenciais são constituídos por terpenóides, onde os mais abundantes são os monoterpenos e sesquiterpenos de baixo peso molecular, e em menor quantidade os fenilpropanóides. Os monoterpenos ainda podem ser do tipo hidrocarbonetos (α -pineno), álcoois (mentol, geraniol, linalol, terpinen-4-ol, *p*-mentano-3,8-diol), aldeídos (cuminaldeído), cetonas (tujona), éteres (1,8-cineole) e lactonas (nepetalactona) (REGNAULT-ROGER; VICENTE; ARNASON, 2012).

Existem relatos de que óleo essencial de *Gaultheria procumbens* L. (Ericaceae) (KIRAN; PRAKASH, 2015; YAZDGERDIAN, AKHTAR; ISMAN, 2015), *Juniperus communis* L. (Cupressaceae) (SHAFIIE et al., 2019) e *Protium heptaphyllum* (Aubl.) March. (Burseraceae) (RODRIGUES, 2018), bem como o composto α -pineno (KIM; LEE, 2014; CHAUBEY, 2012b; LEE et al., 2011), são tóxicos a pragas que atacam produtos armazenados como *C. maculatus*, *Sitophilus granarius* L. (Coleoptera: Curculionidae), *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae), *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae) e *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae).

Porém, óleos essenciais usados com finalidades inseticidas, fungicidas ou herbicidas podem causar efeitos secundários em sementes, pois estes têm sido relatados como causadores de diminuição ou do aumento de vigor a depender do estudo (DOMENE et al., 2016; HILLEN et al., 2012; ROSSI et al., 2012; ALVES et al., 2014). O efeito dos óleos essenciais sobre a germinação das sementes parece ser dependente do óleo essencial utilizado e da concentração empregada, podendo este influenciar apenas em um ou mais caracteres avaliados, como percentual de germinação e comprimento de plântula (DOMENE et al., 2016).

Diante desta possibilidade, o objetivo deste trabalho foi avaliar a toxicidade e efeito repelente de α -pineno e dos óleos essenciais das espécies *G. procumbens*, *J. communis*, *P. heptaphyllum* e *Protium pallidum* no manejo de *Callosobruchus maculatus* em feijão-caupi armazenado, bem como avaliar os possíveis efeitos dos tratamentos sobre a germinação de sementes.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos de toxicidade por contato, fumigação e repelência foram desenvolvidos no Laboratório de Entomologia no Centro de Ciências Agrárias - CCA da Universidade Federal do Piauí - UFPI e os testes de germinação de sementes de feijão-caupi foram realizados no Laboratório de Sementes do Colégio Técnico de Teresina – CTT, sob condições controladas de temperatura e umidade relativa.

2.1 *Eliminação da infestação e equilíbrio da umidade dos grãos*

As sementes de feijão-caupi cultivar BR Guariba utilizadas para a criação e experimentos, foram pré-selecionadas e secas, acondicionados em sacos plásticos e mantidos em freezer sob temperatura de -10°C , durante sete dias, para a eliminação de eventuais infestações de insetos provenientes do campo. Após à retirada, as sementes foram transferidas para frascos de vidro e mantidos no laboratório durante 10 dias com a finalidade de atingirem o equilíbrio higroscópico em temperatura $27^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de 60%.

2.2 *Criação de Callosobruchus maculatus*

A criação estoque foi mantida no laboratório de entomologia e multiplicada por diversas gerações em sementes de feijão variedade Fradinho, pertencente ao grupo sempre verde, em recipiente de vidro ou plásticos, com tampa perfurada para permitir as trocas gasosas. Os insetos foram confinados por 48 horas nos recipientes com feijão para efetuarem a oviposição. Após o confinamento as sementes foram peneiradas e os insetos descartados. Os recipientes eram mantidos em sala de criação com temperatura controlada em aproximadamente $27^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $60 \pm 5\%$, até a emergência dos adultos. Tal procedimento foi repetido por sucessivas gerações até se findar a montagem dos experimentos, com a finalidade de garantir a quantidade de adultos necessários para realização dos testes.

2.3 Obtenção dos óleos essenciais e α -pineno

O composto α -pineno com 98% de pureza foi adquirido da empresa Sigma-Aldrich Brasil LTDA e os óleos essenciais de *Gaultheria procumbens* L. (Ericaceae) (Wintergreen) e *Juniperus communis* L. (Cupressaceae) (Zimbro) ambos porveninetes de frutos, foram adquiridos da empresa FERQUIMA® Indústria e Comércio LTDA; já o óleo essencial proveniente da resina de *Protium pallidum* Cuatrec. (Burseraceae) (Breu branco) foi adquirido na empresa Terra Flor Indústria e Comércio de Aromaterápicos LTDA e *Protium heptaphyllum* (Aubl.) March. (Burseraceae) (Almécega) obtido pelo processo de hidrodestilação da resina descrito a seguir:

A resina foi adquirida no comércio local de Teresina – PI, com centro de origem na cidade de Timon-MA. O processo de extração do óleo da resina de *P. heptaphyllum* foi realizado no Laboratório de Química Orgânica localizado no Centro de Ciências da Natureza – CCN, pelo método de hidrodestilação em aparelho do tipo Clevenger modificado (CRAVEIRO,1981; SILVA et al., 2019). Em um balão de fundo redondo, foram utilizados 500 g de resina triturada e 3 litros de água destilada. O processo de extração ocorreu por cerca de 4 h, em temperatura constante para a manutenção da ebulição. Decorrido esse tempo, coletou-se o hidrolato, sendo este particionado em funil de separação para eliminação da fase aquosa e recuperação do óleo essencial. Após a extração, o óleo ficou mantido sob refrigeração em temperatura de -10°C

2.4 Efeito da toxicidade por contato dos óleos essenciais e α -pineno sobre *Callosobruchus maculatus*

Foram utilizadas diferentes concentrações obtidas em testes preliminares para cada produto: óleos essenciais de *G. procumbens* (0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,8; 0,9; 1,0 μ L / 20 g), *P. pallidum* (10; 15; 30 e 35 μ L / 20 g) e o composto químico, α -pineno (10; 30; 40; 50; 60 e 70 μ L / 20 g). Cada unidade experimental foi constituída de 20 g de feijão-caupi, tratados com os produtos individualmente e um controle (sem adição de produto). Estes foram acondicionados em recipientes plásticos de 100 mL com tampa perfurada para permitir as trocas gasosas. Os produtos foram impregnados nas sementes de feijão-caupi por meio de micropipetador automático de volume variável. Em seguida, os recipientes foram submetidos à agitação manual por 1

minuto, para distribuir uniformemente os produtos nas sementes. Após esse processo em cada repetição foram adicionadas 10 fêmeas adultas de *C. maculatus* possuindo de 0-48h de idade. Para cada tratamento foram utilizadas cinco repetições. A avaliação de mortalidade foi realizada 48h após a montagem do experimento, sendo considerado morto o inseto que não respondesse a estímulos mecânicos. O número de ovos foi contabilizado aos 7 dias e os insetos emergidos do 19° ao 25° dia após o confinamento.

2.5 Efeito repelente de óleos essenciais e α -pineno sobre *Callosobruchus maculatus*

Foram utilizadas as CL₁₅, CL₃₀ e CL₅₀ calculadas nos testes de contato, de *G. procumbens*, *P. pallidum* e o α -pineno, a fim de se observar o comportamento do efeito repelente de cada produto nas suas respectivas concentrações. As CLs dos óleos de *J. communis* e de *P. heptaphyllum* foram provenientes de testes realizados por Silva, (2018) e Rodrigues, (2018), respectivamente. Os testes foram conduzidos em arenas formadas por três recipientes plásticos com volume de 100 mL cada. Estes foram alinhados de modo equidistante e interligados por tubos plásticos cilíndricos com 0,6 cm de diâmetro e 10 cm de comprimento. Num dos recipientes laterais foram colocados 20 g de feijão-caupi variedade Guariba, sem o óleo (controle) e na outra a mesma quantidade de feijão-caupi impregnada com a respectiva concentração de cada produto individualmente. As sementes que foram tratadas com produtos passaram pelo mesmo processo de uniformização que no teste de toxicidade por contato. No recipiente central foram liberados dezesseis adultos não sexados de *C. maculatus* com 0-48h de idade para cada repetição. Utilizou-se para cada experimento dois tratamentos (sementes tratadas e controle) e 10 repetições. A quantificação do número de insetos atraídos para cada recipiente foi realizada 24h após a montagem do experimento. O número de ovos foi contabilizado aos 7 dias, e os insetos emergidos do 19° ao 25° dia após o confinamento.

2.6 Teste de toxicidade por fumigação

Foram utilizadas diferentes concentrações para cada produto: óleos essenciais de *G. procumbens* (4; 12; 25 e 30 μ L / L), *P. pallidum* (200; 250; 350 e 400 μ L / L) e o composto químico α -pineno (150; 200; 250; 300; 500 e 600 μ L / L).

Para a avaliação do efeito fumigante dos produtos sobre adultos de *C. maculatus*, foram utilizados recipientes plásticos transparentes de polipropileno com tampa rosqueável, de volume conhecido (100 mL), onde foram colocados 20 indivíduos não sexados com 0-48h de idade para cada repetição. Os produtos foram impregnados com o auxílio de uma micropipeta automática, em tiras de papel de filtro de 5 x 2 cm, fixadas na superfície inferior da tampa dos recipientes. Para evitar o contato direto dos insetos com os produtos, foi utilizado um tecido poroso (voil), entre a tampa e o recipiente propriamente dito. Os recipientes foram vedados com fita adesiva, visando evitar a saída dos vapores. No teste de fumigação, para cada tratamento foram utilizadas quatro repetições. A avaliação de mortalidade no teste foi realizada 48h após a montagem do experimento, sendo considerado morto o inseto que não respondesse a estímulos mecânicos.

2.7 Efeito residual de óleos essenciais e α -pineno na germinação de sementes de feijão-caupi armazenadas

Foram utilizadas as CL₉₅ de *J. communis* (122 μ L / 20 g) (SILVA, 2018) *G. procumbens* (1,68 μ L / 20 g) e α -pineno (57,31 μ L / 20 g) encontradas nos testes de toxicidade por contato para *C. maculatus*, respeitando os mesmos tempos de avaliações observados no teste de persistência, exceto o tempo de 5 dias, a fim de observar se as concentrações encontradas para a proteção de sementes influenciavam na germinação destas. Os testes de germinação foram instalados com 200 sementes com quatro repetições de 50 sementes por tratamento. As sementes foram semeadas sobre papel Germitest previamente umedecidos com água destilada, em quantidade equivalente a 2,5 vezes o seu peso seco, os rolos confeccionados foram acondicionados em sacos plásticos e mantidos em germinador tipo Mangelsdorf mod. Luca-207A à temperatura de 25 °C. As avaliações foram diárias durante 8 dias, considerando a percentagem de plântulas normais (BRASIL, 2009).

As variáveis calculadas foram as seguintes:

Germinação total (G): calculada pela fórmula $G = (N / 200) \times 100$, em que: N = número de sementes germinadas ao final do teste. Unidade: %; Tempo de avaliação final: 8 dias.

Índice de velocidade de germinação (IVG): calculado pela fórmula $IVG = \sum (n_i / t_i)$, em que: n_i = número de sementes que germinaram no tempo 'i'; t_i = dias após instalação do teste; $i = 1 \rightarrow 8$ dias. Unidade: adimensional (MAGUIRE, 1962);

Tempo médio de germinação (TMG): calculado pela fórmula $TMG = (\sum n_i t_i) / \sum n_i$, em que: n_i = número de sementes germinadas por dia; t_i = tempo de incubação; Unidade: dias.

Velocidade média de germinação (VMG): calculada pela fórmula $VMG = 1/t$ em que: t = tempo médio de germinação. Unidade: dias.

Massa fresca e seca de plântula: Todas as plântulas normais (que apresentavam protusão do primeiro folíolo), provenientes do teste de germinação, foram pesadas para a obtenção do peso médio fresco. Já para a obtenção do peso seco, as plântulas foram acondicionadas em sacos de papel e levadas à estufa termoelétrica de circulação forçada de ar a $80 \pm 2^\circ\text{C}$, por 48 h para secagem. As massas foram determinadas em balança de precisão 0,001 g, e os resultados foram expressos em gramas por plântula avaliada (g / plântula).

2.8 *Análise estatística e delineamento experimental*

Em todos os testes o delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, onde o número de tratamentos variou conforme as concentrações utilizadas.

Para o teste de contato, as concentrações necessárias para matar 15, 30, 50 e 95% da população (CL_{15} , CL_{30} , CL_{50} e CL_{95}) dos óleos e α -pineno foram calculadas pelo PROC PROBIT. As razões de toxicidade (RT) foram obtidas individualmente para cada CL, através do quociente entre a CL_{15} , CL_{30} , CL_{50} e CL_{95} do produto que apresentou menor toxicidade (maior concentração) pelas CL_{15} , CL_{30} , CL_{50} e CL_{95} dos produtos restantes. As médias de números de ovos e de insetos emergidos foram transformadas em $\log(x)$ para atenderem aos pressupostos da ANOVA e quando significativos, estes foram submetidos à análise de regressão para sua interpretação e selecionadas as equações com base na sua significância e maior coeficiente de determinação (r^2). Assim como descrito anteriormente para contato, as mesmas avaliações foram feitas para fumigação, porém apenas para CL_{50} e CL_{95} e suas respectivas razões de toxicidade.

Já para repelência, o número de insetos atraídos para cada recipiente foi comparado usando o Proc FREQ e interpretado pelo teste de Qui-quadrado

($P < 0,05$). O número de ovos contabilizados nas testemunhas e no tratamento foi utilizado para calcular o índice de preferência para oviposição (IPO) por meio da expressão $IPO = [(T-P)/(T+P)] \times 100$, em que: T é o número de ovos contados nas sementes tratadas com óleos; P é o número de ovos contados nas sementes não tratadas. O índice varia de +100 (muito estimulante) a -100 (total deterrência ou inibição de oviposição) (FENEMORE, 1980). Os adultos emergidos na testemunha e em cada tratamento foram contabilizados para calcular a redução de emergência de adultos com base na fórmula $PR = (NC - NT)/(NC + NT) \times 100$, adaptada de OBENG-OFORI (1995), sendo PR, a porcentagem média de redução de emergência; NC, o número médio de insetos emergidos na testemunha; e NT, o número médio de insetos emergidos em cada tratamento com produto (óleo ou isolado). Os resultados foram analisados pelo teste *t* pareado ($P < 0,05$).

Os dados de IVG e massa fresca foram analisados em esquema fatorial 4x4 (4 produtos x 4 tempos de armazenamento) com 4 repetições, onde a testemunha, sem produto, foi contabilizada para o fator produtos. Os resultados foram submetidos à ANOVA, pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) individualmente para cada variável.

Enquanto as variáveis de percentual de germinação, peso massa seca, TGM, VGM foram submetidos à ANOVA, sendo considerados os 4 tratamentos (óleos, α -pineno e testemunha) e as avaliações no tempo como medidas repetidas. De acordo com os resultados da ANOVA, quando significativas para tratamento, as médias entre tratamentos foram comparadas usando o teste de Tukey ($P < 0,05$).

Todas as análises foram conduzidas utilizando o Programa Estatístico SAS version 8.02 (SAS INSTITUTE, 2001).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Efeito de toxicidade por contato dos óleos essenciais e α -pineno sobre *C. maculatus*.

A curva de concentração-mortalidade apresentou baixos valores χ^2 e altos valores de P ($\chi^2 < 5,98$ e $P > 0,05$), confirmando que o Modelo de Probit foi adequado para explicar o efeito inseticida dos produtos testados (Tabela1). Independentemente da concentração letal para o teste de toxicidade por contato o óleo essencial de *G. procumbens* foi o mais tóxico a *C. maculatus*, seguido do óleo de *P. pallidum* e do composto α -pineno, nessa ordem. Os resultados mostraram

ainda diferenças nas concentrações letais dos produtos testados, onde as CL₁₅, CL₃₀, CL₅₀ e CL₉₅ foram de 0,21; 0,31; 0,47 e 1,68 µL / 20 g para *G. procumbens*; 6,56; 8,72; 11,65 e 28,98 µL / 20 g para *P. pallidum*; 14,27; 18,61; 24,43 e 57,31 µL / 20 g para α-pineno. Não foram observadas sobreposições nos intervalos de confiança (Tabela 1).

Houve ainda uma variação na inclinação da reta das curvas concentração-reposta dos produtos (2,99 a 4,44) indicando alguma heterogeneidade toxicológica entre os produtos testados. O α-pineno mostrou maior inclinação (4,44±0,46) demonstrando que pequenos acréscimos na concentração desse garantem altas respostas de mortalidade, porém o óleo essencial de *G. procumbens* apresentou maiores razões de toxicidade com valores de 67,95; 60,03; 51,97 e 34,1 para RT_{15;30;50;95}, respectivamente (Tabela 1).

A variabilidade das atividades biológicas entre os óleos essenciais extraídos de diferentes espécies vegetais pode ser explicada por diferenças em sua composição química (NGAMO et al., 2007). O óleo de *G. procumbens* é rico em salicilato de metila (CLARK, 1999; NIKOLIĆ et al., 2013). Tanto o óleo essencial quanto o composto possuem sua atividade inseticida descrita na literatura contra *Sitophilus oryzae* L., *Rhyzopertha dominica* Fabr. e *Callosobruchus chinensis* L. (KIRAN; PRAKASH, 2015; PARK; SHIN; KIM, 2016). Há indícios de quando um composto é responsável pela maior parte da composição de um óleo, toda e qualquer atividade biológica é de sua responsabilidade (TISSERAND; YOUNG, 2014), logo o alto teor de salicilato de metila no óleo de *G. procumbens*, sugere que esse composto é o responsável pela toxicidade por contato desse óleo.

Por outro lado, quando um óleo tem vários compostos majoritários, como o óleo de *P. pallidum*, ele é visto como uma mistura complexa de substâncias químicas e cada efeito biológico exibido é devido às ações de um ou mais dos seus constituintes (TISSERAND; YOUNG, 2013). O óleo de *P. pallidum* que causou mortalidade em *C. maculatus* é rico em o-cimeno, β-felandreno e α-pineno e esses compostos já tiveram suas atividades inseticidas reportadas para *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae), *Tribolium confusum* J. du Val (Coleoptera: Tenebrionidae) e *Lasioderma serricorne* F. (Coleoptera: Anobiidae), respectivamente (PARK et al., 2011; JEMÂA et al., 2012; KUI et al., 1996; CAO et al., 2019).

A atividade inseticida de um óleo essencial é atribuída principalmente aos seus compostos (PROPHIRO et al., 2012). O α -pineno é um composto hidrocarboneto, do tipo monoterpenos (REGNAULTL-ROGER; VICENTE; ARNASON, 2012), com toxicidade comprovada contra pragas de grãos armazenados como *C. maculatus* (BARBOSA, 2015), *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae) (CHAUBEY, 2012b; LEE et al., 2001) *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae) e *Tribolium castaneum* (Herbst) (Tenebrionidae) (KIM; LEE, 2014). O alto teor de α -pineno presente no óleo de *J. communis* contribui significativamente na mortalidade causada em *C. maculatus*.

Óleos essenciais contendo α -pineno na composição, são indicados como potenciais no manejo de pragas de grãos armazenados. O óleo essencial de *Azilia eryngioides* (Pau) Hedge et Lamond (Apiaceae), contendo 63,8% de α -pineno foi tóxico contra adultos de *Sitophilus granarius* (L.) (Curculionidae) e *T. castaneum* (EBADOLLAHI; MAHBOUBI, 2011). Já o óleo proveniente da folha e do fruto de *Platyclusus orientalis* [L.] Franco (Cupressaceae), contendo 35,2 e 50,7 % de α -pineno, respectivamente, foi mais tóxico a *C. maculatus* do que a *S. oryzae* e *T. castaneum* (HASHEMI; SAFAVI, 2012). Rico em α -pineno, o óleo de *J. communis* utilizado em nosso trabalho, traz informações que reforçam o potencial inseticida desse óleo contra *C. maculatus*.

Nesse sentido, a investigação da composição dos óleos essenciais tem sido usado como um ponto de partida para o desenvolvimento de novos produtos com propriedades aperfeiçoadas (SPOCHACZ et al., 2018), como fotoestabilidade aprimorada e toxicidade reduzida para mamíferos (GUPTA et al., 2019).

Tabela 1 Toxicidade por contato de óleos essenciais e α -pineno em adultos de *Callosobruchus maculatus*.

| Tratamento | N | GL | Inclinação \pm EP | CL ₁₅ (IC)* | RT ₁₅ | CL ₃₀ (IC)* | RT ₃₀ | CL ₅₀ (IC)* | RT ₅₀ | CL ₉₅ (IC)* | RT ₉₅ | χ^2 | P ¹ |
|------------------------------|-----|----|---------------------|-------------------------------|------------------|-------------------------------|------------------|-------------------------------|------------------|-------------------------------|------------------|-------------|----------------|
| <i>Gaultheria procumbens</i> | 350 | 5 | 2,99 \pm 0,28 | 0,21 (0,17-0,25) | 67,95 | 0,31 (0,27-0,36) | 60,03 | 0,47 (0,42-0,53) | 51,97 | 1,68 (1,34-2,29) | 34,1 | 4,75 | 0,44 |
| <i>Protium pallidum</i> | 200 | 2 | 4,15 \pm 0,59 | 6,56 (4,59-8,13) | 2,17 | 8,72 (6,73-10,27) | 2,13 | 11,65 (9,80-13,25) | 2,09 | 28,98 (24,17-38,92) | 1,97 | 2,91 | 0,23 |
| α -pineno | 300 | 4 | 4,44 \pm 0,46 | 14,27 (10,97-17,13) | - | 18,61 (15,19-21,54) | - | 24,43 (21,04-27,45) | - | 57,31 (50,45-67,96) | - | 5,98 | 0,20 |

* μ L / 20 g de sementes; N = número de insetos usados no teste, GL = grau de liberdade; EP = erro padrão da média, IC = intervalo de confiança, RT = razão de toxicidade, χ^2 = Qui-quadrado, 1 = Valor de probabilidade para o modelo de Probit ($P > 0,05$).

Todos os produtos diminuíram a oviposição e a emergência de novos adultos quando comparados com a testemunha ($P < 0,05$). O modelo de regressão linear foi o que melhor se ajustou aos parâmetros avaliados, onde o óleo de *P. pallidum* se destacou por apresentar maiores r^2 com valor de 89 para oviposição e de 94 para emergência (Tabela 2).

Tabela 2 Equações para oviposição e emergência de *Callosobruchus maculatus* após aplicação de produtos.

| Tratamento | Parâmetros* | Equações | FP | r^2 |
|------------------------------|-------------|---------------------------|------------------------------|-------|
| <i>Gaultheria procumbens</i> | Oviposição | $\hat{y} = -3,94x + 4,24$ | 174,0 ^{<0,0001} | 0,82 |
| | Emergência | $\hat{y} = -3,76x + 4,08$ | 141,0 ^{<0,0001} | 0,79 |
| <i>Protium pallidum</i> | Oviposição | $\hat{y} = -0,18x + 5,15$ | 69,15 ^{<0,0001} | 0,89 |
| | Emergência | $\hat{y} = -0,38x + 5,0$ | 139,10 ^{<0,0001} | 0,94 |
| α -pineno | Oviposição | $\hat{y} = -0,05x + 5,07$ | 24,28 ^{0,0002} | 0,61 |
| | Emergência | $\hat{y} = -0,10x + 5,19$ | 22,98 ^{0,0004} | 0,69 |

*Dados transformados em $\log(x)$

Tanto a oviposição, quanto a emergência de adultos foi 100% inibida nas concentrações 15, 30 e 35 $\mu\text{L} / 20 \text{ g}$ em sementes de feijão-caupi tratadas com óleo de *P. pallidum*. Entretanto, em sementes tratadas com α -pineno, foi observada a inibição total na oviposição na concentração 70 $\mu\text{L} / 20 \text{ g}$ e na emergência nas concentrações 50, 60 e 70 $\mu\text{L} / 20 \text{ g}$.

Os compostos presentes em *G. procumbens* e *P. pallidum* apresentam atividade deterrente de oviposição para insetos. O salicilato de metila, que é o composto majoritário do óleo de *G. procumbens*, tem sido descrito como causador de deterrência na oviposição de *Callosobruchus chinensis* L. (Coleoptera: Bruchidae) (CHILUWAL et al., 2017). Um isômero estrutural de cimeno apresentou atividade de alta deterrência na oviposição em *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) (WALIWITIYA; KENNEDY; LOWENBERGER, 2009). O α -pineno, também mostrou atividade inibitória na oviposição de *Tribolium castaneum* H. (Coleoptera: Tenebrionidae) (CHAUBEY, 2012). Com base na composição de óleos essenciais, os nossos resultados reforçam o uso potencial dos óleos de *G. procumbens*, *P. pallidum*, bem como do composto α -pineno no manejo de *C. maculatus*, pois são tóxicos por contato e causam deterrência na oviposição e na emergência de adultos.

Por muitas vezes, óleos essenciais e compostos isolados, não causam deterrência na oviposição, porém ovos que antes eram viáveis, ao logo do desenvolvimento se tornam inviáveis e não originam adultos como visto no tratamento com α -pineno nas concentrações 50, 60 e 70 $\mu\text{L} / 20 \text{ g}$. Ovos de

Callosobruchus spp. quando cimentados em superfícies de sementes, deixam um espaço denominado funil, um vez que, essa abertura é oclusa, pode causar efeito ovicida (CREDLAND, 1992), além de que a penetração de óleos essenciais e de parte de seus constituintes podem exibir atividade ovicida, resultante da toxicidade direta, impregnação de metabólitos e falta de atividade respiratória (DON PEDRO, 1989) em instares larvais e pupas, inibindo assim a emergência de novos adultos.

3.2 Efeito repelente de óleos essenciais e α -pineno sobre *C. maculatus*.

O número de adultos de *C. maculatus* atraídos para sementes de feijão-caupi tratadas com óleos essenciais de *J. communis*, *P. heptaphyllum*, *P. pallidum* e o composto α -pineno foi significativamente menor ($P < 0,0001$), quando comparado com as sementes não tratadas, indicando que foram repelentes, logo a atividade repelente é um efeito subletal (Figura 1). Porém, não houve diferença significativa ($P > 0,05$) no número de adultos atraídos para sementes de feijão-caupi tratadas com óleo essencial de *G. procumbens* (Figura 1).

Os estudos de toxicidade de óleos essenciais e compostos botânicos geralmente se concentram em estimativas de letalidade. No entanto, efeitos subletais também são relevantes e tem despertado o interesse, pois podem ajudar a reduzir as perdas nos grãos armazenados, comprometendo a vitalidade, fecundidade e capacidade de alimentação dos insetos (SAID; PASHTE, 2015; CHOWANSKI et al., 2016; TRIVED et al., 2018). Os resultados aqui encontrados para os óleos essenciais de *J. communis*, *P. heptaphyllum*, *P. pallidum* e o composto α -pineno, reforçam a ideia de que concentrações subletais promovem efeito repelente a *C. maculatus* com uso de quantidade mínima desses produtos, garantindo manejo adequado, quando comparados com outros métodos mais onerosos.

Sementes tratadas com a CL₃₀ de *P. heptaphyllum* atraiu um número médio de 1,3 isentos, sendo esse bastante repelente. A propriedade repelente não está presente em todos os óleos essenciais, o que torna tão importante o estudo dessa característica. O óleo essencial de *Lantana camara* L. (Verbenaceae) possui forte atividade repelente contra adultos de *C. maculatus* (ZANDI-SOHANI; HOJJATI; CARBONELL-BARRACHINA, 2012). O óleo essencial de *P. atlantica* Subsp. *kurdica* foi mais repelente a *C. maculatus* do que *P. khinjuk* (POURYA et al., 2018). O óleo de *Lippia adoensis* Hochst ex. Walp

(Verneneaceae) foi altamente repelente a adultos de *C. maculatus*, causando repelência de 86,67-100%, dependendo da concentração testada (ADELANI et al., 2016). Contrariamente, o óleo de *C. paradisi* não exibiu atividade repelente significativa em *C. maculatus*, sendo classificado como neutro (DUTRA et al., 2016). Nossos resultados reforçam que o óleo de *P. heptaphyllum* é um promissor repelente em baixas concentrações contra *C. maculatus*.

O óleo de *P. heptaphyllum* e *P. pallidum* aqui utilizados são ricos em limoneno e o-cimeno, respectivamente, e esses compostos já tiveram a sua atividade repelente relatada contra insetos que atacam produtos armazenados. O cimeno, por exemplo, causou repelência em *C. chinensis* e *S. oryzae* (KEDIA et al., 2015a). O limoneno possui alta atividade repelente contra *T. confusum* J. du Val (Coleoptera: Tenebrionidae) (MALACRINÒ et al. 2016), *T. castaneum* e *Liposcelis bostrychophila* Badonnel (Liposcelididae) (LIANG et al., 2018). Os resultados implicam que o o-cimeno e limoneno poderiam ser os principais compostos que afetavam a atividade repelente do *P. heptaphyllum* e *P. pallidum*, respectivamente.

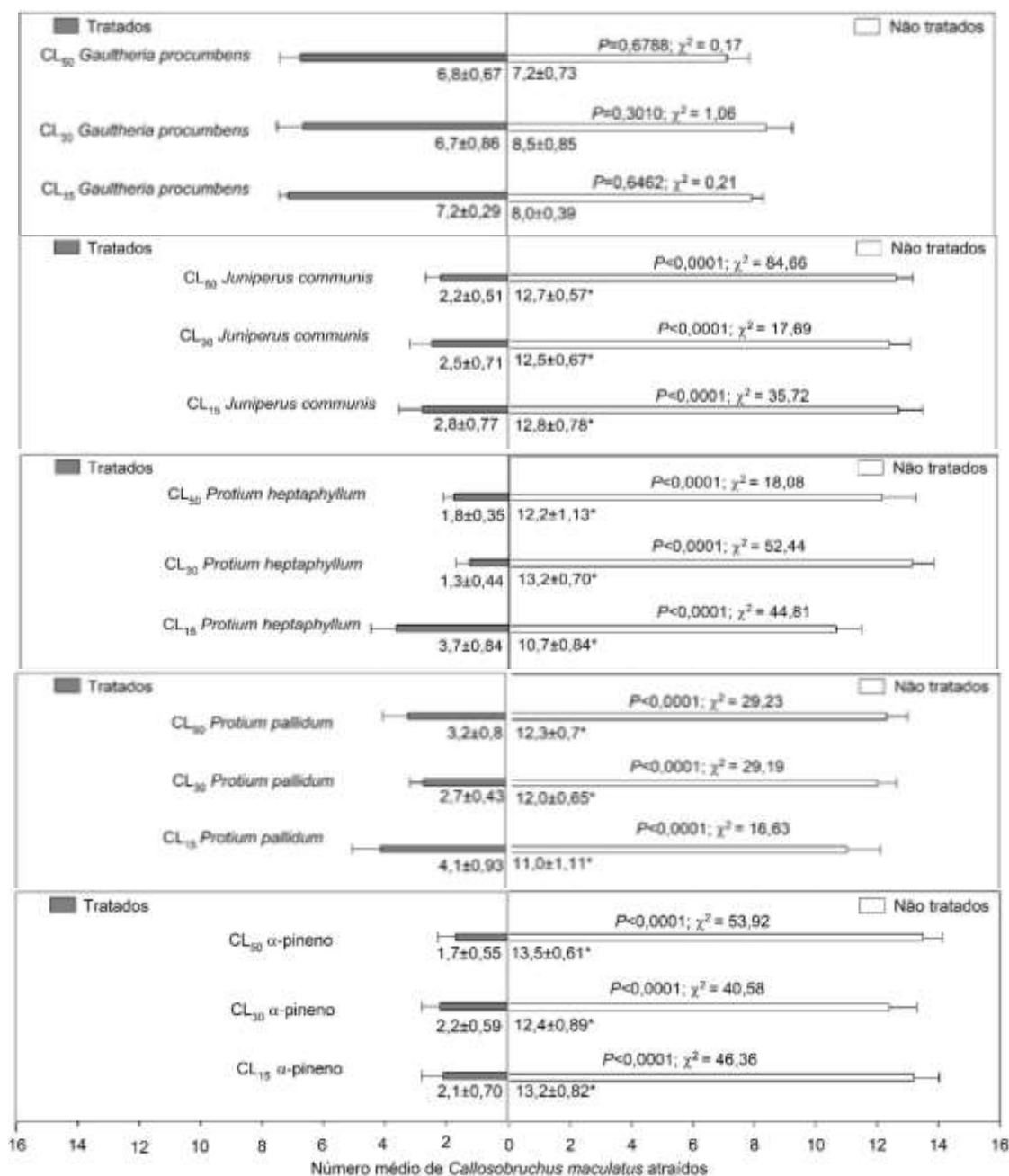


Figura 1 Número médio de *Callosobruchus maculatus* atraídos (n = 480) em grãos de feijão tratados e não tratados com os óleos de *Gautheria procumbens*, *Juniperus communis*, *Protium heptaphyllum*, *Protium pallidum* e o composto α -pineno. *Significativo pelo teste Qui-quadrado ($P < 0,05$).

Muitos compostos naturais isolados de plantas demonstraram um amplo espectro de atividades biológicas. O α -pineno, que é o principal composto do óleo essencial de *J. communis*, ambos usados nesse trabalho, já teve a sua atividade repelente descrita para *T. castaneum* (KIM et al., 2010), para *S. oryzae* em concentrações subletais (CHAUBEY, 2012), bem como para *S. zeamais*, *R. dominica* e *T. confusum* (BOUGHERRA et al., 2015). Os nossos resultados reforçam

a ideia de que o α -pineno é um promissor repelente a pragas de grãos armazenados, além de dar subsídio para concordar que grande parte da atividade repelente vista em *J. communis* é ocasionada pela alta concentração de α -pineno em sua composição.

O número de ovos contabilizados no feijão-caupi tratado com os óleos essenciais de *J. communis*, *P. heptaphyllum* e *P. pallidum*, bem como, com o composto α -pineno, foi significativamente menor quando comparados com suas respectivas testemunhas ($P < 0,05$), sendo assim classificados como deterrentes para oviposição (Tabela 3).

Vale destacar a baixa oviposição nos tratamentos de *P. heptaphyllum* com número médio de ovos de $0,7 \pm 0,51$ para CL_{50} e $3,2 \pm 3,05$ para CL_{30} , exibindo IPO de -98 e -94, respectivamente (Tabela 4). Nos demais produtos, foram quantificados IPO abaixo de -70,98 e esses foram classificados como deterrentes, exceto para os tratamentos com *G. procumbens*, que exibiu IPO que variou de -5,7 a -13,91 classificados como “pouco deterrentes”. Estes resultados já eram esperados, pois o óleo essencial de *G. procumbens* não mostrou repelência significativa ($P > 0,05$) (Figura 1).

O principal composto de *G. procumbens*, o salicilato de metila, teve sua atividade repelente e o efeito deterrente da oviposição comprovado contra *C. chinense* (CHILUWAL et al., 2017). Porém, tanto a repelência quanto a oviposição de *C. maculatus* em sementes de feijão-caupi tratadas com o óleo de *G. procumbens* encontradas neste trabalho foram não significativas quando comparadas com a testemunha ($P > 0,05$) (Tabela 3). Espécies do mesmo gênero podem ter suscetibilidades diferentes aos diferentes óleos essenciais das plantas (NYAMADOR et al., 2010). Variações nos níveis de susceptibilidade estão diretamente ligadas a diferenças físico-morfológicas associadas a cada espécie-alvo (CHOPA; DESCAMPS, 2012; STEFANAZZI; STADLER; FERRERO, 2011).

Sabendo-se que o α -pineno é o composto majoritário do óleo de *J. communis* usado nesse trabalho, podemos observar menores IPO para o óleo (CL_{15} : -79,55, CL_{30} : -95,94 e CL_{50} : -91,13), quando comparadas com os vistos para o composto isoladamente (CL_{15} : -71,98, CL_{30} : -79,46 e CL_{50} : -72,24), logo, deduzimos que o α -pineno, por si só, não é o responsável pela baixa oviposição vista nos tratamentos de *J. communis*, e que possivelmente há efeito sinérgico entre os compostos que compõem o óleo essencial (Tabela 4). Os óleos essenciais parecem ser mais

eficazes nos quesitos repelência e deterrência na oviposição quando comparados com seus compostos isolados (CHILUWAL et al., 2017). Resultados semelhantes foram relatados para as atividades biológicas do óleo essencial de semente de *Cuminum cyminum* L. (Apiaceae) e seus principais compostos contra *C. chinensis* e *S. oryzae* (KEDIA et al. 2015a). Sendo assim, o sinergismo dos compostos do óleo de *J. communis* pode ser responsável pelo efeito de deterrência na oviposição de *C. maculatus*.

Trabalhos que abordem o efeito de óleos essenciais do gênero *Protium* sobre pragas de grãos armazenados são bem raros. Em nosso estudo, o número de ovos contabilizados em sementes tratadas com óleo essencial de *P. pallidum* foi inversamente proporcional ao aumento da concentração, já para *P. heptaphyllum* não foi visto dessa forma, porém o número de ovos foi significativamente menor no tratamento, quando comparado com suas respectivas testemunhas ($P < 0,05$). O óleo de *P. heptaphyllum* e o seu composto majoritário, o limoneno, reduziram significativamente o número de ovos de *C. maculatus* em feijão-caupi (RODRIGUES, 2018). Resultados semelhantes foram vistos quando testou-se concentrações subletais do óleo essencial de *Atalantia monophylla* L. (Rutaceae) em *C. maculatus* mostrando que o número de ovos postos por fêmeas no controle foi de 75,20, enquanto para as CL₁₀, CL₂₀ e CL₃₀ foram de 28,29; 23,23 e 10,11 ovos / inseto após 48 h, concluindo que em todos os tratamentos, a fecundidade foi reduzida quando comparada ao controle (NATTUDURAI et al., 2017).

Tabela 3 Índice e classificação de preferência para oviposição de *Callosobruchus maculatus* obtidos em feijão-caupi tratado e não tratado com óleos essenciais e α -pineno.

| Tratamento | Conc. (μ L/20 g) | Ovos Totais (Média \pm EP) | | t ^P | IPO ¹ | Classificação |
|------------------------------|--------------------------|---------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|------------------|------------------|
| | | Testemunha | Óleo | | | |
| <i>Gaultheria procumbens</i> | | | | | | |
| CL ₁₅ | 0,21 | 86,4 \pm 6,34 | 69,4 \pm 10,27 ^{ns} | 1,21 ^(0,25) | -10,91 | Pouco deterrente |
| CL ₃₀ | 0,31 | 105,7 \pm 10,99 | 80,8 \pm 19,88 ^{ns} | 0,88 ^(0,40) | -13,35 | Pouco deterrente |
| CL ₅₀ | 0,47 | 67,5 \pm 9,1 | 60,0 \pm 10,98 ^{ns} | 0,45 ^(0,66) | -5,71 | Pouco deterrente |
| <i>Juniperus communis</i> | | | | | | |
| CL ₁₅ | 41,04 | 165,1 \pm 14,01 | 18,8 \pm 6,96* | 8,45 ^(<0,0001) | -79,55 | Deterrente |
| CL ₃₀ | 50,54 | 164,4 \pm 7,1 | 3,4 \pm 2,86* | 19,50 ^(<0,0001) | -95,94 | Deterrente |
| CL ₅₀ | 62,56 | 151,0 \pm 11,23 | 7 \pm 3,31* | 10,89 ^(<0,0001) | -91,13 | Deterrente |
| <i>Protium heptaphyllum</i> | | | | | | |
| CL ₁₅ | 7,96 | 113,9 \pm 10,68 | 18,6 \pm 5,3* | 8,23 ^(<0,0001) | -71,92 | Deterrente |
| CL ₃₀ | 10,91 | 118,7 \pm 10,15 | 3,2 \pm 3,05* | 11,30 ^(<0,0001) | -94,71 | Deterrente |
| CL ₅₀ | 14,23 | 69,5 \pm 6,24 | 0,7 \pm 0,51* | 10,11 ^(<0,0001) | -98,0 | Deterrente |
| <i>Protium pallidum</i> | | | | | | |
| CL ₁₅ | 6,56 | 73,9 \pm 12,08 | 10 \pm 3,52* | 5,01 ^(=0,0007) | -76,16 | Deterrente |
| CL ₃₀ | 8,72 | 72,6 \pm 8,6 | 12,3 \pm 6,06* | 4,84 ^(=0,0013) | -70,98 | Deterrente |
| CL ₅₀ | 11,65 | 103,3 \pm 10,18 | 16,5 \pm 7,43* | 5,68 ^(=0,0003) | -72,45 | Deterrente |
| α -pineno | | | | | | |
| CL ₁₅ | 14,27 | 190,9 \pm 15,03 | 31,1 \pm 14,58* | 6,55 ^(=0,0001) | -71,98 | Deterrente |
| CL ₃₀ | 18,61 | 172,2 \pm 14,7 | 19,7 \pm 7,24* | 8,29 ^(<0,0001) | -79,46 | Deterrente |
| CL ₅₀ | 24,43 | 183,7 \pm 16,88 | 29,6 \pm 8,82* | 6,38 ^(=0,0001) | -72,24 | Deterrente |

¹IPO – Índice de Preferência para oviposição [(T-P/T+P)] x 100. IPO varia de 100 para mais estimulante, zero para neutro e -100 para total deterrência,

*Significativo pelo teste t pareado ($P < 0,05$), NS = não significativo.

O número médio de insetos emergidos de *C. maculatus* em grãos de feijão-caupi tratados com produtos, óleo essencial de *J. communis*, *P. heptaphyllum*, *P. pallidum* e o composto, α -pineno, em concentrações letais e subletais foi significativamente menor ($P < 0,05$) quando comparado com sua respectiva testemunha, ao contrário do visto para as sementes tratadas com o óleo de *G. procumbens* ($P > 0,05$) (Tabela 4). Vale ressaltar, que a redução máxima na emergência de adultos pode ser vista, apenas para CL_{50} de *P. heptaphyllum* (Tabela 5).

O percentual de redução de emergência de adultos (PR) variou entre os tratamentos, onde quantificamos redução de 83,58; 96,99 e 94,46% em sementes tratadas com a CL_{15} , CL_{30} e CL_{50} aferidas para óleo essencial de *J. communis*. Já em sementes tratadas com óleo essencial de *P. pallidum*, observamos uma redução que variou de 69,37 a 76,23% (Tabela 4).

Tabela 4 Porcentagem de redução de emergência de adultos de *C. maculatus* obtidos em feijão-caupi tratado e não tratado com óleos essenciais e α -pineno.

| Tratamento | Conc. (μ L/20 g) | Adultos Totais (Média \pm EP) | | T ^P | PR % ¹ |
|------------------------------|--------------------------|------------------------------------|--------------------------------|----------------|-------------------|
| | | Testemunha | Óleo | | |
| <i>Gaultheria procumbens</i> | | | | | |
| CL ₁₅ | 0,21 | 86,4 \pm 6,34 | 69,4 \pm 10,27 ^{ns} | 1,21(=0,25) | 10,91 |
| CL ₃₀ | 0,31 | 105,7 \pm 10,9 | 77,1 \pm 20,48 ^{ns} | 0,9(=0,34) | 15,64 |
| CL ₅₀ | 0,47 | 67,5 \pm 9,19 | 60 \pm 10,98 ^{ns} | 0,46(=0,65) | 5,88 |
| <i>Juniperus communis</i> | | | | | |
| CL ₁₅ | 41,04 | 126,4 \pm 10,48 | 11,3 \pm 4,5* | 9,76(<0,0001) | 83,58 |
| CL ₃₀ | 50,54 | 130,9 \pm 5,01 | 2,0 \pm 1,57* | 22,5(<0,0001) | 96,99 |
| CL ₅₀ | 62,56 | 115,9 \pm 8,49 | 3,3 \pm 3,31* | 12,73(<0,0001) | 94,46 |
| <i>Protium heptaphyllum</i> | | | | | |
| CL ₁₅ | 7,96 | 97,6 \pm 8,64 | 18,6 \pm 3,34* | 8,76(<0,0001) | 81,07 |
| CL ₃₀ | 10,61 | 110,8 \pm 9,51 | 1,3 \pm 1,26* | 11,38(<0,0001) | 97,62 |
| CL ₅₀ | 14,23 | 69,5 \pm 6,24 | 0* | 10,71(<0,0001) | 100 |
| <i>Protium pallidum</i> | | | | | |
| CL ₁₅ | 6,56 | 62,3 \pm 8,58 | 8,4 \pm 3,0* | 5,94(=0,0002) | 76,23 |
| CL ₃₀ | 8,72 | 60,2 \pm 6,3 | 10,8 \pm 5,50* | 4,92(=0,0012) | 69,37 |
| CL ₅₀ | 11,65 | 92,1 \pm 12,5 | 13,2 \pm 5,20* | 5,36(=0,0005) | 74,92 |
| α -pineno | | | | | |
| CL ₁₅ | 14,24 | 161,8 \pm 9,8 | 28,2 \pm 12,9* | 7,20(<0,0001) | 70,31 |
| CL ₃₀ | 18,61 | 155 \pm 11,91 | 18,9 \pm 7,23* | 8,54(<0,0001) | 78,26 |
| CL ₅₀ | 24,43 | 159,7 \pm 13,3 | 29,3 \pm 8,80* | 6,34(=0,0001) | 68,99 |

PR = (NC - NT)/(NC + NT) x 100, sendo PR, a porcentagem média de redução de emergência; NC, o número médio de insetos emergidos na testemunha; e NT, o número médio de insetos emergidos em cada tratamento com produto (óleo ou composto), *Significativo pelo teste *t* pareado ($P < 0,05$), NS = não significativo.

Apesar de quantificarmos um percentual de redução de emergidos com valores de 10,91; 15,64 e 5,88% em sementes tratadas com as CL₁₅, CL₃₀ e CL₅₀, respectivamente, não foram observadas diferenças significativas no número médio de insetos emergidos em sementes tratadas com o óleo essencial de *G. procumbens* ($P>0,05$). Tal resultado já era esperado, pois o óleo não foi repelente ($P>0,05$) e nem inibiu a oviposição ($P>0,05$) de *C. maculatus* (Figura 1 e Tabela 3).

Foram ainda observadas, maiores percentuais de redução de emergência em sementes tratadas com o óleo de *J. communis* (CL₁₅: 83,58, CL₃₀: 96,99 e CL₅₀: 94,46%) do que com as tratadas com α -pineno (CL₁₅: 70,31, CL₃₀: 78,26 e CL₅₀: 68,66%), dando mais força para a nossa teoria, onde, o α -pineno isoladamente não é o responsável pela alta redução de emergência vista nos tratamentos feitos com óleo de *J. communis* (Tabela 5).

O efeito repelente é uma característica importante a ser considerada na escolha de um óleo essencial para controlar pragas de produtos armazenados, pois quanto maior a repelência, menor a infestação, resultando em redução ou ausência de oviposição e, conseqüentemente, menor número de insetos emergentes (CHEN et al., 2015). Óleos essenciais são capazes de reduzir o surgimento de progênes de insetos (AJAYI; OLONISAKIN, 2011). A exemplo, a atividade dos óleos essenciais de *Cymbopogon martinii* (Roxb.) J.F. Watson (Poaceae), *Piper aduncum* L. (Piperaceae), *P. hispidinervum* C. DC. e *Lippia gracilis* Schauer (Verbenaceae) causaram redução de ovos viáveis e adultos emergidos de *C. maculatus* de aproximadamente 100% em grãos de feijão-caupi (PEREIRA et al., 2008). Ovos de *C. maculatus* foram expostos a concentrações subletais do óleo essencial de *A. monophylla* e foi possível observar que a emergência de adultos foi inversamente proporcional à concentração, sendo vista inibição total de emergência na CL₃₀ (NATTUDURAI et al., 2017). Logo, os óleos essenciais das espécies *J. communis*, *P. heptaphyllum* e *P. pallidum*, bem como o composto α -pineno podem ser explorados em *C. maculatus*, pois são capazes de diminuir significativamente a progênes dessa espécie.

Em nossa pesquisa, a inibição total da emergência de adultos foi vista na CL₅₀ de *P. heptaphyllum*, sendo esse óleo bastante promissor, provavelmente devido ao seu alto teor de limoneno (63,3%). O d-limoneno foi capaz de reduzir a eclosão de ovos de *T. castaneum* à medida que a concentração aumentava (TRIPATHI et al., 2003). Consoante, um outro isômero, o S-(-) – limoneno, foi capaz de inibir a

emergência de adultos de *C. maculatus* (AJAYI; APPEL; FADAMIRO, 2014). Logo, possivelmente, a presença majoritária desse composto em óleos essenciais como o de *P. heptaphyllum*, seja responsável, em grande parte, pela inibição na emergência de novos adultos.

3.3 Efeito da toxicidade por fumigação dos óleos essenciais e α -pineno em *C. maculatus*

Os baixos valores de χ^2 e altos valores de P para cada curva de concentração-mortalidade ($\chi^2 < 5,35$ e $P > 0,05$) conferem adequação do modelo de Probit como elucidativo do efeito fumigante dos produtos testados (Tabela 3).

As concentrações letais CL_{50} estimadas para os produtos *G. procumbens*, *P. pallidum* e α -pineno foram 12,14; 252,34 e 259,40 $\mu\text{L} / \text{L}$, respectivamente, já para CL_{95} foram de 75,01; 367,92 e 458,86 $\mu\text{L} / \text{L}$, respectivamente, porém o óleo de *G. procumbens* foi o mais tóxico, sem sobreposição com os demais (Tabela 3).

O óleo essencial de *G. procumbens* apresenta maiores razões de toxicidade (RT_{30} : 21,36; RT_{95} : 6,11) quando comparado com o de menor toxicidade, α -pineno. Entretanto, houve uma variação na inclinação na reta da equação dos produtos testados, onde o óleo essencial de *P. pallidum* mostrou maior inclinação ($10,04 \pm 1,4$) demonstrando que pequenos acréscimos na concentração desse, garantem altas respostas de mortalidade (Tabela 3).

Em nossos resultados a quantidade necessária do óleo de *G. procumbens* para causar mortalidade por fumigação em *C. maculatus* foi consideravelmente menor quando comparados com *P. pallidum* e α -pineno. O principal componente presente no óleo de *G. procumbens*, o salicilato de metila, é caracterizado por ser um composto com elevada volatilidade (NOVELINO; DAEMON; SOARES, 2007). A heterogeneidade toxicológica dos óleos essenciais, pode estar associada a vários fatores, como a origem do óleo, método de extração, parte da planta coletada, podendo influenciar na composição final do óleo (CAMPOLO et al., 2018). Entretanto, fatores como os diferentes níveis de susceptibilidade dos insetos-alvo com base em respostas metabólicas, bioquímicas, fisiológicas e diferenças morfológicas como tamanho do corpo, textura e espessura da cutícula podem afetar a toxicidade dos produtos (STEFANAZZI et al., 2011; CHOPA; DESCAMPS, 2012). Justificando porque, às vezes, são necessárias maiores ou menores quantidades de diferentes produtos que causem uma determinada mortalidade a um mesmo inseto-

alvo, e especificamente no caso do óleo de *G. procumbens*, a toxicidade fumigante é provavelmente favorecida pela alta volatidade do seu principal composto, o salicilato de metila.

O óleo essencial de *G. procumbens* e o composto majoritário, salicilato de metila, já tiveram sua atividade fumigante descrita para outras pragas de produtos armazenados, assim como, a capacidade de interferência desses na atividade enzimática e no sistema de defesa antioxidante dos insetos. O óleo essencial de *G. procumbens* e o composto, salicilato de metila exibiram 100% de mortalidade nas concentrações 150 e 5 $\mu\text{L} / \text{L}$ de ar, contra *S. oryzae* e *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera, Bostrichidae) respectivamente, após 24 h de exposição. Ainda nesse trabalho foi observada uma inibição discreta da atividade enzimática da acetilcolinesterase (AChE) e mais expressiva no sistema de defesa antioxidante [superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutatona reduzida (GSH) e glutatona oxidada (GSSG)], que são responsáveis por refletir os distúrbios bioquímicos/metabólicos de um organismo, resultando em morte celular (KIRAN; PRAKASH, 2015). Possivelmente esses mecanismos podem ser responsáveis pela alta toxicidade de *G. procumbens* sobre *C. maculatus*.

Compostos presentes no óleo *P. pallidum*, bem como o α -pineno, são classificados como monoterpenos, tóxicos a insetos, capazes de perturbar o aparelhamento enzimático. Os óleos essenciais e os monoterpenóides são responsáveis por inibir a atividade da enzima acetilcolinesterase (AChE) e ainda afetar os receptores de octopamina que é um neurotransmissor, neurohormônio e neurohormônio-neuromodulador circulante, que quando interrompido resulta em colapso total do sistema nervoso em insetos, causando a sua morte (SENDI; EBADOLLAHI, 2014). A atividade de importantes enzimas em *C. maculatus* podem ser afetadas pelo α -pineno, bem como, por componentes presentes no óleo de *P. pallidum* causando mortalidade.

Os óleos essenciais e seus compostos são alternativas importantes aos inseticidas convencionais, pois possuem persistência limitada no ambiente, baixa toxicidade para mamíferos e pouca probabilidade de induzir resistência (SPOCHACZ et al., 2018). Óleos essenciais de *Eugenia caryophyllus* Spreng (Myrtaceae) e *Illicium verum* Hook. F. (Illiciaceae) foram tóxicos a *C. maculatus*, aferindo CL_{50} de 22,36 e 20,27 $\mu\text{L} / \text{L}$ de ar, respectivamente (MATOS et al., 2020). Já os óleos essenciais de *Pistacia khinjuk* Stocks e *Pistacia*

atlantica Desf. Subsp. *kurdica* (Zohary) (Anacardiaceae) foram testados contra *C. maculatus* e a toxicidade variou de acordo com a parte da planta (fruto, folhas e goma) utilizada para extração do óleo, sendo que o óleo essencial da goma de *P. atlantica* Desf. Subsp. *kurdica* apresentou a maior atividade fumigante (CL₅₀: 7,0 µL / L de ar) (POURYA et al., 2018). Os óleos das espécies *Citrus latifolia* Tanaka, *Citrus reticulata* Blanco, *Citrus sinensis* L. Osbeck e *Citrus paradisi* Macf. (Rutaceae) foram descritos como tóxicos a *C. maculatus* com CL₅₀ que variaram de 10,02 a 12,98µL / L de ar e CL₉₅ de 14,18 a 14,86 µL / L de ar (DUTRA et al., 2016). Monoterpenos como *E*-anethole, estragole, *S*-carvone, Linalool, L-fenchone, geraniol e γ-terpinene são indicados como tóxicos a *C. maculatus* por causarem 100% de mortalidade em adultos a uma concentração de 16,7 µL / L de ar (MBATA; PAYTON, 2013). A toxicidade por fumigação do óleo essencial de *P. pallidum* sobre *C. maculatus*, é relatada pela primeira vez, sendo essa informação pioneira para o manejo de *C. maculatus*.

Tabela 5 Toxicidade por fumigação de óleos essenciais e α -pineno em adultos de *Callosobruchus maculatus*.

| Tratamento | N | GL | Inclinação \pm EP | CL ₅₀ (IC)* | RT ₅₀ | CL ₉₅ (IC)* | RT ₉₅ | χ^2 | P ¹ |
|------------------------------|-----|----|---------------------|---------------------------|------------------|---------------------------|------------------|----------|----------------|
| <i>Gaultheria procumbens</i> | 400 | 3 | 2,07 \pm 0,2 | 12,14 (10,13-14,18) | 21,36 | 75,01 (56, 59-111,84) | 6,11 | 5,26 | 0,15 |
| <i>Protium pallidum</i> | 320 | 2 | 10,04 \pm 1,4 | 252,34 (208,29-296,80) | 1,02 | 367,92 (308,66-659,96) | 1,24 | 4,79 | 0,09 |
| α -pineno | 480 | 4 | 6,64 \pm 0,53 | 259,40 (246,44-273,48) | - | 458,86 (417,17-520,66) | - | 5,35 | 0,25 |

* μ L / L DE ar, N = número de insetos usados no teste, GL = grau de liberdade, EP = erro padrão da média, IC = intervalo de confiança, RT = razão de toxicidade, χ^2 = Qui-quadrado, 1= Valor de probabilidade para o modelo de Probit ($P>0,05$).

3.4 Avaliação do efeito de óleos essenciais e α -pineno sobre a germinação de feijão-caupi

O percentual de germinação de sementes de feijão-caupi permaneceu acima de 97% em todas os períodos de exposição a *G. procumbens*, *J. communis* e α -pineno, e apenas houve diferença entre os tratamentos nos tempos de armazenamento 46 e 71 dias ($P < 0,05$). (Tabela 6).

Apesar das diferenças significativas encontradas entre os tratamentos, revelando redução da germinação para *J. communis* em relação à testemunha no tempo 46, o alto percentual de germinação permanece acima do recomendado pelo Ministério da Agricultura conforme estabelecido pela Instrução Normativa nº 45 (MAPA, 2013), onde o mínimo necessário seria de 85%. Os óleos essenciais de espécies vegetais [*Illicium verum* Hook.f. (Illiciaceae), *Bursera delpechiana* Poisson ex Engl. (Burseraceae), *Croton anisatum* Baill. (Euphorbiaceae), *Cinnamomum cassia* (L.) Presl. (Lauraceae) e *Aniba rosaeodora* Ducke. (Lauraceae)] bem como seus principais compostos (*trans*-anethole, *trans*-cinnamaldehyde, linalool e linalyl acetate) e o composto majoritário de *G. fragrantíssima*, salicilato de metila, tiveram sua atividade inseticida descrita para *C. chinensis*, e não afetaram a viabilidade das sementes de feijão adzuki que permaneceu com germinação acima de 90% (CHILUWAL et al., 2017). A germinação de sementes de feijão-caupi não foi significativamente afetada pelo óleo de *Thuja occidentalis* L. (Cupressaceae) com percentual de 88 a 97% (KÉTIA et al., 2001a). Resultado análogo foi visto em sementes de caupi tratadas com óleo de *Ocimum* spp. (Lamiaceae) (KÉTIA et al., 2001b). No presente trabalho, foi possível observar que sementes tratadas com óleos de *G. procumbens* e *J. communis* e composto α -pineno não tem sua germinabilidade diminuída e permanece com percentual de germinação acima de 85%, independentemente do tempo de avaliação.

Independentemente do tempo de armazenamento, o α -pineno não diminuiu a massa seca de plântulas de feijão-caupi ($P > 0,05$). Resultado semelhante foi visto para o óleo de *G. procumbens*, porém apenas nos tempos 38 e 56 ($P > 0,05$). Já em sementes tratadas com óleo de *J. communis* não houve redução da massa seca de plântulas apenas no tempo de avaliação final, 71 dias ($P > 0,05$) (Tabela 6).

Não foram observadas diferenças significativas nos tempos médios de germinação e nem na velocidade média de germinação de sementes de feijão-caupi

tratadas com os óleos essenciais de *G. procumbens*, *J. communis*, bem como o composto α -pineno quando comparados com a testemunha ($P>0,05$) (Tabela 6).

Tabela 6 Percentual de germinação, tempo médio de germinação, velocidade média de germinação e massa fresca de plântulas de feijão-caupi submetidas a diferentes tratamentos em tempo de armazenamento.

| Variável | Tratamentos | ---Período de armazenamento (Dias)--- | | | |
|------------------|------------------------------|---------------------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| | | 38 | 46 | 56 | 71 |
| %G ¹ | Testemunha | 99,5 ^(NS) | 99,5a | 99,5 ^(NS) | 99,5ab |
| | <i>Gaultheria procumbens</i> | 100 | 98,5ab | 99 | 100 a |
| | <i>Juniperus communis</i> | 99,5 | 97 b | 99 | 98 b |
| | α -pineno | 99,5 | 100a | 99 | 99 ab |
| MS ² | Testemunha | 0,09a | 0,09a | 0,09a | 0,09a |
| | <i>Gaultheria procumbens</i> | 0,08ab | 0,08 b | 0,09ab | 0,07 b |
| | <i>Juniperus communis</i> | 0,07 b | 0,07 b | 0,08 b | 0,08ab |
| | α -pineno | 0,09ab | 0,08ab | 0,08ab | 0,09a |
| TMG ₃ | Testemunha | 2,03 ^(NS) | 2,03 ^(NS) | 2,03 ^(NS) | 2,03 ^(NS) |
| | <i>Gaultheria procumbens</i> | 2,01 | 2,01 | 2,01 | 2,00 |
| | <i>Juniperus communis</i> | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,07 |
| | α -pineno | 2,01 | 2,02 | 2,00 | 2,01 |
| VGM ⁴ | Testemunha | 0,49 ^(NS) | 0,49 ^(NS) | 0,49 ^(NS) | 0,49 ^(NS) |
| | <i>Gaultheria procumbens</i> | 0,49 | 0,49 | 0,49 | 0,50 |
| | <i>Juniperus communis</i> | 0,50 | 0,50 | 0,50 | 0,48 |
| | α -pineno | 0,49 | 0,49 | 0,50 | 0,49 |

NS: não significativo. Medias seguidas por letras desiguais na coluna diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ($P<0,05$). 1: Percentual de germinação. 2: Massa fresca em g plântula. 3: Tempo médio de germinação. 4: Velocidade média de germinação.

O IVG dentro dos tratamentos de *G. procumbens* e α -pineno não diferenciou estatisticamente, independentemente do tempo avaliado ($P>0,05$) (Tabela 7). Em três dos quatros tempos de armazenamento, 38, 46 e 56, todos os tratamentos não diferiram da testemunha ($P>0,05$). O óleo de *J. communis*, foi o único tratamento a atrasar a germinação no período 71 dias quando comparado com a testemunha e demais tratamentos ($P<0,05$) (Tabela 7).

Embora o IVG seja frequentemente expresso sem unidade, a equação relaciona o número de sementes germinadas por unidade de tempo, e traz a informação de que quanto maior for a velocidade de germinação, mais vigoroso é o lote de sementes (NAKAGAWA, 1999), mostrando que os óleos aqui testados e o α -pineno, não diminuem o vigor das sementes de feijão-caupi nesse parâmetro, com exceção de *J. communis* aos 71 dias de armazenamento.

Houve interação significativa entre os fatores (tempos de amazenamento e tratamentos) ($P<0,05$) (Tabela 7). O peso da massa fresca de plântulas dentro do

tratamento de *G. procumbens* não diferenciou estatisticamente, independentemente do período avaliado ($P>0,05$), já o óleo de *J. communis* não apresentou diferença significativa entre si nos períodos 46, 56 e 71 ($P>0,05$), porém apresentaram diferença significativa quando comparada com o período inicial de 38 dias ($P<0,05$). Diferença significativa foi observada para o composto α -pineno aos 71 dias, quando comparados com a exposição ao composto por 38 dias ($P<0,05$). Aos 38 dias de armazenamento foi observado um incremento de massa fresca nas plântulas provenientes de sementes tratadas com *J. communis*, em relação à testemunha ($P<0,05$). Nesse mesmo tempo a massa fresca de plântulas provenientes de sementes tratadas com óleo de *G. procumbens* e α -pineno, não diferiam da testemunha ($P>0,05$). No período de armazenamento 46 todos os produtos se equiparavam à testemunha no quesito massa fresca ($P>0,05$). Não foram observadas diferenças significativas para os tratamentos dentro dos períodos 56 e 71 dias ($P>0,05$) (Tabela 7).

Tabela 7 Índice de velocidade de germinação e massa fresca de plântulas de feijão-caupi submetidos a diferentes tratamentos e tempos de armazenamento.

| Variável | Tratamentos | ---Período de armazenamento (Dias)--- | | | |
|------------------------|------------------------------|---------------------------------------|-----------|----------|----------|
| | | 38 | 46 | 56 | 71 |
| IVG¹ | | | | | |
| | Testemunha | 24,58 aA | 24,58 aA | 24,58 aA | 24,58 aA |
| | <i>Gaultheria procumbens</i> | 24,91 aA | 24,54 aA | 24,66 aA | 25,0 aA |
| | <i>Juniperus communis</i> | 24,87 aA | 24,25 aAB | 24,75 aA | 23,79 bB |
| | α -pineno | 24,72 aA | 24,83 aA | 24,75 aA | 24,66 aA |
| MF² | | | | | |
| | Testemunha | 0,90 bcA | 0,90 abA | 0,90 aA | 0,90 aA |
| | <i>Gaultheria procumbens</i> | 0,83 cA | 0,87 bA | 0,94 aA | 0,84 aA |
| | <i>Juniperus communis</i> | 1,08 aA | 0,94 abB | 0,95 aB | 0,87 aB |
| | α -pineno | 0,95 bA | 0,99 aA | 0,89 aAB | 0,83 aB |

Médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente na coluna (minúscula) e na linha (maiúscula) pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade para cada variável analisada isoladamente. 1: Índice de velocidade de emergência. 2: Massa fresca em g plântula.

No geral, os parâmetros germinativos avaliados neste trabalho não foram afetados pela aplicação do óleo de *G. procumbens* e α -pineno, exceto para *J. communis*. Já se sabe que extratos à base de plantas influenciam diferentemente nos parâmetros que afetam a qualidade fisiológica e sanitária de sementes (GOMES et al., 2016) e podem ser fitotóxicos (RICCIONI et al., 2019), mas existem exceções baseadas em níveis de tolerância da semente-alvo (ULLAH et al., 2013). Logo, o tratamento de sementes de feijão-caupi variedade Guariba, nas concentrações

utilizadas neste trabalho com óleo essencial de *G. procumbens*, *J. communis* e o composto α -pineno para o manejo de *C. maculatus* não são fitotóxicos, sem afetar a viabilidade e nem o vigor no processo de germinação.

Geralmente, trabalhos de toxicidade que abordam óleos essenciais e seus compostos como ferramentas no manejo de pragas de grãos/sementes armazenadas não levam em consideração os efeitos desses tratamentos na germinação (DA SILVA MOURA et al., 2019) e quando são abordados, se resumem ao percentual de germinação (CHILUWAL et al., 2017).

Alguns óleos podem não afetar o percentual de germinação, porém pode afetar outras variáveis como o peso da massa seca e fresca de plântulas, dentre outras variáveis que podem sinalizar a perda de vigor de lotes de sementes. O extrato aquoso à base de plantas influencia negativamente no peso seco e fresco de plântulas de feijão-caupi e milheto (ALAGESABOOPATHI, 2010) e no peso fresco e seco da parte aérea e da raiz de trigo (ULLAH et al., 2013). Contrariamente em nossos resultados, o feijão-caupi tratado com óleo de *J. communis* na concentração 122 μ L / 20 g e seu composto majoritário, α -pineno, na concentração 57,31 μ L / 20 g deram origem a plântulas com massas iguais ou acima da testemunha, a depender do período de armazenamento. Semelhantemente, o extrato volátil de óleo essencial de jaborandi (*Pilocarpus microphyllus* Stapf ex Holm.) (Rutaceae) estimulou o crescimento da radícula e não provoca inibição da germinação de sementes de alface, caracterizando-se como de efeito alelopático benéfico (ALVES et al., 2004). Logo, o óleo essencial de *J. communis* e α -pineno, apresentam efeito estimulante, refletindo incremento de massa fresca em plântulas de feijão-caupi.

Averiguações precedentes tentaram identificar o efeito fitotóxico de constituintes únicos de óleos essenciais (ISMAN 2000; DE MARTINO et al., 2010), o que não deixa de ser dispensável, mas como já se sabe, os óleos essenciais são de natureza muito complexa, pois geralmente são compostos por uma mistura de muitos componentes ativos em concentrações distintas (BHAVANIRAMYA et al., 2019), o que torna difícil extrapolar a sua toxicidade a partir dos dados de um dos supostos compostos tóxicos (BUCKLE, 2016); ao mesmo tempo que, a enorme variedade de compostos ativos a serem testados e a natureza alelopática dos metabólitos tornaram o esforço muito complexo (RICCIONI et al., 2019). Vale ainda advertir que as metodologias variam bastante e que a toxicidade geralmente é dependente da concentração utilizada (DOMENE et al., 2016), o que deixa a

discussão mais difícil e imprecisa. Ressaltamos a importância dos nossos resultados, já que não há relato de efeitos fitotóxicos de óleos essenciais de *G. procumbens* e *J. communis*, e do composto α -pineno usados na proteção de sementes de feijão-caupi contra o ataque de *C. maculatus*.

Resumidamente, os óleos de *G. procumbens*, *J. communis* e o α -pineno exibem toxicidade por contato, causando deterrência na oviposição e na emergência de adultos de *C. maculatus*, sendo apontados como promissores no manejo dessa praga e para maiores esclarecimentos, sugere-se que os compostos majoritários de *P. pallidum* deveriam ser testados separadamente para a elucidação da toxicidade.

Os óleos de *G. procumbens*, *J. communis* e o composto α -pineno exercem alta atividade fumigante sobre *C. maculatus*, sendo que o óleo de *G. procumbens* se destaca entre os testados por ser letal em baixas concentrações.

Os resultados enfatizam que a repelência vista nos óleos essenciais de *J. communis*, *P. pallidum*, *P. heptaphyllum* e o α -pineno é um efeito subletal, resultando na diminuição da oviposição e na emergência de adultos de *C. maculatus*.

O óleo de *G. procumbens* e o α -pineno não são fitotóxicos ao feijão-caupi, pois não afetam a germinação e nem o vigor de sementes de feijão-caupi. E especificamente o óleo essencial de *J. communis* e o α -pineno são capazes de aumentar a massa fresca em plântulas de feijão-caupi, quando comparados com a testemunha.

4 CONCLUSÕES

- O α -pineno, bem como os óleos essenciais de *P. pallidum* e *G. procumbens* são tóxicos por contato a *C. maculatus*, diminuindo a oviposição e emergência de adultos significativamente.
- Os óleos essenciais de *G. procumbens* e *P. pallidum*, assim como o α -pineno são tóxicos por fumigação contra *C. maculatus*, sendo o óleo essencial de *G. procumbens* o mais promissor nesta atividade.
- Os óleos essenciais de *J. communis*, *P. heptaphyllum* e *P. pallidum*, assim como o α -pineno, são repelentes a *C. maculatus*, diminuindo a oviposição e emergência de adultos significativamente.
- O óleo essencial de *G. procumbens*, bem como o α -pineno não diminuem a germinação e nem o vigor de sementes de feijão-caupi.
- O óleo essencial de *J. communis* e o α -pineno são capazes de aumentar a massa fresca em plântulas de feijão-caupi, quando comparado com a testemunha.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, R. P. Identification of essential oil components by gas chromatography quadrupole mass spectroscopy. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, v. 16, p. 1902-1903, 2005.
- ADELANI, B. S; OLUSEGUN, O. S; OLULAKIN, A. G; ADEOLU, A. M. Chemical composition and bioactivity of *Lippia adoensis* Hochst ex. Walp (Verbenaceae) leaf essential oil against *Callosobruchus maculatus* Fabricius (Coleoptera: Chrysomelidae). **Journal of Northeast Agricultural University (English Edition)**, v. 23, n. 4, p. 8-14, 2016.
- AJAYI, F. A.; OLONISAKIN, A. Bio-activity of three essential oils extracted from edible seeds on the rust-red flour beetle, *Tribolium castaneum* (Herbst.) infesting stored pearl millet. **Trakia Journal of Sciences**, v. 9, n. 1, 2011.
- AJAYI, O. E; APPEL, A. G; FADAMIRO, H. Y. Fumigation toxicity of essential oil monoterpenes to *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae). **Journal of Insects**, v. 2014, 2014.
- ALAGESABOOPATHI, C. Allelopathic effects of *Centella asiatica* aqueous extracts on pearl millet (*Pennisetum typhoides* L.) and cowpea (*Vigna unguiculata* Walp.). **Pakistan Journal of Weed Science Research**, v. 16, n. 1, 2010.
- ALVES, M. D. C. S; MEDEIROS FILHO, S; INNECCO, R; TORRES, S. B. Allelopathy of plant volatile extracts on seed germination and radicle length of lettuce. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 39, n. 11, p. 1083-1086, 2004.
- ANDERSON, K; SCHURLE, B; REED, C; PEDERSEN, J. An economic analysis of producers' decisions regarding insect control in stored grain. **Applied Economic Perspectives and Policy**, v. 12, n. 1, p. 23-29, 1990.
- ASRAR, M; ASHRAF, N; GOGI, M. D; HUSSAIN, S. M; ZIA, K; RASOOL, B. Toxicity and repellence of plant oils against *Tribolium castaneum* (Herbst), *Rhyzopertha dominica* (F.) and *Trogoderma granarium* (E.). **Pakistan Entomologist**, v. 38, n. 1, pp. 55-63, 2016.
- BARBOSA, D. R. S. **Associação de constituintes químicos abundantes em óleos essenciais e cultivares resistentes no manejo de *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) em feijão-caupi**. 98 f. Tese (Doutorado em entomologia agrícola) - Universidade Federal Rural do Pernambuco, Programa de Pós-graduação em Entomologia Agrícola. 2015.
- BHAVANIRAMYA, S; VISHNUPRIYA, S; AL-ABOODY, M. S; VIJAYAKUMAR, R; BASKARAN, D. Role of essential oils in food safety: Antimicrobial and antioxidant applications. **Grain & Oil Science and Technology**, 2019.
- BOUGHERRA, H. H; BEDINI, S; FLAMINI, G; COSCI, F; BELHAMEL, K; CONTI, B. *Pistacia lentiscus* essential oil has repellent effect against three major insect pests of pasta. **Industrial Crops and Products**, v. 63, p. 249-255, 2015.

BUCKLE, J. Essential Oil Toxicity and Contraindications IN: **Clinical Aromatherapy: Essential Oils in Healthcare**. Pages 73-94, Churchill Livingstone, 2016.

CAO, J; PANG, X; GUO, S; WANG, Y; GENG, Z; SANG, Y; GUO, P; DU, S. Pinene-rich essential oils from *Haplophyllum dauricum* (L.) G. Don display anti-insect activity on two stored-product insects. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 140, p. 1-8, 2019.

CHAUBEY, M. K. Acute, Lethal and Synergistic Effects of Some Terpenes Against *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae). **Ecologia Balkanica**, v. 4, n. 1, 2012a.

CHAUBEY, M. K. Fumigant toxicity of essential oils and pure compounds against *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae). **Biological agriculture & horticulture**, v. 28, n. 2, p. 111-119, 2012b.

CHEN, H. P; YANG, K., YOU, C. X; ZHENG, L. S; CAI, Q; WANG, C. F; DU, S. S. Repellency and Toxicity of Essential Oil from *Atractylodes chinensis* Rhizomes against *Liposcelis bostrychophila*. **Journal of food processing and preservation**, v. 39, n. 6, p. 1913-1918, 2015.

CHILUWAL, K; KIM, J; DO BAE, S; PARK, C. G. Essential oils from selected wooden species and their major components as repellents and oviposition deterrents of *Callosobruchus chinensis* (L.). **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 20, n. 4, p. 1447-1453, 2017.

CHOPA, C. S; DESCAMPS, L. R. Composition and biological activity of essential oils against *Metopolophium dirhodum* (Hemiptera: Aphididae) cereal crop pest. **Pest management science**, v. 68, n. 11, p. 1492-1500, 2012.

CLARK, G. S. Methyl salicylate, or oil of wintergreen. **Perfumer & flavorist**, v. 24, n. 1, p. 5-11, 1999.

CAMPOLO, O; GIUNTI, G; RUSSO, A; PALMERI, V; ZAPPALA, L. Essential oils in stored product insect pest control. **Journal of Food Quality**, v. 2018, 2018.

CREDLAND, P. F. The structure of bruchid eggs may explain the ovicidal effect of oils. **Journal of Stored Products Research**, v. 28, n. 1, p. 1-9, 1992.

DA SILVA MOURA, E; FARONI, L. R. D. A; ZANUNCIO, J. C; HELENO, F. F; PRATES, L. H. F. Insecticidal activity of *Vanillosmopsis arborea* essential oil and of its major constituent α -bisabolol against *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae). **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 1-8, 2019.

DE MARTINO, L; ROSCIGNO, G; MANCINI, E; DE FALCO, E; DE FEO, V. Chemical composition and antigerminative activity of the essential oils from five *Salvia* species. **Molecules**, v. 15, n. 2, p. 735-746, 2010.

DOMENE, M. P. GLÓRIA, E. M; BIAGI, J. D; BENEDETTI, B. C; MARTINS, L. Efeito do tratamento com óleos essenciais sobre a qualidade fisiológica e sanitária das sementes de milho (*Zea mays*). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 83, e0072014, 2016.

DON-PEDRO, K. N. Mode of action of fixed oils against eggs of *Callosobruchus maculatus* (F.). **Pesticide Science**, v. 26, n. 2, p. 107-115, 1989.

DUTRA, K. A; OLIVEIRA, J. V; NAVARRO, D. M. D. A. F; SANTOS, J. P. O. Control of *Callosobruchus maculatus* (FABR.)(Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae) in *Vigna unguiculata* (L.) WALP. with essential oils from four *Citrus* spp. plants. **Journal of Stored Products Research**, v. 68, p. 25-32, 2016.

DUTRA, K. A; OLIVEIRA, J. V; NAVARRO, D. M. D. A. F; SANTOS, J. P. O. Control of *Callosobruchus maculatus* (FABR.)(Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae) in *Vigna unguiculata* (L.) WALP. with essential oils from four *Citrus* spp. plants. **Journal of Stored Products Research**, v. 68, p. 25-32, 2016.

EBADOLLAHI, A; MAHBOUBI, M. Insecticidal activity of the essential oil isolated from *Azilia eryngioides* (Pau) Hedge et Lamond against two beetle pests. **Chilean journal of agricultural research**. v. 71, n. 3, 2011.

FENEMORE, P.G. Oviposition of potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* Zell. (Lepidoptera: Gelechiidae): identification of host plant factors influencing oviposition response. **New Zealand Journal of Zoology**, v. 7, n.3, p. 435-439, 1980.

GOMES, R. S. S; NUNES, M. C; NASCIMENTO, L. C; SOUZA, J. O; PORCINO, M. M. Efficiency of essential oils in the sanitary and physiological quality of lima bean seeds (*Phaseolus lunatus* L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 18, n. 1, p. 279-287, 2016.

GUPTA, R. C; MUKHERJEE, I. R. M; MALIK, J. K; DOSS, R. B; DETTBARN, W. D; MILATOVIC, D. Insecticides. In **Biomarkers in toxicology** Academic Press, 2019. p. 455-475.

HASHEMI, S. M; SAFAVI, S. A. Chemical constituents and toxicity of essential oils of oriental arborvitae, *Platycladus orientalis* (L.) Franco, against three stored-product beetles. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 72, n. 2, p. 188, 2012.

ISMAN, M. B. Plant essential oils for pest and disease management. **Crop protection**, v. 19, n. 8-10, p. 603-608, 2000.

JAYA, P. S; PRAKASH, B; DUBEY, N. K. Insecticidal activity of *Ageratum conyzoides* L., *Coleus aromaticus* Benth. and *Hyptis suaveolens* (L.) poit essential oils as fumigant against storage grain insect *Tribolium castaneum* Herbst. **Journal of Food Science and Technology**, v. 51, n. 9, p. 2210, 2014.

JEMÂA, J. M. B; HAOUEL, S; BOUAZIZ, M; KHOUJA, M. L. Seasonal variations in chemical composition and fumigant activity of five *Eucalyptus* essential oils against three moth pests of stored dates in Tunisia. **Journal of Stored Products Research**, v. 48, p. 61-67, 2012.

KEDIA, A; PRAKASH, B; MISHRA, P. K; DWIVEDY, A. K; DUBEY, N. K. Biological activities of *Cuminum cyminum* seed oil and its major components against *Callosobruchus chinensis* and *Sitophilus oryzae*. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 18, n. 3, p. 383-388, 2015a.

KÉITA, S. M; VINCENT, C; SCHMIDT, J. P; ARNASON, J. T. Insecticidal effects of *Thuja occidentalis* (Cupressaceae) essential oil on *Callosobruchus maculatus* [Coleoptera: Bruchidae]. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 81, n. 1, p. 173-177, 2001a.

KÉITA, S. M; VINCENT, C; SCHMIT, J. P; ARNASON, J. T; BÉLANGER, 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, 2001b.

KIM, S. I; YOON, J. S; JUNG, J. W; HONG, K. B; AHN, Y. J; KWON, H. W. Toxicity and repellency of origanum essential oil and its components against *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) adults. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 13, n. 4, p. 369-373, 2010.

KIM, S; LEE, D. Toxicity of basil and orange essential oils and their components against two coleopteran stored products insect pests. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 17, n. 1, p. 13-17, 2014.

KIRAN, S.; PRAKASH, B. Assessment of toxicity, antifeedant activity, and biochemical responses in stored-grain insects exposed to lethal and sublethal doses of *Gaultheria procumbens* L. essential oil. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 63, n. 48, p. 10518-10524, 2015.

KUI, L; YANQI, L; CHUNMING, Z. Y. L; XIAOLIN, Z; YONGJIA, J. Synthesis of natural insecticide p-phellandrene [j]. **Natural Product Research and Development**, v. 4, 1996.

LEE, S. E; LEE, B. H; CHOI, W. S; PARK, B. S; KIM, J. G; CAMPBELL, B. C. Fumigant toxicity of volatile natural products from Korean spices and medicinal plants towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L). **Pest Management Science: formerly Pesticide Science**, v. 57, n. 6, p. 548-553, 2001

LIANG, J. Y; GUO, S. S; ZHANG, W. J; GENG, Z. F; DENG, Z. W; DU, S. S; ZHANG, J. Fumigant and repellent activities of essential oil extracted from *Artemisia dubia* and its main compounds against two stored product pests. **Natural product research**, v. 32, n. 10, p. 1234-1238, 2018.

LOPES, L. M; SOUSA, A. H; SANTOS, V. B; SILVA, G. N; ABREU, A. O. Development rates of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae) in landrace cowpea varieties occurring in southwestern Amazonia. **Journal of Stored Products Research**, v. 76, p. 111-115, 2018.

MAGUIRE, J. D. **Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor**. Crop Science, Madison, v. 2, n. 1, jan./feb. 1962. 176-177p.

MALACRINÒ, A; CAMPOLO, O; LAUDANI, F; PALMERI, V. Fumigant and repellent activity of limonene enantiomers against *Tribolium confusum* du Val. **Neotropical entomology**, v. 45, n. 5, p. 597-603, 2016.

MAPA. Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. **Instrução normativa nº 45**, de 17 de setembro de 2013. 2013.

MATOS, L. F; DA CRUZ LIMA, E; DUTRA, K.A.; NAVARRO, D. M. D. A. F; ALVES, J. L. R; SILVA, G. N. Chemical composition and insecticidal effect of essential oils from *Illicium verum* and *Eugenia caryophyllus* on *Callosobruchus maculatus* in cowpea. **Industrial Crops and Products**, v. 145, p. 112088, 2020.

MBATA, G. N; PAYTON, M. E. Effect of monoterpenoids on oviposition and mortality of *Callosobruchus maculatus* (F.)(Coleoptera: Bruchidae) under hermetic conditions. **Journal of stored products research**, v. 53, p. 43-47, 2013.

MEDEIROS, W. R; COSTA SILVA, J. D; SILVA, P. R. R; GIRÃO FILHO, J. E; MOURA PADUA, L. E; FRANÇA, S. M. Resistência de genótipos de feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] ao Ataque do Caruncho *Callosobruchus maculatus* (Fabr.)(Coleoptera: Chrysomelidae). **EntomoBrasilis**, v. 10, n. 1, p. 19-25, 2017.

NAKAGAWA, J. Testes de Vigor Baseados no Desempenho das Plântulas In. KRZYŻANOWSKI, F.C; VIEIRA, R.D. FRANÇA NETO, J.B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Abrates (Londrina) 1999. p 21-24.

NATTUDURAI, G; BASKAR, K.; PAULRAJ, M. G; ISLAM, V. I. H; IGNACIMUTHU, S; DURAI PANDIYAN, V. Toxic effect of *Atalantia monophylla* essential oil on *Callosobruchus maculatus* and *Sitophilus oryzae*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 2, p. 1619-1629, 2017.

NGAMO, T. S. L; NGATANKO, I; NGASSOUM, M. B; MAPONGMESTSEM, P. M; HANCE, T. Persistence of insecticidal activities of crude essential oils of three aromatic plants towards four major stored product insect pests. **African Journal of Agricultural Research**, v. 2, n. 4, p. 173-177, 2007.

NIKOLIĆ, M; MARKOVIĆ, T; MOJOVIĆ, M; PEJIN, B; SAVIĆ, A; PERIĆ, T; SOKOVIĆ, M. Chemical composition and biological activity of *Gaultheria procumbens* L. essential oil. **Industrial crops and products**, v. 49, p. 561-567, 2013.

NIU, X; MI, L; LI, Y; WEI, A; YANG, Z; WU, J; ZHANG, D. SONG, X. Physiological and biochemical responses of rice seeds to phosphine exposure during germination. **Chemosphere**, v. 93, n. 10, p. 2239-2244, 2013.

NOURI-GANBALANI, G; EBADOLLAHI, A; NOURI, A. Chemical composition of the essential oil of *Eucalyptus procera* dehn. and its insecticidal effects against two stored product insects. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 19, n. 5, p. 1234-1242, 2016.

NOVELINO, A. M. S.; DAEMON, E.; SOARES, G. L. G. Avaliação da atividade repelente do timol, mentol, salicilato de metila e ácido salicílico sobre larvas de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 3, p. 700-704, 2007.

NYAMADOR, W. S; KETOH, G. K; AMÉVOIN, K; NUTO, Y; KOUMAGLO, H. K; GLITHO, I. A. Variation in the susceptibility of two *Callosobruchus* species to essential oils. **Journal of Stored Products Research**, v. 46, n. 1, p. 48-51, 2010.

OBENG-OFORI, D. Plant oils as grain protectants against infestations of *Cryptolestes pussilus* and *Rhyzopertha dominica* in stored grain. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.77, n.2, p.133-139, 1995.

OLIVEIRA, F. J; SANTOS, J. H. R; ALVES, J. F; PAIVA, J. B; ASSUNÇÃO, M. V. Perdas de peso em sementes de cultivares de caupi, atacadas pelo caruncho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 19, n. 1, p. 47-52, 1984.

PARK, C. G; SHIN, E; KIM, J. Insecticidal activities of essential oils, *Gaultheria fragrantissima* and *Illicium verum*, their components and analogs against *Callosobruchus chinensis* adults. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 19, n. 2, p. 269-273, 2016.

PARK, H. M; KIM, J; CHANG, K. S; KIM, B. S; YANG, Y. J; KIM, G. H; PARK, I. K. Larvicidal activity of Myrtaceae essential oils and their components against *Aedes aegypti*, acute toxicity on *Daphnia magna*, and aqueous residue. **Journal of Medical Entomology**, v. 48, n. 2, p. 405-410, 2011.

PEREIRA, A. C. R. L; OLIVERIRA, J. V; GONDIM JUNIOR, M. G. C; CÂMARA, C. A. G. Insecticide activity of essential and fixed oils in *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) (Coleoptea: Bruchidae) in cowpea grains *Vigna unguiculata* (L.) Walp. **Ciencia Agrotec**, v. 32, n. 3, p. 717-724, 2008.

PHILLIPS, T. W.; THRONE, J. E. Biorational approaches to managing stored-product insects. **Annual Review of Entomology**. v. 55, p. 375–397, 2010.

PLIMMER, JACK R. The effect of fumigants on food quality. **Journal of Food Safety**, v. 1, n. 2, p. 87-105, 1977.

PROPHIRO, J. S; SILVA, M. A. N; KANIS, L. A; SILVA, B. M; DUQUE-LUNA, J. E; SILVA, O. S. Evaluation of time toxicity, residual effect, and growth-inhibiting property of *Carapa guianensis* and *Copaifera* sp. in *Aedes aegypti*. **Parasitology research**, v. 110, n. 2, p. 713-719, 2012.

POURYA, M; SADEGHI, A; GHOBARI, H; TANING, C. N. T; SMAGGHE, G. Bioactivity of *Pistacia atlantica* desf. Subsp. *Kurdica* (Zohary) Rech. F. and *Pistacia khinjuk* stocks essential oils against *Callosobruchus maculatus* (F, 1775)(Coloeptera: Bruchidae) under laboratory conditions. **Journal of stored products research**, v. 77, p. 96-105, 2018.

RAJENDRAN, S.; SRIRANJINI, V. Plant products as fumigants for stored-product insect control. **Journal of Stored Products Research**. v. 44, p. 126–135, 2008.

RAJKUMAR, V; GUNASEKARAN, C; CHRISTY, I. K; DHARMARAJ, J; CHINNARAJ, P; PAUL, C. A. Toxicity, antifeedant and biochemical efficacy of *Mentha piperita* l. essential oil and their major constituents against stored grain pest. **Pesticide biochemistry and physiology**, v. 156, p. 138-144, 2019.

REGNAULT-ROGER, C; VINCENT, C; ARNASON, J. T. Essential oils in insect control: low-risk products in a high-stakes world. **Annual review of entomology**, v. 57, p. 405-424, 2012.

RICCIONI, L; ORZALI, L; ROMANI, M; ANNICCHIARICO, P; PECETTI, L. Organic seed treatments with essential oils to control ascochyta blight in pea. **European Journal of Plant Pathology**, v. 155, n. 3, p. 831-840, 2019.

RODRIGUES, R.M. B. A. **Bioatividade do óleo essencial de *Protium heptaphyllum* (aubi.) e Limoneno no controle de *Callosobruchus maculatus***. 2018, 48f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal do Piauí, Programa de Pós-graduação em Agronomia. 2018..

SAID, P. P.; PASHTE, V. V. Botanicals: The protectants of stored grains pests. **Trends in Biosciences**, v. 8, n. 15, p. 3750-3755, 2015.

SENDI, J. J; EBADOLLAHI, A. Biological activities of essential oils on insects. **Recent Progress in Medicinal Plants (RPMP): Essential Oils II**, v. 37, p. 129-150, 2014.

SHAFIAIE, F; ARAMIDEH, S. H. A. H. R. A. M; VALIZADEGAN, O. R. U. J; SAFARALIZADEH, M. H; HOSSEINI-GHARALARI, A. Efficacy of Herbal Essential Oils against Cowpea Weevil, *Callosobruchus maculatus* Fabricus, and Wheat Weevil, *Sitophilus granarius* L. **Oriental Journal of Chemistry**, v. 35, n. 3, p. 1174, 2019.

SHUKLA, R; SINGH, P; PRAKASH, B; KUMAR, A; MISHRA, P. K; DUBEY, N. K. Efficacy of essential oils of *Lippia alba* (Mill.) NE Brown and *Callistemon lanceolatus* (Sm.) Sweet and their major constituents on mortality, oviposition and feeding behaviour of pulse beetle, *Callosobruchus chinensis* L. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 91, n. 12, p. 2277-2283, 2011.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT User's guide, version 8.02**, TS level 2MO. SASInstitute Inc., Cary, NC.1999-2001.

SILVA, E. A. J; ESTEVAM, E. B. B; SILVA, T. S; NICOLELLA, H. D; FURTADO, R. A; ALVES, C. C. F; MIRANDA, M. L. D. Antibacterial and antiproliferative activities of the fresh leaf essential oil of *Psidium guajava* L.(Myrtaceae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 79, n. 4, p. 697-702, 2019.

SILVA, O. D. V. **Toxicidade de óleos essenciais sobre *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) em grãos de *Vigna unguiculata* (L.) Walp.** 2018, 42 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal do Piauí, Programa de Pós-graduação em Agronomia. 2018.

SILVA, S. M. S; FREIRE FILHO, F. R. **Proteínas de feijão caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp]: caracterização e aplicação nutricional**. Embrapa Meio-Norte-Documentos (INFOTECA-E), 1999.

SOUZA, L. P; FARONI, L. R. D. A; LOPES, L. M; DE SOUSA, A. H; PRATES, L. H. F. Toxicity and sublethal effects of allyl isothiocyanate to *Sitophilus zeamais* on population development and walking behavior. **Journal of Pest Science**, v. 91, n. 2, p. 761-770, 2018.

SPOCHACZ, M; CHOWAŃSKI, S; WALKOWIAK-NOWICKA, K; SZYMCZAK, M; ADAMSKI, Z. Plant-Derived Substances Used Against Beetles—Pests of Stored

Crops and Food—and Their Mode of Action: A Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 17, n. 5, p. 1339-1366, 2018.

STEFANAZZI, N; STADLER, T; FERRERO, A. Composition and toxic, repellent and feeding deterrent activity of essential oils against the stored-grain pests *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). **Pest Management Science**, v. 67, n. 6, p. 639-646, 2011.

TISSERAND, R; YOUNG, R. **Essential oil Safety-E-Book: A guide for health care professionals**. Elsevier Health Sciences, 2013.

TRIPATHI, A; PRAJAPATI, V; KHANUJA, S. P. S; KUMAR, S. Effect of d-limonene on three stored-product beetles. **Journal of Economic Entomology**, v. 96, n. 3, p. 990-995, 2003.

ULLAH, A; KHAN, E. A; BALOCH, M. S; NADIM, M. A; SADIQ, M; NOOR, K. Allelopathic effects of herbaceous and woody plant species on seed germination and seedling growth of wheat. **Pakistan Journal of Weed Science Research**, v. 19, n. 3, 2013.

VAN DEN DOLL, H.; KRATZ, P.D.J.A. Generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography**. v. 11, p. 463-471, 1963.

WALIWITIYA, R; KENNEDY, C. J; LOWENBERGER, C. A. Larvicidal and oviposition-altering activity of monoterpenoids, trans-anethole and rosemary oil to the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Pest Management Science: formerly Pesticide Science**, v. 65, n. 3, p. 241-248, 2009.

YANG, F. L; ZHU, F; LEI, C. L. Garlic essential oil and its major component as fumigants for controlling *Tribolium castaneum* (Herbst) in chambers filled with stored grain. **Journal of pest science**, v. 83, n. 3, p. 311-317, 2010.

YAZDGERDIAN, A. R; AKHTAR, Y; ISMAN, M. B. Insecticidal effects of essential oils against woolly beech aphid, *Phyllaphis fagi* (Hemiptera: Aphididae) and rice weevil, *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 3, n. 3, p. 265-271, 2015.

ZANDI-SOHANI, N; HOJJATI, M; CARBONELL-BARRACHINA, A. A. Bioactivity of *Lantana camara* L. essential oil against *Callosobruchus maculatus* (Fabricius). **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 72, n. 4, p. 502, 2012.

Capítulo 3: Toxicidade e repelência de óleos essenciais e α -pineno no manejo de *Zabrotes subfasciatus* (Bohemann, 1833) (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae) em feijão comum

RESUMO

Zabrotes subfasciatus é a principal praga do feijão comum armazenado e o uso de óleos essenciais e seus componentes têm se mostrado promissor para o manejo dessa praga. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a toxicidade por contato, fumigação e efeito repelente de α -pineno e dos óleos essenciais das espécies *Gaultheria procumbens*, *Juniperus communis*, *Protium heptaphyllum* e *Protium pallidum* no manejo de *Z. subfasciatus* em feijão comum armazenado. Foram calculadas concentrações letais por contato e fumigação e subletais por contato. As concentrações subletais calculadas no teste de contato, foram testadas para avaliação do efeito repelente. No teste de contato a CL_{50} foi de 1,09 μ L / 20 g para *G. procumbens*, 4,32 μ L / 20 g para *P. heptaphyllum*, 4,06 μ L / 20 g para *P. pallidum*, 9,53 μ L / 20 g para *J. communis*, 17,83 μ L / 20 g para α -pineno. Todos os produtos diminuíram a oviposição e a emergência de novos adultos. A toxicidade por fumigação variou com CL_{50} de 31,60; 48,97; 112,92; 183,46 e 241,57 μ L / L de ar para *G. procumbens*, *P. heptaphyllum*, *P. pallidum*, *J. communis* e α -pineno, respectivamente. Todos os óleos essenciais repeliram adultos de *Z. subfasciatus* significativamente em concentrações subletais. Todos os óleos apresentam atividade deterrente na oviposição com ênfase para óleos de *G. procumbens* e *P. pallidum* que reduziram a oviposição em 100%, porém o α -pineno foi deterrente apenas na CL_{50} . Conclui-se que os produtos testados são tóxicos a *Z. subfasciatus* e podem ser usados como ferramentas no manejo dessa espécie.

Palavras-chave: Contato, fumigação, deterrência, caruncho, efeito subletal

ABSTRACT

Zabrotes subfasciatus is the main pest of stored common beans and the use of essential oils and their components has shown to be promising for the management of this pest. Therefore, the objective of this study was to evaluate the contact toxicity, fumigation and repellent effect of α -pinene and essential oils of the species *Gaultheria procumbens*, *Juniperus communis*, *Protium heptaphyllum* and *Protium pallidum* in the management of *Z. subfasciatus* in stored common beans. Lethal concentrations per contact and fumigation and sublethals per contact were calculated. The sublethal concentrations calculated in the contact test were tested to assess the repellent effect. In the contact test, the LC₅₀ was 1.09 $\mu\text{L} / 20 \text{ g}$ for *G. procumbens*, 4.32 $\mu\text{L} / 20 \text{ g}$ for *P. heptaphyllum*, 4.06 $\mu\text{L} / 20 \text{ g}$ for *P. pallidum*, 9.53 $\mu\text{L} / 20 \text{ g}$ for *J. communis*, 17.83 $\mu\text{L} / 20 \text{ g}$ for α -pinene. All products reduced oviposition and the emergence of new adults. Fumigation toxicity varied with LC₅₀ of 31.60; 48.97; 112.92; 183.46 and 241.57 $\mu\text{L} / \text{L}$ of air for *G. procumbens*, *P. heptaphyllum*, *P. pallidum*, *J. communis* and α -pinene, respectively. All essential oils repelled adults from *Z. subfasciatus* significantly at sublethal concentrations. All oils have a deterrent activity in oviposition with an emphasis on oils from *G. procumbens* and *P. pallidum*, which reduced oviposition by 100%, but α -pinene was deterrent only at LC₅₀. It is concluded that the tested products are toxic to *Z. subfasciatus* and can be used as tools in the management of this species.

Keywords: Contact, fumigation, deterrence, weevil, sublethal effect.

Lista de tabelas

- Tabela 1** Toxicidade por contato de óleos essenciais e α -pineno em adultos de *Zabrotes subfasciatus*.....140
- Tabela 2** Equações de regressão para oviposição e emergência de *Zabrotes subfasciatus* sob grãos de feijão comum tratados com óleos essenciais e α -pineno.....141
- Tabela 3** Índice e classificação de preferência para oviposição de *Zabrotes subfasciatus* obtidos em feijão comum tratado e não tratado com óleos essenciais e α -pineno.....146
- Tabela 4** Porcentagem de redução de emergência de adultos de *Zabrotes subfasciatus* obtidos em feijão comum tratado e não tratado com óleos essenciais e α -pineno.....148
- Tabela 5** Toxicidade por fumigação de óleos essenciais e α -pineno em adultos de *Zabrotes subfasciatus*.....151

1 INTRODUÇÃO

O feijão comum [*Phaseolus vulgaris* L. (Fabaceae)] é uma leguminosa que tem um papel importante na dieta alimentar da população e na geração de renda (FERREIRA; MARIA E FARIA, 2002; BROUGHTON, 2003). Os rendimentos da cultura são reduzidos e desestabilizados por pragas que também afetam a qualidade dos produtos colhidos. O caruncho *Zabrotes subfasciatus* (Bohemann, 1833) (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae) alimenta-se de grãos armazenados e, portanto, possui grande relevância econômica e social, pois seu principal hospedeiro é o feijão comum (*P. vulgaris*), uma importante fonte de proteína na América Latina e na África (TEXEIRA; BEIJO; BARCHUK, 2016).

O grau de dano causado por *Z. subfasciatus* pode ser ainda maior, dependendo do período e das condições de armazenamento (BAYIH; TAMIRU; EGIGU, 2018). Além disso, as injúrias causadas aos grãos pelos carunchos afetam a palatabilidade, o odor, aumenta a presença de microrganismos, reduzem a qualidade nutricional, resultando em perda de peso e valor de mercado do feijão (BALDIN; LARA, 2008; DENDY; CREDLAND, 1991; ABATE; AMPOFO, 1996).

O controle convencional de pragas no armazenamento usando inseticidas sintéticos resulta em várias consequências indesejáveis (BAYIH; TAMIRU; EGIGU, 2018), como por exemplo, o desenvolvimento de resistência pela praga (WILLIAMS; HAMMITT, 2001; ABOUSEADAA et al., 2015), riscos ambientais generalizados (NAYAKA; DAGLISH; PHILLIPS, 2015) e riscos à saúde no manuseio e aplicação (CARNEIRO, 2015).

Nos últimos anos, os óleos essenciais vem ganhando destaque como potenciais inseticidas botânicos contra pragas de armazenamento a partir da avaliação da toxicidade por diferentes métodos (BERNARDES et al., 2018; BRITO et al., 2015; FRANÇA et al., 2012) e as pesquisas ainda mostram que esses óleos essenciais são altamente lipofílicos e têm a capacidade de penetrar através da cutícula de inseto (TRIPATHI et al. 2009).

Muitos compostos naturais isolados de plantas demonstraram um amplo espectro de atividades biológicas (SENDI; EBADOLLAHI, 2014). Tanto óleos essenciais, como compostos isolados têm sido fontes promissoras de inseticidas de contato, fumigação e repelentes contra uma diversidade de pragas de grãos armazenados (SPOCHACZ et al., 2018).

Compreender o modo de ação dos inseticidas botânicos é importante para atrasar o desenvolvimento de resistência a inseticidas em pragas de insetos-alvo (SOIJANYA, et al., 2016). Vários autores trabalharam no modo de ação dos botânicos contra pragas de insetos de armazenamento (TALUKDER et al. 2004; COPPING; DUKE 2007; RATTAN 2010). A atividade inseticida de monoterpenos hidrocarbonetos, a exemplo, o α -pineno, quanto de óleos essenciais de plantas, é resultado da interferência em importantes enzimas, como a acetilcolinesterase (AChE) (PRAVEENA; SANJAYAN, 2011; LÓPEZ; PASCUAL-VILLALOBOS, 2010; SOUZA et al., 2012; SAAD; ABOU-TALEB; ABDELGALEIL, 2018). A inibição da atividade da AChE ocorreu em adultos de *Sitophilus oryzae* (L.) quando expostos a concentrações subletais de α -pineno por fumigação (CHAUBEY, 2012a).

Óleos essenciais das espécies *Gaultheria procumbens* L. (Ericaceae), *Juniperus communis* L. (Cupressaceae), *Protium heptaphyllum* (Aubl.) March. (Burseraceae) bem como o composto α -pineno são descritos como tóxicos a pragas que atacam grãos em armazéns como *Sitophilus zeamais* L. (Coleoptera: Curculionidae), *Tribolium castaneum* Herbst. (Tenebrionidae), *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae), *Rhyzopertha dominica* Fabr. (Coleoptera: Bostrichidae), *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae), *Sitophilus granaries* L. (Coleoptera: Curculionidae) (KIM; LEE, 2014; KIRAN; PRAKASH, 2015a; YAZDGERDIAN, AKHTAR; ISMAN, 2015; SHAFIAIE et al., 2019; RODRIGUES, 2018), porém não há relatos dos efeitos desses sobre *Z. subfasciatus*.

A partir disso, para substituir moléculas ambientalmente agressivas de inseticidas sintéticos por inseticidas naturais é necessário realizar estudos de bioprospecção (bioensaios toxicológicos juntamente com a separação cromatográfica) para isolar e identificar novos compostos ativos de plantas (GONÇALVES et al., 2019). Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a toxicidade e efeito repelente do α -pineno e dos óleos essenciais das espécies *Gaultheria procumbens*, *Juniperus communis*, *Protium heptaphyllum* e *Protium pallidum* no manejo de *Zabrotes subfasciatus* em feijão comum armazenado.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos de toxicidade por contato, fumigação e repelência foram desenvolvidos no Laboratório de Entomologia no Centro de Ciências Agrárias - CCA

da Universidade Federal do Piauí - UFPI, sob condições controladas de temperatura, umidade relativa e fotofase.

2.1 *Eliminação da infestação e equilíbrio da umidade dos grãos*

Os grãos de feijão comum utilizados para a criação dos insetos e experimentos, foram pré-selecionados e secos, acondicionados em sacos plásticos e mantidos em freezer sob temperatura de -10°C , durante sete dias, para a eliminação de eventuais infestações de insetos provenientes do campo. Após à retirada, os grãos foram transferidos para frascos de vidro e mantidas no laboratório durante 10 dias com a finalidade de atingirem o equilíbrio higroscópico em temperatura de $27^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de 60%.

2.2 *Criação de *Zabrotes subfasciatus**

A criação estoque dos insetos é mantida no Laboratório de Entomologia do Centro de Ciências das Natureza - CCN. Esses foram multiplicados por diversas gerações em feijão comum tipo carioca em recipiente de vidro ou plásticos, com tampa perfurada para permitir as trocas gasosas. Os insetos foram confinados por 48 horas nos recipientes com feijão para efetuarem a oviposição. Após o confinamento os grãos eram peneirados e os insetos descartados. Os recipientes eram mantidos em sala de criação com temperatura controlada em aproximadamente $27^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $60 \pm 5\%$, até a emergência dos adultos. Tal procedimento foi repetido por sucessivas gerações até se findar a montagem dos experimentos, com a finalidade de garantir a quantidade de adultos necessária para a realização dos testes.

2.3 *Obtenção dos óleos essenciais e α -pineno*

O composto α -pineno com 98% de pureza foi adquirido da empresa Sigma-Aldrich Brasil LTDA e os óleos essenciais de *Gaultheria procumbens* L. (Ericaceae) (Wintergreen) e *Juniperus communis* L. (Cupressaceae) (Zimbro) ambos porveninetes de frutos, foram adquiridos da empresa FERQUIMA® Indústria e Comércio LTDA; Já o óleo essencial proveniente da resina de *Protium pallidum* Cuatrec. (Burseraceae) (Breu branco) foi adquirido na empresa Terra Flor Indústria e Comércio de Aromaterápicos LTDA e *Protium heptaphyllum* (Aubl.) March.

(Burseraceae) (Almécega) obtido pelo processo de hidrodestilação da resina descrito a seguir:

A resina foi adquirida no comércio local de Teresina – PI, com centro de origem na cidade de Timon-MA. O processo de extração do óleo da resina de *P. heptaphyllum* foi realizado no Laboratório de Química Orgânica localizado no Centro de Ciências da Natureza – CCN, pelo método de hidrodestilação em aparelho do tipo *Clevenger* modificado (CRAVEIRO et al., 1981; SILVA et al., 2019). Em um balão de fundo redondo, foram utilizados 500 g de resina e 3 litros de água destilada. O processo de extração ocorreu por cerca de 4 h, em temperatura constante para a manutenção da ebulição. Decorrido esse tempo, coletou-se o hidrolato sendo este particionado em funil de separação para eliminação da fase aquosa e recuperação do óleo essencial. Após a extração, o óleo ficou mantido sob refrigeração a uma temperatura de -10°C.

2.4 Teste de toxicidade por contato

Foram utilizadas diferentes concentrações obtidas em testes preliminares para cada produto: óleos essenciais [*G. procumbens* (0,5; 1,0; 1,3; 2,0 e 4,0 µL / 20 g), *J. communis* (10, 20, 30 e 40 µL / 20 g), *P. pallidum* (1, 10, 20, 25 e 35 µL / 20 g) e *P. heptaphyllum* (2,1; 3,0; 7,0 e 10,0 µL / 20 g)]; e o α -pineno (5, 12, 18, 30, 40 e 50 µL / 20 g). Cada unidade experimental foi constituída de 20 g de feijão comum tipo carioca, tratados com os produtos individualmente e um controle (sem adição de produto). Estes foram acondicionados em recipientes plásticos de 100 mL com tampa perfurada para permitir as trocas gasosas. Os produtos foram impregnados nos grãos de feijão por meio de micropipetador automático de volume variável. Em seguida, os recipientes foram submetidos à agitação manual por 1 minuto, para distribuir uniformemente os produtos nos grãos. Após esse processo em cada repetição foram adicionadas 10 fêmeas adultas de *Z. subfasciatus* com 0-48h de idade. Para cada tratamento foram utilizadas cinco repetições. A avaliação de mortalidade foi realizada 48 h após a montagem do experimento, sendo considerado morto o inseto que não respondesse a estímulos mecânicos.

2.5 Efeito repelente

Foram utilizadas as CL₁₅, CL₃₀ e CL₅₀ calculadas nos testes de contato, dos produtos, a fim de se observar o comportamento do efeito repelente de cada produto

nas respectivas concentrações. Os testes foram conduzidos em arenas formadas por três recipientes plásticos com volume de 100 mL cada. Esses foram alinhados de modo equidistante e interligados por tubos plásticos cilíndricos com 0,6 cm de diâmetro e 10 cm de comprimento. Num dos recipientes laterais foram colocados 20 g de feijão comum, sem o óleo (controle) e na outra a mesma quantidade de feijão comum impregnado com a respectiva concentração de cada produto individualmente, seguido de encerramento com tampa perfurada para permitir as trocas gasosas. Os grãos que foram tratados com produtos passaram pelo mesmo processo de uniformização que no teste de toxicidade por contato. No recipiente central foram liberados dezesseis adultos não sexados de *Z. subfasciatus* com 0-48 h de idade para cada repetição. Utilizou-se para cada experimento dois tratamentos (grãos tratados e controle) e 10 repetições. A quantificação do número de insetos atraídos para cada recipiente foi realizada 24 h após a montagem do experimento. O número de ovos foi contabilizado aos 12 dias e os insetos emergidos do 19º ao 28º dia após o confinamento.

2.6 Teste de toxicidade por fumigação

Foram utilizadas diferentes concentrações para cada produto: óleos essenciais [*G. procumbens* (15, 20, 60, 70 e 100 µL / L de ar), *J. communis* (180, 300, 400 e 500 µL / L), *P. pallidum* (50, 100, 200, 300 e 350 µL / L) e *P. heptaphyllum* (30, 50, 100 e 450 µL / L)]; e o α-pineno (120, 180, 250, 300 e 400 µL / L). Para a avaliação do efeito fumigante dos produtos sobre adultos de *Z. subfasciatus* foram utilizados recipientes plásticos transparentes de polipropileno com tampa rosqueável, de volume conhecido (100 mL), onde foram colocados 20 indivíduos não sexados com 0-48 h de idade para cada repetição. Os produtos foram impregnados com auxílio de uma micropipeta automática, em tiras de papel de filtro de 5 x 2 cm, fixadas na superfície inferior da tampa dos recipientes. Para evitar o contato direto dos insetos com os produtos foi utilizado um tecido poroso (*voil*), entre a tampa e o recipiente propriamente dito. Os recipientes foram vedados com fita adesiva, visando evitar a saída dos vapores. Para cada tratamento foram utilizadas quatro repetições. A avaliação de mortalidade foi realizada 48 h após a montagem do experimento, sendo considerado morto o inseto que não respondesse a estímulos mecânicos.

2.7 Análise estatística e delineamento experimental

Em todos os testes o delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, onde o número de tratamentos variou conforme as concentrações utilizadas.

Para o teste de contato, as concentrações necessárias para matar 15, 30, 50 e 95% da população (CL_{15} , CL_{30} , CL_{50} e CL_{95}) dos óleos e α -pineno foram calculadas pelo PROC PROBIT. As razões de toxicidade (RT) foram obtidas individualmente para cada CL, através do quociente entre a CL_{15} , CL_{30} , CL_{50} e CL_{95} do produto que apresentou menor toxicidade (maior concentração) pelas CL_{15} , CL_{30} , CL_{50} e CL_{95} dos produtos restantes. As médias de números de ovos e de insetos emergidos foram transformados em $\log(x)$ para atenderem aos pressupostos da ANOVA e quando significativos, estes foram submetidos à análise de regressão para a sua interpretação e selecionadas as equações com base na sua significância e maior coeficiente de determinação (r^2). Assim como descrito anteriormente para contato, as mesmas avaliações foram feitas para fumigação, porém, apenas para CL_{50} e CL_{95} e suas respectivas razões de toxicidade.

Já para a repelência, o número de insetos atraídos para cada recipiente foi comparado usando o Proc FREQ e interpretado pelo teste de Qui-quadrado ($P < 0,05$). O número de ovos contabilizados nas testemunhas e no tratamento foi utilizado para calcular o índice de preferência para a oviposição (IPO) por meio da expressão $IPO = [(T-P)/(T+P)] \times 100$, em que: T é o número de ovos contados nas sementes tratadas com óleos; P é o número de ovos contados nas sementes não tratadas. O índice varia de +100 (muito estimulante) a -100 (total deterrência ou inibição de oviposição) (FENEMORE, 1980). Os adultos emergidos na testemunha e em cada tratamento foram contabilizados para calcular a redução de emergência de adultos com base na fórmula $PR = (NC - NT)/(NC + NT) \times 100$, adaptada de OBENG-OFORI (1995), sendo PR, a porcentagem média de redução de emergência; NC, o número médio de insetos emergidos na testemunha; e NT, o número médio de insetos emergidos em cada tratamento com produto (óleo ou isolado). Os resultados foram analisados pelo teste t pareado ($P < 0,05$).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Efeito de toxicidade por contato dos óleos essenciais e α -pineno sobre *Z. subfasciatus*

A toxicidade por contato dos óleos essenciais e α -pineno sobre *Z. subfasciatus* decresceu na seguinte ordem *Gaultheria procumbens* > *Protium heptaphyllum* > *Protium pallidum* \geq *Juniperus communis* > α -pineno para CL₃₀ e CL₅₀ (Tabela 1). O Modelo de probit foi adequado para analisar os dados de resposta de mortalidade no inseto-alvo, quando este foi exposto a diferentes concentrações dos produtos. Os baixos valores χ^2 e altos valores de *P*, para cada curva de concentração-mortalidade ($\chi^2 < 6,21$ e $P > 0,05$) confirmam a adequação do modelo (Tabela 1).

As concentrações letais (CL₁₅, CL₃₀, CL₅₀ e CL₉₅) estimadas para os óleos essenciais de *G. procumbens* foram 0,62; 0,82; 1,09 e 2,69 $\mu\text{L} / 20 \text{ g}$, para *P. pallidum* 2,33; 4,32; 7,16; 42,59 $\mu\text{L} / 20 \text{ g}$; para *P. heptaphyllum* 3,04; 3,62; 4,06 e 7,57 $\mu\text{L} / 20 \text{ g}$ e para *J. communis* 3,46; 5,71; 9,53 e 47,61 $\mu\text{L} / 20 \text{ g}$, respectivamente e o composto, α -pineno as concentrações obtidas foram 11,69; 17,83 e 67,11 $\mu\text{L} / 20 \text{ g}$, para CL₃₀, CL₅₀ e CL₉₅, respectivamente. Não houve sobreposição dos intervalos de confiança para o óleo de *G. procumbens*, sendo esse o mais tóxico entre os produtos testados, porém foi observada a sobreposição nos intervalos de confiança de *P. pallidum* e *J. communis* para todas as concentrações letais e para *J. communis* e α -pineno, apenas para CL₉₅.

No entanto, houve variação na inclinação dos produtos de 2,12 a 6,77 evidenciando diferença toxicológica entre estes, sendo que o óleo de *P. heptaphyllum* foi o mais inclinado ($6,77 \pm 0,69$) dentre os produtos testados, mostrando que pequenos incrementos na concentração, causam altas respostas de mortalidade (Tabela 1).

A toxicidade de óleos essenciais em diferentes espécies de coleópteros que infestam produtos armazenados são altamente variáveis com base nas diferenças toxicológicas, em especial devido à composição do óleo essencial que pode variar de acordo com a sua origem geográfica, bem como da parte da planta utilizada para a extração ou pelo método de extração, modificando, assim, a sua atividade contra as pragas de produtos armazenados (CAMPOLO et al., 2018). Tais informações são

possíveis justificativas para as diferenças toxicológicas atribuídas aos produtos testados em *Z. subfasciatus*.

O óleo essencial de *G. procumbens* apresentou maior razão de toxicidade para todas as concentrações letais, chegando a ser 25 vezes mais tóxico que o α -pineno, enquanto a menor razão de toxicidade foi observada no óleo essencial de *J. communis*. Considerando a sobreposição dos intervalos de confiança de *J. communis*, *P. heptaphyllum* e *P. pallidum* nas $CL_{30;50}$ não houve diferença entre a toxicidade desses produtos, assim como entre *J. communis*, *P. heptaphyllum*, *P. pallidum* e α -pineno na CL_{95} . Entretanto, o óleo de *G. procumbens* é o mais tóxico por apresentar menores concentrações letais sem sobreposição de intervalos de confiança e maiores $RT_{30; 50; 95}$ (Tabela 1).

Diversos óleos essenciais possuem toxicidade por contato sobre *Z. subfasciatus*. O óleo essencial de *Lippia palmeri* (Watson) (Verbenaceae) foi relatado como tóxico a *Z. subfasciatus*, causando mortalidade que variava de 65 a 100% (ORTEGA-NIEBLAS et al., 2014). Os óleos essenciais de *Eucalyptus globulus* Labill. (Myrtaceae), *Eucalyptus citriodora* Hook (Myrtaceae), *Cymbopogon nardus* L. (Poaceae), *Cymbopogon citratus* Stapf. (Poaceae), *Baccharis dracunculifolia* De Candolle (Asteraceae) e *Citrus sinensis* L. Osbeck (Rutaceae) também causaram 100% de mortalidade (FRANÇA et al., 2012). O óleo de *G. procumbens* tem como principal composto o salicilato de metila (KIRAN; PRAKASH, 2015a). Esse composto foi quantificado no óleo de *Betula lenta* L. (Betulaceae) com 99,9% da sua composição, sendo tóxico a *Z. subfasciatus* com CL_{50} de 0,53 μ L / 20 g (SANTANA et al., 2020). O óleo essencial de *G. procumbens* foi indicado promissor para controle de outras pragas de grãos armazenados, pois foi tóxico a *S. oryzae* e a *R. dominica* (KIRAN; PRAKASH, 2015a); e a um inseto-praga [*Camptomyia corticalis* (Loew) (Diptera: Cecidomyiidae)] do cogumelo shiitake [*Lentinula edodes* (Berk.)(Marasmiaceae)] (KIM et al., 2012); além de ter a sua atividade acaricida comprovada contra *Tetranychus urticae* Koch (Trombidiformes: Tetranychidae) (MOHAMED et al., 2017). Os altos teores de salicilato de metila em *G. procumbens* causam mortalidade em *Z. subfasciatus*.

O óleo de *P. heptaphyllum* foi tóxico a *Z. subfasciatus* com CL_{50} 4,32 μ L / 20 g, porém trabalhos que abordem a toxicidade de óleos essenciais do gênero *Protium* em pragas de grãos armazenados são raros. O óleo de *P. heptaphyllum* e o seu

composto majoritário, o limoneno, foram tóxicos a *C. maculatus* com CL_{50} de 14,23 e 36,42 μ / 20 g, respectivamente (RODRIGUES, 2018). Já o óleo do fruto de *Protium confusum* (Rose) Pittier (Burseraceae) contendo cerca de 60% de limoneno causou mortalidade em *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) a 500 μ g / mL (SANTANA et al., 2009). O óleo de laranja amarga [*Citrus aurantium* L. (Rutaceae)] rico em D-limoneno (99.9%) exibiu CL_{50} 10,04 μ L / 20 g para *Z. subfasciatus* (SANTANA et al., 2020). O óleo de *C. aurantium* é basicamente o limoneno puro, e concentrações maiores do que as do óleo de *P. heptaphyllum* foram necessárias para matar 50% da população-alvo, logo é provável que há sinergismo entre os compostos contidos no óleo de *P. heptaphyllum* para causar toxicidade por contato em *Z. subfasciatus*.

Presente em muitos óleos essenciais, o α -pineno é classificado como monoterpenos hidrocarboneto (REGNAULTL-ROGER; VICENTE; ARNASON, 2012), e quando isolado e testado, causou mortalidade em pragas de grãos armazenados como *C. maculatus* (BARBOSA, 2015), *S. zeamais*, *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae) (CHAUBEY, 2012a; LEE et al., 2001) e *T. castaneum* (KIM; LEE, 2014). Seguindo essa mesma linha, óleos essenciais de *Cupressus lusitanica* Mill. (Cupressaceae) com 24% de α -pineno em sua composição, foi tóxico a *T. castaneum*, *Acanthoscelides obtectus* Say e *S. zeamais* (BETT et al., 2017). O α -pineno é relatado como inibidor de uma importante enzima presente no sistema nervoso de insetos, a acetilcolinesterase (CHAUBEY, 2012a). Em nossos resultados, quando testado separadamente, o α -pineno, apresentou concentrações letais que variaram de 11,69 a 67,11 μ L / 20 g. Concentrações essas, maiores que as vistas em *J. communis* que variaram de 5,71 a 47,61 μ L / 20 g, demonstrando que este composto por si só não é o causador de mortalidade que *J. communis* causa em *Z. subfasciatus*. Esta descoberta sugere que efeitos aditivos ou sinérgicos estão ocorrendo entre os principais compostos de *J. communis*. Compostos isoladamente geralmente necessitam de maiores concentrações para causarem os mesmos efeitos inseticidas que os seus óleos de origem ou apresentarem efeitos sinérgicos com outros compostos menores (KIRAN; PRAKASH, 2015a).

Tabela 1 Toxicidade por contato de óleos essenciais e α -pineno em adultos de *Zabrotes subfasciatus*.

| Tratamento | N | GL | Inclinação \pm EP | CL ₁₅ (IC)* | RT ₁₅ | CL ₃₀ (IC)* | RT ₃₀ | CL ₅₀ (IC)* | RT ₅₀ | CL ₉₅ (CI)* | RT ₉₅ | χ^2 | P ¹ |
|------------------------------|-----|----|---------------------|----------------------------|------------------|------------------------------|------------------|-------------------------------|------------------|-------------------------------|------------------|-------------|----------------|
| <i>Gaultheria procumbens</i> | 250 | 3 | 4,23 \pm 0,49 | 0,62 (0,50-0,72) | 12,46 | 0,82 (0,70-0,93) | 14,25 | 1,09 (0,97-1,22) | 16,35 | 2,68 (2,24-3,52) | 25,04 | 0,82 | 0,84 |
| <i>Protium heptaphyllum</i> | 200 | 2 | 6,77 \pm 0,69 | 3,04 (2,66-3,38) | 2,54 | 3,62 (3,23-4,0) | 3,22 | 4,32 (3,90-4,81) | 4,12 | 7,57 (6,58-9,18) | 8,86 | 2,67 | 0,26 |
| <i>Protium pallidum</i> | 250 | 3 | 2,12 \pm 0,24 | 2,33 (1,30-3,42) | 3,31 | 4,06 (2,62-5,48) | 2,87 | 7,16 (5,27-9,07) | 2,49 | 42,59 (31,83-64,69) | 1,57 | 6,21 | 0,10 |
| <i>Juniperus communis</i> | 200 | 2 | 2,35 \pm 0,46 | 3,46 (1,14-5,73) | 2,23 | 5,71 (2,56-8,32) | 2,04 | 9,53 (5,77-12,36) | 1,87 | 47,61 (34,85-90,37) | 1,40 | 2,71 | 0,25 |
| α -pineno | 300 | 4 | 2,85 \pm 0,29 | 7,73 (5,76-9,53) | - | 11,69 (9,47-13,71) | - | 17,83 (15,37-20,39) | - | 67,11 (53,32-93,19) | - | 2,75 | 0,60 |

*(μ L / 20 g de grãos); N = número de insetos usados no teste, GL = grau de liberdade, EP = erro padrão da média, IC = intervalo de confiança, RT = razão de toxicidade, χ^2 = Qui-quadrado, 1= Valor de probabilidade para o modelo de Probit ($P>0,05$).

Todos os produtos diminuíram a oviposição e a emergência de novos adultos de *Z. subfasciatus* quando comparados com a testemunha ($P < 0,05$). O modelo de regressão linear foi o que melhor se ajustou aos parâmetros avaliados, evidenciando que, à medida que a concentração aumentava, o número de ovos diminuía proporcionalmente, exceto para *G. procumbens* que foi melhor explicado pelo modelo quadrático (Tabela 2).

Tabela 2 Equações de regressão para oviposição e emergência de *Zabrotes subfasciatus* sob grãos de feijão comum tratados com óleos essenciais e α -pineno.

| Tratamento | Parâmetros* | Equações | F ^P | R ² |
|------------------------------|-------------|--------------------------------------|------------------------------|----------------|
| <i>Gaultheria procumbens</i> | Oviposição | $\hat{y} = 10,62x^2 - 12,86x + 3,77$ | 327,74 ^{<0,0001} | 0,98 |
| | Emergência | $\hat{y} = 10,06x^2 - 12,55x + 3,75$ | 536,49 ^{<0,0001} | 0,99 |
| <i>Juniperus communis</i> | Oviposição | $\hat{y} = -0,11x + 3,3$ | 307,73 ^{<0,0001} | 0,94 |
| | Emergência | $\hat{y} = -0,22x + 3,4$ | 802,48 ^{<0,0001} | 0,99 |
| <i>Protium heptaphyllum</i> | Oviposição | $\hat{y} = -0,66x + 3,23$ | 46,86 ^{<0,0001} | 0,85 |
| | Emergência | $\hat{y} = -0,76x + 3,16$ | 102,01 ^{<0,0001} | 0,92 |
| <i>Protium pallidum</i> | Oviposição | $\hat{y} = -0,15x + 3,62$ | 87,12 ^{<0,0001} | 0,87 |
| | Emergência | $\hat{y} = -0,25x + 3,67$ | 32,1 ^{=0,0002} | 0,76 |
| α -pineno | Oviposição | $\hat{y} = -0,06x + 3,77$ | 20,55 ^{0,0003} | 0,53 |
| | Emergência | $\hat{y} = -0,07x + 3,76$ | 71,20 ^{<0,0001} | 0,78 |

*Dados transformados em $\log(x)$

Houve 100% de inibição da oviposição de *Z. subfasciatus* em grãos de feijão comum tratados com *P. heptaphyllum* nas concentrações 20 e 30 $\mu\text{L} / 20\text{ g}$, assim como em *P. pallidum* nas concentrações 20, 25 e 35 $\mu\text{L} / 20\text{ g}$, *G. procumbens* nas concentrações 1,3; 2 e 4 $\mu\text{L} / 20\text{ g}$ e *J. communis* na concentração 40 $\mu\text{L} / 20\text{ g}$. Houve ainda 100% de inibição na emergência de adultos em grãos de feijão comum tratados com α -pineno na concentração 40 $\mu\text{L} / 20\text{ g}$, *P. heptaphyllum* nas concentrações 20 e 30 $\mu\text{L} / 20\text{ g}$, *P. pallidum* nas concentrações 20, 25 e 35 $\mu\text{L} / 20\text{ g}$, *J. communis* nas concentrações 20, 30 e 40 $\mu\text{L} / 20\text{ g}$ e *G. procumbens* nas concentrações 1,3; 2 e 4 $\mu\text{L} / 20\text{ g}$.

O estudo da composição dos óleos essenciais norteia a interpretação dos seus efeitos sobre a oviposição e emergência de insetos. Semelhantemente aos nossos resultados, o óleo de *P. heptaphyllum* e o seu composto majoritário limoneno, foram capazes de diminuir a oviposição e a emergência da progênie de *C.*

maculatus (RODRIGUES, 2018). Em uma outra pesquisa, a oviposição de *T. castaneum* diminuiu conforme a concentração de d-limoneno aumentava e a baixa eclosão de ovos, sobrevivência de larvas e adultos indicavam o potencial de inibição do desenvolvimento nessa espécie em função das concentrações d-limoneno (TRIPATHI et al., 2003). O composto majoritário do óleo de *G. procumbens*, o salicilato de metila causa deterrência na oviposição de *Callosobruchus chinensis* L. (Coleoptera: Bruchidae) (CHILUWAL et al., 2017). Do mesmo grupo encontrado no óleo de *P. pallidum*, um isômero estrutural de cimeno apresentou alta deterrência na oviposição em *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) (WALIWITIYA; KENNEDY; LOWENBERGER, 2009). Semelhantemente, o composto α -pineno, causou deterrência na oviposição de *T. castaneum* (CHAUBEY, 2012b). A presença desses compostos majoritários sozinhos ou associados a compostos minoritários, sugere que os produtos testados são responsáveis pela baixa oviposição e emergência em *Z. subfasciatus*.

Produtos à base de plantas têm se destacado como promissores, não só na mortalidade, mas diminuído a oviposição bem como a emergência de adultos, sendo essas, importantes variáveis usadas para justificar o uso desses como promissores diante dos produtos químicos sintéticos e de outros métodos de controle, ou até mesmo junto com esses. A oviposição de bruquídeos e a emergência de adultos têm sido parâmetros usados para observar a toxicidade de óleos essenciais (FRANÇA et al., 2012); uma vez que, a presença de moléculas de inseticidas nos óleos essenciais poderia influenciar na capacidade inata de fêmeas para colocarem ovos viáveis, ou mesmo poderia reduzir fortemente e até mesmo anular a oviposição destes, com uma redução da oviposição e da emergência de adultos inversamente proporcional ao aumento da concentração dos óleos essenciais (CAMPOLO et al., 2018; FATIHA et al., 2014; ISLAM et al., 2009). No presente trabalho, de um modo geral, quanto maior a concentração dos produtos, maior foi a mortalidade e menor foi o número de ovos e de insetos emergidos.

3.2 Efeito repelente de óleos essenciais e α -pineno sobre *Z. subfasciatus*

O número de adultos de *Z. subfasciatus* atraídos para grãos de feijão comum tratados nas concentrações CL₅₀, CL₃₀ e CL₁₅ de *G. procumbens* ($P < 0,0001$; $P < 0,0001$; $P < 0,0001$, respectivamente), *J. communis* ($P < 0,0001$; $P < 0,0001$;

$P < 0,0001$, respectivamente), *P. heptaphyllum* ($P < 0,0001$; $P < 0,0001$; $P < 0,0001$, respectivamente) e *P. pallidum* ($P = 0,0209$; $P = 0,0205$ e $P = 0,0158$, respectivamente) foi significativamente menor, quando comparados com os grãos não tratados, indicando que em todas as concentrações ele foi repelente (Figura 1). A repelência é vista como efeito subletal. Já o número de adultos de *Z. subfasciatus* atraídos para grãos de feijão comum tratados com α -pineno nas concentrações CL_{50} , CL_{30} e CL_{15} ($P = 0,8173$; $P = 0,6019$ e $P = 0,0817$, respectivamente) não foi afetado quando comparado com a testemunha ($P > 0,05$) (Figura 1).

Óleos dos gêneros *Protium*, *Juniperus* e *Gaultheria* têm atividade repelente sobre diversos artrópodes. O óleo essencial obtido a partir de frutos de *P. heptaphyllum*, na concentração 0,5% provocaram repelência em *T. urticae* (PONTES et al., 2007). Tanto o óleo de *P. heptaphyllum* (14,23 μ L / 20 g), quanto o seu composto majoritário, o limoneno (36,43 μ L / 20 g) foram repelentes a um outro bruquídeo, o *C. maculatus* (RODRIGUES, 2018). A concentração de 15 μ L de óleo essencial / mL de acetona de *Juniperus polycarpus* L. (Cupressaceae) e *Juniperus sabina* L. (Cupressaceae) causaram repelência de 96% e 82,7% em relação à *Tribolium confusum* J. du Val. (Coleoptera: Tenebrionidae), respectivamente (KHANI; RASHID; MIRSHEKAR, 2017). O óleo essencial de *G. procumbens*, em baixa concentração, causou comportamento de movimento (repelência) em uma mariposa (*Anarsia lineatella* Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae) (DAMOS, 2018). Nossos resultados reforçam que óleos provenientes desses gêneros são potenciais inseticidas, pois além de apresentarem letalidade contra pragas de grãos armazenados, podem ser usados em quantidades subletais.

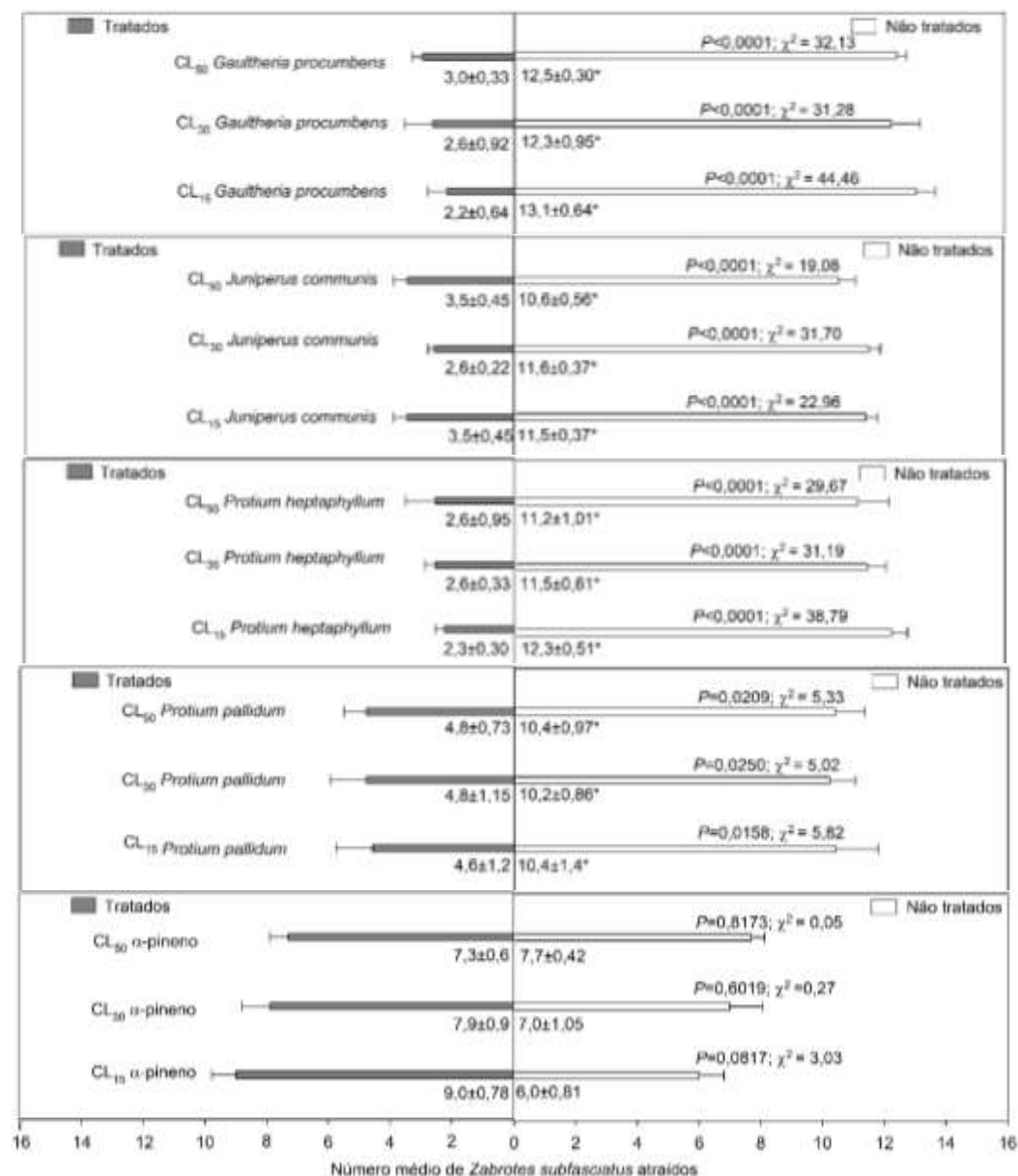


Figura 1 Número médio de *Zabrotes subfasciatus* atraídos (n = 480) em grãos de feijão comum tratados e não tratados com os óleos de *Glautheria procumbens*, *Juniperus communis*, *Protium heptaphyllum*, *Protium pallidum* e o composto α -pineno. *Significativo pelo teste do Qui-quadrado ($P < 0,05$).

Dentre os produtos testados, o α -pineno, foi o único a não causar repelência significativa em *Z. subfasciatus*. Em estudos precedentes, resultados mostraram que o α -pineno apresentava alta atividade repelente, equiparada a 5 tipos de óleos essenciais com a mesma concentração e tempo de exposição contra *T. castaneum*, curiosamente este composto não apresentou forte atividade repelente sobre *Lasioderma serricorne* Fabricius (Coleoptera: Anobiidae) (CAO et al., 2019). Logo, o compostos α -pineno, apresenta toxicidade variável a depender do inseto-alvo.

Com base no número de ovos de *Z. subfasciatus*, todos os óleos essenciais impediram a oviposição, que foi significativamente menor para os tratamentos quando comparados com suas respectivas testemunhas, sendo assim classificados como deterrentes. O número de ovos variou de 0 a 5,9 com deterrência total vista para CL₁₅ de *G. procumbens* e CL₃₀ de *P. pallidum*, já que o índice de preferência de oviposição (IPO) em ambos foi de -100 (Tabela 3).

A baixa oviposição em tratamentos contendo o óleo de *G. procumbens*, pode estar ligada diretamente ao alto teor de salicilato de metila na sua composição. O salicilato de metila é um derivado do ácido salicílico por metilação da enzima BSMT1, que tem tido a sua atividade anti oviposição constatada. Suspensões contendo salicilato de metila de 10 e 1% reduziram significativamente a taxa de oviposição de *Frankliniella occidentalis* Pergande (Thysanoptera: Thripidae) em flores de ameixa *Prunus salicina* Lindl. (Rosaceae) (ALLSHOPP et al., 2014). Grãos de feijão azuki tratados com salicilato de metila, inibiram 100% a oviposição de *C. chinensis* (CHILUWAL et al., 2017). Concentrações subletais do óleo essencial de *B. lenta* rico em salicilato de metila, foi capaz de reduzir a oviposição de *Z. subfasciatus* (SANTANA et al., 2020). Logo, a alta concentração de salicilato de metila do óleo de *G. procumbens* é o agente responsável pela deterrência na oviposição de *Z. subfasciatus*.

O óleo de *P. pallidum*, utilizado no presente trabalho é rico em o-cimeno. Esse composto tem tido a sua atividade repelente relatada em outras pragas de grãos armazenados, com percentual de repelência que variava entre 53 e 100% para o *C. chinensis* e com percentual de repelência que variava de 23 a 77% para *S. oryzae*, além de causar deterrência na oviposição e distúrbios no desenvolvimento ou baixa emergência de adultos (KEDIA et al., 2015).

Em baixas concentrações o α -pineno pode desencadear um processo de hormoligose, que é o estímulo direto à fecundidade da praga. O α -pineno nas CL₁₅ e CL₃₀ foi classificado como pouco estimulante à oviposição de *Z. subfasciatus*, uma vez que o número de ovos não diferiu estatisticamente entre os tratamentos e o controle ($P > 0,05$). Entretanto na CL₅₀ ele foi considerado deterrente de oviposição, com IPO de -56,60 (Tabela 3). Estes resultados já eram esperados, pois o α -pineno não mostrou repelência significativa.

Tabela 3 Índice e classificação de preferência para oviposição de *Zabrotes subfasciatus* obtidos em feijão comum tratado e não tratado com óleos essenciais e α -pineno.

| Tratamento | Conc. ($\mu\text{L} / 20 \text{ g}$) | Ovos Totais (Média \pm EP) | | IPO ¹ | t ^P | Classificação |
|------------------------------|---|---------------------------------|-----------------|------------------|----------------|-------------------|
| | | Testemunha | Óleo | | | |
| <i>Gaultheria procumbens</i> | | | | | | |
| CL ₁₅ | 0,6 | 22,8 \pm 3,58* | 0 | -100 | 6,35(<0,0001) | Deterrente |
| CL ₃₀ | 0,8 | 37,8 \pm 5* | 2 \pm 1,44 | -82,60 | 3,59(0,0071) | Deterrente |
| CL ₅₀ | 1,09 | 31,4 \pm 2,07* | 0,3 \pm 0,3 | -96,38 | 7,55(<0,0001) | Deterrente |
| <i>Juniperus communis</i> | | | | | | |
| CL ₁₅ | 3,4 | 30,3 \pm 1,89* | 5,9 \pm 1,37 | -67,40 | 10,25(<0,0001) | Deterrente |
| CL ₃₀ | 5,7 | 20,3 \pm 3,0* | 3,7 \pm 1,07 | -69,16 | 4,46(0,0012) | Deterrente |
| CL ₅₀ | 9,5 | 17,2 \pm 1,76* | 1,2 \pm 0,41 | -86,95 | 9,17(<0,0001) | Deterrente |
| <i>Protium heptaphyllum</i> | | | | | | |
| CL ₁₅ | 3,5 | 31,1 \pm 2,14* | 3,6 \pm 0,65 | -79,25 | 10,12(<0,0001) | Deterrente |
| CL ₃₀ | 4,9 | 25,0 \pm 3,87* | 4,4 \pm 0,94 | -70,06 | 5,63(0,0003) | Deterrente |
| CL ₅₀ | 7,0 | 23,3 \pm 4,07* | 1,6 \pm 0,42 | -87,4 | 5,25(0,0005) | Deterrente |
| <i>Protium pallidum</i> | | | | | | |
| CL ₁₅ | 2,33 | 140,8 \pm 25,62* | 0,6 \pm 0,6 | -99,15 | 5,44(0,0055) | Deterrente |
| CL ₃₀ | 4,0 | 98,8 \pm 12,6* | 0 | -100 | 7,92(0,0014) | Deterrente |
| CL ₅₀ | 7,16 | 121 \pm 12,89* | 1 \pm 0,63 | -98,36 | 7,92(0,0014) | Deterrente |
| α -pineno | | | | | | |
| CL ₁₅ | 7,7 | 9,8 \pm 3,55 ^(NS) | 12,8 \pm 3,02 | 13,27 | -0,59(0,3672) | Pouco estimulante |
| CL ₃₀ | 11,6 | 3,8 \pm 1,72 ^(NS) | 4,7 \pm 1,55 | 10,58 | -0,58(0,5746) | Pouco estimulante |
| CL ₅₀ | 17,8 | 8,3 \pm 3,11 ^(NS) | 2,3 \pm 1,0 | -56,60 | 2,06(0,0699) | Deterrente |

¹IPO – Índice de Preferência para oviposição [(T-P/T+P)] x 100. IPO varia de 100 para mais estimulante, zero para neutro e -100 para total deterrência.

*Significativo pelo teste t pareado ($P < 0,05$), NS = não significativo.

O número médio de insetos emergidos de *Z. subfasciatus* em grãos de feijão comum foi significativamente menor ($P < 0,05$) em todos os óleos e concentrações utilizados em comparação com a testemunha e variou 0 a 5,9 adultos emergidos nos tratamentos, com percentual de redução variando de 67,31 a 100% (Tabela 4). A redução máxima na emergência de adultos pode ser vista para CL_{15;50} de *G. procumbens* e CL_{15;30} de *P. pallidum*. Entretanto, o α -pineno, não ocasionou diferenças significativas na emergência de adultos quando comparado com a testemunha ($P > 0,05$), porém foi quantificado um percentual de redução em emergidos de 53,42% na CL₅₀. (Tabela 4).

A capacidade ovicida de um óleo essencial é quantificada na emergência da prole em grãos tratados. Óleos essenciais das espécies (*Citrus reticulata* Blanco (Rutaceae), *Citrus medica limonum* Lush (Rutaceae), *Citrus sinensis* L. Osbeck (Rutaceae), *Copaifera langsdorffii* Desf. (Fabaceae), *Baccharis dracunculifolia* De Candolle (Asteraceae), *Eucalyptus globulus* Labill. (Myrtaceae), *Eucalyptus citriodora* Hook (Myrtaceae), *Cymbopogon nardus* L. (Poaceae), *Cymbopogon citratus* Stapf. (Poaceae), foram eficazes na redução da emergência descendentes de *Z. subfasciatus*, em função das concentrações utilizadas (FRANÇA et al., 2012). Efeitos letais na emergência de adultos de *Z. subfasciatus* foram vistos em grãos de *P. vulgaris* tratados com óleo essencial de *Lippia palmeri* (Watson) (Verbenaceae) (ORTEGA-NIEBLAS et al., 2014). Extratos à base *Annona sylvatica* A. St.-Hil. (Magnoliales: Annonaceae) causaram efeito subletal reduzindo a progênie de *Z. subfasciatus* (GONÇALVES et al., 2015). Com exceção do composto α -pineno, os óleos essenciais das espécies *G. procumbens*, *J. communis*, *P. heptaphyllum* e *P. pallidum*, são capazes de diminuir a prole de *Z. subfasciatus* em concentrações subletais.

Tabela 4 Porcentagem de redução de emergência de adultos de *Zabrotes subfasciatus* obtidos em feijão comum tratado e não tratado com óleos essenciais e α -pineno.

| Tratamento | Conc. ($\mu\text{L} / 20 \text{ g}$) | Emergidos totais (Média \pm EP) | | t ^p | PR % ¹ |
|------------------------------|---|--------------------------------------|------------------------------|----------------|----------------------|
| | | Testemunha | Óleo | | |
| <i>Gaultheria procumbens</i> | | | | | |
| CL ₁₅ | 0,6 | 14,9 \pm 1,82 | 0* | 8,15(<0,0001) | 100 |
| CL ₃₀ | 0,8 | 17,6 \pm 2,35 | 1,6 \pm 1,13* | 2,57(0,0329) | 82,7 |
| CL ₅₀ | 1,09 | 20,2 \pm 1,39 | 0* | 7,54(<0,0001) | 100 |
| <i>Juniperus communis</i> | | | | | |
| CL ₁₅ | 3,4 | 30,2 \pm 1,82 | 5,9 \pm 1,37* | 10,54(<0,0001) | 67,31 |
| CL ₃₀ | 5,7 | 20,3 \pm 3,01 | 3,0 \pm 1,02* | 5,06(0,0007) | 74,24 |
| CL ₅₀ | 9,5 | 17,2 \pm 1,76 | 1,07 \pm 0,44* | 9,29(<0,0001) | 89,01 |
| <i>Protium heptaphyllum</i> | | | | | |
| CL ₁₅ | 3,5 | 26,9 \pm 1,62 | 3,2 \pm 0,55* | 11,38(<0,0001) | 78,73 |
| CL ₃₀ | 4,9 | 22,0 \pm 3,54 | 3,0 \pm 0,88* | 5,9(0,0002) | 76,0 |
| CL ₅₀ | 7,0 | 21,1 \pm 3,81 | 1,5 \pm 0,45* | 4,97(0,0008) | 86,72 |
| <i>Protium pallidum</i> | | | | | |
| CL ₁₅ | 2,33 | 88,5 \pm 14,97 | 0* | 5,93(0,0040) | 100 |
| CL ₃₀ | 4,0 | 83,8 \pm 8,65 | 0* | 9,68(0,0006) | 100 |
| CL ₅₀ | 7,16 | 87,4 \pm 12,09 | 0,4 \pm 0,4* | 7,07(0,0021) | 99,0 |
| α -pineno | | | | | |
| CL ₁₅ | 7,7 | 4,6 \pm 2,10 | 4,8 \pm 1,71 ^{ns} | -0,10(0,9207) | -2,12 |
| CL ₃₀ | 11,6 | 1,5 \pm 0,75 | 2,1 \pm 1,43 ^{ns} | -0,51(0,6221) | -16,6 |
| CL ₅₀ | 17,8 | 5,6 \pm 2,08 | 1,7 \pm 0,87* | 2,1(0,0754) | 53,42 |

¹ PR = (NC - NT)/(NC + NT) x 100, sendo PR, a porcentagem média de redução de emergência; NC, o número médio de insetos emergidos na testemunha; e NT, o número médio de insetos emergidos em cada tratamento com produto (óleo ou isolado); *Significativo pelo teste t pareado ($P < 0,05$); NS = não significativo.

3.3 Efeito da toxicidade por fumigação dos óleos essenciais e α -pineno em *Z. subfasciatus*

Os baixos valores de χ^2 e altos valores de P para cada curva de concentração-mortalidade ($\chi^2 < 5,75$ e $P > 0,05$) se adequam ao modelo de Probit como elucidativo do efeito fumigante dos produtos testados (Tabela 5).

As concentrações letais CL₅₀ estimadas para os produtos *G. procumbens*, *P. heptaphyllum*, *P. pallidum*, α -pineno e *J. communis* foram 31,60; 48,97; 112,92; 183,46 e 241,57 $\mu\text{L} / \text{L}$, respectivamente, e para CL₉₅ foram de 64,04; 75,0; 299,48; 352,26 e 366,48 $\mu\text{L} / \text{L}$, respectivamente, nesta ocorreu sobreposição para os produtos testados (Tabela 5).

Os resultados da toxicidade fumigante revelaram que os óleos essenciais e o α -pineno exibem um forte efeito tóxico contra *Z. subfasciatus*, porém foram observadas variações nas concentrações letais entre os óleos testados e α -pineno. Geralmente esta variação está atrelada a diversos fatores que podem estar ligados diretamente como composição do óleo, metodologia de aplicação ou até mesmo do próprio inseto, atribuída a níveis de suscetibilidade, respostas metabólicas, bioquímicas, fisiológicas e diferenças morfológicas (tamanho corporal, textura e espessura da cutícula) (CHOPA; DESCAMPS, 2012; STEFANAZZI; STADLER; FERRERO, 2011).

O potencial de *G. procumbens* entre os demais produtos é destacado na sua razão de toxicidade, $RT_{30;50;95}$, sendo esse 8,33, 7,64 e 5,72 vezes mais tóxico quando comparado com o produto de menor toxicidade, *J. communis*. O óleo essencial de *G. procumbens*, tem a sua atividade inseticida fumigante sugerida ao seu composto majoritário, o salicilato de metila, pois esse óleo foi apontado como tóxico para outras duas pragas de grão armazenado, *S. oryzae* e *R. dominica*, com CL_{50} de 58,62 e 2,71 $\mu\text{L} / \text{L}$, respectivamente, e CL_{90} de 89,79 e 4,23 $\mu\text{L} / \text{L}$, respectivamente (KIRAN; PRAKASH, 2015a). O óleo de *B. lenta*, rico também em salicilato de metila, foi descrito como fumigante tóxico a *Z. subfasciatus* (SANTANA et al., 2020), sendo assim, é possível que esse composto majoritário seja o responsável pela mortalidade vista em *Z. subfasciatus* no presente trabalho.

Vale ressaltar ainda que os dados de inclinação variaram bastante entre os produtos, nos mostrando que estes possuem perfis toxicológicos contrastantes. Entretanto, se observou que o óleo de *J. communis* mostrou maior inclinação ($9,08 \pm 0,83$), evidenciando que pequenos incrementos na concentração garantem altas respostas de mortalidade. Essa espécie vegetal já teve o seu potencial inseticida descrito para outras pragas de grãos armazenados, onde, o efeito fumigante de *J. communis* mostrou menores concentrações letais do que as encontradas neste trabalho, com CL_{50} de 68,61 e CL_{95} de 306,59 $\mu\text{L} / \text{L}$ para *T. castaneum* e CL_{50} de 18,11 e CL_{95} de 76,0 $\mu\text{L} / \text{L}$ para *R. dominica*, (HASHEMI; ROSTAEFAR, 2014), sendo portanto, esses insetos-alvo mais susceptíveis do que *Z. subfasciatus*. A variação da susceptibilidade para diferentes pragas de grãos armazenados provavelmente refere-se à capacidade inseticida dos constituintes ativos presentes nos diferentes óleos testados (MAHMOUDVAND et al., 2011).

Além do mais, os insetos possuem diferenças na textura corporal e nas alterações nas respostas bioquímicas e comportamentais (KEDIA et al., 2015; KIRAN; PRAKASH et al., 2015b).

Quando testado separadamente, o α -pineno, apresentou concentrações letais que variaram de 183,46 a 352,26 $\mu\text{L} / \text{L}$. Concentrações essas, menores que as vistas em *J. communis*, onde variaram de 241,51 a 366,48 $\mu\text{L} / \text{L}$. Comportamento semelhante ocorreu quando foram necessárias maiores concentrações do óleo de *G. procumbens* (2,71 e 4,23 $\mu\text{L} / \text{L}$) do que o seu composto majoritário, salicilato de metila (1,90 e 3,64 $\mu\text{L} / \text{L}$) para matar 50 e 90% da população de *R. dominica* (KIRAN; PRAKASH, 2015a). Quando são necessárias menores concentrações de um determinado composto, do que do seu óleo de origem, podemos concluir que esse composto é o principal agente de mortalidade do óleo, logo tais resultados confirmam que o composto α -pineno é o agente de mortalidade no óleo de *J. communis*.

Resumidamente, os óleos essenciais de *G. procumbens*, *J. communis*, *P. heptaphyllum*, *P. pallidum* e o composto α -pineno são tóxicos por contato a *Z. subfasciatus*, causando deterrência na oviposição e na emergência de adultos, sendo indicados como possíveis instrumentos no manejo dessa praga, porém há necessidade de estudos posteriores com os compostos majoritários de *P. pallidum* para elucidação da toxicidade. Os óleos de *G. procumbens*, *J. communis*, *P. heptaphyllum*, *P. pallidum* e o composto α -pineno são tóxicos por fumigação sobre *Z. subfasciatus*, e promissores alternativos a fumigantes químicos convencionais.

Os resultados enfatizam que a repelência vista nos óleos essenciais de *G. procumbens*, *J. communis*, *P. pallidum*, *P. heptaphyllum* e no composto, α -pineno, é um efeito subletal, resultando na diminuição da oviposição e na emergência de adultos de *Z. subfasciatus*.

Tabela 5 Toxicidade por fumigação de óleos essenciais e α -pineno em adultos de *Zabrotes subfasciatus*.

| Tratamento | N | GL | Inclinação \pm EP | CL ₅₀ (IC)* | RT ₅₀ | CL ₉₅ (IC)* | RT ₉₅ | χ^2 | P ¹ |
|------------------------------|-----|----|------------------------|--------------------------------|------------------|--------------------------------|------------------|-------------|----------------|
| <i>Gaultheria procumbens</i> | 400 | 3 | 5,36 \pm 0,37 | 31,60 (28,85-34,63) | 7,64 | 64,04 (56,71-74,36) | 5,72 | 1,93 | 0,58 |
| <i>Protium heptaphyllum</i> | 320 | 2 | 8,87 \pm 1,12 | 48,97 (45,97-52,4) | 4,93 | 75,0 (67,2-88,9) | 4,88 | 3,86 | 0,14 |
| <i>Protium pallidum</i> | 400 | 3 | 3,87 \pm 0,30 | 112,92 (101,2-124,5) | 2,13 | 299,48 (260,4-357,6) | 1,22 | 5,39 | 0,14 |
| <i>Juniperus communis</i> | 320 | 2 | 9,08 \pm 0,83 | 241,57 (227,5-255,2) | - | 366,48 (340,5-403,6) | - | 0,18 | 0,91 |
| α -pineno | 400 | 3 | 5,80 \pm 0,50 | 183,46 (171,2-195,0) | 1,31 | 352,26 (320,0-400,3) | 1,04 | 5,75 | 0,12 |

* μ L / L de ar; N = número de insetos usados no teste, GL = grau de liberdade EP = erro padrão da média, IC = intervalo de confiança, RT = razão de toxicidade, χ^2 = Qui-quadrado, 1= Valor de probabilidade para o modelo de Probit ($P > 0,05$).

4 CONCLUSÕES

- Os óleos essenciais de *G. procumbens*, *J. communis*, *P. heptaphyllum* e *P. pallidum*, assim como o α -pineno são tóxicos a *Z. subfasciatus* por contato, causando deterrência na oviposição e reduzindo a emergência de adultos, sendo os óleos de *G. procumbens*, *P. heptaphyllum* e *P. pallidum* os mais promissores;
- Os óleos essenciais de *G. procumbens*, *J. communis*, *P. heptaphyllum* e *P. pallidum*, assim como o α -pineno são potenciais fumigantes a *Z. subfasciatus*, sendo o óleo de *G. procumbens* o mais promissor;
- Os óleos essenciais de *G. procumbens*, *J. communis*, *P. heptaphyllum* e *P. pallidum* são repelentes a *Z. subfasciatus* em concentrações subletais.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABATE, T; AMPOFO, J. K. O. Insect pests of beans in Africa: their ecology and management. **Annual review of entomology**, v. 41, n. 1, p. 45-73, 1996.
- ABOUSEADAA, H. H; OSMAN, G. H; RAMADAN, A. M; HASSANEIN, S. E; ABDELSATTAR, M.T; MORSY, Y. B; GAD, A. A. Development of transgenic wheat (*Triticum aestivum* L.) expressing avidin gene conferring resistance to stored product insects. **BMC plant biology**, v. 15, n. 1, p. 183, 2015.
- ADAMS, R. P. Identification of essential oil components by gas chromatography quadrupole mass spectroscopy. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, v. 16, p. 1902-1903, 2005
- ALLSOPP, E; PRINSLOO, G. J; SMART, L. E; DEWHIRST, S. Y. Methyl salicylate, thymol and carvacrol as oviposition deterrents for *Frankliniella occidentalis* (Pergande) on plum blossoms. **Arthropod-Plant Interactions**, v. 8, n. 5, p. 421-427, 2014.
- BARBOSA, D. R. S. **Associação de constituintes químicos abundantes em óleos essenciais e cultivares resistentes no manejo de *Callosobruchus maculatus* (fabr., 1775) em feijão-caupi**. 98 f. Tese (Doutorado em entomologia agrícola) - Universidade Federal Rural do Pernambuco, Programa de Pós-graduação em Entomologia Agrícola. 2015.
- BALDIN, E. L. L; LARA, F. M. Resistance of stored bean varieties to *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera: Bruchidae). **Insect science**, v. 15, n. 4, p. 317-326, 2008.
- BAYIH, T; TAMIRU, A; EGIGU, M. C. Bioefficacy of Unitary and Binary Botanical Combinations Against Mexican Bean Weevil, *Zabrotes subfasciatus* (Coleoptera: Chrysomelidae). **International Journal of Tropical Insect Science**, v. 38, n. 3, p. 205-215, 2018.
- BROUGHTON, W. J.; HERNANDEZ, G.; BLAIR, M.; BEEBE, S.; GEPTS, P.; VANDERLEYDEN, J. Beans (*Phaseolus* spp.) - model food legumes. **Plant and soil**, v. 252, n. 1, p. 55-128, 2003.
- BERNARDES, W. A; SILVA, E. O; CROTTI, A. E; BALDIN, E. L. Bioactivity of selected plant-derived essential oils against *Zabrotes subfasciatus* (Coleoptera: Bruchidae). **Journal of stored products research**, v. 77, p. 16-19, 2018.
- BRITO, S. S. S; MAGALHÃES, C. R. I; OLIVEIRA, C. R. F; OLIVEIRA, C. H. C. M; FERRAZ, M. S. S; MAGALHÃES, T. A. Bioatividade de óleos essenciais sobre *Zabrotes subfasciatus* Boh. (Coleoptera: Chrysomelidae) em feijão-comum armazenado. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 10, n. 2, p. 243-248, 2015.
- CAMPOLO, O; GIUNTI, G; RUSSO, A; PALMERI; ZAPPALÀ, L. Essential oils in stored product insect pest control. **Journal of Food Quality**, v. 2018, 2018.
- CAO, J. Q; PANG, X; GUO, S. S; WANG, Y; GENG, Z. F; SANG, Y. L; GUO, P.J. DU, S. S. Pinene-rich essential oils from *Haplophyllum dauricum* (L.) G. don display anti-insect activity on two stored-product insects. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 140, p. 1-8, 2019

CARNEIRO, F. F. **Dossiê ABRASCO: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde**. EPSJV/Expressão Popular, 2015.

CHAUBEY, M. K. Fumigant toxicity of essential oils and pure compounds against *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae). **Biological agriculture & horticulture**, v. 28, n. 2, p. 111-119, 2012a.

CHAUBEY, M. K. Acute, Lethal and Synergistic Effects of Some Terpenes Against *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae). **Ecologia Balkanica**, v. 4, n. 1, 2012b.

CHILUWAL, K; KIM, J; DO BAE, S; PARK, C. G. Essential oils from selected wooden species and their major components as repellents and oviposition deterrents of *Callosobruchus chinensis* (L.). **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 20, n. 4, p. 1447-1453, 2017.

CHOPA, C. S; DESCAMPS, L. R. Composition and biological activity of essential oils against *Metopolophium dirhodum* (Hemiptera: Aphididae) cereal crop pest. **Pest management science**, v. 68, n. 11, p. 1492-1500, 2012.

COPPING, L. G; DUKE, S. O. Natural products that have been used commercially as crop protection agents. **Pest Management Science: formerly Pesticide Science**, v. 63, n. 6, p. 524-554, 2007.

CRAVEIRO, A. A; FERNANDES, A. G; ANDRADE, C. H. S; MATOS, F. J. A; ALENCAR, J. W.; MACHADO, M. I. L. **Óleos essenciais de plantas do nordeste**. Fortaleza: UFC-Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, 1981. 210 p.

DAMOS, P. T. An in vitro ULV olfactory bioassay method for testing the repellent activity of essential oils against moths. **MethodsX**, v. 5, p. 375-394, 2018.

DENDY, J; CREDLAND, P. F. Development, fecundity and egg dispersion of *Zabrotes subfasciatus*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 59, n. 1, p. 9-17, 1991.

FATIHA, R. A; KADA, R; KHELIL, A; PUJADE-VILLAR, J. Biological control against the cowpea weevil (*Callosobruchus chinensis* L., Coleoptera: Bruchidae) using essential oils of some medicinal plants. **Journal of Plant Protection Research**, v. 54, n. 3, p. 211-217, 2014.

FENEMORE, P.G. Oviposition of potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* Zell. (Lepidoptera: Gelechiidae): identification of host plant factors influencing oviposition response. **New Zealand Journal of Zoology**, v. 7, n. 3, p. 435-439, 1980.

FERREIRA, C. M; MARIA, J; FARIA, L. C. **Feijão na economia nacional**. Embrapa, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão, Ministério de Agricultura e do Abastecimento, 2002.

FRANÇA, S. M. D; OLIVEIRA, J. V. D; ESTEVES FILHO, A. B; OLIVEIRA, C. M. D. Toxicity and repellency of essential oils to *Zabrotes subfasciatus* (Boheman)(Coleoptera, Chrysomelidae, Bruchinae) in *Phaseolus vulgaris* L. **Acta Amazonica**, v. 42, n. 3, p. 381-386, 2012.

- GONÇALVES, G. L. P; CREVELIN, E. J; LIRA, S. P; VENDRAMIM, J. D. Effects of *Brugmansia suaveolens* fractions on *Zabrotes subfasciatus* (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae). **Journal of Biopesticides**, v. 12, n. 1, p. 19-29, 2019.
- GONÇALVES, G. L. P; RIBEIRO, L. D. P; GIMENES, L; VIEIRA, P. C; SILVA, M. F. D. G. F; FORIM, M. R; Lethal and sublethal toxicities of *Annona sylvatica* (Magnoliales: Annonaceae) extracts to *Zabrotes subfasciatus* (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae). **Florida Entomologist**, p. 921-928, 2015.
- HASHEMI, S. M; ROSTAEFAR, A. Insecticidal Activity of Essential Oil from *Juniperus communis* L. subsp. hemisphaerica (Presl) Nyman against Two Stored Product Beetles. **Ecologia Balkanica**, v. 6, n. 1, 2014.
- ISLAM, R; KHAN, R. I; AL-REZA, S. M; JEONG, Y. T; SONG, C. H; KHALEQUZZAMAN, M. Chemical composition and insecticidal properties of *Cinnamomum aromaticum* (Nees) essential oil against the stored product beetle *Callosobruchus maculatus* (F.). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 89, n. 7, p. 1241-1246, 2009.
- KEDIA, A; PRAKASH, B; MISHRA, P. K; DWIVEDY, A. K; DUBEY, N. K. Biological activities of *Cuminum cyminum* seed oil and its major components against *Callosobruchus chinensis* and *Sitophilus oryzae*. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 18, n. 3, p. 383-388, 2015.
- KHANI, A; RASHID, B; MIRSHEKAR, A. Chemical composition and insecticidal efficacy of *Juniperus polycarpus* and *Juniperus sabina* essential oils against *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae). **International journal of food properties**, v. 20, n. sup2, p. 1221-1229, 2017.
- KIM, J. R; HARIBALAN, P; SON, B. K; AHN, Y. J. Fumigant toxicity of plant essential oils against *Camptomyia corticalis* (Diptera: Cecidomyiidae). **Journal of economic entomology**, v. 105, n. 4, p. 1329-1334, 2012.
- KIM, S; LEE, D. Toxicity of basil and orange essential oils and their components against two coleopteran stored products insect pests. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 17, n. 1, p. 13-17, 2014.
- KIRAN, S.; PRAKASH, B. Assessment of Toxicity, Antifeedant Activity, and Biochemical Responses in Stored-Grain Insects Exposed to Lethal and Sublethal Doses of *Gaultheria procumbens* L. Essential Oil. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 63, n. 48, p. 10518-10524, 2015a.
- KIRAN, S; KUJUR, A; PATEL, L; RAMALAKSHMI, K; PRAKASH, B. Assessment of toxicity and biochemical mechanisms underlying the insecticidal activity of chemically characterized *Boswellia carterii* essential oil against insect pest of legume seeds. **Pesticide biochemistry and physiology**, v. 139, p. 17-23, 2017.
- KIRAN, S; PRAKASH, B. Toxicity and biochemical efficacy of chemically characterized *Rosmarinus officinalis* essential oil against *Sitophilus oryzae* and *Oryzaephilus surinamensis*. **Industrial Crops and Products**, v. 74, p. 817-823, 2015b.

LEE, S. E; LEE, B. H; CHOI, W. S; PARK, B. S; KIM, J. G; CAMPBELL, B. C. Fumigant toxicity of volatile natural products from Korean spices and medicinal plants towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L). **Pest Management Science: formerly Pesticide Science**, v. 57, n. 6, p. 548-553, 2001.

LÓPEZ, M. D.; PASCUAL-VILLALOBOS, M. J. Mode of inhibition of acetylcholinesterase by monoterpenoids and implications for pest control. **Industrial Crops and Products**, v. 31, n. 2, p. 284-288, 2010.

MAHMOUDVAND, M; ABBASIPOUR, H; BASIJ, M; HOSSEINPOUR, M. H; RASTEGAR, F; NASIRI, M. B. Fumigant toxicity of some essential oils on adults of some stored-product pests. **Chilean journal of agricultural research**, v. 71, n. 1, p. 83, 2011.

MOHAMED, F. S; AMER, S. A; SAMMOUR, E. A; ARWISH, Z; HODA, E; EL-DESOUKY, M. Efficiency of *Pelargonium graveolens* and *Gaultheria procumbens* essential oils and their formulations on *Tetranychus Urticae* (Acari: Tetranychidae) and two predatory phytoseiid mites. **International Journal of Agricultural Technology**, v. 13, n. 3, p. 433-446, 2017.

NAYAK, M. K; DAGLISH, G. J; PHILLIPS, T. W. Managing resistance to chemical treatments in stored products pests. **Journal of stored products research**, v. 77, p. 16-19, 2015.

OBENG-OFORI, D. Plant oils as grain protectants against infestations of *Cryptolestes pussilus* and *Rhyzopertha dominica* in stored grain. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.77, n.2, p.133-139, 1995.

ORTEGA-NIEBLAS, M. M; ROBLES-BURGUEÑO, M. R; VÁZQUEZ-MORENO, L; CORTEZ-MONDACA, E; GONZÁLEZ-LEÓN, A; MORALES-TREJO, A; GONZÁLEZ-RIOS, H. Toxic and persistent effect of oregano's essential oil against *Zabrotes subfasciatus* (Coleoptera: Bruchidae) in stored dry beans. **Southwestern Entomologist**, v. 39, n. 1, p. 147-162, 2014.

PONTES, W. J. T; OLIVEIRA, J. C. G; CÂMARA, C. A. G; LOPES, A. C.H. R; GONDIM JÚNIOR, M. G. C; OLIVEIRA, J. V; BARROS, R; SCHWARTZ, M. O. E. Chemical composition and acaricidal activity of the leaf and fruit essential oils of *Protium heptaphyllum* (Aubl.) Marchand (Burseraceae). **Acta Amazonica**, v. 37, n. 1, p. 103-109, 2007.

PRAVEENA, A.; SANJAYAN, K. P. Inhibition of acetylcholinesterase in three insects of economic importance by linalool, a monoterpene phytochemical. **Insect Pest Management, A Current Scenario**, p. 340-345, 2011.

RATTAN, R. S. Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. **Crop protection**, v. 29, n. 9, p. 913-920, 2010.

REGNAULT-ROGER, C; VINCENT, C; ARNASON, J. T. Essential oils in insect control: low-risk products in a high-stakes world. **Annual review of entomology**, v. 57, p. 405-424, 2012.

- RODRIGUES, R.M. B. A. **Bioatividade do óleo essencial de *Protium heptaphyllum* (aubi.) e Limoneno no controle de *Callosobruchus maculatus*.** 2018, 48f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal do Piauí, Programa de Pós-graduação em Agronomia. 2018.
- SANTANA, A. I; VILA, R; ESPINOSA, A; OLMEDO, D; GUPTA, M. P; CAÑIGUERAL, S. Composition and biological activity of essential oils from *Protium confusum*. **Natural Product Communications**, v. 4, n. 10, p. 1934578X0900401017, 2009.
- SANTANA, C. S; FONTES, L. S; SILVA, P. H. S; BRITO, R. C; BARBOSA, D. R. S; CITÓ, A. M. G. L. Control of *Zabrotes subfasciatus* (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae) in *Phaseolus lunatus* treated with commercial essential oils. **International Journal of Tropical Insect Science**. 2020.
- SAS INSTITUTE. SAS/STAT User's guide, version 8.02, TS level 2MO. **SAS Institute Inc.**, Cary, NC.1999-2001.
- SENDI, J. J; EBADOLLAHI, A. Biological activities of essential oils on insects. **Recent Progress in Medicinal Plants (RPMP): Essential Oils II**, v. 37, p. 129-150, 2014.
- SHAFIAIE, F; ARAMIDEH, S. H. A. H. R. A. M; VALIZADEGAN, O. R. U. J; SAFARALIZADEH, M. H; HOSSEINI-GHARALARI, A. Efficacy of Herbal Essential Oils against Cowpea Weevil, *Callosobruchus maculatus* Fabricus, and Wheat Weevil, *Sitophilus granarius* L. **Oriental Journal of Chemistry**, v. 35, n. 3, p. 1174, 2019.
- SILVA, E. A. J; ESTEVAM, E. B. B; SILVA, T. S; NICOLELLA, H. D; FURTADO, R. A; ALVES, C. C. F; MIRANDA, M. L. D. Antibacterial and antiproliferative activities of the fresh leaf essential oil of *Psidium guajava* L.(Myrtaceae). **Brazilian Journal of Biology**, v. 79, n. 4, p. 697-702, 2019.
- SOUJANYA, P. L; SEKHAR, J. C; KUMAR, P; SUNIL, N; PRASAD, C. V; MALLAVADHANI, U. V. Potentiality of botanical agents for the management of post harvest insects of maize: a review. **Journal of food science and technology**, v. 53, n. 5, p. 2169-2184, 2016.
- SPOCHACZ, M; CHOWAŃSKI, S; WALKOWIAK-NOWICKA, K; SZYMCZAK, M; ADAMSKI, Z. Plant-Derived Substances Used Against Beetles–Pests of Stored Crops and Food–and Their Mode of Action: A Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 17, n. 5, p. 1339-1366, 2018.
- STEFANAZZI, N; STADLER, T; FERRERO, A. Composition and toxic, repellent and feeding deterrent activity of essential oils against the stored-grain pests *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). **Pest Management Science**, v. 67, n. 6, p. 639-646, 2011.
- TALUKDER, F. A; ISLAM, M. S; HOSSAIN, M. S; RAHMAN, M. A; ALAM, M. N. Toxicity effects of botanicals and synthetic insecticides on *Tribolium castaneum* (Herbst) and *Rhyzopertha dominica* (F.). **Bangladesh J. Environ. Sci**, v. 10, n. 2, p. 365-371, 2004.

TEIXEIRA, I. R. V; BEIJO, L. A; BARÇHUK, A. R. Behavioral and physiological responses of the bean weevil *Zabrotes subfasciatus* to intraspecific competition. **Journal of stored products research**, v. 69, p. 51-57, 2016.

TRIPATHI, A. K; PRAJAPATI, V; KHANUJA, S. P. S; KUMAR, S. Effect of d-limonene on three stored-product beetles. **Journal of Economic Entomology**, v. 96, n. 3, p. 990-995, 2003.

WALIWIWIYA, R; KENNEDY, C. J; LOWENBERGER, C. A. Larvicidal and oviposition-altering activity of monoterpenoids, trans-anethole and rosemary oil to the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Pest Management Science: formerly Pesticide Science**, v. 65, n. 3, p. 241-248, 2009.

WILLIAMS, P. R. D; HAMMITT, J. K. Perceived risks of conventional and organic produce: pesticides, pathogens, and natural toxins. **Risk analysis**, v. 21, n. 2, p. 319-330, 2001.

YAZDGERDIAN, A. R; AKHTAR, Y; ISMAN, M. B. Insecticidal effects of essential oils against woolly beech aphid, *Phyllaphis fagi* (Homoptera: Aphididae) and rice weevil, *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 3, n. 3, p. 265-271, 2015.