UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

Instituto de Biologia

Programa de Pós-Graduação em Entomologia

Dissertação

Ação de óleos essenciais de *Syzygium aromaticum* e *Thymus vulgaris* sobre *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum* em laboratório

Franciele Casarin Maciel

Pelotas, 2016

Franciele Casarin Maciel

Ação de óleos essenciais de *Syzygium aromaticum* e *Thymus vulgaris* sobre *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum* em laboratório

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia do Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área de conhecimento Entomologia).

Orientador: Dr. Flávio Roberto Mello Garcia
Coorientadora: Drª. Adrise Medeiros Nunes

Pelotas, 2016

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

M152a Maciel, Franciele Casarin

Ação de óleos essenciais de syzygium aromaticum e thymus vulgaris sobre sitophilus zeamais e tribolium castaneum, em laboratório / Franciele Casarin Maciel ; Flávio Roberto Mello Garcia, orientador ; Adrise Medeiros Nunes, coorientador. — Pelotas, 2016.

76 f.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Entomologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, 2016.

1. Insetos-praga. 2. Inseticidas botânicos. 3. Método alternativo. I. Garcia, Flávio Roberto Mello, orient. II. Nunes, Adrise Medeiros, coorient. III. Título.

CDD : 632.96

Elaborada por Maria Beatriz Vaghetti Vieira CRB: 10/1032

Banca Examinadora

_____

Prof. Dr. Flávio Roberto Mello Garcia - Orientador
(Universidade Federal de Pelotas)

_____

Dra. Andressa Lima de Brida
(Universidade Federal de Pelotas)

_____

Prof. Dr. Jader Ribeiro Pinto
(Instituto Federal Sul-rio-grandense)

_____

Prof. Dr. Uemerson Silva da Cunha
(Universidade Federal de Pelotas)

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação a todos que confiaram na minha capacidade e que me apoiaram neste trabalho.

Agradecimentos

Às forças superiores que regem este mundo por ajudar-me a concluir esta jornada.

Ao Programa de Pós-graduação em Entomologia do Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas para que eu pudesse realizar este mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), fundação do Ministério da Educação (MEC) pela bolsa de estudos concedida tornando possível realizar meu estudo de mestrado.

Ao meu orientador Dr. Flávio Roberto Mello Garcia pela amizade, compreensão e disponibilidade nas orientações.

À minha coorientadora Drª. Adrise Medeiros Nunes também pelas orientações, amizade, confiança, inúmeros diálogos construtivos para minha formação.

Aos meus pais Milton e Iva pelo apoio durante toda minha vida estudantil e principalmente acadêmica.

Aos meus irmãos Cirilo, David e Luís Roberto, minha cunhada Cristiane e a minha sobrinha Ana Laura por fazerem parte da minha vida e ajuda quando solicitada.

Ao meu padrasto Adão (*in memorian*) que sempre me incentivou a buscar formação acadêmica.

À minha tia Eletísia que sempre acreditou nos meus objetivos, com apoio e carinho.

Ao Felipe e Maria por serem compreensíveis nos momentos de angustia durante a construção desta dissertação.

Às minhas tias maternas que sempre acreditaram no meu potencial.

A todos os colegas do Laboratório de Ecologia de Insetos (Labei) onde pude vivenciar ótimos momentos durante esta caminhada.

À Emily Araújo pela ótima companhia e amizade durante meus trabalhos no Labei.

Ao amigo doutorando Cristiano Teixeira por toda ajuda desde meu ingresso no mestrado, pelas orientações, conhecimentos e dedicações para me ajudar.

Ao amigo mestrando Adélio Mussalama pela amizade, parceria, confiança e apoio nos momentos de angústia.

Aos colegas do mestrado da minha turma Paulino Ribeiro, Helena Íris Silva, Giovani Smaniotto, Lauren, Manoel Garcia Júnior, Daiana Machado, Robson Botta, pela amizade e companheirismo durante as disciplinas as quais enfrentamos e especialmente a Flávia do Sacramento pelas risadas, conversas e parceria.

Aos colegas já mestres em entomologia Lenon Abeijon e Priscilla Gobbi.

À amiga Elisa Milach também mestre em entomologia pela ajuda nos primeiros passos durante o curso de mestrado.

Ao amigo Carlos Jairoce pela amizade e companheirismo durante os poucos dias de convivência aqui no Brasil.

Aos colegas do Labei Micael, Marcos e Adriano pela amizade.

Ao professor Dr. Alci Enimar Loeck pela excelente disciplina ministrada “Controle de pragas de produtos armazenados”, onde pude construir conhecimentos, assim como pela ajuda na identificação dos insetos estudados nesta dissertação.

Ao professor Dr. Uemerson Silva da Cunha pelas considerações, correções construtivas que realizou no meu projeto de mestrado.

À mestranda Ivandra Santi pela ajuda na obtenção dos óleos essenciais utilizados nos meus experimentos.

Ao técnico em química Marco Aurélio Ziemann dos Santos por fornecer os dados da Cromatografia gasosa dos óleos essências.

Ao professor Dr. Rogério Freitag por ceder o espaço e material de laboratório para a obtenção dos óleos essências.

Às professoras Drª. Giovana Gamaro e Drª. Adriana Lourenço quando aceitaram prontamente fazer a minha carta de recomendação ao Programa de Pós-graduação em Entomologia.

“A Educação, qualquer que seja ela, é sempre uma teoria do conhecimento posta em prática”.

Paulo Freire

Resumo

MACIEL, Franciele Casarin. **Ação de óleos essenciais de *Syzygium aromaticum* e *Thymus vulgaris* sobre *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum* em laboratório**. 2016. 76 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) - Programa de Pós-Graduação em Entomologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2016.

Os grãos armazenados estão sujeitos ao ataque de pragas dentre as quais destacam-se os insetos. Estes, por sua vez causam danos irreversíveis aos grãos, pois influenciam de maneira negativa na qualidade, no consumo do produto final e depreciação comercial. O controle destas pragas em armazéns é realizado geralmente através de inseticidas sintéticos. No entanto, hoje há uma busca por controles alternativos, como o uso de óleos essenciais. Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência dos óleos essenciais de *Syzygium aromaticum* (cravo-da-india) e *Thymus vulgaris* (tomilho) no controle de *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum*. Nos experimentos utilizando *S. zeamais* placas de Petri, contendo 20 gramas de grãos de milho íntegros, foram pulverizadas com soluções contendo óleo essencial de cravo-da-índia, como também em ensaios separados utilizando óleo essencial de tomilho nas concentrações de: 0,25; 0,5; 0,75; 1,25; 2,5; 5; 10 e 20%, um tratamento com Tween® 20 a 0,5% e testemunha tratada com água destilada, nos ensaios com *T. castaneum* em vez de grãos de milho foi utilizado papel filtro forrando o fundo das placas, sendo realizada quatro repetições para cada tratamento e dez insetos em cada placa, não sexados com idades de 15 a 20 dias. Logo após, as placas foram acondicionadas em câmara climatizada com temperatura, umidade e fotofase controladas sendo observadas na 1ª, 2ª, 3ª, 12, 24, 48, 72 e 96 h após o início da aplicação. Os resultados para *S. zeamais* mostraram que logo após às 24 h de tratamento o óleo de cravo-da-índia na concentração de 20% foi eficiente 100% no controle dos insetos e nos tratamentos com óleo de tomilho na concentração de 20% após 72 h foi eficiente 100% assim como, na concentração de 10% após 96 h de tratamento. A concentração letal média (CL_{50}) de óleo para causar a mortalidade de 50% dos insetos corresponde a 69,56 µL mL^{-1} do óleo de cravo-da-índia e 88,0 µL mL^{-1} de óleo de tomilho. Para *T. castaneum* o óleo de cravo-da-índia teve eficiência de 100% após a 2ª h de tratamento na concentração de 20% e com mesma eficiência após 48 h a 10% do respectivo óleo essencial. O óleo de tomilho foi eficiente 100% após a 3ª h de tratamento na concentração de 20% de óleo. A CL_{50} do óleo para causar a mortalidade de 50% dos insetos corresponde a 37,44 µL mL^{-1} de óleo de cravo-da-índia e 51,67 µL mL^{-1} para o óleo de tomilho. Portanto, os

óleos essenciais são promissores como uma ferramenta alternativa no controle de insetos-praga em grãos armazenados.

Palavras-chave: insetos-praga; inseticidas botânicos; método alternativo

Abstract

MACIEL, Franciele Casarin. **Action of essential oils of *Syzygium aromaticum* e *Thymus vulgaris* on to *Sitophilus zeamais* and *Tribolium castaneum* in laboratory**. 2016. 76 f. Dissertation (master's degree in Entomology) - Postgraduate program in entomology, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2016.

The stored grains are subject to be attacked by pests among which stand out the insects. In turn, these insects cause irreversible damage to the grains, because of their negative influence on quality and in the final product consumption and commercial depreciation. The control of these pests in warehouses is usually accomplished by means of synthetic insecticides. However, there is a search for alternative controls nowadays, such as the use of essential oils. Thus, the present study aimed to investigate the efficiency of essential oils of *Syzygium aromaticum* (cloves) and *Thymus vulgaris* (thyme) in the control of *Sitophilus zeamais* and *Tribolium castaneum*. In experiments using *S. zeamais* Petri plates containing 20 grams of intact corn, essential oils at concentrations of: 0,25; 0,5; 0,75; 1,25; 2,5; 5; 10 and 20% were sprayed, a treatment with Tween ® 20 to 0.5% and witness treated with distilled water in the tests with *T. castaneum* instead of corn it was used filter paper lining the bottom of the plates, being held four replicates for each treatment and ten bugs on each plate, not sexed with ages of 15 to 20 days. After, the plates were placed in heated room with temperature, humidity and controlled photo phase being observed in the 1st, 2nd, 3rd, 12th, 24th, 48th, 72nd and 96th hours after the beginning of application. The results for *S. zeamais* showed that after 24 hours of treatment the clove oil at 20% concentration was 100% efficient in the control of insects and in treatments with thyme oil at a concentration of 20% after 72 hours has been 100% efficient as well as, at a concentration of 10% after 96 hours of treatment. The average lethal concentration (ALC50) of oil to cause mortality of 50% of the insects corresponds to 69,56 µL mL^{-1} of oil of cloves and 88,0 µL mL^{-1} of oil of thyme. For *T. castaneum* the clove oil had 100% efficiency after the 2nd hour of treatment at a concentration of 20% and with same efficiency after 48 hours at 10% of the same essential oil. Thyme oil was 100% effective after the 3rd hour of treatment at a concentration of 20% of oil. The ALC50 of oil to cause mortality of 50% of the insects corresponds to 37,44 µL mL^{-1} of oil of cloves and 51,67 µL mL^{-1} for oil of thyme. Therefore, the essential oils are promising as a backup tool in the control of insect pests in stored grain.

Keywords: insect pests; botanical insecticides; alternative method

Lista de figuras

Figura 1. Representação dos picos dos compostos presentes no óleo essencial de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) obtidos a partir dos botões florais secos, realizada por cromatografia GC/MS-QP 2010SE. Componentes dos picos 1, 2, 3, 4, 5 e 6 não foram identificados; Pico 7: metil salicílico; pico 8: eugenol; pico 9: β-cariofileno; pico 10: α-cariofileno; pico 11: acetato de eugenol. 36

Figura 2. Representação dos picos dos compostos presentes no óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris*) obtidos a partir das folhas secas da planta, realizada por cromatografia GC/MS-QP 2010SE. Pico 12: componente majoritário borneol.....38

Figura 3. Eficiência (%) do óleo de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) sobre insetos de gorgulho-do-milho (*Sitophilus zeamais*) em laboratório. 41

Figura 4. Eficiência (%) do óleo de tomilho (*Thymus vulgaris*) sobre adultos de gorgulho-do-milho (*Sitophilus zeamais*) em laboratório. 45

Figura 5. Eficiência (%) do óleo de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) sobre adultos de *Tribolium castaneum* em laboratório. 55

Figura 6. Eficiência (%) do óleo de tomilho (*Thymus vulgaris*) sobre adultos de *Tribolium castaneum* em laboratório. 59

Lista de tabelas

Tabela 1. Porcentagens dos componentes químicos presentes no óleo de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) em função do tempo de retenção realizado através de cromatografia gasosa. 36

Tabela 2. Porcentagens dos componentes químicos presentes no óleo de tomilho (*Thymus vulgaris*) em função do tempo de retenção realizado através de cromatografia gasosa. 39

Tabela 3. Média de insetos vivos ± Erro padrão (EP) de *Sitophilus zeamais* quando expostos a diferentes concentrações do óleo essencial de cravo-da-índia em grãos de milho ao longo de 96 h em condições de laboratório. Temperatura de 28°C± 1°C, UR de 65%±5% e fotofase de 12 h. 43

Tabela 4. Média de insetos vivos ± Erro padrão (EP) de *Sitophilus zeamais* quando expostos a diferentes concentrações do óleo essencial de tomilho ao longo de 96 h em condições de laboratório. Temperatura de 28°C± 1°C, UR de 65%±5% e fotofase de 12 h….....47

Tabela 5. Concentração letal (CL_{50}) dos óleos essenciais de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) e tomilho (*Thymus vulgaris*) necessária para matar 50% dos adultos de S. zeamais aplicados em grãos de milho 96 h após de tratamento……..…**Erro! Indicador não definido.**

Tabela 6. Média de insetos vivos ± Erro padrão (EP) de *Tribolium castaneum*, em função das h e de concentrações do óleo essencial de cravo-da-índia aplicadas em papel-filtro durante 96 h de tratamento. 57

Tabela 7. Média de insetos vivos ± Erro padrão (EP) de *Tribolium castaneum*, em função das h e de concentrações do óleo essencial de tomilho aplicadas em papel-filtro durante 96 h de tratamento. 61

Tabela 8. Concentração letal (CL_{50}) dos óleos essenciais de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) e tomilho (*Thymus vulgaris*) necessária para matar 50% de adultos de *T. castaneum* aplicados em papel filtro 96 h após de tratamento. 63

Sumário

1 Introdução geral 17

2 Revisão de literatura 20

2.1 Armazenamento de grãos 20

2.2 Principais insetos-pragas de grãos armazenados.....20

2.2.1 *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1855 (Coleoptera: Curculionidae).....21

2.2.2 *Tribolium castaneum* (Herbst, 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae) 22

2.3 Danos causados pelas pragas 23

2.4 Controle de pragas de grãos armazenados 24

2.5 Inseticidas botânicos.....25

2.5.1 Estudos sobre a ação de inseticidas botânicos.....26

2.5.2 Óleo essencial de Tomilho *Thymus vulgaris* (L.) 28

2.5.3 Óleo de essencial cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) (L.).....29

Capítulo 1 – Eficiência dos óleos essenciais de cravo-da-índia e de tomilho sobre o gorgulho-do-milho em laboratório 31

3.1 Introdução 31

3.2 Material e métodos.....32

3.2.1 Eliminação da infestação e preparação dos grãos de milho (*Zea mays*)...32

3.2.2 Estabelecimento da criação de *S. zeamais* 32

3.2.3 Obtenção e extração dos óleos essenciais de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) (L.) e tomilho (*Thymus vulgaris*) (L.) 33

3.2.4 Metodologia utilizada para a realização da cromatografia dos óleos.....33

3.2.5 Método de aplicação dos óleos essenciais de cravo-da-índia e tomilho no controle de *S. zeamais* 34

3.2.6 Análise dos dados.....34

3.3 Resultados e discussão 35
3.3.1 Avaliação dos compostos químicos presentes no óleo essencial de *S. aromaticum* 35
3.3.2 Avaliação dos compostos químicos presentes no óleo essencial de *Thymus vulgaris*.....
3.3.3 Eficiência do óleo essencial de cravo-da-índia sobre *S. zeamais* 40
3.3.4 Eficiência do óleo essencial de tomilho sobre *S. zeamais*.....44
3.3.5 Determinação da concentração letal (CL_{50}) do óleo essencial de cravo-da-índia e tomilho no controle de *S. zeamais* 48
3.4 Conclusões 49
Capítulo 2 - Eficiência dos óleos essenciais de *Syzygium aromaticum* e *Thymus vulgaris* (L.) no controle de *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) 51
4.1 Introdução 51
4.2 Material e métodos.....52
4.2.1 Criação dos insetos 52
4.2.2 Extração dos óleos essenciais de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) (L.) e tomilho (*Thymus vulgaris*) (L.) 52
4.2.3 Método de aplicação dos óleos essenciais de cravo-da-índia e tomilho no controle de *T. castaneum* 53
4.2.4 Análise dos dados……52
4.3 Resultados e discussão 54
4.3.1 Eficiência do óleo essencial de cravo-da-índia sobre *T.castaneum* 54
4.3.2 Eficiência do óleo essencial de tomilho sobre *T.castaneum*.....58
4.3.3 Determinação da concentração letal (CL_{50}) do óleo de cravo-da-índia e tomilho no controle de *T. castaneum*.....62
4.4 Conclusões 64
5 Considerações finais 65
Referências.....66

1 Introdução geral

A produção agrícola de grãos armazenados tem alcançado bons resultados devido à utilização de técnicas eficientes de produção e proteção, as quais são essenciais, para evitar as perdas pós-colheita e favorecendo a viabilidade dos grãos. Com o aumento da produção há necessidade de adquirir sistemas de armazenamento para que os grãos sejam estocados de maneira correta e segura, evitando efeitos negativos, refletindo diretamente na qualidade com a desvalorização do produto e na quantidade com a perda de peso e alteração química dos alimentos (FARONI; SILVA, 2008).

Um cultivo sustentável tem por finalidade estimular técnicas que potencializem a produção e diminuam perdas durante as etapas de cultivo, colheita, transporte, industrialização e armazenagem. Contudo, a etapa de armazenagem é crucial**,** pois qualquer dano nesta acarretará prejuízos na rentabilidade do produto final (TAVARES; VENDRAMIN, 2005).

Silveira et al. (2006) apontam como um dos maiores problemas para os grãos armazenados, são os danos causados pelos insetos-praga, em especial os carunchos e gorgulhos. Dentre esses destaca-se a espécie *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1855 (Coleoptera: Curculionidae) a qual está presente principalmente nas regiões mais quentes e tropicais sendo considerada praga primária de grande importância agrícola, realiza infestação cruzada, insere-se nas camadas mais profundas da massa de grãos e possui elevado potencial biótico.

Os restos (farelos) oriundos da degradação dos grãos pelas pragas primárias favorecem o estabelecimento das pragas secundárias, aumentando os danos na massa de grãos. A espécie *Tribolium castaneum* (Herbst, 1797) (Coleoptera:Tenebrionidae) é uma praga secundária bastante conhecida, pois

aproveita para estabelecer-se nos grãos que estão moídos e quebradiços (LORINI et al., 2010; ANTUNES et al., 2011).

A partir do início do século XX, o método mais empregado para controlar insetos transmissores de doenças ou insetos-praga na agricultura foi por meio da aplicação de inseticidas químicos considerados o método mais utilizado, porém vários fatores negativos foram surgindo devido ao uso indiscriminado dos inseticidas químicos, os quais apresentam alta toxicidade acarretando problemas de contaminação ambiental, de saúde humana, além de problemas sociais e econômicos (FINKLER, 2012).

Com o objetivo de minimizar tais impactos negativos, alternativas para o manejo destes insetos-praga vem sendo pesquisadas e introduzidas no Brasil, estas influenciadas pelo rigor legislativo de alguns países a respeito dos resíduos de inseticidas presentes nos alimentos (MARIANO; SANTOS; SANTOS, 2006; FINKLER, 2012).

Uma das alternativas para diminuir o uso dos inseticidas sintéticos é a utilização de pós, extratos e óleos essenciais de plantas, os quais podem ser obtidos através de recursos renováveis, pois são degradados de maneira rápida sem deixar resíduos na produção de alimentos (KIM et al. 2003; SMANIOTTO et al. 2010).

Os óleos essenciais podem ser caracterizados como uma soma complexa de compostos orgânicos voláteis, estado físico líquido, cor amarelada ou incolor, podendo ser obtidos através das plantas por meio de sementes, frutos, folhas, caules, flores, folhas e raízes. A obtenção dos óleos pode ser realizada através de diversas técnicas como: enfleurage, arraste por vapor d'água, extração com solventes voláteis, prensagem a frio e dióxido de carbono (CO_2) supercrítico (SIMÕES; SPITZER, 1999; BAKKALI et al., 2008).

Menezes (2005) aponta que os inseticidas botânicos são degradados rapidamente devido a ação da luz solar, ar e umidade, geralmente com ação rápida, com efeito deterrente sobre os insetos, com um grande espectro bioativo sendo seletivos aos insetos-pragas.

As espécies de plantas *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. et Perry (cravo-da-índia) e *Thymus vulgaris* (L.) (tomilho) são plantas citadas na literatura com potencial inseticida. Nos estudos realizados por Jairoce et al. (2016) o eugenol foi constatado como componente majoritário no óleo essencial de cravo-da-índia causando 100% de eficiência sobre as espécies *S. zeamais* e *Acanthoscelides obtectus* (Say, 1931) 48 h após o tratamento nas doses de 17,9 e 35 μL g^{-1}. Os autores concluíram que o óleo

essencial de cravo-da-índia pode ser um método alternativo aliado no manejo integrado de pragas em ambientes de armazenamento de grãos.

Com o intuito de encontrar métodos alternativos e sob a perspectiva ecológica faz-se necessário estudos mais aprofundados que avaliem um maior número de plantas e seus óleos essenciais com potencial inseticida visando o controle de pragas de grãos armazenados. Neste contexto, esse trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência dos óleos essenciais de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) (L.) e de tomilho (*Thymus vulgaris*) (L.) no controle de *S. zeamais* e *T. castaneum* em laboratório.

2 Revisão de literatura

2.1 Armazenamento de grãos

A necessidade mundial influenciada pelo crescimento populacional exige dos produtores e do mercado de grãos que estes cada vez mais mantenham a qualidade e menores perdas dos grãos a fim de supri-los para o consumo final. Logo, é indispensável que se empregue métodos de monitoramento de pragas, controle de temperatura e de umidade nos locais onde os grãos serão armazenados (LORINI et al., 2015).

Assim, os grãos oriundos do campo após a colheita e beneficiamento podem ser aproveitados em seguida ou posteriormente armazenados para o consumo em períodos de escassez, ou então na espera por preços melhores e mais lucrativos (MELO et al., 2011).

A atividade de armazenagem tem por objetivo, preservar as características qualitativas e quantitativas dos grãos depois da secagem, durante longos períodos de tempo, mantendo as sementes viáveis, visando qualidade no processo de moagem e preservação dos nutrientes dos grãos (WHITE, 1992; BROOKER; BAKKER-ARKEMA; HALL, 1992).

Segundo Schöller et al. (1997) os prejuízos dos produtos armazenados, em alguns casos, podem chegar a 30% dos quais 10% são ocasionados pelo ataque de pragas na fase de armazenagem.

2.2 Principais insetos-pragas de grãos armazenados

Entre os causadores de perdas em armazenamento estão, os fungos, ácaros, roedores, aves, insetos, estes últimos são as principais pragas de produtos

armazenados. Dentre as ordens de insetos que mais infestam os armazéns destacam-se as traças (Lepidoptera) e os besouros (Coleoptera), estas duas ordens são as que mais causam danos em grãos armazenados (LORINI et al., 2009).

De acordo com Moreira; Zarbin e Coracini (2005), os principais coleópteros-praga que atacam grãos armazenados são as espécies: *Lasioderma serricorne* (Fabricius, 1792), *Stegobium paniceum (Linnaeus, 1758)*, *Rhyzopertha dominica* (Fabricius, 1792), *Acanthoscelides obtectus* (Say, 1931) *Zabrotes subfasciatus* (Boleman, 1833) *Cryptolestes* spp. (Ganglbauer 1899), *Oryzaephylus* spp. (Ganglbauer 1899), *Anthrenus* spp. (Geoffroy 1762), *Attagenus* spp. (Latreille, 1802), *Trogoderma* spp, *Tenebrio molitor* (L.) 1758, *Tribolium* spp. e *Sitophilus* spp. Nestes dois últimos gêneros destacam-se as espécies *Tribolium castaneum* (Herbst, 1797) e *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1855 (LORINI et al., 2010).

2.2.1 *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1855 (Coleoptera: Curculionidae)

Conhecido popularmente como gorgulho-do-milho a espécie descrita por Motschulsky (1855), pertence à Curculionidae, caracterizada por ser bastante diversificada quanto a sua morfologia. Os curculionídeos são reconhecidos facilmente por apresentar um rostro alongado, com peças bucais situadas no ápice e antenas geniculadas. É uma das famílias de coleópteros com maior importância econômica, ocasionando danos em diversas culturas (RAFAEL et al., 2012).

Esta espécie possui status de praga primária com distribuição cosmopolita, infestando cultivares de milho, trigo, arroz e sorgo, e ataca os grãos íntegros e sadios (LORINI, 2008).

Os adultos medem 2,0 a 3,5 mm de comprimento, apresentam coloração castanho-escura com máculas mais claras nos élitros. Possuem a cabeça projetada a frente na forma de um rostro curvado. Presença de dimorfismo sexual, pois os machos apresentam rostro curto e grosso, enquanto as fêmeas apresentam rostro mais longo e afilado (LORINI; SCHNEIDER, 1994; LOECK, 2002).

O gorgulho-do-milho apresenta elevado potencial biótico. A oviposição é realizada dentro dos grãos de milho onde as fases imaturas completam o seu desenvolvimento, no entanto a emergência do adulto ocorre no interior do grão (LOECK, 2002).

Caso a umidade do grão alcançar porcentagem inferior a 12,5%, pode ocorrer a inibição da oviposição, pois o grãos ficarão com consistência mais dura tornando-se resistentes ao ataque dos insetos (LORINI et al., 2010).

A longevidade média das fêmeas é de 140 dias, com período de oviposição de 104 dias e cada fêmea pode ovipositar em média cerca de 282 ovos. O período de ovo-larva pode variar de 3 a 6 dias, porém o ciclo biológico completo de ovo a adulto é em média de 34 dias, tendo os grãos de milho como substrato (LORINI; SCHNEIDER, 1994).

Apresenta infestação cruzada, infestando os grãos tanto no campo quanto nos armazéns. O inseto tem hábito alimentar polífago, atacando diferentes culturas como, por exemplo: cevada e até frutíferas como macieira [*Malus domestica* (Borkhausen, 1803)], videira [*Vitis vinifera* (L.)] e pessegueiro [*Prunus persicae* (L.) Batsch, 1801] (LORINI, 2008, NÖRNBERG et al., 2013).

2.2.2 *Tribolium castaneum* (Herbst, 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae)

A espécie *T. castaneum* pertence à Tenebrionidae. Apresenta difícil caracterização, pois, é uma família muito diversificada, apresentando variadas exceções morfológicas quanto aos caracteres diagnósticos (RAFAEL et al., 2012).

Quanto a morfologia dos adultos apresentam coloração castanho-avermelhada, são achatados dorso ventralmente, medem de 3 a 4 mm e na região da cabeça apresentam uma depressão transversal e pronoto em forma retangular. Os olhos são levemente divididos por um espaço da margem da cabeça, as antenas possuem os três últimos artículos bem alargados até a extremidade com o nono artículo com o dobro do tamanho do oitavo (LORINI et al., 2009).

Esta espécie é considerada praga secundária e causa sérios prejuízos a produtos moídos como cereais, farináceos e aos grãos armazenados que de alguma forma não estão íntegros, ou já foram atacados pelas pragas primárias, já que esta espécie é incapaz de romper o tegumento dos grãos (LORINI et al., 2010).

Os adultos podem viver até quatro anos. O ciclo biológico pode variar de um a quatro meses, as fêmeas ovipositam em média de 400 a 500 ovos (GALLO et al., 2002).

Os ovos são pequenos, as larvas apresentam coloração branco-amarelada e podem medir cerca de 7 mm de comprimento, são cilíndricas e possuem o último

segmento bifurcado (GALLO et al., 2002). As pupas são amarelo claro no início e mais amarronzadas no final do estágio (LORINI et al., 2009).

A espécie *T. castaneum* através de seus excrementos contaminantes favorece ao aparecimento de micro-organismos como fungos, prejudicando a qualidade dos produtos farináceos, com consequente queda no seu valor econômico (GIGLIOLLI; LUCENA; LAPENTA, 2011).

2.3 Danos causados pelas pragas

Considerados como pragas capazes de causarem danos na qualidade e na quantidade dos grãos, os insetos-praga acabam por influenciar negativamente no aproveitamento dos grãos para fins de consumo e uma considerável queda no valor comercial, uma vez que a degradação dos grãos será concreta e irreversível (BRACCINI; PICANÇO,1995; FONTES; ALMEIDA FILHO; ARTHUR, 2003).

Logo, alguns danos causados por *S. zeamais* como também por *T. castaneum* são descritos a seguir.

Antunes et al. (2011) ao analisarem as perdas físicas, químicas e a ocorrência de variações populacionais em grãos de milho submetidos ao ataque de adultos de *S. zeamais*, durante 30, 60 e 120 dias de armazenamento concluíram que, as perdas de peso dos grãos são mais significativas conforme o aumento do período de exposição aos insetos. E verificaram elevada quantidade de resíduos produzidos pela praga, aumento da população de insetos na massa de grãos e diminuição do percentual de gordura nos grãos.

Ao avaliarem os prejuízos causados pelas espécies *S. zeamais* e *Sitophilus oryzae* (Linné, 1763) quanto a diminuição do peso dos grãos de arroz em diferentes variedades: Metica-1 irrigado, Araguaia sequeiro, Diamante irrigado, Primavera sequeiro, Carajás sequeiro, Cica-9 irrigado, Uruçuí sequeiro, Canastra sequeiro, Paranaíba sequeiro e Caiapó sequeiro observaram que as cultivares sem casca atacadas por estas espécies foram mais suscetíveis aos danos, já o arroz com casca exposto a espécie *S. zeamais* a cultivar Diamante irrigado demonstrou elevada suscetibilidade e a cultivar Canastra sequeiro foi a mais resistente ao ataque dessa praga. Porém, a cultivar Cica-9 irrigado tanto com casca como sem casca foi a mais resistente aos danos causados pelas espécies (FONTES; ALMEIDA FILHO; ARTHUR 2003).

Alencar et al. (2011) avaliaram os danos na qualidade de grãos de milho armazenados atacados ou não, pelas espécies *S. zeamais* e *T. castaneum* e a associação deles, verificaram que, os parâmetros de qualidade adotados para avaliar o valor dos grãos armazenados foram afetados, com danos na qualidade, presença de impurezas, elevado número de insetos por quilograma, e danos superiores quando há associação das duas espécies nos grãos.

Segundo Pedersen (1992), excrementos liberados por *Tribolium* sp., afetam os produtos por ele infestado causando mau cheiro no produto final tornando-os inutilizáveis para fins culinários.

Na tentativa de estimar as perdas em grãos de arroz em diversas categorias de armazenagem e a associação entre os insetos-praga *S. zeamais*, *Orizaephilus surinamensis* (L.) 1758 e *Laemophloeus minutus* Olivier 1791, os prejuízos mais significativos foram causados pelas espécie *S. zeamais* ou associado a *L. minutus*. Quando os grãos de arroz foram armazenados com temperaturas de 25 e 30 ºC houve um aumento na população dos insetos (COPATTI; MARCON; MACHADO, 2013).

Picanço et al. (2003) avaliaram a amplitude de perdas causadas por insetos-praga em 49 variedades de milho concluíram que na forma de grãos é o estado mais suscetível a sofrer perdas por danos efetuados por *S. zeamais.*

2.4 Controle de pragas de grãos armazenados

As técnicas mais utilizadas no Brasil para o controle das pragas de grãos armazenados são os métodos físicos e químicos. Os métodos físicos reduzem a infestação da praga a uma condição aceitável ou acabam com elas (BANKS; FIELDS, 1995). Várias técnicas podem ser utilizadas em conjunto ou isoladas na tentativa de minimizar ou para eliminar uma infestação de pragas em produtos armazenados como remoção direta de insetos, controle da temperatura, da umidade relativa e da composição da atmosfera (CO_2, O_2, N_2), uso de pós-inertes, radiação ionizante, luz e som (LORINI, 2001).

O controle dos insetos-praga em grãos armazenados geralmente é realizado através de inseticidas. No entanto, estes podem apresentar toxicidade variável, que depende da composição química, e da quantidade que será aplicada além do seu estado físico. No entanto, os inseticidas podem ser obtidos de maneira sintética ou natural (derivados de plantas) (GALLO et al., 2002).

O controle químico sintético apesar da significativa eficiência que possuem, o uso intensivo pode ocasionar diversos problemas como, o surgimento de resistência entre os insetos, acúmulo de resíduos tóxicos nos alimentos, contaminação do ambiente e ainda o aumento nos custos de produção (FARONI, 1995; VENDRAMIM; THOMAZINI, 2001).

Javaroni et al. (1991) afirmam que mesmo que a utilização de pesticidas tenha favorecido para controlar os casos de doenças tanto para humanos como para animais, e contribuído para o aumento da produção, os compostos químicos destes pesticidas permanecem por muito tempo no meio ambiente, afetando de maneira negativa o ecossistema.

Para Flores et al. (2004) estas implicações para a saúde humana podem ocasionar intoxicação aguda e/ou crônica, pois as substâncias que compõem os pesticidas colocam em risco a sobrevivência de diversas espécies e causam graves danos à saúde humana.

Uma das alternativas para minimizar os efeitos negativos provocados pelo uso indiscriminado dos inseticidas é a utilização de inseticidas botânicos (FONTES, 2005).

2.5 Inseticidas botânicos

A prática de extrair substâncias ou extratos de plantas que tenham alguma propriedade que possa ser utilizada no combate a insetos, é uma técnica utilizada há muito tempo pelos homens desde a Idade Antiga e está presente até hoje (ADDOR, 1994).

Alguns estudos realizados com a utilização de óleos essenciais (com propriedades bioinseticidas) extraídos de plantas tem se mostrado eficaz no controle de insetos-praga, (PROCÓPIO et al., 2015).

Algumas plantas apresentam compostos químicos que são metabólitos primários, podem ser encontrados nas células vegetais e possuem grande importância para seu desenvolvimento. No entanto, há metabólitos secundários com ações diferentes sobre insetos, como agentes para repelir, atrair predadores naturais ou obter metabólitos para pulverização (GALLO et al., 2002).

O nível de toxicidade dos óleos essenciais das plantas sobre os insetos-praga de grãos armazenados é devido à composição química, a qual depende do recurso

vegetal, estação do ano, condições ecológicas, métodos de extração, tempo de extração e parte da planta utilizada (LEE et al., 2004).

Os óleos essenciais apresentam ação variada sobre os insetos, como por exemplo: o índice de toxicidade, repelência, influência na alimentação, no crescimento, no desenvolvimento e na reprodução (COATS, 1994).

Escalona et al. (2001) afirmam que as plantas pertencentes as famílias Meliaceae, Asteraceae, Rutaceae, Labiatae e Canellaceae são promissoras, pois possuem propriedade inseticida.

2.5.1 Estudos sobre a ação de inseticidas botânicos

De acordo com Lucca (2009) as implicações dos inseticidas botânicos sobre os insetos-praga podem ser estimadas quando os alimentos ou suas posturas são expostos por alguns períodos nos extratos, pois foi verificada ação de deterrência, retardos no desenvolvimento, esterilidade e morte dos insetos.

Em estudos realizados por Coitinho et al. (2006) com óleos essenciais sobre o controle de *S. zeamais*, demonstraram que os óleos de *Eucaliptus globulus* Labill, *Syzygium aromaticum*, *Lippia gracillis* Schauer e *Azadirachta indica* A. Jussieu na dose de 50 µL em 20 gramas de milho, apresentaram um nível de toxicidade aguda, causando 100% de mortalidade em insetos adultos de *S. zeamais* em grãos de milho. Porém, quando utilizados os óleos essenciais de *Caryocar brasiliense* Cambess, *Cedrela fissilis* Vell, *Carapa guianensis* Aublet, *Eucaliptus citriodora* Hook e *Copaifera* sp. valores menores de mortalidade foram encontrados em porcentagens de 95; 92,5; 90; 87,5 e 20%, respectivamente.

Carvalho et al. (2008) ao avaliarem a eficiência do óleo de nim para o controle dos insetos *Brevicoryne brassicae* (Linnaeus, 1758) e *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) em couve-manteiga *Brassica oleracea* (Linnaeus var. Acephala) observaram que com o aumento das doses do óleo de nim e o tempo de exposição obtiveram um aumento na mortalidade de *B. brassicae* onde verificaram 72 h após o tratamento que as concentrações causaram mortalidade acima de 85% desta espécie, comportando-se de forma semelhante ao Imidaclopride. Já a espécie *M. persicae* apresentou mortalidade menor que 60% nos tratamentos à base de óleo de nim a partir de 48 h. Os autores concluíram que *B. brassicae* foi mais suscetível aos efeitos do óleo de nim.

Almeida et al. (2004) ao avaliarem a atividade de extratos vegetais no controle de *Callosobruchus maculatus* (Fabricius, 1775) principal praga do feijão quando armazenado, utilizaram as flores, os frutos e as folhas secas de *Camellia sinensis* (L.), *Anthemis nobilis* (L.), *Croton tiglium* (L.*)*, *Piper nigrum* (L.) e *A. indica* e verificaram que a mortalidade foi significativa devido ao tempo de exposição aos extratos e ainda que *P. nigrum* e *A. indica* foram os mais eficientes em todos os períodos de exposição de 5, 10, 15, 20 e 25 minutos.

Nos extratos de folhas e de sementes de nim e cinamomo podem encontrados cerca de quatro princípios ativos, destacando ação comprovada como inseticida, antitumoral, citotóxica, anti-helmíntica e antiviral. Os princípios ativos conhecidos são: azadiractina, salanina, meliantrol e nimbolina (TAKEYA et al., 1996; ARAÚJO et al., 2009).

Em trabalho realizado com extrato de nim e de cravo-da-índia no controle de *Zabrotes subfasciatus* (Boheman, 1833) em sementes de feijão armazenado a solução aquosa de nim a 0,5 mL Kg^{-1} de feijão, que não apresentou efeito no controle de adultos de *Z. subfasciatus*, enquanto o cravo-da-índia foi efetivo no controle desta espécie, podendo ser utilizado, na dose de 25 g Kg^{-1} de grão de feijão armazenado (PARANHOS et al., 2005).

Silva et al. (2015a) verificaram a mortalidade de *T. castaneum* em grãos de arroz quando expostos a 13 tipos de extratos botânicos: alho (*Allium sativum* L.), pimenta cumari (*Capsicum* sp. L.), citronela (*Cymbopogon winterianus*), gergelim (*Sesamum indicum*), crisântemo (*Chisantemum cinerariaefolium*), erva de santa-maria (*Chenopodium ambrosioides* L.), eucalipto (*Eucaliptus citriodora* Hooker), fumo (*Nicotiana tabacum* L.), mamona (*Ricinus communis* L.), mostarda (*Brassica juncea*), nim indiano (*Azaradicta indica*, A. Juss.), pimenta do reino (*Piper nigrum* L.), sabão de soldado (*Sapindus saponária* L.) obtiveram os seguintes resultados: o extrato de crisântemo causou 20% de mortalidade, já a exposição ao extrato de mamona e nim causou 10% de mortalidade. Ainda observaram que não houve diferença expressiva para os demais extratos indicando a necessidade de testar diferentes concentrações e metodologias.

2.5.2 Óleo essencial de tomilho *Thymus vulgaris* (L.)

Do Grego *Thymus*, perfumar ou fumigar, conhecido popularmente como tomilho, *Thymus vulgaris* (L.) pertencente à família Lamiaceae, é uma planta nativa da região do Mediterrâneo, foi muito utilizada pelas civilizações passadas como planta medicinal, nos templos como aromaterapia e para fins culinários, consumida em substituição ao café por ser estimulante com propriedade tônica (PORTE; GODOY, 2008; SHARAFZADEH et al., 2010; ALMEIDA, 2011).

Esta planta (tomilho) pertence à ordem Lamiales, com distribuição por várias regiões do mundo, sendo maioria conhecida e utilizada como condimento (LORENZI; MATOS, 2002).

Suas partes aéreas como folhas e flores são aproveitadas no consumo como condimento e para obtenção de óleo essencial. No óleo essencial de *T. vulgaris* podem ser encontrados os seguintes constituintes químicos: o timol, terpineno, cinemo, carvacol e linanol, os flavonóides, o ácido caféico e o ácido labiático, que estão situados em diferentes partes da planta (PORTE; GODOY, 2008; SHARAFZADEH et al., 2010).

Além de ser utilizado como recurso medicinal e condimento, o óleo essencial de tomilho é citado na literatura por possuir atividades antimicrobianas carminativa, expectorante, espasmolíticas, antioxidantes, antifúngicas, pesticidas e antibacterianas. Estas, são atribuídas aos componentes fenólicos do óleo como o timol e o carvacrol, onde o timol apresenta maior relevância no óleo (HUDAIB et al., 2002).

Romero et al. (2009) avaliaram os efeitos do óleo essencial de *T. vulgaris* em fungos fitopatogênicos *Myrothecium verrucaria* (Ditmar, 1813), *Corynespora cassiicola* (Wei 1950), *Erwinia psidii* (Rodrigues Neto, 1988), *Sclerotinia minor* (Jagger, 1920) e *Colletotrichum musae* (Berk & Curt.) sugerem o potencial da aplicabilidade do óleo no controle alternativo destes fitopatógenos.

Quando testaram óleos essenciais de *T. vulgaris* e *Achillea millefolium* (L.) na ocorrência de não-preferência em ensaios com e sem chance de escolha para alimentação da lagarta-do-cartucho-do-milho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith,

1797) observaram que o óleo de tomilho demonstrou ser repelente para as lagartas (CASTRO et al., 2006).

2.5.3 Óleo de essencial de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) (L.)

A espécie *Syzygium aromaticum* (L.) é conhecida popularmente como cravo-da-índia, pertence à Myrtaceae e alguns autores citam a origem do cravo-da-índia como o próprio nome sugere na Índia, mas encontrado também na Indonésia (BANERJEE; PANDA; DAS, 2006; PAOLI et al., 2007).

Pode ser cultivado em regiões tropicais, inclusive no Brasil, no Sul do estado da Bahia, com área cultivada de 8.500 ha, em aproximadamente 3.000 propriedades de pequenos agricultores (REIS et al., 2006).

A parte da planta comumente utilizada é a gema floral seca, devido apresentar forte sabor e aroma, característica marcante pela presença do componente fenólico muito volátil, o eugenol. O cravo-da-índia possui porte arbóreo com uma copa alongada, podendo atingir de 8 a 10 metros de altura (AFFONSO et al., 2012).

O cravo-da-índia é explorado principalmente para fins industriais do óleo essencial obtido através dos botões florais secos, folhas e outras partes da planta. A utilidade popular de *S. aromaticum* se dá por meio da ingestão do chá dos botões florais como carminativo para amenizar gases acumulados no sistema digestivo (LORENZI; MATOS, 2002).

Em estudos fitoquímicos de *S. aromaticum* apontam a presença de até 90% do eugenol como componente majoritário acompanhado por trans-cariofileno, acetato de eugenila e a-humuleno (PAOLI et al., 2007).

Os produtos derivados do cravo-da-índia estão disponíveis na forma de óleo essencial puro ou derivados dele para utilização em procedimentos odontológicos como anestésico local (AFFONSO et al., 2012).

Através da análise por cromatografia gasosa do óleo essencial da espécie *S. aromaticum* Jairoce et al. (2016) obtiveram a relação de quatro componentes contidos no óleo, sendo identificados como fitoconstituintes o eugenol na concentração de 62,72%, além de cariofileno (18,46%), α-cariofileno (2,84%) e acetato de eugenol (15,97%).

Portanto, no trabalho de Jairoce et al. (2016) encontraram porcentagem menor quando comparado com Costa et al. (2011) que durante a análise do óleo de

cravo-da-índia encontraram percentual de eugenol de 83,6% e diferentemente Oliveira et al. (2009) encontraram 88,38% de eugenol como componente majoritário.

Capítulo 1 – Eficiência dos óleos essenciais de cravo-da-índia e de tomilho sobre o gorgulho-do-milho em laboratório

3.1 Introdução

Caracterizada como planta anual, o milho (*Zea mays* L.) é uma monocotiledônea da família Poaceae segundo Raven; Evert e Eichohorn (2007) sendo um dos cereais mais cultivados no Brasil e consumido no mundo inteiro.

Atualmente é o grão que predomina nos estoques públicos com cerca de 1.429,069.181 (t), desde de julho de 2015 até o presente momento 30,0 milhões de toneladas de milho foram exportadas do Brasil (GUTH, 2015; CONAB, 2016).

Os grãos estão suscetíveis ao ataque de pragas, dentre estas destaca-se o gorgulho-do-milho *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1855, sendo este de grande importância econômica. Esta espécie tem capacidade de realizar infestação cruzada, penetrar em grandes profundidades na massa de grãos, possui elevado potencial biótico e danificando os grãos tanto no peso como na qualidade (LORINI et al., 2015).

No geral, o controle destas pragas é realizado através do controle químico, os quais, podem ocasionar diversos problemas ambientais, como a poluição das fontes naturais, contaminação dos alimentos, provocar riscos à saúde humana e favorecer a resistência dos insetos (VENDRAMIM; THOMAZINI, 2001; CAMPOS et al., 2014).

Uma das tentativas para minimizar os efeitos negativos para o homem e para o ambiente por meio do uso indiscriminado dos inseticidas é a obtenção e utilização de métodos alternativos, dentre estes destaca-se os inseticidas botânicos, que podem ser obtidos de diferentes formas como por exemplo os pós, extratos e óleos essenciais (FONTES, 2005; SMANIOTTO et al., 2010).

Alguns compostos químicos presentes nas plantas possuem potencial inseticida como: a piretrina, rotenona, nicotina, cevadina, veratridina, rianodina,

quassinoides, azadiractina e biopesticidas voláteis, onde estes últimos são obtidos na forma de óleos e diversas pesquisas tem sido feitas confirmando que óleos essenciais vegetais causam repelência nos insetos, ação inseticida através do contato direto ou por via respiratória dos mesmos (ISMAN, 2000).

Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito inseticida dos óleos essenciais de *Syzygium aromaticum* (L.) (cravo-da-índia) e *Thymus vulgaris* (L.) (tomilho) no controle de *S. zeamais* em laboratório.

3.2 Material e métodos

Os estudos foram realizados no Laboratório de Ecologia de Insetos, no Departamento de Ecologia, Zoologia e Genética da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Pelotas, RS- Brasil. Os insetos utilizados nos experimentos foram obtidos da criação mantida no laboratório em grãos de milho e colocados em frascos de vidro com abertura de 10 cm de diâmetro e capacidade para 500 mL, envoltos na parte superior com tecido tipo *voil* e fixado com elástico. Para a comprovação da espécie *S. zeamais* foi realizada dissecação da genitália.

3.2.1 Eliminação da infestação e preparação dos grãos de milho (*Zea mays*) L.

Sem ter sofrido nenhum tipo de tratamento os grãos de milho utilizados nos experimentos foram colocados em saco plástico e levados ao freezer sob temperatura de -10 °C, durante sete dias, a fim de evitar qualquer tipo de infestação por insetos originários do campo. Logo após, foram retirados do freezer e acondicionados em frascos de vidro com capacidade de 500 gramas e mantidos no laboratório à temperatura ambiente durante dez dias para que pudessem atingir o equilíbrio higroscópico.

3.2.2 Estabelecimento da criação de *S. zeamais*

Após os grãos de milho alcançarem o equilíbrio higroscópico, estes foram infestados com 100 insetos não sexados, criados em câmara climatizada B.O.D à temperatura de 28 ± 1 ºC, U.R de 65,5 ± 5% e fotofase de 12 h. Os insetos permaneceram confinados durante 15 dias para realizarem a postura e em seguida

foram retirados permanecendo apenas os ovos, até a emergência da geração F1. Efetuou-se este procedimento para garantir o número de insetos necessários para a realização dos experimentos segundo metodologia de (COITINHO et al., 2006).

3.2.3 Obtenção e extração dos óleos essenciais de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) (L.) e tomilho (*Thymus vulgaris*) (L.)

Os botões florais de cravo-da-índia e folhas secas de tomilho foram adquiridos da empresa de Alimentos LUAR SUL localizado no município de Santa Cruz do Sul, RS no ano de 2015. O cravo-da-índia é oriundo de cultivos localizados no sul da Bahia, colhido na safra de setembro à fevereiro, as folhas secas de tomilho foram oriundas de Marrocos e Egito na safra de abril à maio. Os óleo essenciais de cravo-da-índia e de tomilho foram extraídos no Laboratório de Pesquisa em Produtos Naturais (LPPN) do Departamento de Química Orgânica da UFPel. A extração foi realizada por destilação com arraste de vapor d'agua pelo aparelho Clevenger, acoplado a um balão volumétrico de 2000 mL e, como fonte de calor, uma manta de aquecimento. Na extração dos óleos essenciais, foram pesadas 100 gramas da amostra triturada dos botões florais secos do cravo-da-índia e folhas secas de tomilho em um moinho de facas, sendo adicionados 1500 mL de água destilada para cada uma das extrações. Em seguida, ajustou-se a temperatura da manta elétrica em 100 ºC.

Após 4 h de destilação, recolheu-se o óleo essencial de cada amostra vegetal. Os óleos foram centrifugados por três minutos e logo foram secos com sulfato de sódio anidro. Posteriormente as amostras foram armazenadas em vidros âmbar envolvidos por papel alumínio para proteção contra a luz e devidamente vedados, mantidos em freezer sob temperatura de -14 a -17 ºC para evitar possíveis perdas de constituintes voláteis como descrito por Ascenção; Mouchrek filho (2013).

3.2.4 Metodologia utilizada para a realização da cromatografia dos óleos

A identificação dos óleos essenciais de tomilho e cravo-da-índia foram realizadas em um cromatógrafo a gás acoplado a um detector de massas, modelo GC/MS-QP 2010SE (Shimadzu, Japão) equipado com auto injetor AOC-20i.

A separação dos compostos foi em coluna capilar RTX-5MS (Restek, USA) com dimensões de 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm nas seguintes condições cromatográficas:

temperatura inicial de 40 °C subindo a 5 °C min^{-1} até 280 ºC, permanecendo nesta temperatura por 10 min; volume injetado: 1 µL; interface: 280 ºC; temperatura do injetor: 280 °C; gás de arraste: hélio; fluxo linear de gás: 1,27 mL min^{-1}; split: 1:10; modo scan; faixa de massa 40 a 700 m/z e voltagem do filamento em 70 eV.

As quantificações foram realizadas por área normatizada e as identificações dos compostos pelo espectro de massas utilizando a biblioteca NIST 8 do GC/MS.

3.2.5 Método de aplicação dos óleos essenciais de cravo-da-índia e tomilho no controle de *S. zeamais*

A unidade experimental constituiu-se de placas de Petri (85 mm x 15 mm) contendo cada uma 10 insetos não sexados, e 20 gramas de milho não tratados, onde estes foram pulverizados com soluções contendo Tween® 20 a 0,5% como diluente/emulsificante misturado ao óleo essencial de cravo-da-índia, repetindo a metodologia para o óleo de tomilho para cada experimento nas concentrações de: 0,25; 0,5, 0,75, 1,25; 2,5; 5,0; 10 e 20%. Além das concentrações citadas acima, realizou-se tratamentos somente com Tween® 20% e testemunha tratada com água destilada para ambos os ensaios. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com o total de 10 tratamentos e quatro repetições. As placas contendo milho foram infestadas com insetos tendo idades entre 15 a 20 dias. Logo após, foram vedadas com Parafilm® e acondicionadas em câmara climatizada B.O.D. com temperatura entre 28 °C ± 1 °C, U.R. de 65 ± 5% e fotofase de 12 h.

As avaliações foram realizadas observando a sobrevivência dos insetos nos tratamentos na primeira, segunda, terceira, 12 h e a cada 24, 48, 72, 96 h após a liberação dos insetos nas placas.

O gênero *Sitophilus* sp. apresenta como comportamento característico a tanatose – comportamento do inseto que se finge de morto. A partir deste comportamento foram considerados mortos os insetos que não apresentaram movimentos durante dois minutos segundo metodologia descrita por Antunes et al. 2013.

3.2.6 Análise dos dados

Para avaliação da eficiência dos óleos foi utilizada a Equação de Abbott (1925) através do parâmetro Eficiência de controle (EC%) onde:

$$E\% = \frac{T - Tr}{T} x100$$

Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo Teste de Tukey ($p \leq 0,01$), utilizando o software Assistat® versão 7.7 beta (2015).

A determinação da Concentração Letal média (CL_{50}) foi efetuada mediante a utilização do programa computacional Ace (versão 2.0) para ambos os óleos.

3.3 Resultados e discussão

3.3.1 Avaliação dos compostos químicos presentes no óleo essencial de *S. aromaticum*

Ao utilizar a cromatografia gasosa obteve-se a separação de 11 componentes químicos presentes no óleo essencial de cravo-da-índia (*S. aromaticum*). Porém, foram identificados somente cinco compostos (picos 7, 8, 9, 10 e 11) (Figura 1).

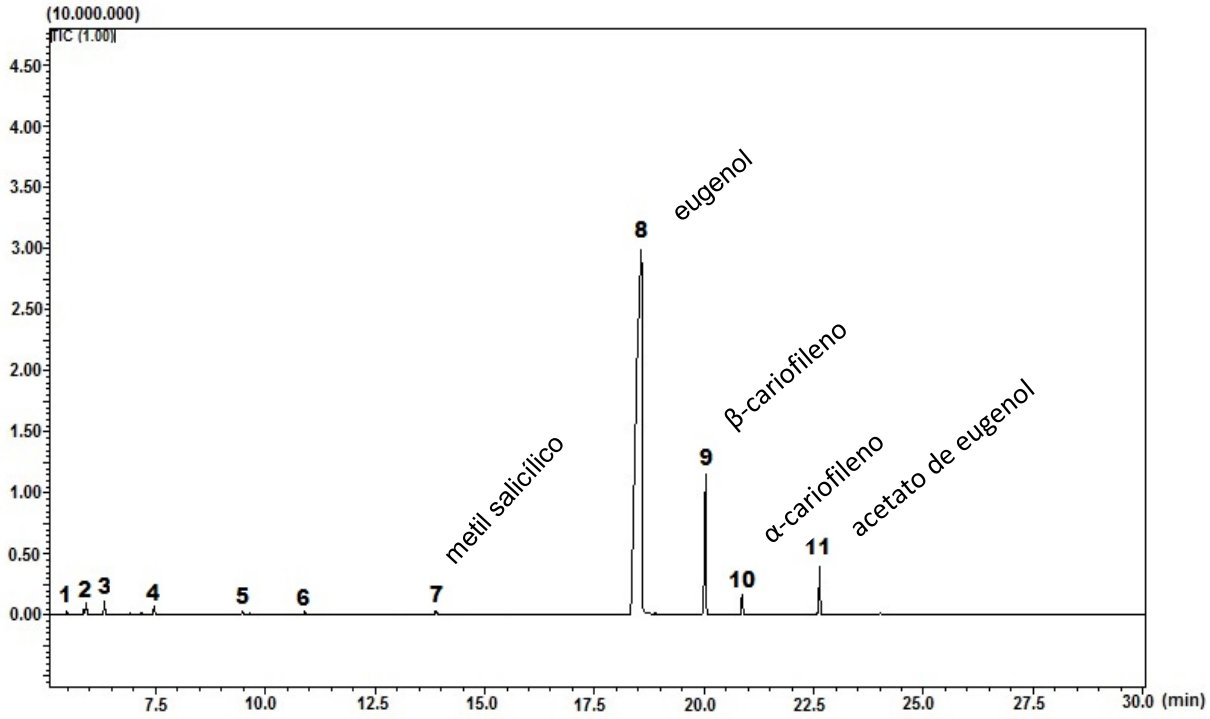

Figura 1. Representação dos picos dos compostos presentes no óleo essencial de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) obtidos a partir dos botões florais secos, realizada por cromatografia GC/MS-QP 2010SE. Componentes dos picos 1, 2, 3, 4, 5 e 6 não foram identificados.

Tabela 1. Porcentagens dos componentes químicos presentes no óleo de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) em função do tempo de retenção realizado através de cromatografia gasosa.

Picos	**Compostos**	**Tempo de retenção**	**Área**	**Altura**	**Concentração (%)**
1	ND	5,48	428313	254129	0,13
2	ND	5,92	1670284	974641	0,52
3	ND	6,34	1918509	1084778	0,60
4	ND	7,47	1392526	729078	0,43
5	ND	9,48	702021	314076	0,22
6	ND	10,90	567709	263157	0,18
7	metil salicílico	13,88	1096382	461361	0,34
8	eugenol	18,57	267928994	29851479	83,59
9	*β*-cariofileno	20,03	31300733	11473451	9,77
10	*α*-cariofileno	20,86	3913502	1575264	1,22
11	acetato de eugenol	22,63	9597595	3854999	2,99

Fonte: Laboratório de Lipidômica e Bio-orgânico do Departamento de Química Orgânica da UFPel; Pelotas, RS.
ND – Não identificado

Pode-se constatar que o componente majoritário apresentado pela cromatografia foi o eugenol com concentração de (83,59%) representado no (pico 8), o segundo composto foi o *β*-cariofileno com (9,77%) (pico 9), em terceiro o composto acetato de eugenol com (2,99%) (pico 11), o quarto foi *α*-cariofileno com (1,22%) (pico 10) e o último componente identificado foi o metil salicílico com (0,34%) (pico 7), embora este composto tenha sido identificado ele não foi o quinto mais abundante na composição química do óleo em estudo (Figura 1).

Jairoce et al. (2016) avaliaram também a composição química do óleo extraído de botões florais secos de cravo-da-índia verificaram o eugenol como componente

majoritário com concentração de (62,72%), menor que a concentração obtida no presente trabalho que foi de (83,59%). Além do eugenol, identificaram os compostos: acetato de eugenol (15,97%) e *α*-cariofileno (2,84%) ambos com teores de concentração maiores dos encontrados neste estudo (Tabela 1). Comparando os mesmos componentes citados acima, o tempo de retenção destes diferiram de Jairoce et al. (2016) os quais observaram menor tempo de retenção na análise cromatográfica quando comparados aos obtidos neste trabalho.

A parte da planta utilizada neste estudo foram os botões florais secos para a extração do óleo essencial de cravo-da-índia e de acordo com Oliveira et al. (2009) ao avaliarem botões florais secos de cravo-da-índia obtiveram 88,38% de eugenol valor aproximado ao encontrado neste estudo 83,59% (Tabela 1).

A planta *S. aromaticum* apresenta diversas aplicações na área da saúde além das atividades antifúngicas e inseticidas. Portanto, esses resultados estão de acordo com diversos autores, que afirmam a presença do eugenol como componente majoritário do óleo essencial cravo-da-índia (AFFONSO et al., 2012).

3.3.2 Avaliação dos compostos químicos presentes no óleo essencial de *Thymus vulgaris*

Ao utilizar a cromatografia gasosa obteve-se a separação de 23 componentes químicos presentes no óleo essencial de tomilho [*Thymus vulgaris*) (L.)]. Porém, quatro compostos não foram identificados (picos 1, 2, 5 e 22) (Figura 2).

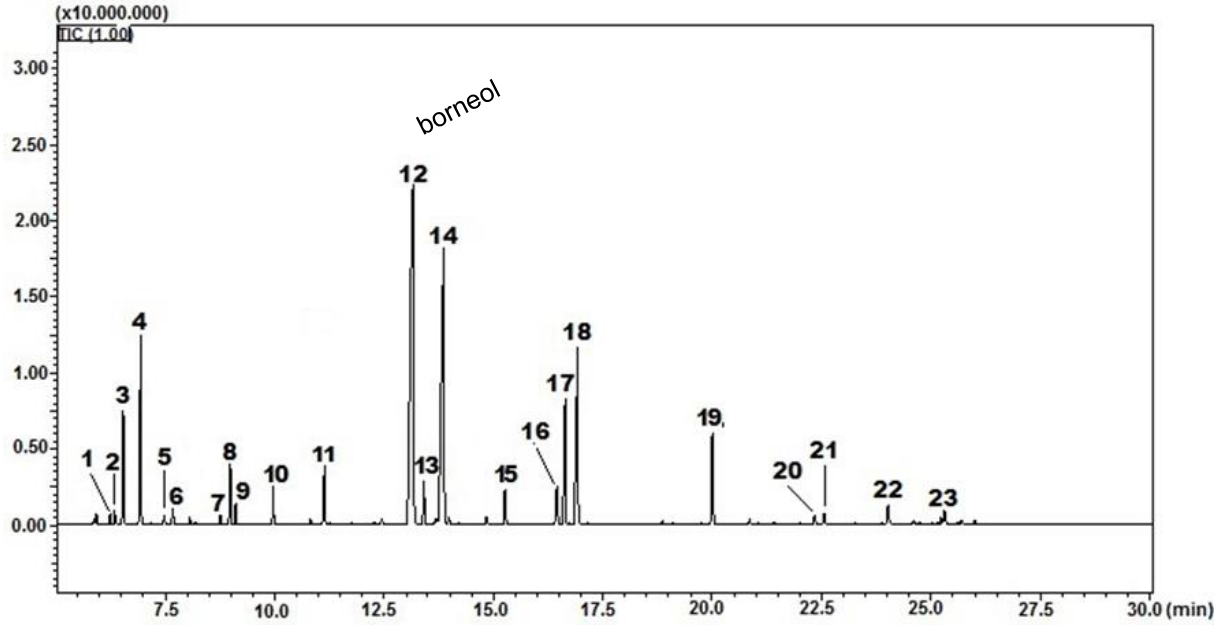

Figura 2. Representação dos picos dos compostos presentes no óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris*) obtidos a partir das folhas secas da planta, realizada por cromatografia GC/MS-QP 2010SE. Pico 12: componente majoritário borneol.

Na análise cromatográfica do óleo essencial de tomilho foram identificados a maioria dos compostos, porém os não identificados puderam ser quantificadas as suas concentrações. Diante disso, pode-se perceber que o componente majoritário apresentado pela cromatografia foi o borneol com (31,34%) (pico 12), outros componentes também foram identificados em concentrações significativas *α* – terpineol (20,98%) (pico 14), carvacrol (9,85%) (pico18), canfeno (6,90%) (pico 4), timol (5,84%) (pico 17), cariofileno (4,29%) (pico 19) e o α –pineno (3,95) (pico 3) (Figura 2).

Borges et al. (2012) ao analisarem óleos essenciais obtidos de plantas secas e frescas de alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.), orégano (*Origanum vulgare* L.) e tomilho (*T. vulgaris*) verificaram para o óleo de tomilho fresco três picos na cromatografia com concentração do borneol de 66,66%, timol 13,41% e linalol 3,24%, já para o tomilho seco comercial o borneol foi reduzido para 37,90%, o timol aumentou para 20,61% e o linalol 10,34%. Desta forma, comparando-se os resultados obtidos por estes autores com os resultados da análise cromatográfica do tomilho, as concentrações dos componentes borneol e timol foram inferiores no presente estudo.

Segundo Jakiemiu et al. (2010), quando avaliaram a composição do óleo de tomilho fresco obtiveram como componente majoritário o timol com 55,25%, *p*-cimeno com 21,17% e *y*-terpineno com 7,17% as concentrações dos compostos timol e *y*-terpineno encontradas pelos autores foram superiores as encontradas no presente estudo.

Silva et al. (2015b) constataram como componente majoritário no óleo essencial de *T. vulgaris* o borneol, com porcentagem de 40,6% aproximada da encontrada no presente estudo e o *α*-repineol com 19,9%, no qual este pode ser um dos componentes não identificados, porém pode ter sido quantificado na Tabela 2.

Os compostos encontrados no óleo de tomilho *α*–terpineol, *β* –linalol, carvacrol e timol são relatados por Tong e Coats (2010) como compostos com ação inseticida sobre a barata doméstica *Periplaneta americana* (L.) os últimos componentes citados exercem função inibitória sobre micro-organismos como bactérias e fungos (REDDY et al., 1998; ESSAWI; SROUR, 2000). Desta forma, o óleo de tomilho é uma fonte

promissora para o controle de pragas que atacam os grãos armazenados, além de deterem a atividade inseticida, possuem atividade antimicrobiana.

Portanto, ao realizar a cromatografia gasosa pode-se conhecer a maioria dos compostos que estão presentes nos óleos essenciais bem como o componente majoritário. Através destes resultados pode-se incentivar estudos mais aprofundados para que estas e outras plantas sejam valorizadas pelo seu potencial biológico no controle de pragas de grãos armazenados.

Tabela 2. Porcentagens dos componentes químicos presentes no óleo de tomilho em função do tempo de retenção realizado através de cromatografia gasosa.

Pico	Composto	Tempo de retenção	Área	Altura	(%)
1	ND	6,23	1153688	652045	0,32
2	ND	6,34	2214315	969531	0,62
3	α -pineno	6,54	14130091	7419861	3,96
4	canfeno	6,93	24628193	12450619	6,90
5	ND	7,47	1183340	600902	0,33
6	β -pineno	7,67	2064230	1053921	0,58
7	α -terpineno	8,76	1199142	612994	0,34
8	orto cimeno	8,98	7911573	4067790	2,22
9	limoneno	9,10	2843043	1376390	0,80
10	γ -terpineno	9,96	5243361	2550909	1,47
11	β -linalol	11,13	8687131	3912705	2,43
12	borneol	13,16	111813906	22643858	31,34
13	4 - terpineol	13,40	6529027	2874568	1,83
14	α -terpineol	13,85	74853905	18107033	20,98
15	timol metil ester	15,26	5306390	2298798	1,49
16	acetato de borneol	16,44	6757087	2438115	1,89
17	timol	16,63	20842183	8264544	5,84
18	carvacrol	16,91	35160977	11785531	9,85
19	cariofileno	20,00	15307253	6007001	4,29
20	γ - cadineno	22,33	1434155	561097	0,40
21	∆- cadineno	22,55	1782665	685254	0,50
22	ND	24,01	3250341	1216850	0,91
23	γ - muuroleno	25,30	2537429	889282	0,71

Fonte: Laboratório de Lipidômica e Bio-orgânico do Departamento de Química Orgânica da UFPel, Pelotas, RS.
ND – Não identificado

3.3.3 Eficiência do óleo essencial de cravo-da-índia sobre *S. zeamais*

Ao utilizar o óleo essencial de cravo-da-índia, pode-se perceber comparando-se as concentrações dentro de cada período, não foram eficientes os tratamentos de 0,25; 0,50; 0,75; 1,25; 2,5% de óleo. Assim como, o tratamento com Tween® 20 e testemunha até às 96 h (Figura 3).

Durante o estudo foi observado que logo após a aplicação dos tratamentos a 5, 10 e 20% os insetos demonstraram agitação no comportamento, com o deslocamento dos indivíduos para as bordas das placas de Petri, demonstrando o efeito fumigante do óleo, o mesmo efeito foi observado por Jairoce et al. (2016) quando submeteu *S. zeamais* e *Acanthoscelides obtectus* ao óleo de cravo-da-índia.

O tratamento utilizando a concentração máxima de óleo essencial a 20% mostrou-se bastante eficiente, pois na primeira h observou-se eficiência do óleo de 20% sobre os insetos, e em 24 h obteve-se 100% de eficiência (Figura 3). Smaniotto et al. (2010) utilizando a mesma alíquota de 10% do óleo essencial de *Cabralea canjerana* (Vell) Mart., obtiveram 70% de eficiência no controle de *A. obtectus*.

Pode-se verificar que a eficiência do tratamento sobre os insetos aumentou conforme o aumento das concentrações de 5; 10 e 20% de óleo (Figura 3).

O efeito inseticida causado pelo óleo de cravo-da-índia sobre os adultos de *S. zeamais* no presente trabalho, foi confirmado em estudo realizado por Soares et al. (2011), constataram o eugenol como componente majoritário deste óleo e quando utilizaram a concentração de 5% obtiveram 80% de eficiência sobre lagartas desfolhadoras pertencentes a espécie *Thyrinteina arnobia* (Stoll) (Lepidoptera: Geometridae), e na concentração de 10% de óleo obtiveram 100% de mortalidade.

A atividade inseticida do óleo de cravo-da-índia vem sendo testada em diferentes concentrações e com diferentes espécies de insetos, a bioatividade demonstrada neste estudo foi corroborada por Paranhos et al. (2005), ao avaliar o efeito inseticida deste óleo sobre *Zabrotes subfasciatus* (Boheman, 1833), constataram efeito inseticida causando a mortalidade destes, como também verificaram uma diminuição na oviposição.

Foi observado no presente estudo, nenhum acasalamento entre os insetos como também nenhum inseto se alimentando dos grãos que foram tratados, Procópio et al. (2015) ao analisarem as implicações que o consumo de extrato aquoso das folhas de *Tradescantia spathacea* Sw. pode influenciar na sobrevivência e fisiologia nutricional de insetos adultos de *S. zeamais*, verificaram que, quando estes insetos ingerem substrato alimentar contendo este extrato acabam sofrendo distúrbio nutricional quando submetidos as concentrações de 28,8; 43,2; 57,6 e 72,0 mg (mg de extrato/g de farinha de trigo) causando efeito negativo na reprodução e no tempo de vida dos insetos.

Isto pode ser explicado pela presença de compostos secundários como o componente majoritário eugenol que pode ser de alguma forma impalatável para os insetos (HUANG; CHEN; HO, 2000).

Avaliando a eficiência do óleo essencial da planta *Cunila angustifolia* Bentham, sobre adultos de *S. zeamais*, Savaris et al. (2014) observaram eficiência de 100% do óleo sobre os insetos após 24 h de tratamento nas concentrações de 0,04; 0,08 e 0,16ml, demonstrando similaridade com este trabalho com relação ao tempo de exposição aos tratamentos que também foi obtido 100% de eficiência após 24 h da aplicação (Figura 3).

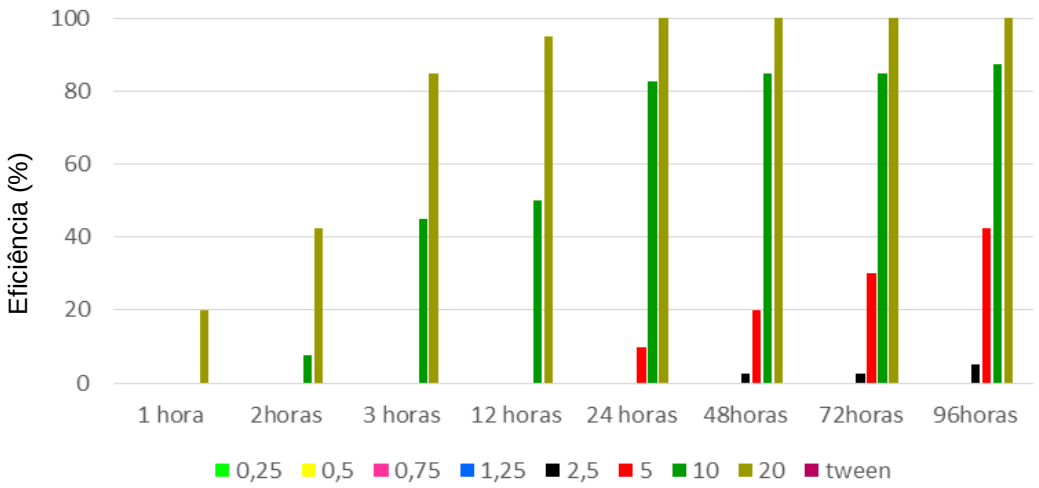

Figura 3. Eficiência (%) do óleo de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) sobre insetos de gorgulho-do-milho (*Sitophilus zeamais*) em laboratório.

Quando comparados os períodos de exposição pode-se observar que não houve diferença significativa nos tratamentos na primeira h de ensaio. Porém na segunda, terceira e 12 h após a aplicação, houve diferença significativa, observando-se queda da sobrevivência dos insetos nas concentrações de 10 e 20%. Analisando os tratamentos no período de 24 h na alíquota de 20%, não foi verificada sobrevivência dos insetos, revelando que o fator tempo é essencial para explicar o efeito dos tratamentos pois, há variação na mortalidade ao longo do tempo (Tabela 3).

Ao longo dos períodos de 72 e 96 h, ocorreram diferenças significativas entre os tratamentos de 5; 10 e 20% comparadas a testemunha que manteve 100% da sobrevivência dos espécimes (Tabela 3). Em estudos realizados por Coitinho et al. (2006) com óleos essenciais no controle de *S. zeamais*, demonstraram que os óleos de *Eucaliptus globulus* Labill, *Syzygium aromaticum*, *Lippia gracillis* Schauer e *Azadirachta indica* na dose de 50µL $20g^{-1}$ apresentaram nível de toxicidade aguda, causando 100% de mortalidade nos insetos adultos em grãos de milho.

Tabela 3. Média de insetos vivos ± Erro padrão (EP) de *Sitophilus zeamais* quando expostos a diferentes concentrações do óleo essencial de cravo-da-índia em grãos de milho ao longo de 96 h em condições de laboratório. Temperatura de 28°C± 1°C, UR de 65%±5% e fotofase de 12 h.

	Horas							
Tratamentos	1h	2h	3h	12h	24h	48h	72h	96h
0,25%	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA
0,50%	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA
0,75%	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA
1,25%	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA
2,5%	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	9,7±0,0aA	9,7±0,0aA	9,5±0,0aA
5%	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	9,0±0,0aB	8,0±0,0bB	7,0±0,1bC	5,7±0,1bD
10%	10,0±0,0aA	9,2±0,0aA	5,5±0,3bB	5,0±0,0bB	1,7±0,0bC	1,5±0,0cC	1,5±0,0cC	1,2±0,0cC
20%	8,0±0,0bA	5,7±0,1bB	1,5±0,3cC	0,5±0,0cD	0,0±0,0cD	0,0±0,0dD	0,0±0,0dD	0,0±0,0dD
Tween 0,5%	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA
Testemunha	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA
Coeficiente de variação (%) 6,41								

Médias seguida pela mesma letra, (minúscula) na linha e (maiúscula) na coluna não diferiram estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 1%.

3.3.4 Eficiência do óleo essencial de tomilho sobre *S. zeamais*

Nos ensaios aplicados com o óleo essencial de tomilho (*T. vulgaris*) (Figura 4) para o controle de *S. zeamais* observou-se assim como nos experimentos realizados com o cravo-da-índia, que as concentrações mais baixas de 0,25; 0,50; 0,75; 1,25; 2,5% não foram eficientes, bem como os tratamentos com Tween® 20 a 0,5% e testemunha, não foi observado nenhum efeito sobre os insetos.

Somente a partir das 48 h do início do ensaio que o óleo de tomilho a 5% começou a causar efeitos letais sobre *S. zeamais* com eficiência de 15% chegando ao final das 96 h a 27,5% de eficiência (Figura 4).

As concentrações de 10 e 20% de óleo de tomilho foram eficientes 100% sobre os insetos nos períodos de exposição 96 e 72 h (Figura 4) após a aplicação, respectivamente. Estes resultados corroboram com os de Rahman e Schmidt (1999) em experimento utilizando óleo essencial de *Acorus calamus* (L.) (Acoraceae) no controle de *Callosobruchus phaseoli* (Gyllenhal, 1833), os quais também observaram um aumento na mortalidade conforme período de exposição.

A capacidade inseticida do óleo essencial de tomilho, foi verificada em trabalho realizado por Ahmed e El-Salam (2010) ao avaliarem a toxicidade dos óleos essenciais de sete plantas, aplicados por meio de fumigação, com a intenção de controlar *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae), e observaram que os óleos destas plantas foram 100% eficientes no controle de *C. maculatus* quando utilizadas nas concentrações de 8,0; 16,0; e 16,0 µL / 50 mL ar, respectivamente, e expostos por 24 h.

Quando testaram a ocorrência de não-preferência em ensaios com e sem chance de escolha para alimentação da lagarta-do-cartucho-do-milho *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) frente aos óleos essenciais de *T. vulgaris* e *Achillea millefolium* L., o óleo de tomilho demonstrou ser repelente para a lagarta nos dois testes com e sem chance de escolha (CASTRO et al., 2006).

Ao investigar a atividade de repelência de dois monoterpenóides, timol (que está presente no óleo de tomilho) e o mentol, e dois derivados de ácidos benzóicos, ácido salicílico e salicilato de metila sobre imaturos (larvas) de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) constataram que o timol, causou repelência e ação tóxica nas larvas desta espécie (NOVELINO; DAEMON; SOARES, 2007).

O mesmo pode ser observado neste trabalho, pois o óleo de tomilho foi tóxico para os indivíduos de *S. zeamais* causando 100% de eficiência 72 h após o tratamento na concentração de 20%.

Plantas de Lamiaceae proporcionam ferramentas de estudos futuros quanto aos seus compostos químicos, os quais podem ser utilizados no controle de insetos-praga (Savaris et al., 2014).

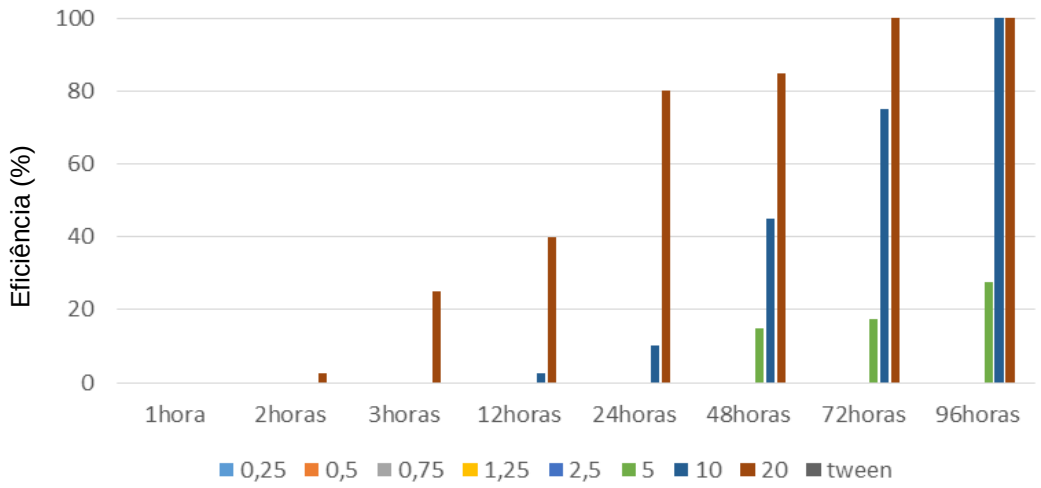

Figura 4. Eficiência (%) do óleo de tomilho (*Thymus vulgaris*) sobre adultos de gorgulho-do-milho (*Sitophilus zeamais*) em laboratório.

Ao avaliaram a atividade inseticida do óleo essencial de *Tagetes patula* L. sobre *S. zeamais* Restello; Menegatt e Mossi (2009) observaram que a concentração de 0,12% de óleo, teve efeito inseticida sobre os espécimes. Diferentemente deste autor, não foi constatada interferência na sobrevivência dos insetos na concentração de 0,25% do óleo de *T. vulgaris*, que foi a menor alíquota utilizada no presente estudo.

Szczepanik; Zawitowska e Szumny, (2012) avaliaram a atividade inseticida do óleo essencial *T. vulgaris* na forma pura de seus componentes timol e carvacrol sobre larvas em diferentes estágios de *Alphitobius diaperinus* Panzer concluíram que os efeitos inseticidas causados dependem do estágio larval e da concentração utilizada. Assim, utilizando 1% do óleo de tomilho, do composto timol e do carvacrol obtiveram eficiência de 50,0; 86,67 e 85%, respectivamente, já para a concentração de 2% a eficiência foi de 62,5, 91,67 e 97,5%, onde mostrou-se que as larvas mais jovens sofreram efeitos no crescimento quanto expostas aos compostos puros.

Comparando os períodos de exposição pode-se observar assim como no tratamento com óleo de cravo, que não ocorreram diferenças significativas em todas as concentrações na primeira e segunda h. Para a terceira h apenas na concentração de 20% diferiu das demais. Nos períodos de 12 e 24 h houve diferença significativa, nas concentrações de 10 e 20% observando-se queda na sobrevivência dos insetos ao longo das h.

No período das 48 h, as concentrações de 5, 10 e 20% diferiram entre elas, sendo que na concentração de 20% houve queda na média dos insetos vivos. Após 72 h de tratamento as menores sobrevivência foram verificadas nas concentrações de 5, 10 e 20%, entretanto na concentração de 20% não havia mais insetos vivos. Pode-se observar que após às 96 h de tratamentos as concentrações de 5, 10 e 20% diferiram entre si, sendo que no tratamento a 10% de óleo a sobrevivência foi zero. (Tabela 4).

Tabela 4. Média de insetos vivos ± Erro padrão (EP) de *Sitophilus zeamais* quando expostos a diferentes concentrações do óleo essencial de tomilho ao longo de 96 h em condições de laboratório. Temperatura de 28°C± 1°C, UR de 65%±5% e fotofase de 12 h.

	Horas							
Tratamentos	1h	2h	3h	12h	24h	48h	72h	96h
0,25%	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA
0,50%	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA
0,75%	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA
1,25%	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA
2,5%	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA
5%	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	8,5±0,0bB	8,2±0,0bC	7,2±0,0bC
10%	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	9,7±0,0aA	9,0±0,0aA	5,5±0,0cB	2,5±0,1cC	0,0±0,0cD
20%	10,0±0,0aA	9,7±0,0aA	7,5±0,0bB	6,0±0,0bC	2,0±0,0bD	1,5±0,0dD	0,0±0,0dE	0,0±0,0cE
Tween 0,5%	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA
Testemunha	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA
Coeficiente de variação (%) 5,41								

Médias seguida pela mesma letra, (minúscula) na linha e (maiúscula) na coluna não diferiram estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 1%.

3.3.5 Determinação da concentração letal (CL_{50}) do óleo essencial de cravo-da-índia e tomilho no controle de *S. zeamais*

Os resultados da Tabela 5 demonstraram que após 96 h a concentração letal média que causou a mortalidade de 50% dos insetos submetidos ao óleo de cravo-da-índia foi de 69,56 µL mL^{-1} o que representa uma alíquota de 6,56% de óleo, com limite inferior de 61,1 µL mL^{-1} equivalente a 5,76% e limite superior de 78,02 µL mL^{-1} equivalente a 7,36% com Intervalo de confiança de 95% (95% IC).

Para o óleo de tomilho os resultados da CL_{50} demonstraram que após 96 h a concentração letal média que causou a mortalidade de 50% dos insetos foi de 88,0 µL mL^{-1} com limite inferior de 78,59 µL mL^{-1} e limite superior de 97,41 µL mL^{-1} com Intervalo de confiança de 95% (95% IC). A concentração de óleo indicada para causar a mortalidade de 50% dos insetos corresponde a porcentagem de 8% de óleo de tomilho.

Ambos os óleos de cravo-da-índia e de tomilho apresentaram CL_{50} calculadas no presente estudo com valores superiores das encontradas por Estrela et al. (2006) onde constataram que ao utilizar os óleos das espécies *Piper aduncum* (Linnaeus, 1753) e *Piper hispidinervum* apresentam efeitos de toxicidade para indivíduos adultos de *S. zeamais*, com CL_{50} de 0,56 e 1,32 µL por 20 g em grãos de milho respectivamente.

Ainda, Araújo (2014) ao realizar experimentos de contato, ingestão e fumigação utilizando o óleo de *P. hispidinervum* para o controle de *S. zeamais* obteve também valores inferiores do presente estudo, pois a toxicidade da CL_{50} obtida pelo autor foi de 5,12 µL 40 g^{-1} de milho.

Portanto, baseado no cálculo da CL_{50} e no Intervalo de Confiança para ambos os óleos, para matar 50% dos insetos adultos de *S. zeamais* o óleo de cravo-da-índia é o mais indicado (Tabela 5).

Tabela 5. Concentração letal (CL_{50}) dos óleos essenciais de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) e tomilho (*Thymus vulgaris*) necessária para matar 50% dos adultos de *S. zeamais* aplicados em grãos de milho 96 h após de tratamento.

Óleo essencial	**Concentração**	**Mortalidade acumulada (%) 96 h**	**Concentração letal (CL_{50}) (95% IC) após 96 h**
Cravo-da-índia *Syzygium aromaticum*	0,25%	0	69,56 (61,1 – 78,02) µL mL^{-1}
	0,5%	0	
	0,75%	0	
	1,25%	0	
	2,5%	5	
	5%	42,5	
	10%	87,5	
	20%	100	
	Tween® 20	0	
Tomilho *Thymus vulgaris*	0,25%	0	88,0 (78,59 – 97,41) µL mL^{-1}
	0,5%	0	
	0,75%	0	
	1,25%	0	
	2,5%	0	
	5%	27,5	
	10%	100	
	20%	100	
	Tween® 20	0	

IC- Intervalo de confiança

3.4 Conclusões

O composto majoritário presentes no óleo de cravo-da-índia é o componente químico eugenol, e o borneol para o óleo de tomilho.

Logo após às 24 h de tratamento o óleo de cravo-da-índia na concentração de 20% foi eficiente 100% no controle de *S. zeamais*.

O óleo de tomilho na concentração de 20% após 72 h foi eficiente 100%, assim como na concentração de 10% após 96 h de tratamento.

A concentração letal média (CL_{50}) de óleo para causar a mortalidade de 50% dos insetos corresponde a 69,56 µL mL^{-1} do óleo de cravo-da-índia e 88,0 µL mL^{-1} de óleo de tomilho.

Capítulo 2 – Eficiência dos óleos essenciais de *Syzygium aromaticum* e *Thymus vulgaris* (L.) no controle de *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae)

4.1 Introdução

A qualidade dos grãos armazenados pode ser afetada pela ação de diversos fatores. Entre estes, destacam-se os insetos da espécie *Tribolium castaneum* (Herbst, 1797), popularmente conhecidos como “carunchos”, são pragas secundárias, causam prejuízos aos produtos moídos como cereais, rações, chocolate, frutos secos, produtos farináceos e grãos armazenados que não estão íntegros, e já foram atacados por pragas primárias (ATHIÉ; PAULA, 2002; LORINI et al., 2010).

Segundo Pedersen (1992), não só a parte física dos grãos é afetada, mas os excrementos liberados por estes insetos afetam o produto final causando mau cheiro tornando-os inutilizáveis para fins culinários.

O controle químico sintético com produtos de diferentes classes toxicológicas é o método mais utilizado contra pragas de armazenamento, porém o uso intensivo pode ocasionar diversos problemas como, o surgimento de resistência entre os insetos, acúmulo de resíduos tóxicos nos alimentos, contaminação do ambiente e aos aplicadores caso não estejam com equipamentos de segurança individual. (VENDRAMIM; THOMAZINI, 2001; MENEZES, 2005).

A aplicação de óleos essenciais extraídos de plantas tem sido eficaz no controle de insetos-praga. As plantas apresentam compostos químicos que são

metabólitos secundários com ações diferentes sobre diversos organismos, algumas espécies de plantas são utilizadas para controle de insetos como agentes para repeli-los ou atrair predadores naturais (GALLO et al., 2002).

O nível de toxicidade dos óleos essenciais das plantas sobre os insetos-praga de grãos armazenados é devido à composição química, a qual depende do recurso vegetal, estação do ano, condições ecológicas, métodos e tempo de extração, e parte da planta utilizada (LEE et al., 2004).

Desta forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar o potencial inseticida dos óleos essenciais de *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia) e *Thymus vulgaris* (tomilho) no controle do besouro castanho *T. castaneum*.

4.2 Material e métodos

Os estudos foram desenvolvidos no Laboratório de Ecologia de Insetos, no Departamento de Ecologia, Zoologia e Genética da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Pelotas, RS- Brasil. Os insetos utilizados nos experimentos foram obtidos da criação mantida no laboratório e identificados a partir da morfologia do inseto comparada com literatura especializada.

4.2.1 Criação dos insetos

Os insetos foram mantidos em substrato contendo farinha de trigo e grãos de arroz quebrados. Os insetos foram peneirados a fim de obter as larvas e posteriormente foram inoculadas em recipientes de vidro com capacidade para 550 gramas com o mesmo substrato farináceo até a emergência dos adultos para serem utilizados nos ensaios.

4.2.2 Extração dos óleos essenciais de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) (L.) e tomilho (*Thymus vulgaris*) (L.)

Os botões florais de cravo-da-índia e folhas secas de tomilho foram adquiridos da empresa de Alimentos LUAR SUL localizado no município de Santa Cruz do Sul, RS no ano de 2015. O cravo-da-índia é oriundo de cultivos localizados no sul da Bahia, colhido na safra de setembro à fevereiro, as folhas secas de tomilho foram oriundas do Marrocos e Egito na safra de abril à maio.

Os óleo essenciais de cravo-da-índia e de tomilho foram extraídos no Laboratório de Pesquisa em Produtos Naturais (LPPN) do Departamento de Química Orgânica da UFPel. A extração foi realizada por destilação com arraste de vapor d'agua pelo aparelho Clevenger, acoplado a um balão volumétrico de 2000 mL e, como fonte de calor, uma manta de aquecimento. Na extração dos óleos essenciais, foram pesadas 100 gramas da amostra triturada dos botões florais secos do cravo-da-índia e folhas secas de tomilho em um moinho de facas, sendo adicionados 1500 mL de água destilada para cada uma das extrações.

Em seguida, ajustou-se a temperatura da manta elétrica em 100 ºC. Após 4 h de destilação, recolheu-se o óleo essencial de cada amostra vegetal. Os óleos foram centrifugados por três minutos e logo foram secos com sulfato de sódio anidro. Posteriormente as amostras foram armazenadas em vidros âmbar envolvidos por papel alumínio para proteção contra a luz e devidamente vedados, mantidos em freezer sob temperatura de -14 a -17 ºC para evitar possíveis perdas de constituintes voláteis como descrito por (ASCENÇÃO; MOUCHREK FILHO, 2013).

4.2.3 Método de aplicação dos óleos essenciais de cravo-da-índia e tomilho no controle de *T. castaneum*

A unidade experimental constituiu de placas de Petri (85 mm x 15 mm) forradas com papel-filtro no fundo [metodologia adaptada de Restello, Menegatt e Mossi (2009). Os papéis foram pulverizados com soluções contendo Tween® 20 a 0,5% como diluente/emulsificante misturado aos óleos essenciais de cravo-da-índia e de tomilho separadamente para cada experimento nas concentrações de: 0,25%; 0,5%, 0,75%, 1,25%; 2,5%; 5,0%; 10% e 20%. Além das concentrações citadas acima, realizou-se tratamentos somente com Tween® 20% e testemunha tratada com água destilada para ambos os ensaios. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com total de 10 tratamentos e quatro repetições.

Após 3 minutos da aplicação das soluções para que o papel pudesse absorver o líquido, cada placa foi infestada com 10 insetos com idades entre 15 a 20 dias. Logo após, foram vedadas com Parafilm® e acondicionadas em

câmara climatizada B.O.D. com temperatura de 32 ± 1°C, U.R de 65 ± 5% e fotofase de 12 h.

As avaliações foram realizadas observando a sobrevivência dos insetos nos tratamentos na primeira, segunda, terceira, 12 h e a cada 24, 48, 72, 96 h após a liberação dos insetos nas placas.

4.2.4 Análise dos dados

Para avaliação da eficiência dos óleos foi utilizada a Equação de Abbott (1925) através do parâmetro Eficiência de controle (EC%) onde:

$$\mathrm{E\%} = \frac{T - Tr}{\mathrm{T}}\ x\ 100$$

Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo Teste de Tukey ($p \leq 0{,}01$), utilizando o software Assistat® versão 7.7 beta (2015).

A determinação da Concentração Letal média (CL_{50}) foi efetuada mediante a utilização do programa computacional Ace (versão 2.0) para ambos os óleos.

4.3 Resultados e discussão

4.3.1 Eficiência do óleo essencial de cravo-da-índia sobre *T.castaneum*

Utilizando o óleo essencial de cravo-da-índia sobre adultos de *T. castaneum* pode-se observar que não houve eficiência dos tratamentos a 0,25; 0,50; 0,75%; Tween® 20 e testemunha sobre os insetos (Figura 5). Porém, Scariot et al. (2013) utilizando concentração de 0,62% de óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia* no controle de *T. castaneum* em grãos de milho constatou eficiência do óleo sobre os insetos com percentual de 18,7% demonstrando que *T. castaneum* pode ser sensível aos componentes

majoritários encontrados no óleo da planta como: o *β*-pineno (24,6%), germacremo (10,9%) e cadineno (16,6%) mesmo em concentrações baixas do óleo desta planta.

No tratamento utilizando 1,25% de óleo de cravo no período das 96 h observou-se efeito letal sobre os insetos com 25% de eficiência sobre os mesmos. Ainda pode ser observado que no aumento da concentração para 2,5% no período de 96 h a eficiência do óleo de cravo sobre os insetos foi de 30% para este tratamento (Figura 5).

Os efeitos letais do óleo sobre os insetos adultos de *T. castaneum* foram progressivos no tratamento utilizando a concentração de 5% de óleo de cravo-da-índia, pois neste observou-se após o período de 24 h um percentual de eficiência de 35%, chegando às 96 h de tratamento com um total de 75% de eficácia sobre os espécimes.

O ápice de efetividade foi alcançado nos tratamentos com concentrações de 10 e 20% de óleo, quando expostos os insetos nos períodos de 48 e 2 h respectivamente. Almeida et al. (2014) nos ensaios a fim de avaliar a toxicidade do óleo essencial de copaíba (*Copaifera langsdorffii*) Desf. sobre adultos de *T. castaneum*, utilizando o método por contato quando submeteu os insetos a concentração de 10,0% obteve mortalidade de 62,5% somente no período de 72 h.

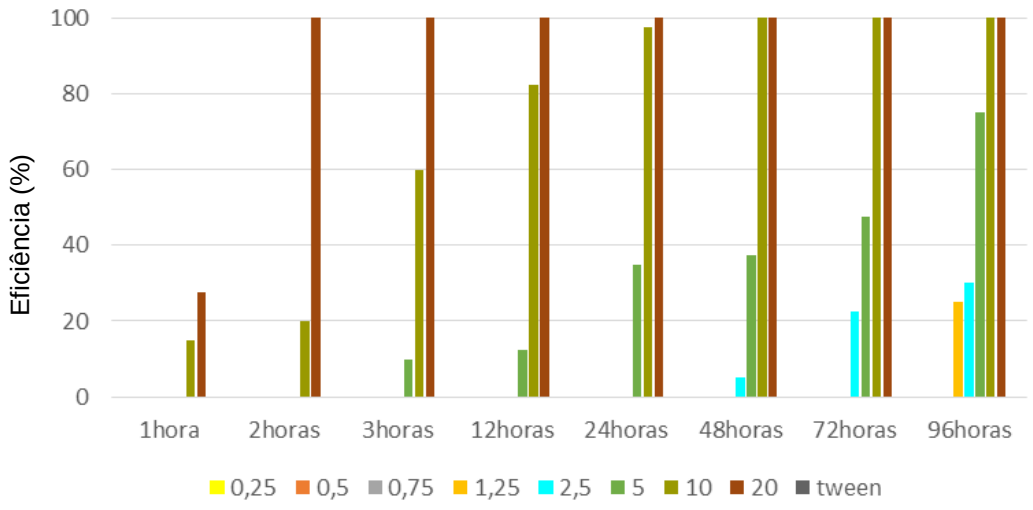

Figura 5. Eficiência (%) do óleo de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) sobre adultos de *Tribolium castaneum* em laboratório.

Quando foram comparados os períodos de exposição observou-se que houve diferença significativa entre os tratamentos de 10 e 20% e estes dos demais nos períodos da primeira, segunda, terceira e 12 h de ensaio (Tabela 6).

Dentro do período de 24 e 48 h houve diferença significativa do tratamento na concentração de 5 % quando comparada aos tratamentos de 10 e 20% assim como também das demais concentrações. Resultados semelhantes ao deste estudo foram encontrados por Girão filho et al. (2014) em relação ao *S. aromaticum*, pois quando testaram a repelência e o efeito inseticida do pó vegetal de cravo-da-índia sobre *Zabrotes subfasciatus* em feijão-fava armazenado obtiveram resultados satisfatórios no controle da praga. Portanto, isso demonstra que o cravo-da-índia pode ser um promissor e eficaz método alternativo no controle dos insetos-praga.

Ao longo do período de 72 h as concentrações de 0,25; 0,50; 0,75; 1,25%; Tween® 20 e testemunha não diferiram entre si. Porém, foram diferentes das demais concentrações. Os tratamentos com alíquotas de 2,5 e 5% tiveram diferença entre si, e das alíquotas de 10 e 20%, nas quais foi percebido que não houve diferença significativa entre as mesmas.

Ao final do experimento, ao longo do período de 96 h pode-se observar a igualdade de eficiência nos tratamentos a 10 e 20% de óleo de cravo-da-índia, pois a taxa de sobrevivência foi nula. Ainda no mesmo período, as concentrações de 2,5 e 5% tiveram diferença significativa entre si e afetaram a sobrevivência dos insetos adultos de *T. castaneum.* Contudo, nem todos os óleos possuem efeito inseticida sobre os insetos Magalhães et al. (2013) não constataram efeitos satisfatórios quando testaram (dosagens menores das utilizadas no presente estudo), o efeito fumigante de óleo essencial da planta *Croton heliotropiifolius* Kunth sobre adultos de *T. castaneum* sem diferenças significativas na mortalidade dos insetos quando foram expostos ao óleo essencial de *C. heliotropiifolius* após 48 h de tratamento.

Tabela 5. Média de insetos vivos ± Erro padrão (EP) de *Tribolium castaneum*, em função das h e de concentrações do óleo essencial de cravo-da-índia aplicadas em papel-filtro durante 96 h de tratamento. Temperatura de 32°C± 1°C, UR de 65%±5% e fotofase de 12 h.

	Horas							
Tratamentos	1h	2h	3h	12h	24h	48h	72h	96h
0,25%	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA
0,50%	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA
0,75%	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA
1,25%	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	7,5±0,2bB
2,5%	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	9,5±0,0aA	7,7±0,0bB	7,0±0,1bB
5%	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	9,0±0,0aA	8,7±0,0aA	6,5±0,0bB	6,2±0,0bB	5,2±0,0cB	2,5±0,0cC
10%	8,5±0,0bA	8,0±0,0bA	4,0±0,0bB	1,7±0,1bC	0,2±0,0cC	0,0±0,0cD	0,0±0,0dD	0,0±0,0dD
20%	7,2±0,0bA	0,0±0,0cB	0,0±0,0cB	0,0±0,0cB	0,0±0,0cB	0,0±0,0cB	0,0±0,0dB	0,0±0,0dB
Tween 0,5%	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA
Testemunha	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA
Coeficiente de variação (%) 9,49								

Médias seguida pela mesma letra, (minúscula) na linha e (maiúscula) na coluna não diferiram estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 1%.

4.3.2 Eficiência do óleo essencial de tomilho sobre *T.castaneum*

Através dos ensaios realizados aplicando óleo de tomilho sobre insetos adultos de *T. castaneum* nas concentrações de 0,25; 0,50; 0,75; 1,25% tratamento com Tween® 20 e testemunha não foi observado efeito letal desde a primeira h até o final das 96 h de tratamento (Figura 6). No entanto, Majdoub et al. (2014) avaliando a composição química do óleos essencial de *Ruta chalepensis* L. e sua atividade inseticida sobre larvas e adultos de *T. castaneum*, verificaram que a concentração de 1,25% de óleo foi suficiente para matar 14% das larvas e 60% adultos, respectivamente após 24 h de exposição ao material vegetal. Fato que pode ser explicado pela presença de componentes majoritários de *R. chalepensis* como os compostos: 2- undecanona (42,15%), 2- nonanona (23,70%) e 1- nonano (14,20%).

Após 96 h de exposição a concentração de 2,5% de óleo de tomilho causou efeito letal nos espécimes com percentual de 20% de eficácia.

Valores acimas de 50% de efetividade do óleo de tomilho foram observados a partir do tratamento com 5% de concentração de óleo, pois obteve-se 57,5 % de eficiência sobre os indivíduos de *T. castaneum* após 96 h de exposição ao tratamento. Já é conhecido na literatura que o período de exposição é um fator relevante para se obter resultados positivos no controle de pragas, pois Ortíz et al. (2012) quando avaliaram o efeito inseticida do pó de *Peumus boldus* Molina For a *T. castaneum* verificaram o aumento da mortalidade dos insetos conforme o aumento do período de exposição do tratamento.

Nas 24 h do início do ensaio a concentração de 10% de óleo causou efeito letal nos insetos com 97,5%. A mesma concentração foram verificadas por Almeida et al. (2014) ao expor insetos adultos de *T. castaneum* ao óleo de copaíba (*Copaifera langsdorffii*) num período de 24 h obteve 36,8% de eficiência, valores que foram inferiores aos obtidos neste trabalho, pois a planta é diferente e talvez seus fitoconstituintes também.

Utilizando a concentração mais elevada do óleo de tomilho na alíquota de 20%, houve eficiência de 100% sobre os insetos após as 96 h.

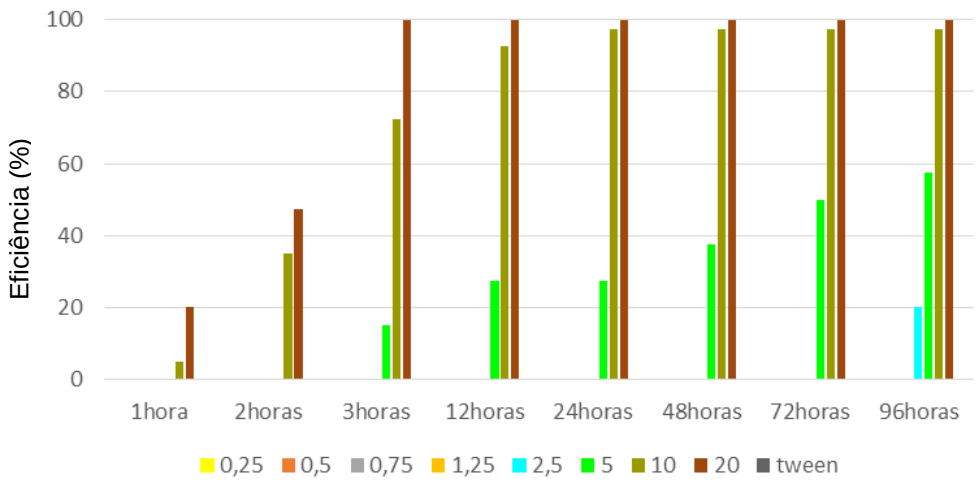

Figura 6. Eficiência (%) do óleo de tomilho (*Thymus vulgaris*) sobre adultos de *Tribolium castaneum* em laboratório.

Ao observar os efeitos do óleo de tomilho entre os períodos em que foram expostos os insetos, pode-se constatar que na primeira h não ocorreram diferenças significativas entre os tratamentos com exceção do tratamento a 20% (Tabela 7).

Na segunda h de tratamento as maiores concentrações de 10 e 20% não diferiram entre si, mas diferindo dos demais tratamentos (Tabela 7).

Durante o período da terceira h os tratamentos de 5, 10 e 20% foram diferentes entre eles, assim como diferentes dos demais tratamentos e no mesmo período os efeitos letais foram de 100% sobre os insetos na maior concentração utilizada. Com concentrações menores Restello, Menegatt e Mossi (2009) ao utilizarem o óleo essencial da planta *Tagetes patula* L. obtiveram também 100% de eficiência deste óleo sobre os insetos adultos de *S. zeamais.*

As diferenças foram significativas durante os períodos de 12, 24, 48 e 72 h entre as concentrações de 5 e 10% de óleo de tomilho, porém Oliveira et al. (2015) com exceção do período de 12 h, quando comparam os períodos de exposição de 24, 48 e 72 h dentro de cada concentração utilizando o extrato de aroeira *Schinus terebinthifolius* Raddi a *T. castaneum* ao contrário não observaram nenhuma diferença significativa entre as concentrações.

No último período das 96 h, ao longo do tratamento as concentrações de 2,5; 5 e 10% diferiram entre si, bem como das concentrações de 0,25; 0,50; 0,75; 1,25% e dos tratamentos com Tween® 20 e testemunha. A sobrevivência foi nula ao final das

96 h de exposição na concentração de 20% de óleo, porém já tinha sido constatada após terceira h de exposição (Tabela 7).

Portanto, a sobrevivência nula descrita acima pode ser atribuída a ação das substâncias contidas nos óleos sobre os insetos que podem ocorrer pela via respiratória (fumigante), pela cutícula (contato) e pelo aparelho digestivo (ingestão) (PRATES; SANTOS, 2000).

Tabela 6. Média de insetos vivos ± Erro padrão (EP) de *Tribolium castaneum*, em função das h e de concentrações do óleo essencial de tomilho aplicadas em papel-filtro durante 96 h de tratamento. Temperatura de 32°C± 1°C, UR de 65%±5% e fotofase de 12 h.

	Horas							
Tratamentos	1h	2h	3h	12h	24h	48h	72h	96h
0,25%	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA
0,50%	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA
0,75%	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA
1,25%	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA
2,5%	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	8,0±0,0bB
5%	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	8,5±0,0bB	7,2±0,0bB	7,2±0,0bB	6,2±0,0bC	5,0±0,1bD	4,2±0,0cE
10%	9,5±0,0aA	6,5±0,0bB	2,7±0,1cC	0,7±0,0cD	0,2±0,0cD	0,2±0,0cD	0,2±0,0cD	0,2±0,0dD
20%	8,0±0,0bA	5,2±0,7bB	0,0±0,0dC	0,0±0,0cC	0,0±0,0cC	0,0±0,0cC	0,0±0,0cC	0,0±0,0dC
Tween 0,5%	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA
Testemunha	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA	10,0±0,0aA

Coeficiente de variação (%) 7,16

Médias seguida pela mesma letra, (minúscula) na linha e (maiúscula) na coluna não diferiram estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 1%.

4.3.3 Determinação da concentração letal (CL_{50}) do óleo de cravo-da-índia e tomilho no controle de *T. castaneum*

Os resultados demonstram que após 96 h a concentração letal média que causou a mortalidade de 50% dos insetos submetidos ao óleo de cravo-da-índia foi de 37,44 µL mL^{-1} o que representa uma alíquota de 3,53% de óleo, com limite inferior de 32,29 µL mL^{-1} equivalente a 3,22% e limite superior de 42,6 µL mL^{-1} equivalente a 4,01% com Intervalo de confiança de 95% (95% IC) (Tabela 8).

Quando calculada a CL_{50} do óleo essencial de tomilho no controle de *T. castaneum* os resultados demonstram que a CL_{50} resultou no valor de 51,67 µL mL^{-1} representando uma alíquota de 4,87%, com limite inferior de 44,55 µL mL^{-1} equivalente a 4,20% e limite superior de 58,79 µl mL^{-1} equivalente a 5,54%.

Comparando a CL_{50} quando avaliou a susceptibilidade 18 populações diferentes de adultos de *T. castaneum* expostos ao óleo essencial de mostarda, ao calcular a CL_{50} para a população de Unaí-II Minas Gerais apresentou a menor CL_{50} com 3,74 µL L^{-1}. No entanto, a população de Piracicaba, São Paulo obteve valor maior na CL_{50} com concentração de 4,66 µL L^{-1}. Assim, observa-se que o autor obteve CL_{50} com valores inferiores quando comparados a CL_{50} obtida no presente estudo (SANTOS, 2009).

Olmedo et al. (2015) quando utilizaram óleo essencial de *Tagetes filifolia* Lag (Asteraceae) apresentou CL_{50} de 2,0 µL mL de água após 72 h de tratamento quando submeteram *T. castaneum* ao óleo desta planta, concluindo que o óleo puro causou efeito tóxico nos insetos comparados aos compostos isolados de anethole e estragole demonstraram CL_{50} de 2,2 e 5,6 µL mL^{-1} de água, respectivamente onde concluíram que a espécie *T. castaneum* foi mais sensível ao óleo de *T. filifolia* do que para os óleos de cravo e tomilho quando comparadas a CL_{50}.

Portanto, baseado no cálculo da CL_{50} e no Intervalo de Confiança para ambos os óleos, para matar 50% dos insetos adultos de *T. castaneum* o óleo de cravo-da-índia é o mais indicado (Tabela 8).

Tabela 7. Concentração letal (CL_{50}) dos óleos essenciais de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) e tomilho (*Thymus vulgaris*) necessária para matar 50% de adultos de *T. castaneum* aplicados em papel filtro 96 h após de tratamento.

Óleo essencial	**Concentração**	**Mortalidade acumulada (%) 96 h**	**Concentração letal (CL_{50}) (95% IC) após 96 h**
	0,25	0	
	0,5%	0	
	0,75%	0	
Cravo-da-índia	1,25%	25	
Syzygium aromaticum	2,5%	30	37,44 (32,29 – 42,6)
	5%	75	µL mL^{-1}
	10%	100	
	20%	100	
	Tween® 20	0	
	0,25%	0	
	0,5%	0	
Tomilho	0,75%	0	
Thymus vulgaris	1,25%	0	51,67 (44,55 – 58,79)
	2,5%	20	µl mL^{-1}
	5%	57,5	
	10%	97,5	
	20%	100	
	Tween® 20	0	

IC- Intervalo de confiança

4.4 Conclusões

O óleo de cravo-da-índia teve eficiência de 100% após a 2ª h de tratamento na concentração de 20% e com mesma eficiência após 48 h a 10% do respectivo óleo essencial.

O óleo de tomilho foi eficiente 100% após a 3ª h de tratamento na concentração de 20% de óleo.

A concentração letal média (CL_{50}) de óleo para causar a mortalidade de 50% dos insetos da espécie *T. castaneum* corresponde a 37,44 µL mL^{-1} de óleo de cravo-da-índia e 51,67 µL mL^{-1} para o óleo de tomilho.

5 Considerações finais

Os inseticidas botânicos contendo os óleos de cravo-da índia ou tomilho são promissores no controle de insetos-praga em grãos.

A maior letalidade encontrada durante os experimentos foi o óleo de cravo-da-índia sobre insetos adultos de *Tribolium castaneum*.

É necessário conhecer os compostos químicos presentes nos óleos e realizar estudos fitoquímicos mais aprofundados para que se possa utilizá-los em larga escala possibilitando o uso destes no controle de pragas de grãos armazenados como método alternativo.

6 Referências

ABBOTT, W.S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v.18, p.265-267, 1925.

ADDOR, R. W. Insecticides. In: GODFREY C. R. A. **Agrochimicals from natural products**. Marcel Dekker, Hong Kong, 1994. p.1-62.

AFFONSO, R. S.; RENNÓ, M. N.; SLANA, G. B. C. A.; FRANÇA, T. C. C. Aspectos químicos e biológicos do óleo essencial de cravo-da-índia. **Revista Virtual de Química**, v. 4, n. 2, p. 146-161, 2012.

AHMED, M. E.; EL-SALAM, A.B.D. Fumigant toxicity of seven essential oils against the cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus* (F.) and the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.). **Egyptian Academic Journal of Biological Sciences**, v. 2, n. 1, p. 1- 6, 2010.

ALENCAR, E. R.; FARONI, L. R. D.; FERREIRA, L. G.; COSTA, A. R.; PIMENTEL, M. A. G. Qualidade de milho armazenado e infestado por *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum.* **Engenharia na agricultura**, v.19, n.1, p. 09-18, 2011.

ALMEIDA, S. A.; ALMEIDA, F. A. C.; SANTOS, N. R.; ARAÚJO, M. E. R.; RODRIGUES, J. P. Atividade inseticida de extratos vegetais sobre *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) (Coleoptera: Bruchidae). **Revista Brasileira Agrociência**, v. 10, n. 1, p. 67-70, 2004.

ALMEIDA, M. Z. de. **Plantas medicinais**. Salvador: EDUFBA, 2011. 221 p.

ALMEIDA, F. A. C.; MELO, B. A.; SILVA, J. F.; SILVA, R. M. da. Emprego do óleo de *Copaifera langsdorffii* no controle de *Tribolium castaneum* (Coleoptera:

Tenebrionidae). In: **Anais XLIII Congresso Brasileiro de Engenharia Agrícola** - CONBEA 2014, Campo Grande- MS, Brasil

ANTUNES, L. E. G.; VIEBRANTZ, P. C.; GOTTARDI, R.; DIONELLO, R. G. Características físico-químicas de grãos de milho atacados por Sitophilus zeamais durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental**, v.15, n. 6, p.615-620, 2011.

ANTUNES, L. E. G.; FERRARI FILHO, E. F.; GOTTARDI, R.; SANT ANA, J.; DIONELLO, R; G. Efeito da dose e exposição à terra de diatomácea de diferentes insetos em milho armazenado. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 80, n. 2, p. 169-176, 2013.

ARAÚJO, S. A. C.; TEIXEIRA, M. F. S.; DANTAS, T. V. M.; MELO, V. S. P.; LIMA, F. E. S.; RICARTE, A. R. F.; COSTA, E. C.; MIRANDA, A. M. Usos potenciais de *Melia azedarach* L. (Meliaceae): um levantamento. **Arquivo Instituto Biológico**, v.76, n.1, p.141-148, 2009.

ARAÚJO, A. M. N. **Toxicidade, efeitos comportamentais e sinergismo de óleos essenciais em *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae)**. 2014. 72 f. Tese (Doutorado em Entomologia Agrícola) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2014.

ASCENÇÃO, V. L.; MOUCHREK FILHO, V. E. Extração, caracterização química e atividade antifúngica de óleo essencial *Syzygium aromaticum* (cravo-da- Índia). **Cadernos de Pesquisa**, v. 20, n. especial, p. 137-144, 2013.

ATHIÉ I.; DE PAULA D. C. **Insetos de Grãos Armazenados**: Aspectos Biológicos e Identificação. 2ª ed. São Paulo: Livraria Varela; 2002. 244 p.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 446–475, 2008.

BANERJEE, S.; PANDA, C. K.; DAS, S. Clove (*Syzygium aromaticum* L.), a potential chemopreventive agent for lung cancer. **Carcinogenesis**, v. 27, n. 8, p. 1645-1654. 2006.

BANKS, H. J.; FIELDS, P. G. Physical methods for insect control in stored-grain ecosystems. In: JAYAS, D.S.; WHITE, N.D.G.; MUIR, W.E. Stored grain ecosystems. New York: Marcell Dekker, 1995. p.353-409

BORGES, A. M.; PEREIRA, J.; CARDOSO, M. G.; ALVES, J. A.; LUCENA, E. M. P. Determinação de óleos essenciais de alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.), orégano (*Origanum vulgare* L.) e tomilho (*Thymus vulgaris* L.). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.14, n.4, p.656-665, 2012.

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.

BROOKER, D. B.; BAKKER-ARKEMA, F. W.; HALL, C. W. Drying and storage of grains and oilseeds. Westport: Springer, 1992. 450p.

CAMPOS, A. C. T. de.; RADUNZ, L. L.; RADÜNZ, A, L.; MOSSI, A, J.; DIONELLO, R. G.; ECKER, S. L. 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.

CARVALHO, G. A.; SANTOS, N. M.; PEDROSO, E. C.; TORRES, A. F. Eficiência do óleo de Nim (*Azadirachta indica*) Juss no controle de *Brevicoryne brassicae* (Linnaeus, 1758) e *Myzus persicae* (sulzer, 1776) (Hemiptera: Aphididae) em couve-manteiga *Brassica oleracea* Linnaeus var. Acephala. **Arquivos Instituto Biológico**, v.75, n. 2, p.181-186, 2008.

CASTRO, D. P.; CARDOSO, M. G.; MORAIS, J. C.; SANTOS, N. M.; BALIZA, D. P. Não-preferência de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) por óleos essenciais de *Achillia millefolium* L. e *Thymus vulgaris* L. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**. v. 8, n. 4, p. 27-32, 2006.

COATS, J. R. Risks from natural versus synthetic insecticides. **Anual Review of Entomology**, v. 39, n. 1, p. 489-515, 1994.

COITINHO, R, L. B. C.; OLIVEIRA, J. V.; GONDIM JUNIOR, M. G. C.; CAMARA, C. A. G. Atividade inseticida de óleos vegetais sobre *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae) em milho armazenado. **Revista Caatinga**, v. 19, n. 2, p. 176-182, 2006.

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

CONAB. 2016. (Companhia Nacional de Abastecimento). **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**: Safra 2015/16 - Quinto levantamento. v. 5, p. 1-182, 2016 Disponível em: http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_02_04_11_21_34_boletim_graos_fevereiro_2016_ok.pdf. Acesso em: 01 março. 2016.

COPATTI, C. E.; MARCON, R. K.; MACHADO, M. B. Avaliação de dano de *Sitophilus zeamais*, *Oryzaephilus surinamensis* e *Laemophloeus minutus* em grãos de arroz armazenados. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.17, n. 8, p.855–860, 2013.

COSTA, A.R.T.; AMARAL, M.F.Z.J.; MARTINS, P.M.; PAULA, J.A.M.; FIUZA, T.S.; TRESVENZOL, L.M.F.; PAULA, J.R.; BARA, M.T.F. Ação do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M.Perry sobre as hifas de alguns fungos fitopatogênicos. **Revista Brasileira Plantas Medicinais**, v.13, n.2, p.240-245, 2011.

EL-NAHAL, A.K.M.; SCHMIDT, G. H.; RISHA, E. M. Vapour of *Acorus calamus* oil a space treatment for stored-product insects. **Journal of Stored Products Research**, v. 35, n. 3, p. 211-216, 1989.

ESCALONA, M. H.; FIALLO, V. R. F.; HERNANDEZ, M. M. A.; PACHECO, R. A.; AJA, E. T. P. **Plaguicidas naturales de origen botânico**. Habana: INIFAT, 2001. 105 p.

ESSAWI, T.; SROUR, M. Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 70, n. 3, p. 343-349, 2000.

ESTRELA, J. L. V. FAZOLIN, M.; CATANI, V.; ALECIO, M. R.; LIMA, M. S. Toxicidade de óleos essenciais de *Piper aduncum* e *Piper hispidinervum* em *Sitophilus zeamais*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 2, p. 217-222, 2006.

FARONI, L. R. A. Pragas e métodos de controle. In: Silva, de J. e S. **Pré Processamento de Produtos Agrícolas**. Juiz de Fora, MG: Instituto Maria, 1995. 350p.

FARONI, L. R. A.; SILVA, J. S. Manejo de pragas no ecossistema de grãos armazenados. In: SILVA, J. S. (Org.). **Secagem e Armazenagem de Produtos Agrícolas**. 2 ed. Viçosa: Editora Aprenda Fácil, 2008. p. 371-406.

FINKLER, C. L. L. Controle de insetos: uma breve revisão. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, Recife, v. 8 e 9, p.169-189, 2011/2012.

FLORES, A. V.; RIBEIRO, J. N.; NEVES, A. A.; QUEIROZ, E. L. R. Organoclorados: um problema de saúde pública. **Ambiente & Sociedade**, v. 7, nº. 2, p. 111-125, 2004.

FONTES, L.S.; ALMEIDA FILHO, A.J.; ARTHUR, V. Danos causados por *Sitophilus oryzae* (linné, 1763) e *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1855 (Coleoptera: Curculionidae) em cultivares de arroz (*Oryza sativa* l.). **Arquivo Instituto Biológico**, v.70, n.3, p.303-307, 2003.

FONTES, Paulo Cezar Rezende. **Olericultura**: teoria e prática. 1. ed. Viçosa: UFV, 2005. 486 p.

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

GIGLIOLLI, A. A. S.; LUCENA, A. L. M.; LAPENTA, A. S. Identificação e caracterização das esterases em *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). **Revista Saúde e Biologia**, v.6, n.1, p.25-35, 2011.

GIRÃO FILHO, J. E.; ALCÂNTARA NETO, F.; PÁDUA, L. E. M.; PESSOA, E. F. Repelência e atividade inseticida de pós vegetais sobre *Zabrotes subfasciatus* Boheman em feijão-fava armazenado. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.16, n.3, p.499-504, 2014.

GUTH, T. L. F. SAFRA 2015/2016 - Produtos de verão. **Perspectiva Agropecuária**, v.3, p. 1-130, 2015.

HUANG, Y; CHEN, S. X.; HO, S. H.; Bioactivities of methyl allyl disulfide and diallyl trisulfide from essential oil of garlic to two species of stored-product pests, *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 93, n. 2, p. 537-543, 2000.

HUDAIB, M.; SPERONI, E.; PIETRA, A. M. D.; CAVRINI, V. CG/EM evaluation of thyme (*Thymus Vulgaris* L.) oil composition and variations during the vegetative cycle. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 29, n. 4, p. 691-700, 2002.

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

JAIROCE, C. F.; TEIXEIRA, C. M.; NUNES, C. F. P.; NUNES, A. M.; PEREIRA, C. M. P. de.; GARCIA, F. R.M. 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.

JAKIEMIU, E. A. R.; SCHEER, A. P.; OLIVEIRA, J. S.; CÔCCO, L. C.; YAMAMOTO, C. I.; DESCHAMPS, C. Estudo da composição e do rendimento do óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris* L.). **Ciências Agrárias**, v. 31, n. 3, p. 683-688, 2010.
JAVARONI, R. C. A.; TALAMON, J.; LANDGRAF, M. D.; REZENDE, M. O. O. Estudo da degradação de lindano em solução aquosa através da radiação gama. **Química Nova**, v.14, p.237-239, 1991.

KIM, S. I.; ROH, J. Y.; KIM, D. H.; LEE, H. S.; ANN, Y. J. Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. **Journal of Stored Products Research**, v. 39, p. 293–303, 2003.

LEE, B. H.; ANNIS, P.C.; TUMAALLI, F.; CHOI, W.S. Fumigant toxicity of essential oils from the Myrtaceae family and 1, 8-cineole against 3 major stored-grain insects. **Journal of Stored Products Research**, v.40, n.5, p.553-564, 2004.

LOECK, A. E. **Pragas de Produtos Armazenados**. Pelotas: EGUFPEL, 2002. 113 p.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas Medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda., São Paulo: Nova Odessa, 2002, 512 p.

LORINI, I.; SCHNEIDER, S. **Pragas de grãos armazenados: resultados de pesquisa**. Passo Fundo: Embrapa–CNPT, 1994. 47 p.

LORINI, I**. Manual técnico para o manejo integrado de pragas de grãos de cereais armazenados**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2001. 80p.

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

LORINI, I.; KRZYZANOWSKI, F. C.; FRANÇA-NETO, J. de B.; HENNING, A. A. Principais pragas e métodos de controle em sementes durante o Armazenamento. **ABRATES**. v.19, n. 1, p. 21-28, 2009.

LORINI, I.; KRZYZANOWSKI, F. C.; FRANÇA-NETO. J. B.; HENNING. A. A. **Principais pragas e métodos de controle em sementes durante o armazenamento**. Série sementes. Paraná: Embrapa, 2010.12p.

LORINI, I.; KRZYZANOWSKI, F. C.; FRANÇA-NETO, J. B.; HENNING, A. A.; HENNING, F. A. **Manejo integrado de pragas de grãos e sementes armazenadas**. Brasília, DF: Embrapa, 2015. 84 p.

LUCCA, P. S. R. **Potencial inseticida de extratos de funcho, erva-doce, cravo-da-índia e do preparado homeopático para o controle de pulgão em couve**. 2009. 61 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel.

MAGALHÃES, T. A.; MAGALHÃES, C. R. I.; BRITO, S. S. S.; FERRAZ, M. S. S.; OLIVEIRA, C. R. F.; MATOS, C. H. C.; Efeito fumigante de óleo essencial de *Croton heliotropiifolius* Kunth sobre adultos de *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae). **XIII Jornada de ensino, pesquisa e extensão**. UFRPE: Recife, 2013.

MAJDOUB, O.; DHEN, N.; SOUGUIR, S.; HAOUAS, D.; BAOUANDI, M.; LAARIF, ASMA.; CHAIEB, IKBAL. Chemical composition of *Ruta chalepensis* essential oils and their insecticidal activity against *Tribolium castaneum*. **Tunisian Journal of Plant Protection**, v. 9, n. 1, p. 83-90, 2014.

MARIANO, F. D.; SANTOS. S.; SANTOS, F. F. Utilização de terra de diatomácea como alternativa no controle de insetos em grãos de trigo armazenado. **Revista Analytica**, v. 3, n. 24, p. 60-64, 2006.

MELO, B. A. de; OLIVEIRA, S. R. de; LEITE, D. T.; BARRETO, C. F.; SILVA, H. de S. Revisão de Literatura: Inseticidas botânicos no controle de pragas de produtos armazenados. **Revista Verde**, v.6, n. 4, p.01 –10, 2011.

MENEZES, E. L. A. Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. **Seropédica**: Embrapa Agrobiologia, 2005. 58p.

MOREIRA, M. A. B.; ZARBIN P. H. G.; CORACINI, M. D. A. Feromônios associados aos coleópteros-praga de produtos armazenados. **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 472-477, 2005.

NÖRNBERG, S. D.; NAVA, D. E.; GRÜTZMACHER, A. D.; BENTO, J. M. S.; OZELAME, A. L.; HÜBNER, L. K. Flutuação populacional e distribuição de *Sitophilus zeamais* em pomares de pessegueiro e macieira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.48, n.4, p.358-364, 2013.

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.

OLIVEIRA, R. A.; REIS, T. V.; DO SACRAMENTO, C. K.; DUARTE, L. P.; OLIVEIRA, F. F. Constituintes químicos voláteis de especiarias ricas em eugenol. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 19, n. 3, p. 771-775, 2009.

OLIVEIRA, T. K. B.; MELO, B. A.; SILVA, J. F.; SILVA, R. S.; ALMEIDA, F. A. C. **Potencial inseticida do extrato de aroeira sobre adultos de *Tribolium castaneum***. Congresso Técnico Científico da Engenharia e da Agronomia CONTECC.Fortaleza-CE, 2015.

OLMEDO, R.; HERRERA, J. M.; LUCINI, E. I.; ZUNINO, M. P.; PIZZOLITTO, R. P.; DAMBOLENA, J. S.; ZYGADLO, J. A. Essential oil of *Tagetes filifolia* against the flour beetle *Tribolium castaneum* and its relation to acetylcholinesterase activity and lipid peroxidation. **Agriscientia**, v. 32, n. 2, p. 113-121, 2015.

ORTÍZ, M. U.; SILVA, G. A.; TAPIA, M. V.; RODRÍGUEZ, J. C. M.; LAGUNES, A. T.; SANTILLÁN-ORTEGA, C.; ROBLES-BERMÚDEZ, A.; AGUILAR-MEDEL, S. Toxicity of boldo *Peumus boldus* Molina For *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium castaneum* Herbst. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 72, n.3, p. 345-349, 2012.

PAOLI, S.; GIANI, T. S.; PRESTA, G. A.; PEREIRA, M. O.; DA FONSECA, A. S.; BRANDÃO-NETO, J.; MEDEIROS, A. C.; SANTOS-FILHO, S. D.; BERNARDO-FILHO, M. Effects of Clove (*Caryophyllus aromaticus* L.) on the Labeling of Blood Constituents with Technetium-99m and on the Morphology of Red Blood Cells. **Brazilian Archives of Biology Technology**, v. 50 (Special Number), p. 175-182, 2007.

PARANHOS, B. A. J.; CUSTÓDIO, C. C.; MACHADO NETO, N. B., RODRIGUES, A. S. Extrato de neem e cravo da índia no controle de *Zabrotes subfasciatus* (Boheman) (Coleoptera: Bruchidae) em sementes de feijão armazenado. **Colloquium Agrariae**, v. 1, n. 1, p. 1-7, 2005.

PEDERSEN, J. R. Insects: identification, damage and detection. In: SAUER, D.B. (Ed.) Storage of cereal grains and their products. St. Paul: **American Association of Cereal Chemists**. 1992. p.435-489.

PICANÇO, M.C; GALVAN, T.L.; GALVÃO, J.C.C; SILVA, E. C. do; GONTIJO, L.M. Intensidade de perdas, ataque de insetos-praga e incidência de inimigos naturais em cultivares de milho em cultivo de safrinha, **Ciência Agrotécnica**, v. 27, n. 2, p. 339-347, 2003.

PORTE, A.; GODOY, R. Chemical composition of *Thymus vulgaris* L. essential oil from Rio de Janeiro State (Brazil). **Journal of Serbian Chemical Society**, v. 73, n. 3, p. 307-310, 2008.

PRATES, H. T.; SANTOS, J. P. Óleos essenciais no controle de pragas de grãos Armazenados. In: LORINI, I.; L. H. MIIKE; V. M. SCUSSEL. **Armazenagem de Grãos**. Campinas: IBG, 2000. p. 443–461.

PROCÓPIO, T. F.; BELMONTE, B. R.; PAIVA, P. M. G.; AGRA-NETO, A. C.; PONTUAL, E. V.; NAPOLEÃO, T. H. Interferência do extrato aquoso de folhas de *Tradescantia spathacea* na fisiologia nutricional do gorgulho do milho, *Sitophilus zeamais*. **Arrudea**, v.1, n. 1, p. 24 – 27, 2015.

RAFAEL, J. A.; MELO, G. A. R. de.; CARVALHO, C. J. B. DE.; CASARI, S. A.; CONSTANTINO, R. **Insetos do Brasil**: Diversidade e Taxonomia. Ribeirão Preto: Holos, 2012. 810p.

RAHMAN, M. M.; SCHMIDT, G. H. Effect of *Acorus calamus* (L.) (Araceae) essential oil vapours from various origins on *Callosobruchus phaseoli* (Gyllenhal) (Coleoptera: Bruchidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 35, n. 3, p. 285-295, 1999.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007. 830p.

REDDY, M. V. B.; ANGERS, P.; GOSSELIN, A.; ARUL, J. Characterization and use of essential oil from *T. vulgaris* against *Botrytis cinerea* and *Rhizopus solonifer*. **Phytochemistry**, v. 47, n. 8, p. 1515-1520, 1998.

REIS, T.V., SACRAMENTO, C.K., OLIVEIRA, F.F., OLIVEIRA, R.A. **Óleos essenciais extraídos dos talos e frutos do craveiro-da-índia**. Anais do Seminário de Iniciação Científica da UESC, 12, p.284-285, 2006.
RESTELLO, R. M.; MENEGATT, C.; MOSSI, A. J. Efeito do óleo essencial de *Tagetes patula* L. (Asteraceae) sobre *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera, Curculionidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 53, nº 2, p. 304–307, 2009.

ROMERO, A. L.; SPECIAN, V.; OLIVEIRA, R.C.; DINIZ, S. P. S. S. Atividade do Óleo Essencial de Tomilho (*Thymus vulgaris* L.) contra fungos fitopatogênicos. **Ciências Biológicas Saúde**, v.11, n. 4, p.15-8, 2009.

SANTOS, J. C. **Susceptibilidade de *Tribolium castaneum* ao óleo essencial de mostarda e perspectivas de manejo de resistência**. 2009. 43 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009.

SAVARIS, M.; SABEDOT-BORDIN, S. M.; MENDES, C. E.; MOURA, N. F.; TEIXEIRA, C. M.; GARCIA. F. R. M. Evaluation of extracts and essential oils from *Cunila angustifolia* (Lamiales: Lamiaceae) leaves to control adults of maize weevil, *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **International Journal of Entomological Research**, v. 2, n. 1, p. 23-28, 2014.

SCARIOT, M. A.; REICHERT JÚNIOR, F. W.; CAMPOS, A. C. T.; ECKER, S. L.; DAVID, F. A.; MENEGUZZO, M. R. R.; RADÜNZ, L. L.; RADÜNZ, A. L.; MOSSI, A. J. Uso do óleo essencial de *Baccharis dracunculifolia* para o controle de *Tribolium castaneum* em grãos de milho. **ANAIS do SEPE** – Seminário de Ensino, Pesquisa e Extensão da Universidade Federal Fronteira Sul, v. 3, n. 1, 2013.

SCHÖLLER, M.; PROSELL, S.; AL-KIRSHI, A. G.; REICHMUTH, C. H. Towards biological control as a major component of integrated pest management in stored product protection. **Journal of Stored Products Research**, v. 33, n. 1, p. 81-87, 1997.

SHARAFZADEH, S.; KHOSH-KHUI, M.; JAVIDNIA, K.; ALIZADEH, O.; ORDOOKHANI, K. Identification and comparison of essential oil components in leaf and stem of gardem Thyme grown under greenhouse conditions. **Advances in Environmental Biology**, v. 4, n. 3, p. 520-523, 2010.

SILVA, E. N.; LIMA JUNIOR, A. F.; BRITO, G. S.; SILVA, M. C.; COSTA, F. R.;OLIVEIRA, I. P. Controle do *Tribolium castaneum* em arroz armazenado com diferentes extratos vegetais. **Revista Faculdade Montes Belos**, v. 8, n. 5, p.41-139, 2015(a).

SILVA, A. A.; ANJOS, M. M.; RUIZ, S. P.; PANICE, L. B.; MIKCHA, J. M. G.; MACHINSKI JUNIOR, M.; ABREU FILHO, B. A. Avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de *Thymus vulgaris* (tomilho), *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia) e *Rosmarinus officinalis* (alecrim) e dos conservantes benzoato de sódio e sorbato de potássio em *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. **B.CEPPA**, v. 33, n. 1, p. 111-117, 2015(b).

SILVEIRA, R. D.; FARONI, L. R. D. A.; PIMENTAL, M. A. G.; ZOCOLO, G. J. Influência da temperatura do grão de milho, no momento da pulverização, e doperíodo de armazenamento, na mortalidade de *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum*, pela mistura bifenthrin e pirimifós-metil. **Revista Brasileira de Armazenamento**, v.31, n. 2, p.120-124, 2006.

SIMÕES, C. M.O; V. SPITZER. Óleos essenciais. In: SIMÕES, C. M.O.; SCHENCKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C.P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Org.). Farmacognosia: Da planta ao medicamento. UFSC, 1999. p. 387-415.

SMANIOTTO, L.; MOURA, N. F.; DENARDIN, R. B. N.; GARCIA, F. R. M. Bioatividade da *Cabralea canjerana* (Vell.) Mart. (Meliaceae) no controle de adultos de *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera: Bruchidae) em laboratório. **Biotemas**, v. 23, n. 2, p. 31-35, 2010.

SOARES, C. S. A.; SILVA, M.; COSTA, M. B.; BEZERRA, C. E. S. Ação inseticida de óleos essenciais sobre a lagarta desfolhadora *Thyrinteina arnobia* (STOLL) (Lepidoptera: Geometridae) **Revista Verde**, v.6, n.2, p. 154 – 157, 2011.

SZCZEPANIK, M.; ZAWITOWSKA, B.; SZUMNY, A. Insecticidal activities of *Thymus vulgaris* essential oil and its components (thymol and carvacrol) against larvae of lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* Panzer (Coleoptera: Tenebrionidae). **Allelopathy Journal**, v. 30, n.1, p. 129-142, 2012.

TAKEYA, K.; QIAO, Z.; HIROBE, C.; ITOKAWA, H. Cytotoxic trichilin-type timonoids from *Melia azedarach*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v.4, n.8, p.1355-1359, 1996.

TAVARES, M. A. G. C.; VENDRAMIM, J. D. Bioatividade da erva-de-santa-maria, *Chenopodium ambrosioides* L., sobre *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 2, p. 319-323, 2005.

TONG, F.; COATS, J.R. Effects of monoterpenoid insecticides on [3H]-TBOB binding in house fly GABA receptor and 36Cl uptake in American cockroach ventral nerve cord. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.98, p.317-24, 2010.

VENDRAMIM, J. D.; THOMAZINI, A. P. B W. Traça *Tuta absoluta* (Meyrick) em cultivares de tomateiro tratadas com extratos aquosos de *Trichilia pallida* Swartz. **Scientia Agrícola**, v. 58, n.3, p.607-611, 2001.

WHITE, N.D.G. A multidisciplinary approach to stored-grain research. **Journal of Stored Products Research**, v.28, n. 2, p.127-137, 1992.