



**ROSALBA MARIA BORGES DE ANDRADE RODRIGUES**

**BIOATIVIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Protium heptaphyllum* (Aubi.) E  
LIMONENO NO CONTROLE DE *Callosobruchus maculatus***

**TERESINA – PI  
2018**



ROSALBA MARIA BORGES DE ANDRADE RODRIGUES

**BIOATIVIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Protium heptaphyllum* (Aubi.) E  
LIMONENO NO CONTROLE DE *Callosobruchus maculatus***

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal do Piauí,  
como parte das exigências do  
Programa de Pós-Graduação em  
Agronomia – Agricultura Tropical,  
para obtenção do título de Mestre  
em Ciências.

Orientadora: Dra. Lúcia da Silva Fontes

**TERESINA – PI**

**2018**

FICHA CATALOGRÁFICA  
Universidade Federal do Piauí  
Biblioteca Setorial do Centro de Ciências Agrárias  
Serviço de Processamento Técnico

**R696b** Rodrigues, Rosalba Maria Borges de Andrade  
Bioatividade de óleo essencial de *Protium heptaphyllum* (Aubi.)  
e limoneno no controle de *Callosobruchus maculatus*. / Rosalba  
Maria Borges de Andrade Rodrigues - 2018.  
47 f. : il.

Dissertação ( Mestrado) – Universidade Federal do Piauí, Progra-  
Pós-Graduação em Agronomia, Teresina, 2018.  
Orientação: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Lúcia da Silva Fontes

1. Almécega 2. Resina 3. Caruncho do feijão 4. Controle alterna-  
tivo I. Título.

**CDD 583.24**

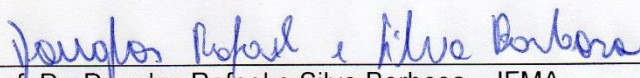
**ROSALBA MARIA BORGES DE ANDRADE RODRIGUES**

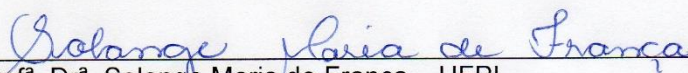
**BIOATIVIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Protium heptaphyllum* (Aubi.) E  
LIMONENO NO CONTROLE DE *Callosobruchus maculatus*.**

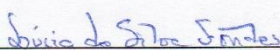
Dissertação apresentada à Universidade Federal do Piauí, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia-Agricultura Tropical, para obtenção do título de Mestre em Ciências.

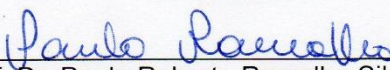
APROVADO em 24 de agosto de 2018.

Comissão Julgadora:

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Douglas Rafael e Silva Barbosa – IFMA

  
\_\_\_\_\_  
Prof.ª. Dr.ª. Solange Maria de França – UFPI

  
\_\_\_\_\_  
Prof.ª. Dr.ª. Lúcia da Silva Fontes – UFPI  
(Orientador)

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Paulo Roberto Ramalho Silva – UFPI  
(Coorientador)

**TERESINA-PI**

**2018**

*À pessoa que sempre torce de forma incondicional pela minha felicidade e progresso, de quem herdei a persistência e a FÉ. A você, minha amada mãe Delzenir Borges.*

DEDICO

## AGRADECIMENTOS

A DEUS, pelo dom da vida e por me permitir chegar até aqui, a Nossa Senhora do Perpétuo Socorro, cuja devoção me faz alcançar graças constantes e a superar grandes adversidades.

Aos meus pais, Eurípedes Rodrigues e Delzenir Borges, exemplos de retidão e pela educação primorosa que recebi.

A toda minha família, pela torcida e em especial às minhas filhas Camilla Borges e Raíssa Renée por compartilhar comigo as dificuldades, mas sempre acreditando e me fazendo acreditar que no final tudo daria certo.

Ao Everardo Freitas, pelo amor e atenção que me dedica e por estar sempre ao meu lado nos momentos difíceis.

Aos anjos de luz, tangíveis e intangíveis que sempre me alertam dos perigos e me mostram os atalhos na busca da realização dos meus sonhos.

A Universidade Federal do Piauí e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Agricultura Tropical, por me conceder a oportunidade de lhes vir a ser útil contribuindo com o valor da minha pesquisa.

A Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Lúcia da Silva Fontes, pela orientação e conhecimentos compartilhados e por me fazer acreditar que posso fazer minhas próprias descobertas e andar com os meus próprios pés na busca dos meus objetivos.

Ao Prof.<sup>o</sup> Dr. Paulo Roberto Ramalho, pelo apoio, amizade e por ter acreditado no meu potencial.

Ao Prof. Dr. Francisco Sinimbul, pelos conselhos sábios e pela força.

Ao Prof. José Bento de Carvalho Reis Diretor do CTT (Colégio Técnico de Teresina), por me conceder a possibilidade de realizar os meus estudos e experimentos e pela amizade.

Ao Prof<sup>o</sup> Ademir Sérgio Ferreira Araújo, Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Agricultura Tropical.

Ao Prof<sup>o</sup> Dr. Francisco Cardoso Figueiredo do Grupo Bioeletroquímica da Usina de Biodiesel da UFPI, onde desenvolvemos os primeiros bioensaios, que embora não tenham correspondido às nossas expectativas, foram de grande valia para minha aprendizagem. Agradeço pela receptividade e pelos ensinamentos.

A Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Graça Citó, por me disponibilizar o LAGO (Laboratório de Química Orgânica da UFPI) assim como à bolsista Iolanda Souza, por ter me ajudado na extração dos óleos e na cromatografia gasosa, duas pessoas que foram essenciais na realização desta pesquisa.

Às bolsistas do Laboratório de Entomologia do Departamento de Biologia da UFPI, Noelly Maria de Oliveira da Silva, Maria Caroline Farias e Silva e Alice de Amorim Costa e Silva com as quais aprendi muito.

Ao Prof. Dr. Douglas Rafael, por sua honrosa contribuição em toda a análise estatística e pela sua generosidade.

A Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Solange Maria de França por aceitar participar da banca de avaliação e contribuir com críticas e sugestões positivas para o aprimoramento desta pesquisa.

A Dona Eliete e Antônia da Silva Melo duas mães espirituais que torcem fervorosamente pelo meu sucesso.

Aos amigos Dra. Solange Luz, Janaína Mendes, Emanoela Sousa, Ozael David, Luciana Soares, Rodrigo Brito, Letícia Rodrigues e Moioncas, que conquistei durante esse percurso e que foram peças fundamentais, contribuindo cada um, da sua forma na concretização deste projeto.

Ao Antônio Pereira, fiel companheiro que me ajudava nas coletas e me poupava dos serviços domésticos, assim como Patrick Borges, sempre ao meu lado.

*“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê.”*

Arthur Schopenhauer



## RESUMO

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) é uma leguminosa que tem seus grãos constantemente atacados pelo inseto *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775), uma praga primária que provoca perdas qualitativas e quantitativas que depreciam comercialmente o produto armazenado. Atualmente buscam-se métodos alternativos de controle, deste modo, o presente trabalho teve como objetivo investigar a bioatividade do óleo essencial da resina de *Protium heptaphyllum* (Aubi.) e do composto limoneno no controle de *C. maculatus* em feijão-caupi. A extração do óleo da resina de almécega foi feita pelo método de hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger e a identificação dos constituintes foi feita por cromatografia gasosa e espectrometria de massa. Foram realizados testes de toxicidade por contato, fumigação e repelência. Nos testes por contato as concentrações para o óleo foram 10; 15; 20; 35 µL/20g e para o limoneno 20; 25; 30; 35; 40 µL/20g de feijão cv. Aracê. Nos testes de fumigação foram utilizadas as concentrações de 125; 250; 375 e 437,5 µL/L de ar para o óleo e de 375; 500; 625 e 750 µL/L de ar para o limoneno. Após 48h foram contabilizados os números de insetos mortos nos testes de contato e fumigação. Nos testes de repelência foram utilizadas CL<sub>50</sub> 14 e 36 µL/20g de feijão-caupi e CL<sub>95</sub> 36 e 77 µL/20g de feijão-caupi para o óleo de almécega e limoneno respectivamente. Em arenas tipo olfotômetro, uma das extremidades comportava 20g de grãos de feijão-caupi impregnados com as respectivas CL<sub>50</sub> e CL<sub>95</sub> e na outra extremidade a testemunha. Após 48h os insetos atraídos para cada recipiente foram contabilizados. Nos testes de contato e repelência após 12 dias foram contabilizados o número de ovos e após 28 dias a emergência dos insetos adultos. Os resultados mostraram que o limoneno foi o composto majoritário do óleo de almécega. O óleo de almécega e o limoneno apresentaram toxicidade para o *C. maculatus* nos testes de contato e fumigação e o óleo apresentou maior razão de toxicidade que o limoneno sendo, portanto mais tóxico. O número de insetos emergidos nos testes de contato e repelência foi reduzido em todas as concentrações o que mostra que o óleo e limoneno têm efeito ovicida. Foi constatado efeito repelente do óleo de almécega e do limoneno a *C. maculatus*, portanto a utilização dos mesmos representa uma alternativa promissora no controle desta praga de grãos armazenados.

Palavras-chave: Almécega, resina, caruncho do feijão, controle alternativo.

## ABSTRACT

The cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) is a legume that has its grains constantly attacked by *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) a primary pest that causes qualitative and quantitative losses that commercially depreciate the stored product. Currently looking to alternative methods of control, the present study aimed to investigate the bioactivity of essential oil resin *Protium heptaphyllum* (Aubi.) and the limonene compound in the control of *C. maculatus* in cowpea. The extraction of the oil from the almécega resin was the Clevenger-type hydrodistillation method and the identification of the constituents was done by gas chromatography and mass spectrometry. Contact toxicity, fumigation and repellency tests were performed. In the contact tests the concentrations for the oil were 10; 15; 20; 35 $\mu$ L/20g and for limonene 20; 25; 30; 35; 40 $\mu$ L/20g bean cv. Aracê. In the fumigation tests, concentrations of 125; 250; 375 and 437.5  $\mu$ L/L air for oil and 375; 500; 625 and 750 $\mu$ L/L of air for limonene. After 48 hours, the numbers of dead insects were counted in the contact and fumigation tests. In the repellency tests CL50 14 and 36 $\mu$ L/20g of cowpea and CL95 36 and 77 $\mu$ L/20g of cowpea were used for almécega and limonene oil, respectively. In olfotometer arenas, one end had 20g of cowpea beans impregnated with the respective CL50 and CL95 and at the other end the control. After 48 hours the insects attracted to each container were counted. In the contact and repellency tests after 12 days the number of eggs and after 28 days the emergence of the adult insects were counted. The results showed that limonene was the major compound of almécega oil. After 48 hours the insects attracted to each container were counted. In the contact and repellency tests after 12 days the number of eggs were counted and after 28 days the emergence of the adult insects. The results showed that limonene was the major compound of almécega oil. The mace oil and limonene showed toxicity to *C. maculatus* in the contact and fumigation tests, and the oil had a higher toxicity ratio than limonene and was therefore more toxic. The number of insects emerged in contact and repellency tests was reduced at all concentrations, which shows that oil and limonene have ovicidal effect. It was observed a repellent effect of almécega oil and limonene to *C. maculatus*, therefore the use of them represents a promising alternative in the control of this pest of stored grains.

Key words: Almécega, resin, beanworm, alternative control.

## SUMÁRIO

|  |             |
|--|-------------|
| <b>RESUMO</b> .....  | <b>viii</b> |
| <b>ABSTRAT</b> .....   | <b>iv</b>   |
| <b>1.INTRODUÇÃO</b> .....  | <b>11</b>   |
| <b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....  | <b>13</b>   |
| 2.1 Feijão-caupi: origem, taxonomia e importância sócio-econômica.....                 | <b>13</b>   |
| 2.2 <i>Callosobruchus maculatus</i> (Fabr.,1775) (Coleoptera:Chrysomelidae, Bruchinae) | <b>16</b>   |
| 2.3 Controle de insetos-praga de grãos armazenados.....                                | <b>17</b>   |
| 2.4 Uso de óleos essenciais no controle de pragas do feijão-caupi.....                 | <b>17</b>   |
| 2.5 Almécega branca <i>Protium heptaphyllum</i> .....                                  | <b>20</b>   |
| 2.6 Limoneno (4-isopropenil-1 metil-ciclo-hexeno).....                                 | <b>22</b>   |
| <b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....   | <b>24</b>   |
| 3.1 Obtenção da cultivar.....  | <b>24</b>   |
| 3.2 Criação de <i>Callosobruchus maculatus</i> .....                                   | <b>24</b>   |
| 3.3 Eliminação da infestação e equilíbrio da umidade dos grãos.....                    | <b>25</b>   |
| 3.4 Obtenção do material vegetal.....  | <b>25</b>   |
| 3.5 Extração do óleo de almécega.....  | <b>25</b>   |
| 3.6 Rendimento do óleo essencial de almécega.....                                      | <b>26</b>   |
| 3.7 Cromatografia gasosa e espectrometria de massas.....                               | <b>26</b>   |
| 3.8 Obtenção do composto majoritário.....  | <b>27</b>   |
| 3.9 Teste de toxicidade por contato.....   | <b>27</b>   |
| 3.10 Teste de repelência.....  | <b>29</b>   |
| 3.11 Teste de toxicidade por fumigação.....  | <b>30</b>   |
| <b>4 RESULTADOS</b> .....  | <b>32</b>   |
| 4.1 Rendimento e análise cromatográfica.....   | <b>32</b>   |
| 4.2 Teste de contato.....  | <b>33</b>   |
| 4.3 Teste de repelência.....   | <b>37</b>   |
| 4.4 Teste de fumigação.....  | <b>39</b>   |
| <b>5. CONCLUSÃO</b> .....  | <b>41</b>   |
| <b>6.REFERÊNCIAS</b> .....   | <b>42</b>   |

## 1. INTRODUÇÃO

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) é uma leguminosa pertencente à ordem Fabales, família Fabaceae, subfamília Faboidae, gênero *Vigna*, espécie *Vigna unguiculata* (L.) (ONOFRE, 2008). Apresenta ampla distribuição mundial e no Brasil se destaca pela sua importância socioeconômica e nutricional, principalmente nas regiões Norte e Nordeste, onde é cultivada basicamente por pequenos e médios agricultores, com uso de pouco ou nenhum aparato tecnológico, o que reflete na produtividade, que nessas regiões ainda é considerada muito baixa, principalmente quando comparada à região Centro - Oeste, que utiliza tecnologia de ponta apresentando altos índices de produtividade para essa espécie (FREIRE FILHO, 2011).

Devido a sua rusticidade e por ser considerado um dos alimentos básicos da população dessas regiões, pois apresenta alto teor proteico, carboidratos essenciais e baixo teor de gordura, o feijão – caupi é plantado tanto para fins de comercialização como para o consumo. E é prática comum entre os pequenos e médios agricultores que o cultivam, armazenar os grãos para agregar valor aos mesmos no período da entressafra.

Conforme Jairoce et al., (2016) pragas como o caruncho-do-feijão *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) podem causar grandes prejuízos aos grãos armazenados sendo considerada a mais importante. O seu ataque inicia-se antes da colheita dos grãos e intensifica-se no produto armazenado, chegando a provocar perdas totais (ARRUDA; BATISTA, 1998). Os grãos quando atacados por esta praga, apresentam perdas quantitativas e qualitativas depreciando o produto, podendo torná-lo inadequado ao consumo humano e inviável para o replantio ou comercialização (OLIVEIRA et al., 2014).

No combate ao caruncho-do-feijão, atualmente o controle químico com o gás fumigante fosfina é o mais utilizado, sendo apresentado na forma de pastilhas e o único produto registrado pelo Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2017). Embora apresente comprovada eficácia, as condições de armazenamento disponíveis pela maioria dos agricultores permitem reinfestações, além disso, o uso em longo prazo de um único fumigante aumenta o risco de desenvolvimento de resistência em populações de insetos-praga (BENHALIMA et al., 2004; PIMENTEL et al., 2009).

Os inseticidas sintéticos podem provocar efeitos adversos à saúde humana, animal e ao meio ambiente, daí a necessidade de se buscar formas de controles alternativos, mais econômicos, seguros e de fácil utilização pelo produtor (TIROESELE et al., 2015). Na última década os inseticidas botânicos têm despertado muito interesse à comunidade científica, pelo fato de serem de baixo impacto ambiental e considerado inseticidas naturais, pois são compostos resultantes do metabolismo secundário das plantas (OLIVEIRA et al., 1999).

Dentre os principais metabólitos secundários estão os óleos essenciais, que são substâncias complexas, voláteis, aromáticas, constituídas na maioria das vezes por terpenóides e que apresentam diferentes efeitos sobre os insetos, como: repelência, inibição da oviposição, toxicidade entre outros (DEQUECH et al., 2008).

Segundo Brito (2015) pesquisas com compostos isolados constituintes majoritários desses óleos essenciais são de fundamental importância para que se possam elucidar quais os componentes que realmente têm ação de toxicidade sobre insetos alvos.

Considerando a riqueza e exuberância da flora brasileira, novas espécies ricas em óleos essenciais vêm sendo pesquisadas com o objetivo de combater pragas da agricultura como o *C. maculatus*, assim como compostos isolados constituintes desses óleos.

Dentre a grande diversidade de espécies, *Protium heptaphyllum* (Aubi) pertencente à família Burseraceae, conhecida popularmente como Almécega, mescla ou goma-limão vem despertando interesse dos pesquisadores devido ao valor comercial de sua resina aromática que é utilizada para os mais variados fins. Essa resina é um exsudado branco leitoso que se encontra armazenado em ductos resiníferos e quase sempre têm traços de látex branco em seus ramos, como dispersos em formas de gotículas em talhos feitos na casca (SIANI et al., 2004).

Não consta nenhum registro na literatura de pesquisas no combate a insetos pragas da agricultura e mais especificamente ao *Callosobruchus maculatus* com a resina dessa espécie.

De acordo com Citó et al. (2003) os componentes majoritários encontrados em resina de almécega coletada em Teresina-PI foram  $\beta$ -terpinilacetato (23.2 %), limoneno (18.2%) e  $\beta$ -ocimeno (11.2%). E vários estudos já comprovaram a eficácia do composto sintético isolado limoneno (4-isopropenil-1 metil-ciclo-hexeno), no controle de *C. maculatus* em grãos armazenados. Segundo Ajayi et al. (2014) após

analisar a mortalidade de *C. maculatus* adultos expostos a oito monoterpenos componentes de óleos essenciais entre eles o limoneno, constatou o efeito tóxico fumigante dos mesmos a esta espécie de pragas. Enquanto Hudaib et al. (2010) ao analisar a relação entre o teor de umidade dos grãos e oviposição das fêmeas de *C. maculatus* observou que a oviposição foi maior em grãos com menor teor de umidade e isso foi atribuído aos altos níveis de D-limoneno no ar ao redor dos grãos com elevado teor de umidade, revelados através de análises químicas na atmosfera circundante.

O limoneno é um monoterpeneo cíclico formado somente por átomos de carbono e hidrogênio, pertencente à família dos terpenos. Produzido principalmente por frutas cítricas como limão, lima e laranja é um solvente biodegradável muito utilizado na indústria e como componente aromático, é utilizado na síntese de novos compostos. Na indústria alimentícia pode ser utilizado como aromatizante e flavorizante, na obtenção de sabores artificiais, podendo ser considerado um agente de calor limpo e ambientalmente inócuo (COSTA, 2010).

Considerando a seguinte premissa, que o método ideal de controle é aquele que apresenta eficácia no controle da praga, mas que seja inócuo à saúde humana, aos animais e o meio ambiente e que a Almécega é amplamente distribuída nas regiões Norte e Nordeste do Brasil maiores consumidores nacionais de feijão-caupi, sendo, portanto de fácil acesso aos pequenos e médios agricultores, objetivou-se com esse estudo investigar a bioatividade do óleo essencial da resina de almécega *P.heptaphyllum* e de seu composto majoritário limoneno no controle de *Callosobruchus maculatus* em feijão-caupi.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Feijão-caupi: origem, taxonomia e importância socioeconômica

O feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp] é uma Fabacea originária da África, foi introduzida no Brasil na segunda metade do século XVI pelos colonizadores portugueses no estado da Bahia (FREIRE FILHO, 2011). E a partir daí foi disseminada para outros estados da Região Nordeste e para outras regiões do país Freire Filho et al. (1999). É uma dicotiledônea pertencente à ordem Fabales, família Fabaceae, subfamília Faboideae, gênero *Vigna*, espécie *V. unguiculata* (ONOFRE, 2008).

De acordo com registros da FAO, em 2015 a produção mundial de feijão-caupi atingiu aproximadamente 5,6 milhões de toneladas, produzida em 12,5 milhões de hectares e provavelmente esses dados podem estar subestimados em função de alguns países como o Brasil e a Índia não apresentarem estatísticas separadas de feijão-caupi e feijão comum, pois apesar do expressivo valor de produção que apresentam esses dados não estão dissociados. O continente africano responde por cerca de 95,3% da produção mundial de feijão-caupi e os cinco maiores produtores no ano de 2015 foram Nigéria (2,1 milhões de toneladas), Níger (1,6 milhões de toneladas), Burkina Faso (571 mil toneladas), Tanzânia (191 mil toneladas) e Myanmar (115 mil toneladas) (BASTOS et al., 2016).

No Brasil atualmente existem poucas estatísticas oficiais sobre a produção do feijão-caupi, e o serviço de Levantamento Sistemático da Produção Agrícola (LSPA) do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) publica os dados das duas espécies de forma conjunta, o que impossibilita o conhecimento da real e efetiva participação de cada espécie na produção total de feijão no país. Segundo dados estimados da EMBRAPA ARROZ E FEIJÃO, no ano de 2014, a produção foi de 482.665 toneladas colhidas em 1.202.491 hectares. É salutar que se observe um viés nessas estimativas, por exemplo, as estimativas desconsideram a existência de produção de feijão-caupi nos estados do Acre, Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, São Paulo e Tocantins, isso faz com que não se contabilize a produção desses sete estados a favor da cultura (BASTOS et al., 2016).

Historicamente as maiores produções se concentram nas Regiões Nordeste (1,2 milhão de hectares) e Norte (55,8 mil hectares), atualmente a região Centro Oeste e mais especificamente o estado do Mato Grosso, embora não apresente a maior área colhida destaca-se por apresentar altos índices de produtividade, resultado direto do emprego de tecnologias adequadas no sistema de produção da cultura, além de utilizar cultivares resistentes que favorecem o cultivo mecanizado. O que contribui de forma positiva à segurança alimentar, porque enquanto se observa um superávit de produtividade na Região Centro-Oeste, nas Regiões Nordeste e Norte existem um déficit na oferta do produto, que é destinado diretamente à alimentação humana. Fato que pode ser observado em estados como Ceará (270 kg/ha) e Piauí (258 kg/ha), maiores consumidores desta leguminosa no Brasil, mas que alcançam baixíssimos níveis de produtividade (FREIRE FILHO, 2011; BASTOS et al., 2016).

Dependendo da região na qual é cultivado, o feijão-caupi pode receber diversas denominações como: feijão-de-corda, feijão macáassar, feijão fradinho, feijão de praia e pode ser consumido de várias formas: grão verde e seco, massa para culinária baiana como acarajé e abará, saladas, pizza, doce, bife e na tradicional feijoada (NEVES et al., 2011). Por representar uma excelente fonte de proteínas (23-25% em média) e apresentar todos os aminoácidos essenciais, carboidratos (62%, em média), vitaminas e minerais, além de possuir grande quantidade de fibras dietéticas, baixa quantidade de gordura e teor de óleo de 2%, em média, hoje é considerado um dos alimentos essenciais da dieta dos brasileiros (ANDRADE JÚNIOR et al., 2003).

No Nordeste brasileiro o feijão-caupi é bastante cultivado por agricultores de baixas e médias rendas devido a sua rusticidade, por apresentar baixo custo e ser fisiologicamente adaptado a diferentes condições ambientais, apresentando tolerância ao stress hídrico, pouca exigência em fertilidade do solo e boa fixação biológica do nitrogênio atmosférico, esse cultivo representa um importante papel na cadeia produtiva agrícola dessa região. Os produtores dependem basicamente do período chuvoso para seu cultivo e têm o hábito de armazená-lo tanto para o consumo como para a comercialização no período da entressafra (CORDEIRO et al., 1998; SALES; RODRIGUES, 1988). No entanto perdas de grãos são observadas em condições de campo, na época da colheita e principalmente durante o armazenamento, onde ocorrem as perdas mais significativas dos produtos destinados à alimentação humana e animal (BRACCINI; PIKANÇO, 1995). Durante esse processo ocorrem perdas consideráveis, tanto de natureza quantitativa como qualitativa, depreciando o produto. Estima-se que cerca de 10% a 20% dos grãos são danificados e um dos principais fatores é o ataque de insetos pragas (HERTLEIN et al., 2011).

## 2.2 *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) (Coleoptera:Chrysomelidae, Bruchinae)



A ocorrência de pragas pode ocasionar grandes perdas quantitativas e qualitativas do feijão-caupi, portanto, o reconhecimento e o controle das pragas mais relevantes que atacam a cultura são essenciais para o sucesso da produção. (SILVA, 2017). Segundo o mesmo autor a praga de maior relevância para a cultura é o caruncho-do-feijão (*Callosobruchus maculatus*), um besouro de aproximadamente 0,3 cm de comprimento, que apresenta manchas amarronzadas nos élitros que formam um “x” quando o inseto está em repouso. (Figura 1).

Figura 1. *Callosobruchus maculatus* (caruncho do feijão-caupi).  
Fonte: Embrapa, 2015.



Este inseto apresenta os seguintes estágios: ovo, larva 1º instar, larva 2º instar, larva 3º instar, larva 4º instar, pupa e adulto. Sendo considerado holometabólico, pois os estágios de ovo e adulto ocorrem na superfície dos grãos e os estágios larvais e pupal ocorrem dentro dos grãos. As fêmeas põem em média 80 ovos na superfície dos grãos (QUINTELA et al., 1991). Os ovos são pequenos e ficam aderidos aos grãos, inicialmente são levemente translúcidos e brilhantes e com o passar do tempo se tornam amarelo-leitosos e proeminentes, sendo facilmente visualizados (DEVI; DEVI, 2014). As larvas perfuram os grãos e se alimentam do endosperma tornando-os inadequados ao consumo humano e reduz a viabilidade das sementes para plantio (DEVI; DEVI, 2014). Quando se transformam em adultos, perfuram um orifício de saída e fora dos grãos, reiniciam o ciclo biológico fazendo postura. (SILVA, 2017).

A fase de ovo dura de 6-7 dias, o 1º instar larval 8-9 dias, o 2º instar larval 3-4 dias, 3º instar larval 3-4 dias, o 4º instar larval 4-5 dias, o estágio pupal no macho 6-7 dias e na fêmea 5-6 dias e o adulto macho vive em média 9-12 dias e a fêmea 10-14 dias (DEVI; DEVI, 2014).

### 2.3 Controle de insetos-praga de grãos armazenados

Atualmente os métodos mais comuns de controle dos insetos-praga de grãos armazenados ainda são feitos por meio do uso de inseticidas protetores (SOUSA et al., 2008). Produtos químicos sintéticos com diferentes classes toxicológicas são utilizados e apesar da relativa eficácia desses produtos o uso intensivo pode causar vários problemas, como promover a resistência dos insetos aos princípios ativos dessas substâncias, acumulação de resíduos nos alimentos, efeitos deletérios à saúde humana, contaminação do meio ambiente e aumento nos custos de produção (CAMPOS et al., 2014). No Brasil, especificamente para o controle de *C. maculatus* em feijão-caupi armazenado, apenas o fumigante fosfina cujo precursor é o fosfeto de alumínio é registrado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (SOUSA et al., 2008). A partir dessas constatações, surgiu necessidade de se resgatar a utilização de substâncias naturais bioativas, contra pragas e patógenos, buscando práticas agrícolas de baixo impacto ambiental, substituindo os métodos convencionais (BETTIOL; MORANDI, 2009).

Diante da elevada demanda por inseticidas botânicos de baixo impacto ambiental, a utilização de derivados de origem vegetal como pó, extrato e óleos essenciais como métodos alternativos de controle de pragas têm apresentado resultados promissores (CASTRO et al., 2010).

### 2.4 Uso de óleos essenciais no controle de pragas do feijão-caupi

O princípio ativo dos inseticidas botânicos é um composto resultante do metabolismo secundário das plantas e acumulado nos tecidos vegetais. Algumas delas durante o processo evolutivo desenvolveram sua própria defesa química contra insetos herbívoros sintetizando esses metabólitos. Dentre os metabólitos secundários os principais grupos de compostos encontrados com atividade biológica são os alcaloides, flavonoides, cumarinas, taninos, quinonas e óleos essenciais (VILLALOBOS, 1996).

Os óleos essenciais são uma mistura complexa de componentes voláteis, com baixo peso molecular, e constituído na maioria das vezes por terpenoides, destacando-se entre eles os monoterpenos (90%) e sesquiterpenos, e por uma grande variedade de fenóis aromáticos, óxidos, éteres, aldeídos e cetonas que conferem aos

mesmos o aroma e o odor característico da planta doadora (BATISH et al., 2008). Podem ser chamados também de óleos voláteis, óleos etéreos devido à solubilidade em éter, ou essências pelos seus aromas característicos. A denominação de óleo é decorrente de características físico-químicas usadas em sua identificação e controle de qualidade, como a de serem líquidos de aparência oleosa à temperatura ambiente, voláteis com aroma agradável e intenso, solúveis em solventes orgânicos apolares, geralmente incolores ou ligeiramente amarelados, não são estáveis na presença de luz, ar, calor, umidade e metais (GARLET, 2007).

Estas substâncias podem ter diferentes efeitos sobre os insetos, como: repelência, inibição da oviposição, inibição da alimentação ou deterrência, redução do desenvolvimento larval, da fertilidade e fecundidade do adulto, alterações morfogenéticas, além de propriedades antifúngicas, bactericidas e antissépticas (DEQUECH et al., 2008). Mas é importante que se saiba que alguns fatores ambientais podem influenciar na composição química desses óleos, podendo variar consideravelmente em uma mesma espécie vegetal dependendo da época da coleta, das condições climáticas e de solo (SIMÕES; SPITZER, 2002). Assim como pode variar dependendo da parte da planta da qual foi extraído, se folhas, frutos, pedúnculos (JAIROCE et al., 2016). De acordo (GOBBO-NETO; LOPES, 2007) os metabólitos secundários representam uma interface química entre as plantas e o ambiente circundante, portanto, sua síntese é frequentemente afetada por condições ambientais, como sazonalidade, ritmo circadiano, temperatura, disponibilidade hídrica, radiação ultravioleta, altitude, indução por estímulos químicos ou ataque de patógenos.

Na agricultura, diversas pesquisas vêm sendo estimuladas objetivando o uso de plantas aromáticas para proteger culturas e produtos agrícolas armazenados (Tabela 1). E a atividade inseticida dos óleos essenciais dessas plantas vem sendo muito estudada pela volatilidade e lipofilicidade apresentada por esses compostos, que funcionam como fumigantes alterando suas funções fisiológicas de forma saudável, já que é aplicado diretamente sobre os grãos (LEE et al., 2001).

**Tabela 1:** Óleos essenciais com bioatividade para alguns diferentes tipos de caruncho-do feijão descrito na literatura. Brasil 2018.

| Nome botânico da espécie vegetal fonte do óleo essencial | Nome comum     | Espécie do caruncho-do feijão           | Referências                |
|--|----------------|---|----------------------------|
| <i>Petroselinum sativum</i> (Hoffm.)                     | Salsa          | <i>C. maculatus</i>                     | Massango et al. (2017)     |
| <i>Azadirachta indica</i> (A. Juss.)                     | Nim            | <i>C. maculatus</i>                     | Lale; Mustapha (2000)      |
| <i>Bracharis articulata</i> (Lam.)                       | Carqueja doce  | <i>Acanthocescelides obtectus</i> (Say) | Campos (2014)              |
| <i>Eucalyptus staigeriana</i> (F. Muell)                 | Eucalipto      | <i>C. maculatus</i>                     | Gusmão et al. (2013)       |
| <i>Lantana câmara</i> (L.)                               | Camará         | <i>C. maculatus</i>                     | Zandi-Sohani et al.(2012)  |
| <i>Ocimum gratissimum</i> (L.)                           | Manjeriçã      | <i>Callosobruchus chinensis</i> (L.)    | Ogendo et al.(2008)        |
| <i>Salvia officinalis</i> (Sage)                         | Sálvia         | <i>C. maculatus</i>                     | Toudert-Tale et al. (2014) |
| <i>Ocimum basiculum</i> (L.)                             | Alfavaca       | <i>C. maculatus</i>                     | Keita et al. (2001)        |
| <i>Lippia alba</i> (Mill)                                | Erva-Cidreira  | <i>C. chinensis</i>                     | Skula et al.(2011)         |
| <i>Acorus calamus</i> (Linn.)                            | Cana-cheirosa  | <i>C. maculatus</i>                     | Brito (2015)               |
| <i>Artemisia vulgaris</i> (L.)                           | Artemisia      | <i>C. maculatus</i>                     | Motaghi et al. (2014)      |
| <i>Syzygium aromaticum</i> (L.)                          | Cravo-da-índia | <i>A. obtectus</i>                      | Jairoce et al. (2014)      |

## 2.5 Almécega branca (*Protium heptaphyllum*)

*Protium heptaphyllum* (Aubi) Marchand, pertence à família Burseraceae, que se apresenta na forma de árvores ou arbustos perenes, terrestres, polígamo-dióicos ou monóicos, com ductos resiníferos. É uma família pantropical e compreende 18 gêneros com cerca de 650 espécies, apresentando maior concentração na América Tropical, Malásia e Noroeste da África. Na região neotropical apresenta oito gêneros, com cerca de 295 espécies e seis delas são encontradas no Brasil (LIMA; PIRANI, 2005).

Os representantes dessa família se caracterizam por apresentar alto teor de gomas e resinas odoríferas com um significativo valor comercial nos mercados mundiais, como é o caso da espécie *P. heptaphyllum* que também é conhecida popularmente como breu branco, almíscar, amescla e manguinha. Esta espécie se apresenta na forma de árvores que podem atingir 10-20m de altura (Figura 2).



Figura 2. Árvore e resina de Almécega

Fonte: Disponível em: [www.farmacioviva.com.br](http://www.farmacioviva.com.br), acesso 10.jul.2018

A floração ocorre nos meses de agosto e setembro e a maturação dos frutos em novembro e dezembro (LORENZI; MATOS, 2002). Suas flores são amareladas e pequenas, fruto drupa vermelha ovóide contendo polpa resinosa e amarela envolvendo na maioria das vezes uma única semente e raramente duas ou três (Figura 3).



Figura 3. Folhas, Inflorescência e frutos de Almécega  
Fonte: Disponível em: [www.umpedequê.com.br](http://www.umpedequê.com.br), acesso 10.jul.2018

A almécega é originária da América do Sul, mas encontra-se amplamente distribuída desde a Colômbia, Venezuela, Guianas, até o Paraguai. No Brasil sua distribuição ocorre praticamente em todo o território nacional (LIMA; PIRANI, 2005), principalmente na Região Amazônica e em alguns estados da Região Nordeste, como Bahia, Ceará, Maranhão e Piauí (CITÓ et al., 2003; LORENZI; MATOS, 2002). A característica mais peculiar dessa espécie consiste no fato de exsudar uma resina oleosa e amorfa rica em triterpenos pentacíclicos e óleo essencial, cuja produção ocorre em maior intensidade no período chuvoso e é estimulada pela larva de um inseto da família Curculionidae que permanece na árvore até o estado adulto (SUSUNAGA, 1996). A resina pode ser coletada do tronco e do chão de forma manual, durante todo o ano e algumas incisões são feitas no tronco para estimular a produção do breu, que é exsudado na forma de um líquido balsâmico, com cheiro de funcho, que ao secar, se coalha numa massa de consistência mole de cor branca ligeiramente amarelada (REVILLA, 2001).

Segundo Mobin et al.(2016) estudos fitoquímicos realizados com *P. heptaphyllum* revelaram que sua resina apresenta uma mistura binária de triterpenos especialmente alfa e beta amirina e que um dos compostos majoritários do seu óleo essencial é o monoterpene limoneno. Suas aplicações são bastante diversificadas, indo desde a fabricação de vernizes e tintas, na calafetagem de embarcações, na medicina popular como analgésico, anti-inflamatório, expectorante e cicatrizante, até como repelente de insetos tais como “carapanãs”, moscas e mosquitos. Apresenta

também efeitos terapêuticos antiulcerogênicos comprovados e é bastante utilizada na indústria de cosméticos, de produtos de higiene e perfumaria (BANDEIRA, 2003; REVILLA, 2001). Nas cidades de sua ocorrência é muito utilizada em rituais religiosos na forma de defumador e incenso (LORENZI; MATOS, 2002).

## 2.6 Limoneno (4-isopropenil-1 metil-ciclo-hexeno)

Os óleos essenciais são ricos em terpenos e a biossíntese destes compostos envolvem a rota do ácido mevalônico e a rota do metileritrol fosfato (rota do MEP) que são precursoras dos isômeros, que se unem para formar geranyl difosfato (GPP), uma molécula de 10 carbonos, a partir da qual são formados os monoterpenos, que são moléculas componentes de diversos óleos essenciais, entre elas está o limoneno. Essa síntese ocorre através de sucessivas reações enzimáticas envolvendo sintases, hidroxilases, desidrogenases, redutases e isomerases. O limoneno é um componente comum de óleos essenciais de diferentes espécies vegetais, sendo o monoterpeno presente na maioria dos óleos essenciais já relatados (GARLET, 2007; LANÇAS; CAVICHIOLI, 1990).

O limoneno, 4-isopropenil-1 metil-ciclo-hexeno, fórmula  $C_{10}H_{16}$ , pertence à família dos terpenos e se apresenta à temperatura ambiente como líquido, límpido, incolor e oleoso (Figura 5).

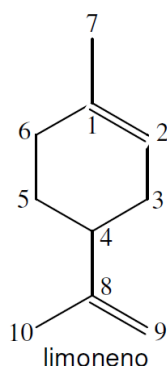


Figura 4. Estrutura do limoneno (4-isopropenil-1 metil-ciclo-hexeno)  
Fonte: DUETZ et al., (2003).

Produzido principalmente por frutas cítricas como limão, lima e laranja é um solvente biodegradável muito utilizado na indústria e como componente aromático, é utilizado na síntese de novos compostos. Na indústria alimentícia pode ser utilizado como aromatizante e flavorizante, na obtenção de sabores artificiais e na fabricação de doces e chicletes, podendo ser considerado um agente de calor limpo e ambientalmente inócuo. Chega a compor cerca de 96% do óleo essencial da casca da laranja (ADJUTO, 2008; COSTA, 2010).

Apresenta em seu anel ciclo-hexeno um carbono quiral, e esta característica faz com que ele exista na forma de dois isômeros ópticos. Os carbonos quirais são identificados como R ou S, então R-Limoneno e S-Limoneno segundo a IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry). Mas outra notação para isômeros ópticos incluem o uso das letras d (dextrogiro, desvia o plano de luz polarizada para a direita) e l (levógiro, desvia o plano de luz polarizada para a esquerda), e os símbolos + e -. Assim, pode-se chamar um isômero de R-(+) - Limoneno e o outro de S-(-) - Limoneno. E esses dois enantiômeros do Limoneno são os mais abundantes monoterpenos na natureza. O R-(+) -Limoneno possui um aroma de frutas cítricas, principalmente aroma de laranja, enquanto que o S-(-) - limoneno apresenta aroma semelhante ao do limão (ADJUTO, 2008; COSTA, 2010).

Por ser o composto majoritário de vários óleos essenciais de diversas espécies vegetais, sua bioatividade no controle de insetos-pragas vem despertando interesse da comunidade científica, como foi constatado por (BARBOSA, 2015; DON-PEDRO, 1996) que comprovaram sua eficácia no controle do *C.maculatus*.



### 3. MATERIAL E MÉTODOS

Os bioensaios e a criação de *C. maculatus* foram conduzidos no Laboratório de Entomologia, Departamento de Biologia da Universidade Federal do Piauí, Campus Ininga em Teresina-PI, temperatura de  $30 \pm 2^{\circ}$ , umidade relativa de  $60 \pm 5 \%$  e fotofase de 12 h.

#### 3.1 Obtenção da Cultivar

A cultivar testada no experimento foi cv. Aracê (Figura 5). Adquirida no Sítio São Judas Tadeu, localizado na BR 316, Km 17 no sentido Timon- Caxias (MA).



Figura 5. Cultivar Aracê

#### 3.2 Criação de *Callosobruchus maculatus*

As gerações de insetos foram obtidas a partir de insetos adultos pertencentes ao acervo do laboratório onde foi desenvolvido o experimento. A infestação foi realizada em grãos de feijão caupi, *V. unguiculata* cv. fradinho, cv. branco e cv. Aracê adquiridos no comércio local, acondicionados em potes de vidro com capacidade de 1,5L, e cobertos com tecido tipo *voil* para permitir as trocas gasosas (Figura 7). Neste processo utilizavam-se preferencialmente fêmeas recém-emergidas deixadas para postura por 48h, em seguida retiradas e os recipientes estocados e monitorados até a emergência da nova geração.



**Figura 7** Criação de *C. maculatus*

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

Os grãos utilizados nos ensaios eram limpos e secos, acondicionados em depósitos plásticos e mantidos sob refrigeração sob temperatura de  $-10^{\circ}\text{C}$ , por um período mínimo de sete dias, para eliminação de eventuais infestações de insetos provenientes do campo. Antes de sua utilização tanto para fins de infestação como para testes, os grãos eram retirados do freezer com um período mínimo de 48 horas com a finalidade de atingirem o equilíbrio higroscópico.

### 3.4 Obtenção do Material Vegetal

A resina de almécega *P. heptaphyllum* foi adquirida no Mercado Central de Teresina proveniente de um almecegal localizado na cidade de Timon - MA em novembro de 2017, mantida sob refrigeração até o momento da extração do óleo.

### 3.5 Extração do Óleo de Almécega

A extração do óleo da resina de *P. heptaphyllum* foi realizada no LAGO (Laboratório de Química Orgânica, Departamento de Química da Universidade Federal do Piauí), pelo método de hidrodestilação em aparelho de Clevenger modificado (CRAVEIRO et al., 1981). A resina foi macerada para aumentar a superfície de contato e obtenção de maior quantidade de óleo essencial. Foram utilizadas 500g de resina e 3 litros de água destilada e a extração foi realizada por um período que totalizou 4h em temperatura constante, mantendo a ebulição da solução. Decorrido esse tempo, coletou-se o hidrolato sendo este particionado com diclorometano em

funil de separação para eliminação da fase aquosa e recuperação do óleo essencial (Figura 7). Após a extração, o óleo ficou mantido sob refrigeração em temperatura de  $-10^{\circ}\text{C}$  de onde foi retirado 48h antes da realização de cada teste nos quais foi utilizado.

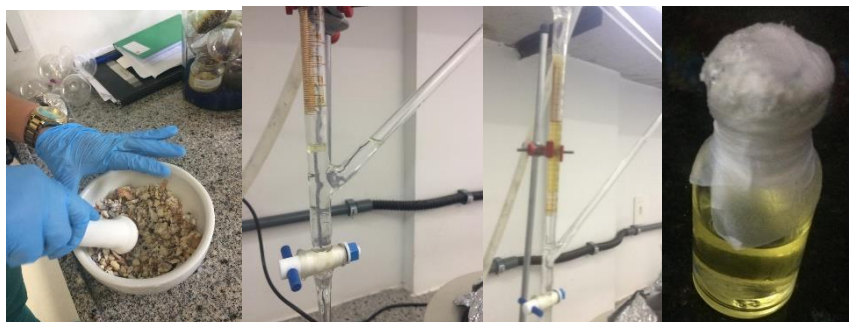


Figura 7. Extração do óleo de almécega

### 3.6 Rendimento do óleo essencial de almécega

O rendimento do óleo essencial da amostra foi calculado através da seguinte fórmula:

$$R = \frac{\text{volume de óleo extraído (ml)} \times 100}{\text{Peso seco da amostra (g)}}$$

Onde:

R = rendimento do óleo essencial (%)

Volume do óleo = volume extraído (mL)

Peso seco = massa da resina utilizada na extração (g)

### 3.7 Cromatografia gasosa e espectrometria de massas

A análise química do óleo essencial de resina de almécega foi realizada no LAGO - Laboratório de Química Orgânica, Departamento de Química Orgânica da Universidade Federal do Piauí. Foi feita em instrumento Shimadzu GC-17<sup>a</sup>/MS-QP505A, equipado com automostrador AOC-5000 e coluna capilar Rxi 5% difenil-dimetilpoliloxano (30 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu\text{m}$ ). Foram injetados 0,1  $\mu\text{L}$  das amostras no modo *Split* (1: 20), a temperatura do injetor foi de  $220^{\circ}\text{C}$  e a temperatura de interface de  $240^{\circ}\text{C}$ .

As condições de operação foram as seguintes: coluna programada para operar a 60 °C, com elevação de temperatura a taxa de 3 °C min<sup>-1</sup>. Com corte de solvente em 3min. O gás de arraste foi hélio (99,9999%; White Martins) com fluxo constante de 1mL min<sup>-1</sup>. O espectrômetro de massas do tipo quadrupolo foi operado no modo 'scan' no intervalo de massas de 40-350 Da. A fonte de íons estava configurada para operação no modo ionização por elétrons (EI) a 70 eV. A identificação foi realizada com base na fragmentação em comparação com a biblioteca WILEY® e com dados relatados na literatura (ADAMS, 1995). E também pela comparação com os índices de retenção calculados (I.R.<sub>(calc.)</sub>) com os índices de retenção relatados na literatura (I.R.<sub>(liter.)</sub>). Os índices de retenção relativos foram calculados com base na introdução de padrões de hidrocarbonetos normais (C<sub>8</sub>-C<sub>25</sub>) nas mesmas condições utilizadas para a injeção dos constituintes voláteis da resina de almecega.

### 3.8 Obtenção do composto majoritário

O composto sintético majoritário do óleo de almécega foi adquirido na empresa Sigma-Aldrich®. (R)-(+)-Limonene com grau de pureza de 93%. O mesmo foi mantido sob refrigeração em temperatura de -10°C de onde era retirado 48h antes da realização de cada teste nos quais ele foi utilizado.

### 3.9 Teste de Toxicidade por Contato

Os experimentos foram conduzidos à temperatura de 30 ± 2°, umidade relativa de 60 ± 5 % e fotofase de 12 h. Foram realizados testes preliminares em delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições, com o objetivo de definir faixas de concentração do óleo e do composto sintético majoritário limoneno, capazes de promover mortalidades de 5 e 95% nos insetos testados utilizando grãos de feijão-caupi, cv. Aracê.

Para cada composto foram utilizados 20g de grãos de feijão-caupi cv. Aracê, infestadas com 10 fêmeas de *C. maculatus*, diferenciadas através de seus caracteres morfológicos, com 0-48h de idade acondicionado em recipientes plásticos 100 mL com tampa perfurada com alfinete, para permitir as trocas gasosas com o exterior (Figura 8).



Figura 8. Recipientes plásticos.

De acordo com os resultados obtidos nos testes preliminares foram estabelecidos os tratamentos com as concentrações para o Óleo de almécega (10; 15; 20, 35 $\mu$ L/20g) e para o composto sintético limoneno (20; 25; 30; 35; 40 $\mu$ L/20g) com 5 repetições para cada tratamento e uma testemunha. As concentrações foram aplicadas sobre os grãos utilizando-se um micropipetador automático, e os mesmos submetidos à agitação manual por um período de dois minutos, em seguida colocados os insetos. Após 48 horas de confinamento, avaliou-se a mortalidade e os insetos foram retirados. Os ovos de cada tratamento e da testemunha foram contabilizados 12 dias após a montagem do experimento e a emergência após 28 dias.

As concentrações letais capazes de matar 50% da população ( $CL_{50}$ ) e 95% da população ( $CL_{95}$ ) do óleo e do composto limoneno foram determinadas através do PROC PROBIT do programa SAS version 8.02 (SAS INSTITUTE, 2001). As Razões de Toxicidade (RT) foram obtidas, através do quociente entre a  $CL_{50}$  e/ou  $CL_{95}$  do produto de menor toxicidade e as  $CL_{50}$  e/ou  $CL_{95}$  dos demais, individualmente. Os dados de mortalidade, número de ovos e insetos emergidos foram submetidos à análise de regressão, mediante o programa SAS version 8.02 (SAS INSTITUTE, 2001).

### 3.10 Teste de Repelência

Com base nos resultados obtidos nos testes de toxicidade por contato, foram utilizados como tratamentos as CL<sub>50</sub> e CL<sub>95</sub> para o óleo e o composto limoneno. Os ensaios foram realizados em arenas do tipo olfotômetro formadas por dois recipientes plásticos de 120ml interligados simetricamente a um outro central com as mesmas dimensões através de tubos de polietileno (Figura 9).

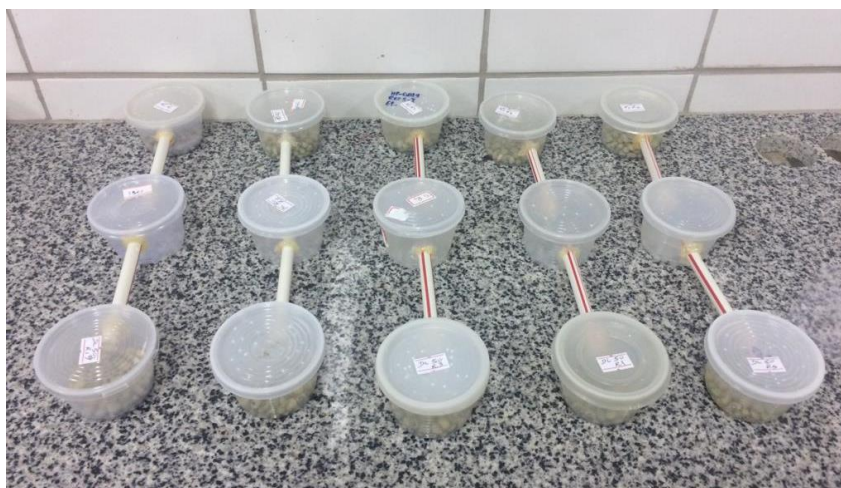


Figura 9. Arenas.

Em uma extremidade foram colocados 20g de grãos de feijão-caupi cv. Aracê, sem óleo (testemunha) e na outra a mesma quantidade de feijão foi impregnado com as respectivas concentrações de cada tratamento, utilizando-se um micropipetador automático, agitando previamente por um tempo de dois minutos para que houvesse uniformidade na distribuição das concentrações dentro dos recipientes. Na caixa central foram colocadas 20 fêmeas de *C. maculatus* com 0-48h de idade.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com 5 repetições. Após 48 horas os insetos atraídos para cada recipiente foram contabilizados e descartados. Os grãos permaneceram no recipiente e após 12 e 28 dias, procedeu-se a contagem de ovos e insetos emergidos, respectivamente.

O índice de repelência (IR) foi calculado através da fórmula  $IR = 2G / (G+P)$ , onde G=% de insetos atraídos no tratamento e P=% de insetos atraídos pela testemunha. Os valores de IR variam entre zero e dois, sendo que IR= 1 indica repelência semelhante entre testemunha e tratamento (tratamento neutro), IR > 1 indica menor repelência do tratamento em relação a testemunha (tratamento

atraente), se  $IR < 1$  indica maior repelência do tratamento em relação a testemunha (tratamento repelente). O intervalo de segurança foi obtido através da média dos IR (índice de repelência) e o respectivo desvio padrão (DP), ou seja, se a média dos IRs for menor que  $1 - DP$ , o óleo é repelente, e se for maior que  $1 + DP$  o óleo é atraente e se estiver entre  $1 - DP$  e  $1 + DP$  o óleo é considerado neutro. Este índice é uma adaptação da fórmula citada por Lin et al. (1990), para índice de consumo. O número de insetos atraídos. O número de ovos e de insetos emergidos foram submetidos à análise de variância ANOVA e as médias comparadas pelo teste t mediante o programa SAS versão 8.02 (SAS INSTITUTE, 2001).

### 3.11 Teste de Toxicidade por Fumigação

Utilizaram-se potes plásticos transparentes de polipropileno com volume de 100 mL, onde foram colocados 20 indivíduos não sexados de 0-48 horas de idade para cada repetição. As concentrações utilizadas foram (125, 250, 375, 437,5  $\mu\text{L/L}$  de ar) e (35, 500, 625, 750  $\mu\text{L/L}$  de ar) para o óleo e o composto majoritário, respectivamente, sendo utilizado um tratamento testemunha para cada. Utilizou-se delineamento experimental inteiramente casualizado, com cinco repetições para cada tratamento. O óleo de almécega e o limoneno foram impregnados com auxílio de micropipetador automático, em tiras de papel de filtro de 2x2 cm, fixadas na superfície inferior da tampa dos recipientes. Para evitar o contato direto dos insetos com o óleo e o composto limoneno, utilizou-se um tecido poroso tipo filó, entre a tampa e o recipiente propriamente dito (Figura 10).



Figura 10. Câmaras de Fumigação

Os recipientes foram rosqueados e vedados com fita adesiva, visando evitar a saída dos vapores. Decorridas 48 horas após a montagem dos experimentos, contabilizou-se o número de insetos mortos. Os resultados foram submetidos à análise de Probit, através do programa SAS<sup>®</sup> version 8.02 para obtenção da

concentração letal ( $CL_{50}$ ) e ( $CL_{95}$ ). As Razões de Toxicidade (RT) foram obtidas, através do quociente entre a  $CL_{50}$  e/ou  $CL_{95}$  do produto de menor toxicidade e as  $CL_{50}$  e/ou  $CL_{95}$  dos demais, individualmente.


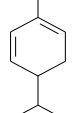







## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Rendimento e análise cromatográfica

O óleo essencial apresentou rendimento de 1,2%. Foram identificados 7 componentes através da análise cromatográfica e espectrometria de massas do óleo (Tabela 2). Estes variaram em quantidades decrescentes: limoneno >  $\alpha$ -terpineol > 1,8-cineol > p-cimeno >  $\alpha$ -felandreno >  $\delta$ -3-careno >  $\alpha$ -pineno.

**Tabela 2** – Composição química do óleo essencial da resina de almécega (*Protium heptaphyllum*).

| Pic<br>o | Tempo de<br>retenção<br>(min.)* | Constituinte         | Estrutura   | I.R.<br>(calc.) | I.R.<br>(liter.) | [M <sup>++</sup> ]<br>] | Abundância<br>relativa<br>(%)* |
|----------|---------------------------------|----------------------|---|-----------------|------------------|-------------------------|--------------------------------|
| 1        | 7,071±0,010                     | $\alpha$ -pineno     |    | 984             | 939              | 136                     | 2,345±0,083                    |
| 2        | 9,465±0,009                     | $\alpha$ -felandreno |  | 105<br>4        | 100<br>2         | 136                     | 5,213±0,179                    |
| 3        | 9,581±0,008                     | $\delta$ -3-careno   |  | 105<br>7        | 101<br>1         | 136                     | 3,150±0,067                    |
|          | 10,156±0,01<br>2                | p-cimeno             |  | 107<br>3        | 102<br>4         | 134                     | 15,340±0,12<br>9               |
| 5        | 10,353±0,01<br>0                | limoneno             |  | 107<br>8        | 102<br>9         | 136                     | 40,123±0,24<br>6               |
| 6        | 10,513±0,01<br>0                | 1,8-cineol           |  | 108<br>2        | 103<br>1         | 154                     | 16,413±0,12<br>9               |
| 7        | 17,591±0,01<br>1                | $\alpha$ -terpineol  |  | 125<br>0        | 118<br>8         | 154                     | 17,18±0,465                    |

O rendimento percentual dos óleos essenciais de diferentes espécies pertencentes ao gênero *Protium* tem sido quantificado. Citó et al., (2006) obtiveram rendimento de 4,6% para *Protium bahianum* (Daly.) Estevam et al., (2018), Estevam et al., (2017) e Castelo et al., (2010) encontraram rendimento de 0,5, 0,3 e 0,10 %, respectivamente para *Protium ovatum* (Engl.), enquanto Mobin et al., (2016) e Pontes

et al., (2006) obtiveram rendimento de 0,62 e 0,015 % para *P. heptaphyllum*, respectivamente. Tais diferenças nos resultados são justificadas por Castelo et al., (2010) quando afirmam que fazer uma comparação de trabalhos com o gênero *Protium* é relativamente complicado, visto que há uma grande variação no rendimento obtido com diferentes espécies do gênero, como citados anteriormente.

Quanto a composição do óleo essencial, limoneno foi o composto mais abundante com cerca de 40,12%, estes resultados conferem em parte com os encontrados por Marques et al., (2010) para duas subespécies de *Protium heptaphyllum* [*ulei* (PHU) e *heptaphyllum* (PHH)]. Ainda neste trabalho, ficou claro que a composição variava com a presença ou ausência de determinados componentes ao longo do tempo de hidrodestilação, bem como das suas quantidades, porém limoneno não foi o mais abundante, sendo superado em quantidade por terpinoleno (42,31%) e p-cimeno (39,93%) para subespécie *ulei* (PHU) e *heptaphyllum* (PHH), respectivamente.

Já no trabalho desenvolvido por Mobin et al., (2016) o resultado da composição do óleo confere com os encontrados no presente trabalho, uma vez que, a resina também foi proveniente da cidade de Timon – MA e os constituintes presentes em maior abundância foram: l- limoneno,  $\alpha$ -terpineol, p-cineol e o-cymene na primeira hora de extração.

As diferenças observadas em relação aos compostos majoritários de um mesmo gênero e/ou espécies são justificadas por Gobbo-Neto e Lopes (2007), quando afirma que o local de cultivo, as condições de coleta, estabilização e estocagem, além dos fatores edafoclimáticos podem afetar a composição do óleo essencial de uma mesma espécie botânica.

Especificamente para o gênero *Protium*, a composição do óleo pode variar de acordo com a época do ano e da região onde o material tem sido coletado. Estudos prévios com resinas adquiridas de diferentes fontes mostraram que a composição química do óleo extraído sofre significativas alterações (MOBIN, 2016).

#### 4.2 Teste de contato

De acordo com as CL<sub>50</sub> (14,21  $\mu$ /20g) e CL<sub>95</sub> (35,75  $\mu$ /20g), o óleo de *P. heptaphyllum* foi mais tóxico que o composto Limoneno, pois não houve sobreposição

dos intervalos de confiança. As razões de toxicidade para a  $CL_{50}$  e  $CL_{95}$  foram de 2,5 e 2,1, respectivamente (Tabela 3).

**Tabela 3** - Toxicidade por contato ( $\mu/20g$ ) de óleo essencial de *P. heptaphyllum* e Limoneno em adultos de *Callosobruchus maculatus* em sementes de feijão, cultivar Aracê.

| Tratamentos                 | N   | GL | Inclinação<br>$\pm$ EP | $CL_{50}$<br>(IC95%)       | RT<br>50 | $CL_{95}$<br>(IC95%)        | RT<br>95 | $\chi^2$ |
|-----------------------------|-----|----|------------------------|----------------------------|----------|-----------------------------|----------|----------|
| <i>Protium heptaphyllum</i> | 200 | 2  | 4,11 $\pm$ 0,59        | 14,23<br>(12,47-<br>15,90) | 2,5      | 35,75<br>(29,26-50,84)      | 2,1      | 3,45     |
| Limoneno                    | 250 | 3  | 5,02 $\pm$ 0,87        | 36,42<br>(33,48-<br>41,49) | -        | 77,45<br>(60,55-<br>126,60) | -        | 2,12     |

N = número de insetos usados no teste, GL = grau de liberdade, EP = erro padrão da média, IC = intervalo de confiança, RT = razão de toxicidade,  $\chi^2$  = Qui-quadrado.

Uma diversidade de trabalhos têm sido feitos para avaliar a toxicidade por contato de óleos essenciais e seus compostos contra besouros do gênero *Callosobruchus*. Dutra et al., (2016) testaram os óleos essenciais de quatro espécies de *Citrus* spp. e chegaram a valores de  $CL_{50}$  que variaram de 943,9 a 1037,7 ppm, com o menor valor para *Citrus latifolia* (L.) e o mais alto para *Citrus sinensis* (L.).

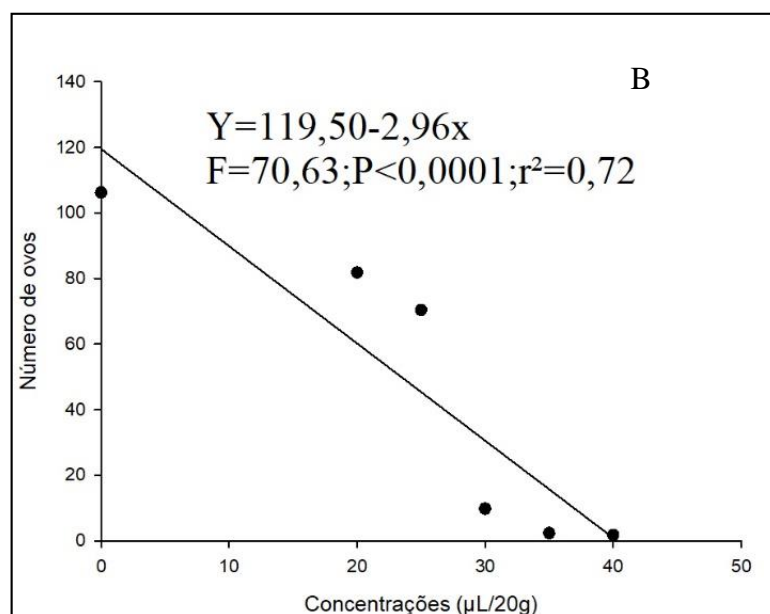
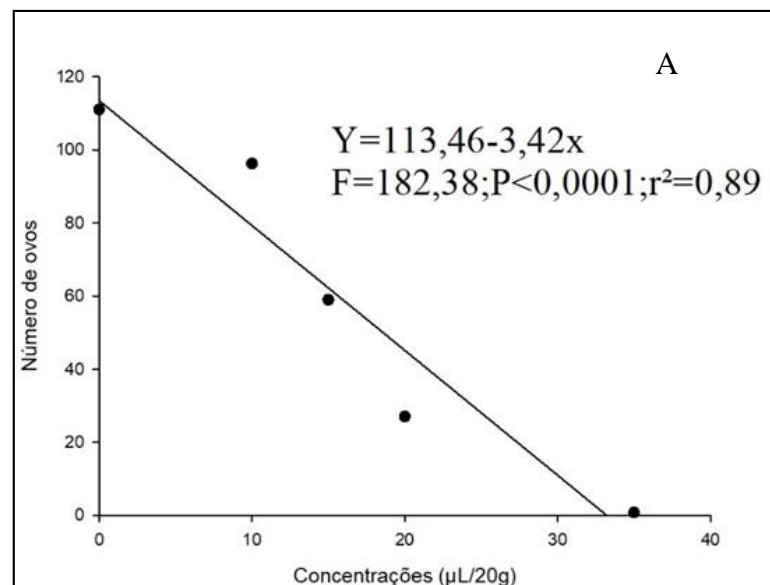
Pourya et al., (2018) ao testar a bioatividade de *Pistacia atlantica* desf. Subsp. *Kurdica* (Zohary) Rech. F. e *Pistacia khinjuk* sobre *C. maculatus* observaram nos ensaios de toxicidade por contato, que os óleos essenciais dos frutos de *P. khinjuk* e de folhas causaram mortalidade significativa aos adultos de *C. maculatus* em contato por 24h ( $CL_{50} = 0,12 \mu l/cm^2$  e  $CL_{50} = 0,14 \mu l/cm^2$ , respectivamente), enquanto o óleo proveniente da goma de *P. atlantica* subsp. *kurdica* foi a mais tóxica após 24h ( $CL_{50} = 0,07 \mu l/cm^2$ ) em comparação com o óleo das frutas ( $CL_{50} = 0,11 \mu l/cm^2$ ) e óleo foliar ( $CL_{50} = 0,08 \mu l/cm^2$ ).

O limoneno apresentou toxicidade contra *C. maculatus* com  $CL_{50}$  e  $CL_{95}$  de 36,42 e 77,45 ( $\mu L/20g$ ), respectivamente.

Diferentes compostos majoritários e minoritários têm sido investigados, na tentativa de se elucidar quais componentes são responsáveis pelo efeito inseticida. Em específico, o limoneno, tem sido relatado em diferentes pesquisas como tóxico para pragas de interesse agrícola como: *Rhyzopertha dominica* (F.), *Sitophilus oryzae* (L.), *Tribolium castaneum* (H.) (TRIPATHI et al., 2003), *T. castaneum*, *Lasioderma serricorne* (Fabri.) (YOU et al., 2014), *C. maculatus* (AJAYI et al., 2014; BARBOSA, 2015).

Barbosa, (2015) avaliou a toxicidade por contato do Limoneno no controle de *C. maculatus* e obteve  $CL_{50}$  de 2142 ppm e  $CL_{95}$  3217 ppm.

Para o número de ovos e de insetos emergidos o modelos de regressão linear foi o que mais se ajustou aos dados, indicando que eles eram inversamente proporcionais ao aumento das concentrações, apresentando coeficiente de determinação acima de 70%. À medida em que a concentração do óleo e do isolado aumentavam, o número de ovos era reduzido (Figura 3 A e B). Observou-se que o óleo de Almécega foi mais efetivo na concentração 35  $\mu\text{L}/20\text{g}$  por proporcionar número de ovos de apenas 0,8. Já o Limoneno permitiu oviposição de 1,8 na concentração de 40  $\mu\text{L}/20\text{g}$ . (Figura 3-B).



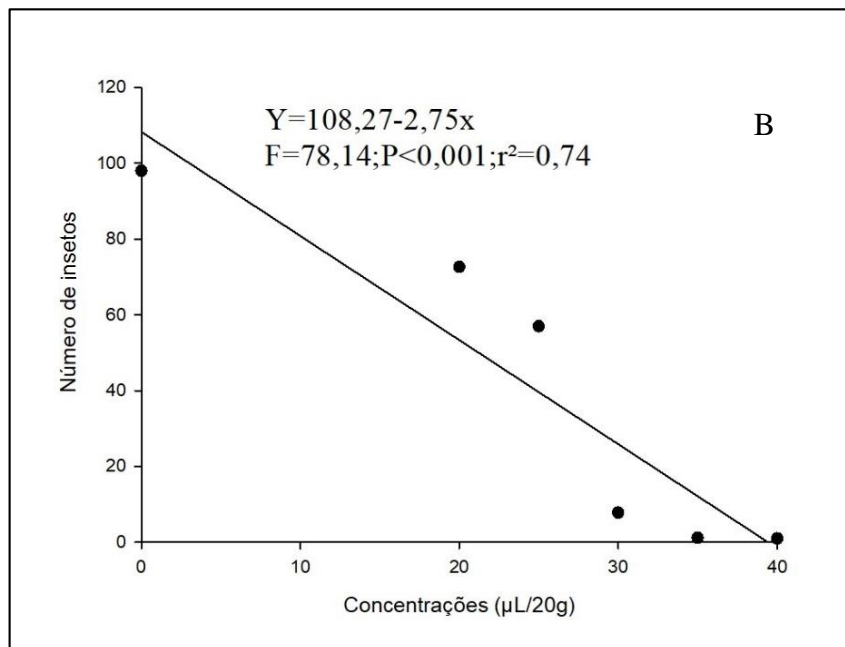
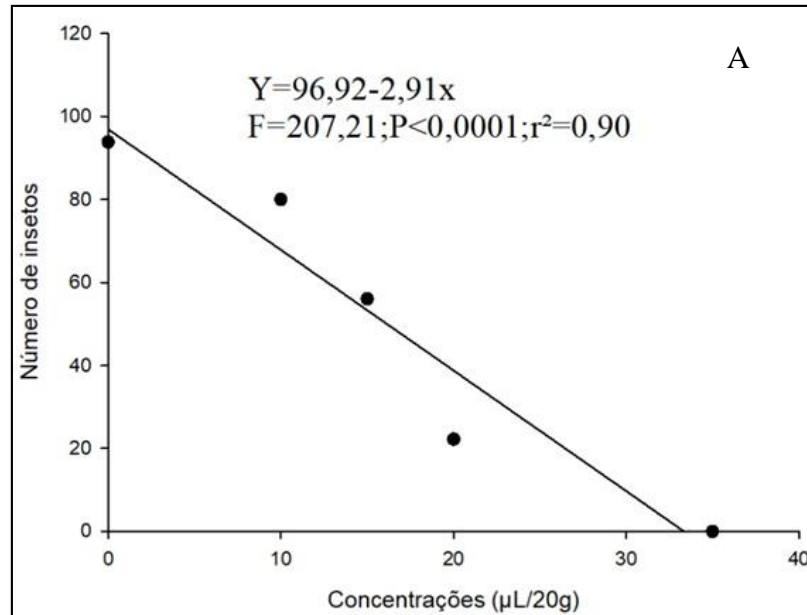
**Figura 3** – Número de ovos de *Callosobruchus maculatus* em grãos de feijão-caupi cultivar Aracê tratados com óleo essencial de *Protium heptaphyllum* (A) e limoneno (B).

Trabalhos têm relatado que alguns óleos essenciais e seus compostos isolados são efetivos na diminuição de oviposição do caruncho do feijão-caupi. Dutra et al., (2016) ao testarem óleos essenciais de quatro espécies de citrus observaram que o número de ovos e adultos recém-emergidos era inversamente proporcional ao aumento das concentrações dos óleos.

No trabalho feito por Ajayi et al., (2014) ao testarem diferentes monoterpênicos contra *C. maculatus*, observou-se que o número de ovos decrescia com o aumento das concentrações do Limoneno, causando 100% de deterrência na concentração de 60  $\mu\text{L/L}$ .

O número de adultos emergidos foi reduzido em todas as concentrações quando comparada com o número de ovos viáveis contados em cada tratamento, o que mostra que o óleo de Almécega e Limoneno têm potencial efeito ovicida. No geral, o número de adultos emergidos era inversamente proporcional ao aumento da concentração. A concentração 35 $\mu\text{L}/20\text{g}$  do óleo de Almécega reduziu a emergência em 100% quando comparado com o tratamento controle. Porém, no teste feito com Limoneno pôde-se observar emergência média de 1 adulto por repetição na concentração 40 $\mu\text{L}/20\text{g}$  (Figura 4 A e B).

Este resultado se assemelha ao encontrado por Gusmão et al., (2013) quando testaram 4 óleos de essenciais (*Eucalyptus citriodora* (Nú.), *Eucalyptus staigeriana* (L.), *Cymbopogon winterianus* (Jowitt.) e *Foeniculum vulgare* (Mill.) sobre *C. maculatus* e observaram que o número de ovos e de adultos emergidos, diminuía com o aumento da concentração dos óleos.



**Figura 4** – Emergência de *Callosobruchus maculatus* em grãos de feijão-caupi tratados com óleo essencial de *Protium heptaphyllum* (A) e limoneno (B).

#### 4.3 Teste de repelência

O óleo essencial de almecega e Limoneno nas concentrações testadas foram classificados como repelentes para *C. maculatus* ( $P < 0,05$ ). A  $CL_{95}$  de ambos os produtos atraíram um número de 3,4 insetos (Tabela 4).

**Tabela 4** - Efeito repelente de *Protium heptaphyllum* e Limoneno a adultos de *Callosobruchus maculatus* em grãos de feijão-caupi.

| Produto                     | Conc.<br>( $\mu\text{L}/20\text{g}$ ) | Adultos Atraídos |                   | IR(M $\pm$ DP) <sup>2</sup> | Classificação |
|-----------------------------|---------------------------------------|------------------|-------------------|-----------------------------|---------------|
|                             |                                       | Testemunha       | Óleo <sup>1</sup> |                             |               |
| <i>Protium heptaphyllum</i> | 14,23                                 | 9,4 $\pm$ 0,40   | 6,8 $\pm$ 0,37*   | 0,84 $\pm$ 0,05             | Repelente     |
|                             | 35,76                                 | 9,4 $\pm$ 1,17   | 3,4 $\pm$ 1,08*   | 0,45 $\pm$ 0,29             | Repelente     |
| Limoneno                    | 36,43                                 | 9,4 $\pm$ 0,75   | 4,8 $\pm$ 1,2*    | 0,65 $\pm$ 0,32             | Repelente     |
|                             | 77,45                                 | 12,6 $\pm$ 0,75  | 3,4 $\pm$ 0,75*   | 0,42 $\pm$ 0,16             | Repelente     |

<sup>1</sup>\*Significativo pelo teste "t" (P < 0,05);

<sup>2</sup>IR (Índice de repelência) = 2G/G+P (G=% de insetos atraídos no tratamento; P=% de insetos atraídos na testemunha).

A crescente investigação biotecnológica de inseticidas e repelentes alternativos aos sintéticos, particularmente os provenientes de plantas, pode levar a maior segurança e eficiência ao controle de insetos. Diante desta necessidade Kedia et al., (2015) testaram o óleo essencial da semente de *Cuminum cyminum* e seus componentes majoritários contra *C. chinensis* e *S. oryzae*. Na menor concentração utilizada (12,5  $\mu\text{L}/\text{L}$  de ar), o óleo essencial causou 100% de repelência a *C. chinensis*, mas apenas 53% de repelência a *S. oryzae*, porém na maior concentração testada (100  $\mu\text{L}/\text{L}$  de ar), todos os materiais de teste causaram 100% de repelência a *C. chinensis*, mas para *S. oryzae* apenas o  $\gamma$ -terpineno e (-) -  $\beta$ -pineno causaram 100% de repelência.

Oliveira et al.(2017) sugerem que os óleos essenciais, por conterem centenas de componentes, devem ser testados isoladamente para se ter uma melhor compreensão, a fim de determinar quais desses são responsáveis pelos efeitos tóxicos contra *C. maculatus*. Reis et al., (2016) avaliaram a atividade repelente de monoterpenos, onde os compostos testados (citril, ( $\pm$ ) citronelal, citronelol, eugenol e geraniol) apresentaram atividade inseticida e repelente significativa contra *C. maculatus* em diferentes concentrações que variaram de 1 a 64  $\mu\text{l}/10\text{g}$ , sendo o melhor composto testado como inseticida e repelente, o eugenol.

O número de ovos e de insetos emergidos foi significativamente menor (P<0,05) nos produtos testados em comparação com o tratamento testemunha, assim a oviposição em grãos de feijão tratados com ambos os produtos foi bastante reduzida quando comparada com a testemunha, em especial para as CL<sub>95</sub> do óleo e do limoneno que apresentaram número médio de ovos de 3,4 e 4,8 respectivamente (Tabela 5).

Conseqüentemente nestas mesmas concentrações foram contabilizados o menor número de insetos emergidos, com média de 2,0 insetos adultos (Tabela 6).

**Tabela 5.** Número de ovos *Callosobruchus maculatus* em teste de repelência com óleo essencial de *Protium heptaphyllum* e seu constituinte limoneno.

| Produto                     | Conc.<br>( $\mu\text{L}/20\text{g}$ ) | Número de ovos ( $\pm\text{EP}$ ) |                      |
|-----------------------------|---------------------------------------|-----------------------------------|----------------------|
|                             |                                       | Testemunha                        | Produto <sup>1</sup> |
| <i>Protium heptaphyllum</i> | 14,23                                 | 53,0 $\pm$ 2,55                   | 9,6 $\pm$ 1,29*      |
|                             | 35,76                                 | 58,4 $\pm$ 3,01                   | 3,4 $\pm$ 1,08*      |
| Limoneno                    | 36,43                                 | 64,6 $\pm$ 4,48                   | 7,8 $\pm$ 2,89*      |
|                             | 77,45                                 | 60,4 $\pm$ 5,28                   | 4,8 $\pm$ 1,16*      |

<sup>1</sup>\* Significativo pelo teste t ( $P < 0,05$ );

**Tabela 6.** Emergência de *Callosobruchus maculatus* em teste de repelência com óleo essencial de *Protium heptaphyllum* e seu constituinte limoneno.

| Óleo                        | Conc.<br>( $\mu\text{L}/20\text{g}$ ) | Número de insetos ( $\pm\text{EP}$ ) |                      |
|-----------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------|----------------------|
|                             |                                       | Testemunha                           | Produto <sup>1</sup> |
| <i>Protium heptaphyllum</i> | 14,23                                 | 47,6 $\pm$ 3,64                      | 6,0 $\pm$ 1,00*      |
|                             | 35,76                                 | 53,4 $\pm$ 2,25                      | 2,0 $\pm$ 0,95*      |
| Limoneno                    | 36,43                                 | 57,6 $\pm$ 5,11                      | 3,8 $\pm$ 1,98*      |
|                             | 77,45                                 | 53,0 $\pm$ 4,18                      | 2,0 $\pm$ 1,09*      |

<sup>1</sup>\* Significativo pelo teste t ( $P < 0,05$ );

Resultados satisfatórios também foram encontrados por Gusmão et al., (2013) quando avaliaram o efeito repelente de *E.citriodora*, *E. staigeriana*, *C. winterianus* e *F. vulgare* sobre *C. maculatus* observou uma redução percentual na oviposição que variou de 6,3 a 100% e em emergência de 0,9 a 100% nos óleos testados, especialmente *C. winterianus*, que na maior concentração de 622,5 ppm reduziu a oviposição e a emergência de adultos de *C. maculatus* em 100%.

No geral, esses resultados fundamentam a importância de se usar óleos essenciais para o manejo de *C. maculatus* em grãos de feijão-caupi armazenados, sendo esta uma fonte promissora, de baixo custo e de fácil acesso a pequenos e médios agricultores. Em relação ao composto isolado, este pode ser usado em formulações químicas comerciais e ter o seu efeito inseticida potencializado, podendo ser disponibilizado e comercializado em maior escala.

#### 4.4 Teste de fumigação



Foram observadas diferenças entre as  $CL_{50}$  em ambos os produtos, sendo que o óleo essencial de almécega foi mais tóxico do que o limoneno com  $CL_{50}$  (191,28  $\mu\text{L/L}$  de ar). Para  $CL_{95}$  não houve diferença quanto a toxicidade, pois os intervalos se sobrepõem (Tabela 7).

**Tabela 7** - Toxicidade do óleo essencial de *Protium heptaphyllum* e limoneno como fumigantes em adultos de *Callosobruchus maculatus* em grãos de feijão, cultivar Aracê.

| Tratamentos                 | N   | GL | Inclinação<br>± EP | CL <sub>50</sub><br>(IC95%) | RT<br>50 | CL <sub>95</sub><br>(IC95%) | RT<br>95 | X <sup>2</sup> |
|-----------------------------|-----|----|--------------------|-----------------------------|----------|-----------------------------|----------|----------------|
| <i>Protium heptaphyllum</i> | 400 | 2  | 2,27±0,31          | 191,28<br>(158,4-219,8)     | 2,2      | 1011<br>(773-1726)          | -        | 0,91           |
| Limoneno                    | 400 | 2  | 6,72±0,69          | 437,34<br>(409,7-460,9)     | -        | 767,96<br>(706,2-865,7)     | 1,3      | 1,08           |

N = número de insetos usados no teste, GL = grau de liberdade, EP = erro padrão da média, IC = intervalo de confiança, RT = razão de toxicidade, X<sup>2</sup>= Qui-quadrado.

A fumigação é um método efetivo para o manejo de pragas de grãos armazenados, pois é eficaz contra todos os estágios da vida das pragas, custo-efetivo, rápido e deixa resíduos mínimos (GRAVER, 2004).

O óleo de almécega foi mais tóxico a *C. maculatus* do que o limoneno, com CL<sub>50</sub> 191,28 µL/L. Alguns óleos têm se mostrados eficazes quando avaliados por metodologias de fumigação. Massango et al., (2017) avaliaram a mortalidade de *C. maculatus* fumigados com o óleo essencial de *Petroselinum sativum* conhecida popularmente como salsinha, e obtiveram CL<sub>50</sub>: 489,5 µL/L de ar. Porém apesar de sua menor toxicidade fumigante (CL<sub>50</sub>: 489,5 µL/L de ar) comparativamente à fosfina (CL<sub>50</sub>: 35,7 µL/L de ar), o óleo essencial de salsa causou reduções significativamente maiores no surgimento de *C. maculatus* em comparação com a fosfina.

No presente experimento, o limoneno apresentou CL<sub>50</sub> de 437,34 (µL/L) e CL<sub>95</sub> de 767,96 (µL/L) para *C. maculatus*. Diversos óleos de citrus, que em geral, apresentam o limoneno como composto majoritário, tem sido testado contra pragas de grãos armazenados, a exemplo, Ganiyu et al., (2017) elucidou a toxicidade fumigante do óleo essencial da casca de *Citrus sinensis* contra *Tribolium confusum* (D.), *C. maculatus* e *S. oryzae*, observando que a mortalidade percentual dos insetos aumentou com o aumento da concentração do óleo essencial e do tempo de exposição, enquanto a CL<sub>50</sub> reduziu com o aumento no período de exposição.

## 5. CONCLUSÃO

- O óleo de almécega é mais tóxico a *C. maculatus* que limoneno, nos testes de contato e fumigação;
- O óleo de almécega e limoneno reduzem a oviposição e a emergência de adultos de *C. maculatus*;
- Tanto o óleo de Almécega quanto limoneno são repelentes a *C. maculatus*.

## 6. REFERÊNCIAS

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil componentes by gas chromatography/mass spectroscopy**, Illinois: Allured, 1995.

ADJUTO, E.N.P. **Caracterização morfológica e do óleo essencial de seis acessos de hortelanzinho (*Mentha spp*)**. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias). Universidade de Brasília. 79p., 2008.

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. p.1-7, 2014.

ANDRADE JUNIOR, A. S. et al. **Cultivo de feijão-caupi**. 2003. Disponível em: <<http://sistemadeprodução.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/FeijãoCaupi/importancia.htm>>. Acesso em: 13 de out. 2016.

ARRUDA, F. P.; BATISTA, J. L. Effect of light, vegetable fat, and cowpea cultivars on cowpea weevil (*callosobruchus maculatus* (FABR., 1775)(coleoptera: bruchidae). **Caatinga**, v. 11, p. 53-57, 1998.

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.

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**. Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2015.

BASTOS, E. A. et al. **A cultura do feijão-caupi no Brasil**. Teresina: Embrapa Meio Norte.12p, 2016.

BATISH, D. R. et al. *Eucalyptus* essential oil as a natural. **Forest Ecology and Management**, v. 256, p. 2166-2174, 2008.

BENHALIMA, H. et al. Phosphine resistance in stored-product insects collected from various grain storage facilities in Morocco. **Journal of Stored Products Research**, v. 40, n. 3, p. 241-249, 2004.

BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. **Biocontrole de doenças de plantas**. Uso e perspectivas. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. 332 p.

BRACCINI, A. L.; PICANÇO, M. Manejo integrado de pragas do feijoeiro no armazenamento. **Revista Brasileira de Armazenamento**, v. 20, n. 1/2, p. 37-43, 1995.

BREU-BRANCO. Disponível em: <http://www.umpedeque.com.br/arvore.php?id=659>. Acesso em: 10 de Julho 2018.

BRITO, R. C. **Uso de óleos essenciais no manejo de *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) (Coleoptera: Chrysomelidae, Bruchinae), grãos de caupi.** 2015. 61 f. Dissertação (Mestrado - Produção Vegetal) - Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2015.

CAMPOS, A. C.T. et al. Atividade repelente e inseticida do óleo essencial de carqueja doce sobre o caruncho do feijão. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental.** v.18, n.8, p.861-865, 2014.

CASTELO, A.V.M. et al. Rendimento e análises espectroscópicas da composição química dos óleos essenciais de quatro plantas do cerrado. **Cerne, Lavras,** v.16,n.4,p.573-584, 2010

CASTRO, M. J. P. et al. Efeito de pós vegetais sobre a oviposição de *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) (Coleoptera: Bruchidae) em feijão-caupi. **BioAssay,** v. 5, p. 1-4, 2010.

CORDEIRO, L. G. et al. Fator de sensibilidade ao déficit hídrico da cultura do feijão caupi (*Vigna unguiculata* (L.) walp.). **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental,** v. 2, p. 153-157, 1998.

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

CITÓ, A. M. G. L. et al. Resina de *Protium heptaphyllum* March (Burseraceae): composição química do óleo essencial e avaliação citotóxica frente a *Artemia salina* Leach. **Anais da Associação Brasileira de Química,** v. 52, 2003.

CITÓ, A. M. G. L. et al. Identificação de constituintes voláteis de frutos e folhas de *Protium heptaphyllum* (Aubi.) **Revista Brasileira Plantas Mediciniais,** v.8, n.4, p 4-7, 2006.

COSTA, R. G. **Estudo da composição química do óleo essencial e da atividade anti-herpes de flavonóides de *Ocotea notata* (Nees) Mez (Lauraceae).** Dissertação (Mestrado). UFRJ/ NPPN/ Programa de Pós-graduação em Química de Produtos Naturais, Rio de Janeiro: UFRJ/ NPPN, 2010.

DEVI, M. B.; DEVI, N. V. Biology and morphometric measurement of cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) (Coleoptera: Bruchidae) fabr. in green gram. **Journal of Entomology and Zoology Studies,** v.2, n.3, p.74-76, 2014.

DEQUECH, S. T. B. et al. Efeito de extratos de plantas com atividade inseticida no controle de *Microtheca ochroloma* Stal (Col.: Chrysomelidae), em laboratório: **Revista Biotemas,** Santa Maria, p. 22-31, 2008.

DON-PEDRO, K. N. Investigation of single and joint fumigant insecticidal action of citruspeel oil components. **Pesticide Science,** v. 46, p. 79-84, 1996.

DUETZ, W. A. et al. Biotransformation of limonene by bacteria, fungi, yeasts, and plants **Applied Microbiology and Biotechnology,** v. 61, p. 269-277, 2003.

DUTRA, K. A. et al. 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.

ESTEVAM, E. B. B. et al. Chemical composition, anti-*Trypanosoma cruzi* and cytotoxic activities of the essential oil from green fruits of *Protium ovatum* (BURSERACEAE). **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal, v. 40, n. 1, e-794, 2018.

ESTEVAM, E. B.B. et al. In vitro antiparasitic activity and chemical composition of the essential oil from *Protium ovatum* leaves (Burceraceae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**. Rio de Janeiro, v. 89, n. 4, p. 3005-3013, 2017.

FARMÁCIA VIVA. Disponível em: <https://farmaciasvivas.blogspot.com/2014/02>  
Acesso em: 10 de Julho 2018.

FREIRE FILHO, F. R. **Feijão-caupi no Brasil: produção, melhoramento genético, avanços e desafios**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2011. 84 p.

FREIRE FILHO, F. R. Melhoramento genético de caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) na região do Nordeste. In: Queiroz, M. A. de; GOEDERT, C. O.; RAMOS, S. R. R. (Ed.). **Recursos genéticos e melhoramento de plantas no Nordeste brasileiro**. Petrolina: Embrapa Semi-Árido; Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, nov. 1999.

GARLET, T. M. B. Produtividade, teor e composição do óleo essencial de espécies de *Mentha* L. (Lamiaceae) cultivadas em hidroponia com variação de potássio. **Ciência Rural**, v. 37, n.4. p. 956-962 , 2007.

GUSMÃO, N. M. S. et al. Contact and fumigant toxicity and repellency of *Eucalyptus citriodora* Hook., *Eucalyptus staigeriana* F., *Cymbopogon winterianus* Jowitt and *Foeniculum vulgare* Mill. essential oils in the management of *Callosobruchus maculatus* (Fabr.). **The Journal of Stored Products Research**. v. 54, p. 41-47, 2013.

GANIYU, O. et al. A. Insecticidal activity of essential oil from orange peels (*Citrus sinensis*) against against *Tribolium confusum* , *Callosobruchus maculatus* and *Sitophilus oryzae* and its inhibitory effects on acetylcholinesterase and Na<sup>+</sup> /K<sup>+</sup> - ATPase activities. **Phytoparasitica**, v. 45, n. 4, p. 501-508, 2017.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

GRAVER, J. Guide to fumigation under gas-proof sheets. Food and Agriculture Organisation of the United Nations, 2004.

HERTLEIN, M. B., et al. A new natural product for stored grain protection. **Journal of Stored Products Research**, v. 47, p. 131-146, 2011.

HUDAIB, T. et al. Effect of seed moisture content and D-limonene on oviposition decisions of the seed beetle *Callosobruchus maculatus*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**. 137: p. 120-125, 2010.

JAIROCE, C. F. et al. Insecticide activity of clove essential oil on bean weevil and maize weevil. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. v.20, n.1, p.72-77,2016.

KEDIA, A. et al. 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.

KEITA, S. M., et al. Efficacy of essential oil of *Ocimum basilicum* L. and *O. gratissimum* L. applied as an insecticidal fumigant and powder to control *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) (Coleoptera: Bruchidae). **The Journal of Stored Products Research**, v. 37, p. 339-349, 2001.

LALE, N. E. S. A; MUSTAPHA. Potential of combining neem (*Azadirachta indica* A. Juss) seed oil with varietal resistance for the management of the cowpea bruchid, *Callosobruchus maculatus* (F.). **The Journal of Stored Products**. v. 36, p. 215-222, 2000.

LANÇAS, F. M.; CAVICHIOLI, M. Analysis of the essential oils Brazilian citrus fruits by capillary gas chromatography. **Journal of High Resolution Chromatography**, v. 13, p. 207-209, 1990.

LEE, S. E. et al. Fumigant toxicity of volatile natural products from Korean spices and medicinal plants towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.). **Pest Management Science**, v. 57, p. 548-553, 2001.

LIMA, L.R.; PIRANI, J.R. Burseraceae. **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo**. Instituto de Botânica, São Paulo, vol. 4, p. 163-168,2005.

LIN, H. et al., Induced resistance in soybean to the Mexican bean beetle (Coleoptera: Coccinellidae): comparisons of inducing factors. **Environmental Entomology** v. 19: p.1852-1857, 1990.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, p. 544, 2002.

MAPA. **Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento**. Agrofit – Sistema de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: <[http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons)>. Acesso a: 01 jun, 2017.

MARQUES, D. D.S. et al. Chemical composition of the essential oils from two subspecies of *Protium heptaphyllum*. **Acta Amazonica**. v.40, n.1, p. 227-230, 2010.

MASSANGO, H. et al. Toxicity and metabolic mechanisms underlying the insecticidal activity of parsley essential oil on bean weevil, *Callosobruchus maculatus*. **Journal of Pest Science**, v. 90, n. 2, p. 723–733, 2017.

MOBIN, M. L. et al. Análise de MDGC-MS de óleos essenciais de *Protium heptaphyllum* (Aubl.) e sua atividade antifúngica contra a espécie *Candida*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v.18, n. 2, p. 531-538, 2016.

MOTAGHI, L.; SENFI, F.; FROUZAN M.; KHODABANDEH, F. Fumigant toxicity of *Artemisia annua* L. essential oil against Cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus* F. (Col.: Bruchidae). **International Journal of Agriculture and Crop Sciences**. v. 7, n.11, p. 805-807, 2014.

NEVES, A. C. et al. **Cultivo do Feijão-caupi em Sistema Agrícola Familiar**. Circular Técnica - EMBRAPA MEIO NORTE. 2011, v. 51, 15p.

OGENDO, J. O. et al. Bioactivity of *Ocimum gratissimum* L. oil and two of its constituents against five insect pests attacking stored food products. **Journal of Stored Products Research**, v. 44, p. 328–334, 2008.

OLIVEIRA, G. B. et al. Variant vicilins from a resistant *Vigna unguiculata* lineage (IT81D-1053) accumulate in side *Callosobruchus maculatus* larval midgut epithelium. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 168, p. 45-52. 2014.

OLIVEIRA, J.V. et al. Fumigation and repellency of essential oils against *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae) in cowpea. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.52, n.1, p.10-17, jan. 2017.

OLIVEIRA, J. V.; VENDRAMIM, J. D.; HADDAD, M. L. Bioatividade de pós vegetais sobre o caruncho do feijão em grãos armazenados. **Revista de Agricultura**, v. 75, 1999.

ONOFRE, A. V. C. **Diversidade genética e avaliação de genótipos de feijão-caupi contrastantes para resistência aos estresses bióticos e abióticos com marcadores SSR, DAF e ISSR**. 2008. 142 f. Dissertação de Mestrado, UFPE, Recife, 2008.

PIMENTEL, M. A. G. et al. Phosphine resistance in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 45, p. 71–74, 2009.

PONTES, W. J. T. et al. Composição química e atividade acaricida do óleo essencial de resinas de *Protium bahianum* sobre o ácaro rajado, *Tetranychus urticae*. In: **REUNIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE DE QUÍMICA**, Águas de Lindóia, 2006.

POURYA, M. et al. Bioactivity of *Pistacia atlantica* Desf. Subsp. *Kurdica* (Zohary) Rech. F. and *Pistacia khinjuk* stocks essential oils against *Callosobruchus maculatus* (F, 1775) (Coleoptera: Bruchidae) under laboratory conditions. **Journal of Stored Products Research**, v.77, p. 96-105, 2018.



QUINTELA, E. D., et al. **Principales plagas del caupi en el Brasil**. Goiânia: EMBRAPA–CNPAP, 1991. 38 p. (EMBRAPA–CNPAP. Documentos, 35).

REIS, S. L. et al. Insecticidal and repellent activity of typical monoterpenes from plant essential oils against *Callosobruchus maculatus* (Fabr. 1775). **BMC Proceedings**, 8(Suppl 4), P115, 2014. <http://doi.org/10.1186/1753-6561-8-S4-P115>

REVILLA, J. **Plantas da Amazônia: oportunidades econômicas e sustentáveis**. Manaus: SEBRAE-AM/INPA, 405p. il. 2001.

SALES, M. G.; RODRIGUES, M. A. C. Consumo, qualidade nutricional e métodos de preparo do feijão-caupi. In: ARAÚJO, J. P. P.; WATT, E. E. (eds.). **O Feijão-caupi no Brasil**. Brasília: IITA/EMBRAPA/CNPAP, p. 694-722, 1988.

**SAS** Institute. 2001. User's guide, version 8.02, TS level 2MO. SAS Institute Inc., Cary, NC.

SHUKLA, R., et al. Efficacy of essential oils of *Lippia alba* (Mill.) N.E. 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, p. 2277-2283, 2011.

SIANI, A.C., et al. *Protium* a source of volatile essences. **Biochemical systematics and ecology**, v. 32, p. 447-489, 2004.

SILVA, P. H. S. **Cultivo do feijão-caupi**: reconhecimento e controle de pragas. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2017.

SIMÕES, C. D. O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O.; LORENZI, H.; **Árvores Brasileiras, Plantarum Ltda.**: Piracicaba, 1972, p. 76, 2002.

SOUSA, A. H. et al. Ozone as a management alternative against phosphineresistant insect-pests of stored products. **Journal of Stored Products Research**, v. 44, p. 379-385, 2008.

SUSUNAGA, G. S. **Estudo químico e biológico da resina produzida pela espécie *Protium heptaphyllum* March. (Burseraceae)**. 1v. 163f. Dissertação (Mestrado em química) - Universidade do Amazonas – Química de produtos naturais, Manaus, 1996.

TIROESELE, B. K.; THOMAS, K.; Seketeme S. Control of Cowpea Weevil, *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae), Using Natural Plant Products. **Insects** 6: p. 77-84, 2015.

TOUDERT-TALE, K. et al. Composition of essential oils extracted from six aromatic plants of Kabylia origin (Algeria) and evaluation of their bioactivity on *Callosobruchus maculatus* (Fabricius, 1775) (Coleoptera: Bruchidae). **African Entomology Memoirs**. v. 22, p. 417–427, 2014.

TRIPATHI, A. K., et al. Efeito do *d*-Limonene em três besouros de produtos armazenados. **Journal of Economic Entomology** v. 96, n. 3, p. 990-995, 2003.

VILLALOBOS, M. J. P. Plaguicidas naturales de origen vegetal: Estado actual de la investigacion. **Ministerio de Agricultura, Pesca Y Alimentacion**. Madrid: Monografias INIA, 1996. p. 35.

YOU, C. X. et al ., Chemical composition and insecticidal activities of the essential oil of *Perilla frutescens* (L.) Britt. aerial parts against two stored product insects. **European Food Research and Technology**. v. 239, n. 3, p. 481–490, 2014.

ZANDI-SOHANI, N.; HOJJATI, M.; CARBONELL-BARRACHINA A. A. Bioactivity of *Lantana camara* L. essential oil against *Callosobruchus maculatus* (Fabricius). **Chil. Journal of agricultural research**. v. 74, p. 502-506, 2012.