

IARA DA MATA FLOR ROCHA REIS

**ATIVIDADE INSETICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Acmella oleracea*
SOBRE *Rhizopertha dominica***

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação do
Mestrado Profissional em Defesa
Sanitária Vegetal, para obtenção do
título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2018

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

R375a
2018
Reis, Iara da Mata Flor Rocha, 1985-
Atividade inseticida do óleo essencial de *Acmella oleracea*
sobre *Rhizopertha dominica* / Iara da Mata Flor Rocha Reis. –
Viçosa, MG, 2018.
vi, 21 f. : il. ; 29 cm.

Orientador: Marcelo Coutinho Picanço.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Referências bibliográficas: f. 13-18.

1. Fitoquímicos. 2. Jambú. 3. Trigo. 4. *Rhizopertha dominica* - Controle. I. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Entomologia. Programa de Pós-Graduação do
em Defesa Sanitária Vegetal. II. Título.

CDD 22.ed. 572.2

**ATIVIDADE INSETICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Acmella oleracea*
SOBRE *Rhyzopertha dominica***

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação do
Mestrado Profissional em Defesa
Sanitária Vegetal, para obtenção do
título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 24 de julho de 2018.



Haddi Khalid



Mateus Chediak



Ricardo Siqueira da Silva



Marcelo Coutinho Picanço
(Orientador)

AGRADECIMENTOS

Por essa e outras conquistas que estão por vir, eu agradeço à Deus, que me rege e me guia todos os dias da minha vida.

Aos meus pais, José Coelho e Lázara, pelo apoio, amor, torcida e por nunca medirem esforços para realização dos meus sonhos e aos meus avós, Augusto e Maria, Amélia e Joaquim pelas incontáveis orações. Dedico essa vitória a vocês.

Ao meu irmão, Thiago, e toda sua família, pelo companheirismo de sempre.

Ao meu marido Flávio, pelo amor e amizade.

À Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Entomologia e ao Laboratório de MIP, pela oportunidade de estudo e aprendizagem.

Ao professor Marcelo Coutinho Picanço, pela orientação profissional e pessoal, dedicação e presteza.

Ao doutorando Elizeu de Sá Farias, pela paciência, orientação e atenção ao longo do tempo.

À toda equipe do Laboratório de MIP (Departamento de Entomologia – UFV), pela ajuda no desenvolvimento do trabalho.

Aos professores e colegas do curso pelos conhecimentos adquiridos e compartilhados.

Ao Laboratório Farroupilha LALLEMAND por permitir e incentivar a minha participação no curso.

Enfim, a todos aqueles amigos e familiares que direta ou indiretamente influenciaram para a conclusão desse trabalho.

BIOGRAFIA

IARA DA MATA FLOR ROCHA REIS, filha de José Coelho Flor e Lázara Maria da Mata Flor, nasceu em Patos de Minas, Minas Gerais, no dia 27 de dezembro de 1985.

Em dezembro de 2008, concluiu o curso de Agronomia pelo Centro Universitário de Patos de Minas – UNIPAM e trabalha no Laboratório Farroupilha LALLEMAND desde 2013 na área Regulatória.

Ingressou no Programa de Pós-Graduação de Mestrado Profissional em Defesa Sanitária Vegetal na Universidade Federal de Viçosa, em agosto de 2016, sob orientação do Prof. Marcelo Coutinho Picanço, defendendo a dissertação em julho de 2018.

SUMÁRIO

RESUMO	v
ABSTRACT	vi
1. INTRODUÇÃO	1
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	4
2.1. Obtenção dos óleos essenciais	4
2.2. Bioensaios	5
2.2.1. Criação dos Insetos.....	5
2.2.2. Seleção do OE com maior atividade inseticida	5
2.2.3. Ensaio de fumigação	6
2.2.4. Curvas dose-mortalidade	7
2.2.5. Curvas tempo-mortalidade	7
2.2.6. Efeito na produção da progênie F1	8
3. RESULTADOS.....	8
3.1. Seleção do OE com maior atividade inseticida.....	8
3.2. Ensaio de fumigação	9
3.3. Curvas dose-mortalidade.....	9
3.4. Curvas tempo-mortalidade	9
3.5. Efeito na produção da progênie F1.....	9
4. DISCUSSÃO	10
5. CONCLUSÃO	12
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	13
7. TABELAS E FIGURAS	19

RESUMO

REIS, Iara da Mata Flor Rocha, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2018. **Atividade inseticida do óleo essencial de *Acmella oleracea* sobre *Rhyzopertha dominica***. Orientador: Marcelo Coutinho Picanço.

Rhyzopertha dominica (Fabr.) (Coleoptera: Bostrichidae) é uma importante praga de grãos armazenados. Adultos e larvas deste inseto broqueiam grãos, causando perdas quantitativas e qualitativas. O principal método usado no controle desta praga é o químico. Entretanto, muitos inseticidas sintéticos usados no seu controle não têm sido eficientes devido a seleção de populações de *R. dominica* resistentes a estes produtos. Assim, é necessário buscar novos compostos inseticidas para o manejo desta praga. Compostos produzidos pelo metabolismo secundário de plantas, como os óleos essenciais (OEs) são fontes potenciais de novos inseticidas e geralmente apresentam baixo risco às pessoas e ao ambiente. Assim, esse trabalho teve como objetivo avaliar o potencial inseticida de OEs de plantas brasileiras sobre adultos de *R. dominica*. Os bioensaios foram realizados em quatro etapas: seleção dos OEs e curvas dose-mortalidade, tempo-mortalidade e efeito subletal do OE mais ativo sobre *R. dominica*. Dos nove OEs testados, o OE de *Acmella oleracea* causou maior mortalidade (100%) a *R. dominica* no ensaio de seleção em aplicação tópica. Entretanto esse óleo não apresentou toxicidade por fumigação. O OE de *A. oleracea* em aplicação tópica apresentou maior toxicidade do que o controle (óleo de alho) ($DL_{50} = 4,14 \mu\text{g mg}^{-1}$) e ação rápida ($TL_{50} = 24$ horas) sobre a praga. Além disso, a DL_{40} do OE de *A. oleracea* reduziu em 32% o número de adultos produzidos por geração de *R. dominica*. Esses resultados indicam que o OE de *A. oleracea* apresenta potencial para ser utilizado no manejo de *R. dominica*.

ABSTRACT

REIS, Iara da Mata Flor Rocha, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2018. **Insecticidal activity of *Acmella oleracea* essential oil on *Rhyzopertha dominica***. Adviser: Marcelo Coutinho Picanço.

Rhyzopertha dominica (Fabr.) (Coleoptera: Bostrichidae) is an important stored grain pest. Adults and larvae of this insect damage grains, causing quantitative and qualitative losses. The main method used to control this pest is the chemical. However, many synthetic insecticides used in this pest control have not been efficient due to the selection of populations of *R. dominica* resistant to these products. Thus, the search for new insecticide compounds for the management of this pest is necessary. Compounds produced by secondary plant metabolism, such as essential oils (EOs), are potential sources of new insecticides and generally pose a low risk to humans and the environment. Thus, this work aimed to evaluate the insecticidal potential of EOs of Brazilian plants on adults of *R. dominica*. The bioassays were performed in four stages: EO selection and dose-mortality curves, time-mortality and sublethal effect of the most active EO on *R. dominica*. Of the nine EOs tested, the EO of *Acmella oleracea* caused the highest mortality (100%) to *R. dominica* in the screening bioassay by topical application. However, this EO did not show any toxicity by fumigation. The EO of *A. oleracea* in topical application presented higher toxicity than the control (garlic oil) ($LD_{50} = 4.14 \mu\text{g mg}^{-1}$) and fast action ($LT_{50} = 24$ hours) on the pest. In addition, the DL_{40} of the *A. oleracea* EO reduced by 32% the number of adults produced by generation of *R. dominica*. These results indicate that the *A. oleracea* EO presents potential to be used in the management of *R. dominica*.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é hoje um dos maiores produtores e exportadores de grãos e, segundo a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2016), a produção de grãos para a safra 2017/18 está estimada em 229,53 milhões de toneladas. Estima-se que as pragas de grãos armazenados causam perdas quantitativas anuais da ordem de 10% da produção mundial (LORINI, 2014). Essa perda refere-se, unicamente, ao ataque das sementes, não levando em consideração o ataque de fungos e a perda do valor nutricional dos grãos. Para diminuir a perda causada por estas pragas, os produtores estão buscando a cada dia o controle eficiente dos insetos (HAMDI *et al.*, 2015). Nessa tentativa, vários métodos têm sido utilizados (HAMDI *et al.*, 2015; SHI *et al.*, 2012).

Rhyzopertha dominica (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Bostrichidae) é uma importante praga de grãos armazenados e possui grande número de hospedeiros como cevada, triticale, arroz, aveia e, principalmente, trigo (HAMDI *et al.*, 2015; HANSEN; HANSEN; JENSEN, 2012). Adultos e larvas desse coleóptero são pragas primárias internas, ou seja, atacam sementes e grãos inteiros sadios. Ao perfurar os grãos, esses insetos ainda possibilitam a instalação de microrganismos (LORINI, 2012).

O principal método de controle da *R. dominica* é o controle químico, através da aplicação de inseticidas sintéticos tais como fosfina, clorpirifós, malathion e piretróides (KIRAN; PRAKASH, 2015).

Dois aspectos são importantes a serem considerados em inseticidas aplicados em grãos armazenados: a eficiência dos inseticidas e a sua segurança aos humanos e ao ambiente. Quando se refere à qualidade de grãos para alimentação humana, a sociedade está cada vez mais exigente (PEREIRA *et al.*, 2012). Diante disso, tem crescido a demanda por formas alternativas de controle

em substituição aos inseticidas convencionais. A principal preocupação é a possibilidade de resíduos de inseticidas permanecerem nos grãos, o que pode ser prejudicial à saúde humana (PRATES *et al.*, 1998). Outros importantes aspectos são a atividade desses produtos a organismos não-alvo e a contaminação do ambiente (AREF; VALIZADEGAN; FARASHIANI, 2015; KIRAN; PRAKASH, 2015). Do ponto de vista da eficiência, o uso contínuo e sem os devidos critérios de uso de inseticidas tem acarretado o desenvolvimento de populações de pragas de grãos resistentes, o que acarreta em falhas de controle desses organismos (LORINI, 2012).

Assim, é necessário buscar novos compostos inseticidas que sejam eficientes no manejo dessas pragas e que apresentem baixo risco a humanos e ao ambiente (MOREAU; ISMAN, 2012; RIBEIRO *et al.*, 2015). Compostos produzidos pelo metabolismo secundário de plantas são fontes potenciais novos inseticidas. Esses fitoquímicos diferem de inseticidas convencionais em sua rápida degradação e disponibilidade local, e principalmente, sua baixa toxicidade a mamíferos (ISMAN, 2008; REGNAULT-ROGER; VINCENT; ARNASON, 2012). Esses metabólitos podem desempenhar papel importante na interação planta-inseto, e são responsáveis pela resistência das plantas aos insetos (PRATES *et al.*, 1998). De acordo com Fazolin, Estrela e Argolo (2002), devido a diversidade da flora, o Brasil possui grande potencial para a prospecção de inseticidas botânicos.

Nesta perspectiva, óleos essenciais (OEs), extraídos de partes de plantas, tem sido utilizados na síntese de novos inseticidas (HEDIN; MENN; HOLLINGWORTH, 1994) são potenciais alternativas a inseticidas sintéticos (AREF; VALIZADEGAN; FARASHIANI, 2015; JAYA *et al.*, 2014; KIRAN; PRAKASH, 2015). Alguns OEs têm toxicidade aguda, ação repelente, inibição

de alimentação e podem prejudicar o crescimento, o desenvolvimento e o sistema reprodutivo de insetos de produtos armazenados (CONTE; FAVERO, 2011; PRATES *et al.*, 1998). A toxicidade desses compostos pode ser por ingestão, ação fumigante ou por contato (RAJENDRAN; SRIRANJINI, 2008).

A composição química de OEs, e conseqüentemente a atividade biológica desses compostos, varia com a espécie vegetal. Gramíneas, como o capim limão *Cymbopogon martinii* (Roxb.) Wats, a citronela *Cymbopogon nardus* (L.) Rendle, e o vetiver *Chrysopogon zizanioides* (L.) Robertys são mundialmente utilizadas para a extração de OEs. Ação tóxica e repelente contra insetos tem sido relatada para OEs dessas espécies (RAJA *et al.*, 2001).

Plantas da família Verbenaceae, como os alecrins *Lippia* spp., são encontradas no semiárido brasileiro (BLANK, 2013). Óleos essenciais dessas plantas têm demonstrado diversas aplicações, principalmente nas indústrias de perfumaria, cosméticos e farmacêutica.

Óleos essenciais de plantas da família Lamiaceae, como o patchouli (*Pogostemon cablin* Benth.) possuem diversas funções, incluindo antibacteriana, repelente e inseticida (KHARE, 2007; PAVELA, 2005). Óleos essenciais de gengibre *Zingiber officinale* Roscoe (Zingiberaceae) tem apresentado atividade inseticida sobre *Aedes aegypti* e *Aphis craccivora* (GARCEZ *et al.*, 2013; SANTOS, C. A. B. DOS *et al.*, 2011).

O jambu *Acmella oleracea* (L.) Jansen (Compositae), nativo da Amazônia brasileira, possui atividade medicinal e anestésica (LORENZI; MATOS, 2002). Extratos dessa planta tem apresentado atividade inseticida contra diversas pragas, incluindo mosquitos e lagartas (JONDIKO, 1986; PANDEY *et al.*, 2007; RAMSEWAK; ERICKSON; NAIR, 1999; SARAF; DIXIT, 2002).

Assim o objetivo desse trabalho foi avaliar o potencial inseticida de OEs de plantas brasileiras cinco famílias botânicas sobre adultos de *R. dominica*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Obtenção dos óleos essenciais

Folhas frescas (300 g) de cada uma das espécies utilizadas foram cortadas em pequenos pedaços e acondicionadas em balão volumétrico de 1 L contendo 400 mL de água. Em seguida, o material foi submetido a extração por hidrodestilação, durante um período de três horas e em triplicata, utilizando aparelho tipo Clevenger modificado. Após a destilação, o hidrolato (mistura de água + OE) foi recolhido e transferido para um funil de separação para extração com pentano (3 × 20 mL). A fase aquosa foi descartada e a fase orgânica foi adicionada ao sulfato de magnésio anidro (Synth, Diadema, SP, Brasil).

Posteriormente, utilizou-se rotoevaporador (a 40 °C e pressão reduzida) para separar o OE do pentano. O material vegetal que não passou por extração no dia da coleta, foi armazenado em sacos de papel a -10 °C (FILOMENO, 2016). E os OE's foram mantidos sob refrigeração à temperatura de - 4°C até o uso (SEIXAS *et al.*, 2018).

Seguindo o mesmo método de extração descrito acima, o OE *Acmella oleracea* foi obtido na Universidade Federal de Viçosa - UFV e já o OE das espécies *Chrysopogon zizanioides*, *Lippia alba*, *Zingiber officinale*, *Pogostemon cablin*, *Lippia sidoides*, *Cymbopogon nardus*, *Lippia gracilis* e *Cymbopogon martinii* foram extraídos na Universidade Federal de Sergipe – UFS, situada na cidade de São Cristóvão/SE, Brasil.

As plantas de *Acmella oleracea* foram cultivadas em casa de vegetação em Viçosa, Minas Gerais (20°45' S, 42°52' W, altitude 663 m). As coletas das

folhas de *Acmella oleracea* foram feitas nas primeiras horas da manhã (entre 7h e 9h) (Ming, 1996), em outubro de 2017.

2.2. Bioensaios

Os bioensaios para a seleção dos OEs com ação inseticida sobre a *R. dominica* foram realizados em quatro etapas: seleção dos OEs, curvas dose-mortalidade e tempo-mortalidade para o OE com maior atividade inseticida, e efeito subletal desse mesmo OE sobre a reprodução de *R. dominica*.

2.2.1. Criação dos Insetos

Nos bioensaios foram usados adultos de *R. dominica*, provenientes de criação mantida no Laboratório MIP-UFV. A criação de *R. dominica* foi mantida em potes de plástico (40 cm de diâmetro) fechados com organza. Os insetos eram mantidos a 28 ± 2 °C, umidade relativa de $70 \pm 5\%$ e escotofase de 24 horas. Os insetos foram alimentados com grãos expurgados e farinha de trigo integral. A cada 30 dias eram realizadas inspeções para evitar a contaminação dos grãos por fungos decompositores.

2.2.2. Seleção do OE com maior atividade inseticida

Na seleção dos OEs, foi utilizada a dose discriminatória de 30 µg/mg peso vivo. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC) com três repetições por tratamento. Para o OE com maior atividade inseticida, foram realizadas mais seis repetições para confirmação da atividade.

Cada parcela experimental era constituída de potes plásticos de 125 mL contendo dez insetos. Os OEs foram diluídos em acetona e aplicados topicamente nos insetos utilizando-se micro seringa Hamilton (modelo 701N,

Hamilton Co., Reno, NV, EUA). Foi aplicado 0,5 μ L de solução/inseto. Na testemunha os insetos foram tratados topicamente com igual volume de acetona.

O óleo de alho foi utilizado como padrão de eficiência por apresentar atividade inseticida de contato e por fumigação contra diversas pragas de grãos armazenados, como *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae), *Sitophilus oryzae* Linnaeus, *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae), *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Curculionidae) e *Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae) (HUANG; CHEN; HO, 2000; MIKHAIEL, 2011; PLATA-RUEDA *et al.*, 2017).

Em cada parcela experimental eram disponibilizados 100 miligramas de trigo integral para os insetos se alimentarem. Para quantificação da mortalidade causada pelos tratamentos foram feitas avaliações 48 horas após a montagem dos bioensaios. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) seguida pela análise de agrupamento de Scott-Knott a $\alpha = 0.05$ (JELIHOVSCHI; FARIA; ALLAMAN, 2014; R, 2013).

O OE selecionado aqui nessa etapa foi denominado como o OE com maior atividade inseticida e apenas este foi submetido aos demais testes descritos abaixo.

2.2.3. Ensaio de fumigação

O OE com maior atividade inseticida no ensaio de seleção por aplicação tópica foi submetido a ensaio de fumigação. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com pelo menos quatro repetições por tratamento. O OE de *Eucalyptus resinifera* foi utilizado como padrão de eficiência devido a sua efetiva ação fumigante sobre *R. dominica* (FILOMENO, 2016). Os tratamentos foram diluídos em acetona e aplicados em papel filtro (J. Prolab, modelo Qualy,

14 μm , São José dos Pinhais, Brasil) com o auxílio de uma microseringa. Cada papel filtro tratado (1 cm^2) foi acondicionado em um tubo acrílico (10 cm^3) hermeticamente fechado contendo dez adultos de *R. dominica*, de forma a se obter a concentração de $150 \mu\text{L}$ de OE/L de ar. O papel filtro foi utilizado como substrato de dispersão dos voláteis e foi separado dos insetos por tecido organza. No controle, apenas acetona foi aplicada no papel filtro. A mortalidade dos insetos foi avaliada após 48 horas. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste Tukey a $\alpha = 0.05$ (PROC GLM SAS 9.2, SAS Institute Inc, Cary, EUA).

2.2.4. Curvas dose-mortalidade

Para o OE selecionado no item anterior e para o controle positivo (XXXX) foram estimadas curvas dose-mortalidade para *R. dominica*. Foram realizadas seis repetições para cada dose e as doses foram aplicadas de forma a obter mortalidades de 1 a 99%. De forma geral foram realizadas 5 doses para gerar cada curva. Os dados de mortalidade foram submetidos à análise de Probit (PROC PROBIT, SAS 9.2) para estimar as curvas dose-mortalidade.

2.2.5. Curvas tempo-mortalidade

Os insetos foram submetidos a ensaios para determinação de curvas tempo-mortalidade. Os tratamentos foram o controle (acetona) e a DL_{90} ($17,24 \mu\text{g mg}^{-1}$) do OE com maior atividade inseticida. O delineamento experimental foi do tipo DIC e foram utilizados 100 adultos de *R. dominica* por tratamento. Cada unidade experimental consistia em um pote plástico (125 mL) contendo um besouro. A mortalidade foi avaliada durante os primeiros dez minutos, posteriormente a cada dez minutos na primeira hora, a cada trinta minutos até

três horas, a cada 60 minutos até as seis horas e posteriormente, de duas em duas horas até as 48 horas. As curvas de sobrevivência foram estimadas pelo método produto-limite de Kaplan-Meier (PROC LIFETEST, SAS 9.2). As curvas de sobrevivência foram comparadas pelo teste log-rank ($\alpha = 0,05$).

2.2.6. Efeito na produção da progênie F1

Nesse bioensaio, adultos de *R. dominica* de 20 dias de idade foram tratados com a DL₄₀ do OE de *A. oleracea* (3,12 $\mu\text{g mg}^{-1}$) e o controle negativo (acetona). Após a aplicação, os insetos foram transferidos para potes plásticos (125 mL) contendo 40 gramas de trigo expurgado, e mantidos a $70 \pm 5\%$ U.R. e escotofase de 24 horas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 15 repetições (contendo 15 insetos cada) por tratamento. Após 48h a mortalidade dos adultos parentais foi avaliada. Após 30 dias, os grãos de trigo foram peneirados, e os adultos parentais removidos. Os potes foram mantidos sob as mesmas condições experimentais até a emergência dos adultos (F1, 60 dias após a montagem do bioensaio). Os dados de produção de adultos F1/ parental vivo foram submetidos ao teste *t* de Student (PROC TTEST, SAS 9.2) para verificar diferenças entre os dois tratamentos.

3. RESULTADOS

3.1. Seleção do OE com maior atividade inseticida

Houve diferença significativa na mortalidade de *R. dominica* expostos aos nove OEs testados, ao controle positivo (extrato de alho) e à acetona (controle negativo) ($F_{10, 49} = 51,10$; $P < 0,001$). O óleo essencial de *A. oleracea* causou mortalidade de 100% dos insetos. Os demais tratamentos causaram mortalidade inferior a 50% (Figura 1).

3.2. Ensaio de fumigação

Houve diferença significativa na mortalidade de *R. dominica* expostos aos tratamentos ($F_{2, 14} = 499,63$; $P < 0,001$). O OE de *E. resinifera* causou 97% de mortalidade, enquanto a mortalidade causada pelo OE de *A. oleracea* (15%) não diferiu do controle (Figura 2).

3.3. Curvas dose-mortalidade

Não houve diferença na inclinação das curvas dose-resposta de OE e o controle positivo (extrato de alho). O OE de *A. oleracea* ($DL_{50} = 4,14 \mu\text{g mg}^{-1}$) foi 7,16 vezes mais tóxico que o extrato de alho ($DL_{50} = 29,46 \mu\text{g mg}^{-1}$) (Tabela 1).

3.4. Curvas tempo-mortalidade

As curvas de sobrevivência de adultos de *R. dominica* expostos ao OE de *A. oleracea* e ao controle negativo (acetona) apresentaram diferença significativa (teste log-rank, $\chi^2 = 119,86$; $gl = 1$; $P < 0,001$). O OE de *A. oleracea* ocasionou 80% de mortalidade aos indivíduos tratados após 48 horas. O tempo mediano letal (TL_{50}) foi de 24 horas (Figura 3).

3.5. Efeito na produção da progênie F1

Os ensaios de progênie apresentaram diferenças estatísticas para a produção de adultos F1/ parental vivo) (Figura 4). O OE de *A. oleracea* (2,24 adultos/parental vivo) reduziu em 32% a produtividade de *R. dominica* quando comparado ao controle (acetona) (3,31 adultos/parental vivo) ($t = 2,38$; $P = 0,024$; $n = 30$).

4. DISCUSSÃO

Nesse trabalho foi avaliada a atividade inseticida de OEs de nove plantas brasileiras sobre *R. dominica*. O OE de *A. oleracea* foi o que apresentou maior atividade inseticida no ensaio de seleção. Esse OE foi mais tóxico do que o extrato de alho (controle positivo) e apresentou ação rápida (TL_{50} = 24 horas) sobre a praga. Além disso, a DL_{40} do OE de *A. oleracea* reduziu em 32% o número de adultos produzidos por geração de *R. dominica*.

A toxicidade de OEs pode ser influenciada pela composição, método e tempo de extração, além disso, pode variar dependente da parte da planta que foi utilizada (DONPEDRO, 1996; LEE *et al.*, 2001). As folhas e flores de *Acmella oleracea* contêm alcaloides (PEIRIS; SILVA; RATNASOORIYA, 2001), aminoácidos (HOSSAIN *et al.*, 2012; PEIRIS; SILVA; RATNASOORIYA, 2001) e N-isobutilamidas (RAMSEWAK; ERICKSON; NAIR, 1999). Assim, o efeito tóxico desse OE sobre *R. dominica* pode ser devido a presença de espilantol, composto reconhecido por suas propriedades inseticidas (BARBOSA *et al.*, 2016; OLIVER-BEVER, 1983; PANDEY; CHOPRA; AGRAWAL, 2011; SARAF; DIXIT, 2002). Além desse efeito inseticida, o OE de *A. oleracea* possui propriedades medicinais, sendo usado no tratamento de dores de dente, dores de garganta, infecções nas gengivas, gripes, tosses e tuberculose (ALCANTARA *et al.*, 2014; DUBEY *et al.*, 2013). Seu uso para fins medicinais (o que garante segurança a mamíferos), aliado à sua atividade inseticida, qualifica o OE de *A. oleracea* como um potencial inseticida contra *R. dominica*.

Embora o OE de *A. oleracea* tenha apresentado atividade inseticida sobre *R. dominica* no ensaio de contato, o mesmo não ocorreu pela via de fumigação.

O OE de *A. oleracea* foi mais tóxico que o extrato de alho (padrão de eficiência) e apresentou DL_{50} de $4,14 \mu\text{g mg}^{-1}$ para *R. dominica*. Fazolin *et al.*

(2007), testaram o OE de *Tanaecium nocturnum* contra *Sitophilus zeamais*, outra importante praga de grãos armazenados. Esse OE foi aplicado topicamente e apresentou DL₅₀ de 14,7 µg mg⁻¹. Em outros trabalhos com *S. zeamais*, o OE de *P. cablin* apresentou DL₅₀ de 9,17 µg mg⁻¹ (SANTOS, A. M. O., 2013) enquanto para o OE de *L. sidoides* a DL₅₀ variou de 7,1 a 19,9 µg mg⁻¹ (OLIVEIRA, 2016). Nos bioensaios de Filomeno (2016), o OE de *Eucalyptus resinifera* apresentou DL₅₀ de 17,08 µg mg⁻¹ para *R. dominica*. Uma vez que OEs testados em outros trabalhos apresentam DL₅₀ para *R. dominica* e outras pragas de grãos armazenados na faixa de 7,1 a 19,9 µg mg⁻¹ (FILOMENO, 2016; OLIVEIRA, 2016; SANTOS, A. M. O., 2013), o OE de *A. oleracea* apresenta elevada toxicidade a *R. dominica* (DL₅₀ = 4,14 µg mg⁻¹).

As condições encontradas em armazéns (altas temperaturas e teor de umidade de grãos) favorecem o desenvolvimento de pragas. Visando prevenir perdas significativas, o controle desses organismos deve ser realizado de forma rápida. Entretanto, os inseticidas atualmente recomendados para o manejo de pragas de grãos armazenados muitas vezes não atendem a essa necessidade. Em estudo realizado por Babamir-Satehi, Ziaee e Ashrafi (2017), mortalidades significativas (> 85%) de adultos dessa praga foram alcançadas apenas após 7 dias de tratamento com clorpirifós. Além das perdas quantitativas (ataque direto aos grãos), perdas qualitativas são também muito expressivas. *R. dominica* pode comprometer a qualidade dos grãos através de resíduos como pedaços de corpos, produtos metabólicos (fezes) e geração de mofo (MORI *et al.*, 2007). Assim perdas qualitativas causam redução do valor de mercado e até o descarte de lotes inteiros de grãos (CANEPPELE *et al.*, 2003). Portanto, visando prevenir perdas qualitativas e quantitativas, o OE de *A. oleracea* se apresenta como um

potencial inseticida devido à sua elevada toxicidade e ação rápida sobre *R. dominica* (TL₅₀ = 24 horas).

Além do efeito tóxico, os OEs podem interferir no ciclo de desenvolvimento e na reprodução de insetos de grãos armazenados (OBENGOFORI, 1995; SANTOS, A. M. O., 2013). Nesse estudo, a DL₄₀ do OE de *A. oleracea* causou uma redução de 50% na progênie e de 32% na produtividade de *R. dominica*. Essa redução na produtividade pode ser devido a interrupção de comportamento de cópula (CRAWLEY *et al.*, 2017; DELPUECH; DUPONT; ALLEMAND, 2012), redução na oviposição (ELSTON; THOMPSON; WALTERS, 2013), e distúrbios fisiológicos em ovos e larvas (HERTLEIN *et al.*, 2010; SANIL; SHETTY, 2012). Doses subletais são comumente encontradas em grãos, devido à degradação com o tempo das moléculas inseticidas aplicadas (FENNER *et al.*, 2013; VAN DER WERF, 1996). Assim, o fato de que doses subletais do OE de *A. oleracea* reduzem infestações subsequentes de *R. dominica* reforça seu potencial inseticida sobre essa praga.

Os resultados desse trabalho indicam que o OE de *A. oleracea* apresenta potencial para ser usado no manejo de *R. dominica*. Para tanto, mais estudos são necessários visando estabelecer formulações para esse OE e para avaliar o seu impacto sobre organismos não alvo.

5. CONCLUSÃO

O óleo essencial (OE) de *A. oleracea* apresenta alta toxicidade quando comparado aos demais OEs testados, ação rápida e efeito negativo na produção de progênie de *R. dominica*. Esses resultados indicam que o OE de *A. oleracea* apresenta potencial para ser utilizado no manejo desta praga.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALCANTARA, B. N. *et al.* Pharmacognostic analyses and evaluation of the in vitro antimicrobial activity of *Acmella oleracea* (L.) RK Jansen (Jambu) floral extract and fractions. *Journal of Medicinal Plants Research*, v. 9, n. 4, p. 91–96, 2014.
- AREF, S. P.; VALIZADEGAN, O.; FARASHIANI, M. E. *Eucalyptus dundasii* Maiden essential oil, chemical composition and insecticidal values against *Rhyzopertha dominica* (F.) and *Oryzaephilus surinamensis* (L.). *Journal of Plant Protection Research*, v. 55, n. 1, p. 35–41, 2015.
- BABAMIR-SATEHI, A.; ZIAEE, M.; ASHRAFI, A. Toxicity of chlorpyrifos against *Rhyzopertha dominica* and *Tribolium confusum* adults on different surfaces. *Toxin Reviews*, v. 36, n. 1, p. 57–62, 2017.
- BARBOSA, A. F. *et al.* Spilanthal: occurrence, extraction, chemistry and biological activities. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 26, n. 1, p. 128–133, 2016.
- BLANK, A. F. Transformação de recursos genéticos de plantas aromáticas nativas em riqueza: o potencial do alecrim-de-tabuleiro (*Lippia gracilis*). *Horticultura Brasileira (Impresso)*, v. 31, p. 512–512, 2013.
- CANEPPELE, M. A. B. *et al.* Correlation between the infestation level of *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1855 (Coleoptera, Curculionidae) and the quality factors of stored corn, *Zea mays* L. (Poaceae). *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 47, n. 4, p. 625–630, 2003.
- CONAB. Acompanhamento da safra brasileira de grãos. *Observatório Agrícola*, v. 2, n. 4, p. 1–60, 2016.
- CONTE, C.; FAVERO, S. Toxicidade e repelência de óleos essenciais de menta e capim-limão para o gorgulho do milho. *Horticultura Brasileira*, v. 19, n. 2, p. 243, 2011.
- CRAWLEY, S. E. *et al.* Impact of sublethal exposure to a pyrethroid-neonicotinoid insecticide on mating, fecundity and development in the bed bug *Cimex lectularius* L. (Hemiptera: Cimicidae). *PLOS ONE*, v. 12, n. 5, p. e0177410, 2017.
- DELPUECH, J. M.; DUPONT, C.; ALLEMAND, R. Effects of deltamethrin on the specific discrimination of sex pheromones in two sympatric *Trichogramma*

- species. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 84, p. 32–38, 2012.
- DONPEDRO, K. N. Fumigant toxicity of citruspeel oils against adult and immature stages of storage insect pests. *Pesticide Science*, v. 47, n. 3, p. 213–223, 1996.
- DUBEY, S. *et al.* Phytochemistry, pharmacology and toxicology of *Spilanthes acmella*: A review. *Advances in Pharmacological Sciences*, v. 2013, n. 1, p. 1–9, 2013.
- ELSTON, C.; THOMPSON, H. M.; WALTERS, K. F. A. Sub-lethal effects of thiamethoxam, a neonicotinoid pesticide, and propiconazole, a DMI fungicide, on colony initiation in bumblebee (*Bombus terrestris*) micro-colonies. *Apidologie*, v. 44, n. 5, p. 563–574, 2013.
- FAZOLIN, M. *et al.* Atividade inseticida do óleo essencial de *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. & K. Shum (Bignoneaceae) sobre *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae). *Acta Amazonica*, v. 37, n. 4, p. 599–603, 2007.
- FAZOLIN, M.; ESTRELA, J. L. V.; ARGOLO, V. *Avaliação de plantas com potencial inseticida no controle da Vaquinha-do-feijoeiro (Cerotoma tingomarianus Bechyné)*. Rio Branco: Embrapa, 2002
- FENNER, K. *et al.* Evaluating pesticide degradation in the environment: Blind spots and emerging opportunities. *Science*, v. 341, n. 6147, p. 752–758, 2013.
- FILOMENO, C. A. *Composição química e atividade inseticida de óleos essenciais de espécies de Myrtaceae contra Plutella xylostella e Rhyzopertha dominica*. 2016. 162 f. Universidade Federal de Viçosa, 2016.
- GARCEZ, W. S. *et al.* Substâncias de origem vegetal com atividade larvicida contra *Aedes aegypti*. *Revista Virtual de Química*, v. 5, n. 3, p. 363–393, 2013.
- HAMDI, S. H. *et al.* Management of three pests' population strains from Tunisia and Algeria using Eucalyptus essential oils. *Industrial Crops and Products*, v. 74, p. 551–556, 2015.
- HANSEN, L. S.; HANSEN, P.; JENSEN, K. M. V. Lethal doses of ozone for control of all stages of internal and external feeders in stored products. *Pest Management Science*, v. 68, n. 9, p. 1311–1316, 2012.
- HEDIN, P. A.; MENN, J. J.; HOLLINGWORTH, R. M. Development of natural products and their derivatives for pest-control in the 21st century. *Natural and*

Engineered Pest Management Agents, v. 551, p. 2–10, 1994.

HERTLEIN, M. B. *et al.* A Review of Spinosad as a Natural Product for Larval Mosquito Control. *Journal of the American Mosquito Control Association*, v. 26, n. 1, p. 67–87, 2010.

HOSSAIN, I. *et al.* ANALYSIS OF THE FREE AMINO ACID CONTENT IN POLLEN OF BANGLADESHI COMMON FRUITS FLOWER OF KNOWN ALLERGENIC ACTIVITY. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, v. 2, p. 11–16, 2012.

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.

ISMAN, M. B. Botanical insecticides: For richer, for poorer. *Pest Management Science*, v. 64, n. 1, p. 8–11, 2008.

JAYA *et al.* Insecticidal activity of *Ageratum conyzoides* L., *Coleus aromaticus* Benth. and *Hyptis suaveolens* (L.) Poit essential oils as fumigant against storage grain insect *Tribolium castaneum* Herbst. *Journal of Food Science and Technology*, v. 51, n. 9, p. 2210–2215, 2014.

JELIHOVSCHI, E.; FARIA, J. C.; ALLAMAN, I. B. ScottKnott: A Package for Performing the Scott-Knott Clustering Algorithm in R. *TEMA (São Carlos)*, v. 15, n. 1, p. 3–17, 2014.

JONDIKO, I. J. O. A mosquito larvicide in *Spilanthes mauritiana*. *Phytochemistry*, v. 25, n. 10, p. 2289–2290, 1986.

KHARE, C. P. *Indian Medicinal Plants*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2007.

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

LEE, B. H. *et al.* Fumigant toxicity of essential oils and their constituent compounds towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.). *Crop Protection*, v. 20,

n. 4, p. 317–320, 2001.

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

LORINI, I. Insetos que atacam grãos de soja armazenados. In: HOFFMANN-CAMPO, C.; CORRÊA-FERREIRA, B.; MOSCARDI, F. (Org.). . *Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga*. 1. ed. Brasília: Embrapa, 2012. p. 421–444.

LORINI, I. Manejo integrado de pragas de produtos armazenados. 2014, Brasília: Embrapa, 2014. p. 6.

MIKHAIEL, A. A. Potential of some volatile oils in protecting packages of irradiated wheat flour against *Ephesia kuehniella* and *Tribolium castaneum*. *Journal of Stored Products Research*, v. 47, n. 4, p. 357–364, 2011.

MOREAU, T. L.; ISMAN, M. B. Combining reduced-risk products, trap crops and yellow sticky traps for greenhouse whitefly (*Trialeurodes vaporariorum*) management on sweet peppers (*Capsicum annum*). *Crop Protection*, v. 34, p. 42–46, 2012.

MORI, C. *et al.* *Avaliação de impactos econômicos sociais e ambientais de algumas tecnologias geradas pela Embrapa Trigo*. Brasília: Embrapa, 2007.

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

OLIVEIRA, A. P. *Nanoformulações à base de óleo essencial de Lippia sidoides e timol para o manejo de populações de Sitophilus zeamais*. 2016. 32 f. Universidade Federal de Sergipe, 2016.

OLIVER-BEVER, B. Medicinal plants in tropical west africa II. Plants acting on the nervous system. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 7, n. 1, p. 1–93, 1983.

PANDEY, V. *et al.* Strong larvicidal activity of three species of *Spilanthes* (Akarkara) against malaria (*Anopheles stephensi* Liston, *Anopheles culicifacies*, species C) and filaria vector (*Culex quinquefasciatus* Say). *Parasitology Research*, v. 102, n. 1, p. 171–174, 2007.

PANDEY, V.; CHOPRA, M.; AGRAWAL, V. In vitro isolation and characterization of biolarvicidal compounds from micropropagated plants of *Spilanthes acmella*.

Parasitology Research, v. 108, n. 2, p. 297–304, 22 fev. 2011.

PAVELA, R. Insecticidal activity of some essential oils against larvae of *Spodoptera littoralis*. *Fitoterapia*, v. 76, n. 7–8, p. 691–696, 2005.

PEIRIS, K. P. R. A.; SILVA, G. K. J.; RATNASOORIYA, W. D. Analgesic Activity of Water Extract of *Spilanthes acmella* Flowers on Rats. *J. Trop. Med. Plants.*, v. 2, n. 2, p. 201, 2001.

PEREIRA, P. A. A. *et al.* The development of Brazilian agriculture: Future technological challenges and opportunities. *Agriculture and Food Security*, v. 1, n. 1, p. 4, 2012.

PLATA-RUEDA, A. *et al.* Insecticidal activity of garlic essential oil and their constituents against the mealworm beetle, *Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae). *Scientific Reports*, v. 7, n. 4, p. 46406, 2017.

PRATES, H. T. *et al.* Insecticidal activity of monoterpenes against *Rhyzopertha dominica* (F.) and *Tribolium castaneum* (Herbst). *Journal of Stored Products Research*, v. 34, n. 4, p. 243–249, 1998.

R. R Development Core Team. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*, v. 55, p. 275–286, 2013.

RAJA, N. *et al.* Effect of plant volatile oils in protecting stored cowpea *Vigna unguiculata* (L.) Walpers against *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) infestation. *Journal of Stored Products Research*, v. 37, n. 2, p. 127–132, 2001.

RAJENDRAN, S.; SRIRANJINI, V. Plant products as fumigants for stored-product insect control. *Journal of Stored Products Research*, v. 44, n. 2, p. 126–135, 2008.

RAMSEWAK, R. S.; ERICKSON, A. J.; NAIR, M. G. Bioactive N-isobutylamides from the flower buds of *Spilanthes acmella*. *Phytochemistry*, v. 51, n. 6, p. 729–732, 1999.

REGNAULT-ROGER, C.; VINCENT, C.; ARNASON, J. T. Essential Oils in Insect Control: Low-Risk Products in a High-Stakes World. *Annual Review of Entomology*, v. 57, n. 1, p. 405–424, 2012.

RIBEIRO, L. P. *et al.* *Pimenta pseudocaryophyllus* Derivatives: Extraction Methods and Bioactivity Against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera:

- Curculionidae). *Neotropical Entomology*, v. 44, n. 6, p. 634–642, 2015.
- SANIL, D.; SHETTY, N. J. The effect of sublethal exposure to temephos and propoxur on reproductive fitness and its influence on circadian rhythms of pupation and adult emergence in *Anopheles stephensi* Liston - a malaria vector. *Parasitology Research*, v. 111, n. 1, p. 423–432, 2012.
- SANTOS, A. M. O. *Análise química e efeitos letais e sub-letais do óleo essencial de patchouli e sua nanoemulsão em populações de Sithophilus zeamais (Coleoptera: Curculionidae)*. 2013. 54 f. Universidade Federal de Sergipe, 2013.
- SANTOS, C. A. B. DOS *et al.* Atividade inseticida de extratos vegetais contra o pulgão (*Aphis craccivora* Koch) do feijão caupi (*Vigna unguiculata*). v. 6, n. 2, p. 1–5, 2011.
- SARAF, D. K.; DIXIT, V. K. *Spilanthes acmella* Murr.: Study on its extract spilanthol as larvicidal compound. *Asian Journal of Experimental Biological Sciences*, v. 16, n. 1, p. 9–19, 2002.
- SEIXAS, P. T. L. *et al.* Bioactivity of essential oils from artemisia against *Diaphania hyalinata* and its selectivity to beneficial insects. *Scientia Agricola*, v. 75, n. 6, 2018.
- SHI, M. *et al.* Individual-based modelling of the efficacy of fumigation tactics to control lesser grain borer (*Rhyzopertha dominica*) in stored grain. *Journal of Stored Products Research*, v. 51, p. 23–32, 2012.
- VAN DER WERF, H. M. G. Assessing the impact of pesticides on the environment. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, v. 60, n. 2–3, p. 81–96, 1996.

7. TABELAS E FIGURAS

Tabela 1. Toxicidade por contato do OE de *A. oleracea* e do extrato de alho (controle positivo) a adultos de *R. dominica* 48 horas após a aplicação dos tratamentos.

Tratamento	N ^a	Inclinação ± EP	DL ₅₀ (µg mg ⁻¹)	χ ²	P
Extrato de alho	300	2,41 ± 0,27	29,46 (24,58 - 34,79)	1,75	0,63
OE de <i>A. oleraceae</i>	300	2,07 ± 0,22	4,14 (3,36 - 5,01)	1,89	0,60

^a Número de insetos, ^b Dose letal com 95% de intervalo de confiança.

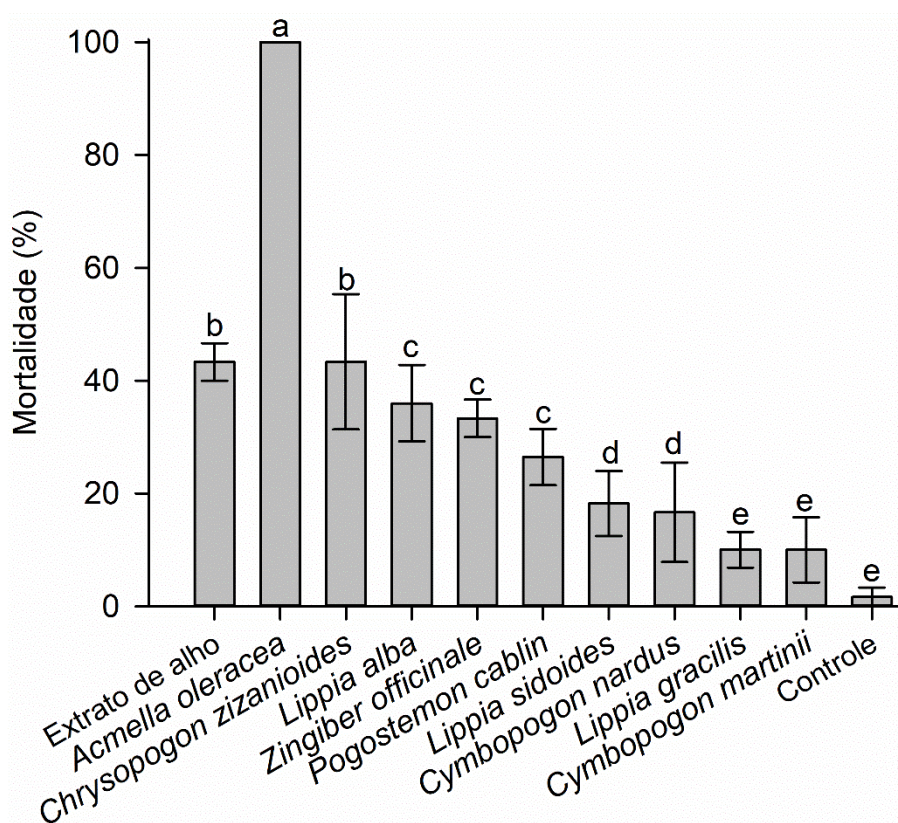


Figura 1. Mortalidade (média ± erro padrão) de adultos de *R. dominica* 48 horas após a aplicação tópica dos tratamentos. Nove óleos essenciais e o extrato de alho (controle positivo) foram aplicados na dose de 30 µg mg⁻¹. O controle negativo consistiu na aplicação de acetona. Letras diferentes indicam diferença significativa na análise de agrupamento de Scott-Knott ($P < 0,05$).

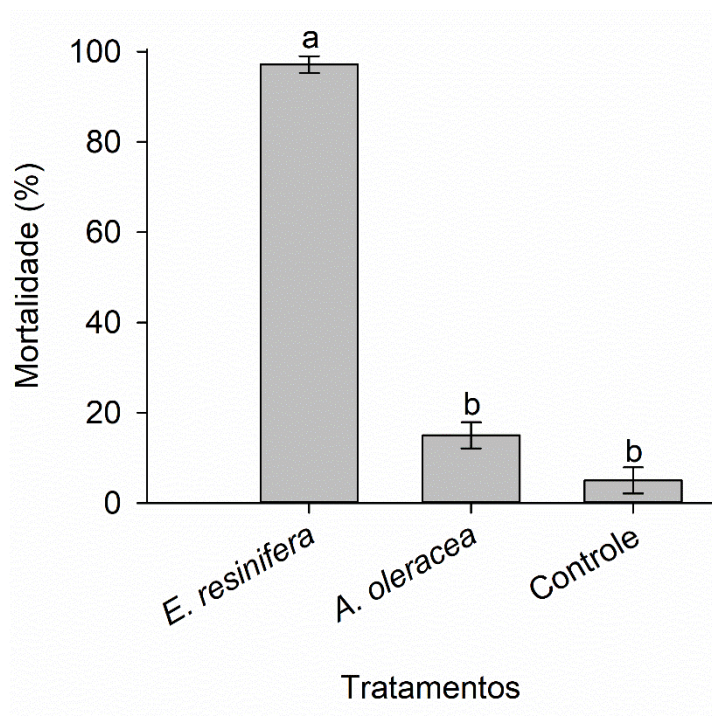


Figura 2. Mortalidade (média \pm erro padrão) de adultos de *R. dominica* 48 horas após exposição por fumigação ($150 \mu\text{L L}^{-1}$) aos tratamentos. O OE de *Eucalyptus resinifera* foi usado como padrão de eficiência. Controle = Acetona. Histogramas seguidos por letras diferentes diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

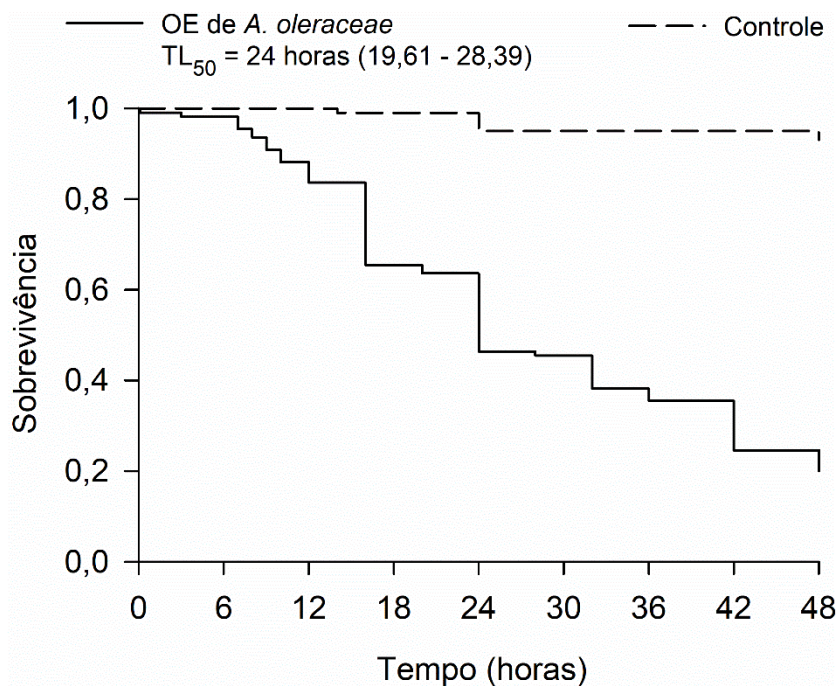


Figura 3. Curvas de sobrevivência para adultos de *R. dominica* estimadas pelo método de Kaplan-Meier.

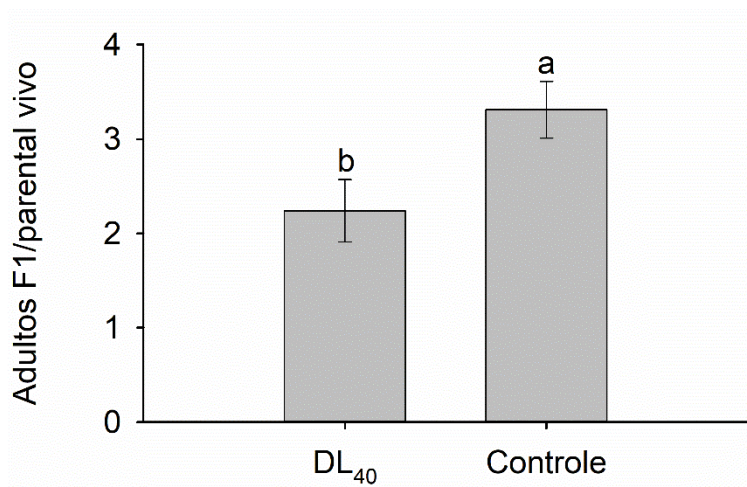


Figura 4. Produção de adultos F1/ parental vivo para adultos de *R. dominica* tratados com a DL₄₀ do óleo essencial de *A. oleracea* e com acetona (controle). Histogramas seguidos por letras diferentes diferem entre si pelo teste *t* de Student ao nível de 5% de probabilidade.