

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE AGRONOMIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA

AVALIAÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS NO CONTROLE DE *Sitophilus zeamais* (Col.; Curculionidae) E FUNGOS EM GRÃOS DE MILHO ARMAZENADO

Roberto Gottardi  
Engenheiro Agrônomo/UFRGS

Dissertação apresentada como um dos requisitos  
à obtenção do Grau de Mestre em Fitotecnia  
Ênfase Entomologia

Porto Alegre (RS), Brasil  
Maio de 2014

Gottardi, Roberto

Avaliação de Compostos Bioativos no Controle de  
*Sitophilus zeamais* (Col.; Curculionidae) e fungos em  
grãos de milho armazenado / Roberto Gottardi. --  
2014.

81 f.

Orientador: Rafael Gomes Dionello.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa  
de Pós-Graduação em Fitotecnia, Porto Alegre, BR-RS,  
2014.

1. Controle do gorgulho do milho com compostos  
bioativos. I. Dionello, Rafael Gomes, orient. II.  
Título.

ROBERTO GOTTARDI  
Engenheiro Agrônomo - UFRGS

## **DISSERTAÇÃO**

Submetida como parte dos requisitos  
para obtenção do Grau de

### **MESTRE EM FITOTECNIA**

Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia  
Faculdade de Agronomia  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Porto Alegre (RS), Brasil

Aprovado em: 26.05.2014  
Pela Banca Examinadora

Homologado em: 25.08.2015  
Por

RAFAEL GOMES DIONELLO  
Orientador - PPG Fitotecnia

SIMONE MUNDSTOCK JAHNKE  
Coordenadora do Programa de  
Pós-Graduação em Fitotecnia

ANA PAULA OTT  
PPG Fitotecnia

RICARDO BISOTTO DE OLIVEIRA  
SOS Abelhas Brasil

LAURI LOURENÇO RADÜNZ  
UFFS-Universidade Federal da  
Fronteira Sul

PEDRO ALBERTO SELBACH  
Diretor da Faculdade de  
Agronomia

*Aos meus pais, Darci e Sueli,*

*Ao meu irmão Cassiano*

*Com grande carinho,*

*Dedico*

## AGRADECIMENTOS

À Deus PAI, o Alfa e o Ômega, o Único Criador de todas as coisas. Por ele existe Jesus Cristo (Yaohushua) que trouxe a salvação a este mundo e nos ensinou a amar uns aos outros. A força criadora de Deus é imanente em cada um de nós, assim como em todo ser vivo deste planeta, basta ter coração para sentir essa grande verdade.

Agradeço à Deus pelo amparo nas minhas fraquezas e dificuldades, me iluminando, me guiando e me protegendo para eu poder chegar aqui hoje. Ele sempre apresenta as pessoas e as situações certas em nossa vida para o constante aprendizado e evolução neste planeta.

Ao meu orientador, Dr. Rafael Gomes Dionello, por toda a sua ajuda prestada a mim na execução desta pesquisa e posterior auxílio na elaboração da estatística dos dados para esta dissertação.

Ao grande amigo Luidi Eric Guimarães Antunes pelo incentivo e apoio nas horas difíceis pelas quais passei ao longo desses últimos anos em que tive o privilégio de trabalharmos juntos.

Ao Luís Fernando da Silva pelo companheirismo durante os tempos de faculdade e pós-graduação, o que muito me ajudou a continuar seguindo em frente e não desistir.

Ao Arnaldo Tiecker Junior e todos os demais colegas de laboratório, bolsistas e mestrandos pela ajuda e amizade durante os trabalhos efetuados em conjunto.

A todos os professores com os quais tive aulas na UFRGS durante o curso e a pós-graduação nesta mesma universidade ou fiquei conhecendo-os por algum motivo; obrigado pelo aprendizado que adquiri com todos vocês.

A todas as demais pessoas com as quais convivi nesse tempo de estudante, as quais permitiram tornar todas as coisas mais fáceis, entre elas, funcionários, bibliotecários, motoristas de viagens técnicas/excursões, assistentes, colegas, meus sinceros agradecimentos.

Ao CNPq pela bolsa de estudos fornecida.

# AVALIAÇÃO DA AÇÃO DE COMPOSTOS BIOATIVOS NO CONTROLE DE *Sitophilus zeamais* (Col.; Curculionidae) E FUNGOS EM GRÃOS DE MILHO ARMAZENADO<sup>1</sup>

Autor: Roberto Gottardi

Orientador: Rafael Gomes Dionello

## RESUMO

As perdas de grãos armazenados na pós-colheita, devido apenas ao ataque de pragas, são estimadas em 10% do total colhido. Entre os principais insetos pragas de grãos armazenados, destacam-se os gorgulhos, sendo que destes, um dos que mais acarretam prejuízos é o caruncho do milho (*Sitophilus zeamais*). Dentre os fungos, os que mais causam danos na pós-colheita de grãos, são aqueles dos gêneros *Fusarium*, *Aspergillus* e *Penicillium*. Em vista disso, buscou-se neste trabalho, avaliar o efeito de diferentes compostos bioativos no controle de *S. zeamais* e fungos em grãos de milho (*Zea mays*), durante 150 dias. Foram testados quatro compostos: 1. Óleo essencial bruto de melaleuca (*Melaleuca* sp.), nas concentrações de 0,5; 1,0 e 2,0 L.t<sup>-1</sup>; 2. Produto comercial à base de óleo de nim (*Azadirachta indica*), nas concentrações de 2 L e 4 L.t<sup>-1</sup>; 3. Folhas semi-secas de eucalipto, *E. citriodora*, equivalentes a 15 e 30 kg de matéria seca por tonelada de grãos e 4. Folhas semi-secas de cinamomo, *Melia azedarach*, equivalentes a 15 e 30 kg de matéria seca por tonelada de grãos. O tratamento controle ou testemunha, foi realizado em grãos de milho livres de qualquer produto, apenas com a infestação dos gorgulhos. O experimento foi conduzido sob delineamento inteiramente casualizado, com dez tratamentos e 3 repetições. Cada parcela experimental foi constituída por 20 adultos de *S. zeamais*, não sexados, colocados em recipientes plásticos, contendo 150 g de milho. O milho foi tratado apenas inicialmente para testar o efeito residual dos produtos. As infestações ocorreram no tempo zero, 30, 60, 90 e 120 dias. A mortalidade e a emergência foi avaliada quinzenalmente. A cada 30 dias, realizou-se as seguintes análises: microbiológica, tecnológica, umidade, peso de 1000 grãos e massa específica. Os resultados obtidos neste trabalho mostraram que: a) o óleo de melaleuca na dosagem 0,5L.t<sup>-1</sup> de grãos proporcionou baixo desenvolvimento de fungos do gênero *Aspergillus*; b) o tratamento com o produto comercial a base de nim na dosagem de 2L.t<sup>-1</sup> de grãos foi o mais eficiente no controle e emergência de *S. zeamais* ao longo dos 150 dias de armazenamento, apresentando ao final as menores perdas de massa específica e a menor incidência de grãos carunchados; c) folhas semi-secas de eucalipto foram eficientes no controle de *S. zeamais* somente até os 30 dias de armazenamento.

---

<sup>1</sup> Dissertação de Mestrado em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (81 p.) Maio, 2014.

# ACTION OF BIOACTIVE COMPOUNDS OF EVALUATION IN CONTROL OF *Sitophilus zeamais* (Col .; Curculionidae) AND FUNGI IN STORED GRAINS OF MAIZE<sup>1</sup>

Author: Roberto Gottardi

Adviser: Rafael Gomes Dionello

## ABSTRACT

The losses of grain stored in the post-harvest due only to the pest attack is estimated at 10% of the total collected. Among the major insect pests of stored grain, stand out weevils, and of these, one of the fastest impairing is the maize weevil (*Sitophilus zeamais*). Among the fungi, which cause more damage in the post-harvest grain, are those of *Fusarium*, *Aspergillus* and *Penicillium*. In view of this, we sought in this study was to evaluate the effect of different bioactive compounds against *S. zeamais* and fungi in grains of maize (*Zea mays*), for 150 days. Four compounds were tested: 1. Oil crude essential tea tree (*Melaleuca* sp), in concentrations of 0,5; 1,0 and 2,0L.t<sup>-1</sup>; 2. Commercial product on the basis of neem oil (*Azadirachta indica*) in concentrations of 2 and 4L.t<sup>-1</sup>; 3. Semi-dried leaves of eucalyptus, *E. citriodora*, equivalent to 15 and 30 kg of dry matter per ton of grains and 4. Semi-dried leaves of cinnamon, *Melia azedarach* equivalent to 15 and 30 kg per ton of dry matter grains. The control treatment or witness, was held in free corn grain of any product, just with the infestation of weevils. The experiment was conducted in a completely randomized design, with ten treatments and three replications. Each plot consisted of 20 adults of *S. zeamais*, not sexed into plastic containers containing 150 g of corn. The corn was treated initially only to test the residual effect of the products. The infestation occurred at time zero, 30, 60, 90 and 120 days. The mortality and the emergency was evaluated every two weeks. Every 30 days the following analyzes were performed: microbiological, technological, humidity, 1000 grain weight and density. The results of this study showed that: a) tea tree oil in 0,5L.t<sup>-1</sup> grain dosage provided low development of *Aspergillus* fungi of the genus; b) treatment with the commercial product based on the neem dosage 2L.t<sup>-1</sup> grain was the most effective to control and emergency *S. zeamais* over the 150 days of storage, showing the end of lower mass loss specific and the lower incidence of carunchados grains; c) semi-dry eucalyptus leaves were effective against *S. zeamais* only up to 30 days of storage.

---

<sup>1</sup> Master of Science dissertation in Agronomy, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (81 p.) May, 2014.

## SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	3
2.1. Importância da cultura do milho ( <i>Zea mays</i> L.).....	3
2.2. <i>Sitophilus zeamais</i> Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae).....	5
2.2.1. Descrição e biologia.....	5
2.2.2. Danos.....	6
2.3. Importância dos compostos bioativos .....	7
2.4. Controle de insetos pragas em grãos armazenados com compostos bioativos ...	10
2.5. Controle de fungos em grãos armazenados com compostos bioativos .....	22
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	25
3.1. Grãos de milho ( <i>Zea mays</i> ) .....	25
3.2. Tratamentos.....	25
3.2.1. Metodologia .....	26
3.2.2. Óleo de melaleuca ( <i>Melaleuca</i> sp.) e inseticida de nim ( <i>Azadirachta indica</i> A. Juss).....	27
3.2.3. Folhas semi-secas de cinamomo ( <i>Melia azedarach</i> L.) e de eucalipto ( <i>Eucalyptus citriodora</i> Hook).....	28
3.3. Análises .....	29
3.3.1. Mortalidade .....	29
3.3.2. Emergência .....	30
3.3.3. Análise microbiológica.....	30
3.3.4. Determinação da umidade .....	31
3.3.5. Massa específica .....	31
3.3.6. Peso de 1000 grãos .....	31
3.3.7. Análise tecnológica.....	32
3.4. Delineamento experimental e análise estatística .....	34
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
4.1. Avaliação do controle de <i>Sitophilus zeamais</i> com uso de diferentes compostos bioativos, em grãos de milho armazenados.....	36
4.1.1. Mortalidade .....	36
4.1.2. Emergência.....	44
4.2. Avaliação da ocorrência de fungos em grãos de milho armazenados, infestados com <i>Sitophilus zeamais</i> , tratados com diferentes compostos bioativos .....	47
4.2.1. <i>Aspergillus</i> spp. ....	47



	Página
4.2.2. <i>Fusarium</i> spp. ....	51
4.2.3. <i>Penicillium</i> spp. ....	54
4.3. Avaliação da qualidade física dos grãos de milho armazenados, infestados com <i>Sitophilus zeamais</i> , tratados com diferentes compostos bioativos .....	56
4.3.1. Determinação da umidade .....	56
4.3.2. Massa específica .....	58
4.3.3. Peso de 1000 grãos .....	60
4.4. Avaliação da qualidade tecnológica dos grãos de milho armazenados, infestados com <i>Sitophilus zeamais</i> , tratados com diferentes compostos bioativos .....	62
4.4.1. Grãos avariados. ....	62
4.4.2. Grãos carunchados. ....	64
4.4.3. Impurezas e matérias estranhas.....	67
5. CONCLUSÕES .....	70
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	71
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	72

## RELAÇÃO DE TABELAS

	Página
1. Limites máximos de tolerância para classificação do milho, expressos em percentual (%).....	34

## RELAÇÃO DE FIGURAS

	Página
1. Mortalidade (%) de <i>Sitophilus zeamais</i> em grãos de milho durante o 150 dias, sob o efeito residual de diferentes compostos bioativos.....	37
2. Emergentes totais (vivos e mortos) de <i>Sitophilus zeamais</i> em grãos de milho, durante 150 dias, tratados com diferentes compostos bioativos.....	45
3. Desenvolvimento de <i>Aspergillus</i> spp. (%) em grãos de milho infestados com <i>Sitophilus zeamais</i> , durante 150 dias de armazenamento, sob diferentes tratamentos.	49
4. Desenvolvimento de <i>Fusarium</i> spp. (%) em grãos de milho infestados com <i>Sitophilus zeamais</i> , durante 150 dias de armazenamento, sob diferentes tratamentos.	52
5. Desenvolvimento de <i>Penicillium</i> spp. (%) em grãos de milho infestados com <i>Sitophilus zeamais</i> , durante 150 dias de armazenamento, sob diferentes tratamentos.	55
6. Umidade (% b.u.) de grãos de milho armazenados, durante 150 dias, infestados com <i>Sitophilus zeamais</i> , sob diferentes tratamentos.....	57
7. Massa específica ( $\text{kg m}^{-3}$ ) de grãos de milho armazenados, durante 150 dias, infestados com <i>Sitophilus zeamais</i> , sob diferentes tratamentos.....	59
8. Peso de mil grãos (g) de milho armazenados, durante 150 dias, infestados com <i>Sitophilus zeamais</i> , sob diferentes tratamentos.....	61
9. Avariados (%) em grãos de milho armazenados, durante 150 dias, infestados com <i>Sitophilus zeamais</i> , sob diferentes tratamentos.....	62

	Página
10. Carunchados (%) em grãos de milho armazenados durante 150 dias, infestados com <i>Sitophilus zeamais</i> , sob diferentes tratamentos .....	66
11. Impurezas e matérias estranhas (%) em grãos de milho armazenados durante 150 dias, infestados com <i>Sitophilus zeamais</i> , sob diferentes tratamentos ...	68

## 1 INTRODUÇÃO

Estima-se que no mundo, cerca de 50% de todos os alimentos produzidos, incluindo frutas, olerícolas e grãos, são desperdiçados e/ou perdidos durante o transcorrer de todas as etapas das cadeias produtivas: plantio, colheita, beneficiamento, armazenamento, distribuição e consumo. A infraestrutura deficitária de armazenamento e logística estão entre as principais causas dessas perdas. O milho (*Zea mays* L.) está entre os cereais mais produzidos no Brasil e no mundo. Os grãos de milho podem ser infestados por insetos no campo, durante o armazenamento e na distribuição final. Os insetos que se alimentam dos grãos na pós-colheita podem ocasionar perdas, tanto quantitativas, quanto qualitativas, tais como a redução de peso e do valor nutritivo. Desse modo, a presença de insetos nos produtos agrícolas acarreta ampla implicação econômica, pois os diferentes tipos de danos provocados acabam por dificultar a comercialização.

Entre as principais espécies de insetos de grãos armazenados destaca-se o gorgulho do milho *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1855 (Coleoptera: Curculionidae). Duas das principais características que levam *S. zeamais* a ser considerado uma praga das mais importantes dos produtos armazenados residem: no seu hábito de polifagia, atacando diversos tipos de grãos, sem ter um único alimento definido, somada a sua capacidade de perfurar o grão ainda intacto (praga primária interna) e de se desenvolver no interior do grão durante todas as suas fases imaturas (ovo, larva e pupa).

A utilização de inseticidas químicos líquidos e fumigantes é algo ainda muito comum, pois os mesmos, embora já tenham desencadeado alguns casos de resistência amplamente relatados, de maneira geral, são eficientes no controle dos insetos pragas de grãos armazenados. Além da resistência, eles ainda podem provocar severos problemas de contaminações e intoxicações, repercutindo em graves prejuízos para a saúde humana. Uma das alternativas para evitar tais consequências indesejáveis, é a utilização de plantas com propriedades inseticidas na forma de extratos, pós e óleos, que ofereçam menos riscos de geração de resíduos ou contaminantes nos alimentos e produtos finais, não necessitando de mão-de-obra qualificada para a sua aplicação. Atualmente, ao mesmo tempo que aumenta o estudo em torno desse método de controle de pragas no campo e armazéns, muitos agricultores já estão buscando uma agricultura mais sustentável e melhor qualidade nas suas vidas. Tendo em vista esse cenário promissor, este trabalho objetivou avaliar: 1. A eficiência de quatro compostos bioativos no controle de insetos adultos de *S. zeamais* e fungos dos gêneros *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp. e *Penicillium* spp., em grãos de milho (*Z. mays*) armazenados por cinco meses. 2. As perdas quantitativas e qualitativas decorrentes do ataque dos insetos adultos de *S. zeamais* e fungos ao longo do tempo de armazenamento sob os diferentes tratamentos realizados.

## **2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Importância da cultura do milho (*Zea mays* L.)**

A importância do milho não se reduz apenas ao imenso volume produzido ou a enorme área cultivada, mas também e principalmente, pela sua grande representação sócio-econômica na vida das pessoas, já que é uma cultura tipicamente desenvolvida em pequenas propriedades rurais, sendo utilizado tanto na alimentação humana quanto animal, bem como consumido na forma de subprodutos. Por causa disso, se torna necessária a preservação de suas qualidades durante todo o período de armazenagem (ABIMILHO, 2014).

O milho é o cereal mais produzido no mundo, sendo cultivado em quase todos os países. A produção total mundial é de aproximadamente 980 milhões de toneladas (CONAB, 2014). O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de milho, ficando atrás apenas da China e dos Estados Unidos, o segundo e o primeiro respectivamente. Esses três países juntos concentram aproximadamente metade (48%) da área plantada com esse cereal e cerca de 65% da produção mundial (ALVES & AMARAL, 2011).

Apesar disso, o Brasil é o 2º maior exportador desse cereal, atrás apenas dos EUA. O país exporta cerca de 20 milhões de toneladas anualmente. A produção de milho na safra brasileira 2012/2013 foi de 81,5 milhões de toneladas. No entanto, nessa última safra 2013/2014, segundo as estimativas da CONAB, a produção total de milho

foi de 79,9 milhões de toneladas. Em relação a safra anterior 2012/2013, a produção brasileira de milho diminuiu 2% (CONAB, 2014).

No Brasil, as pequenas propriedades rurais são responsáveis por cerca de 50% da produção nacional (BRASIL, 2012). Os segmentos que mais demandam milho no Brasil são a avicultura e suinocultura, para os quais são destinados cerca de 45% do milho produzido no país na forma de rações. Um percentual bastante expressivo também faz parte da balança comercial, pois se chega a exportar aproximadamente 30% do total produzido. O restante do milho se divide nos seguintes usos: internamente nas próprias propriedades para o tratamento de bovinos e outros animais (12-13%) e um pequeno percentual destinado para a indústria de processamento e para o consumo humano direto (in natura), 7-10% e 2% respectivamente. Em razão de seu grande uso nas atividades agropecuárias e na indústria, constitui matéria prima para as mais variadas aplicações. Na indústria de alimentos e de bebidas, o emprego do milho como matéria prima poderá ser aumentado de forma considerável no futuro, criando novas fontes de consumo (ABIMILHO, 2014).

No Rio Grande do Sul, a produção total de milho apresentou um pequeno acréscimo quando comparado a safra 2012/2013, na qual foi de 5,38 milhões de toneladas e nessa safra 2013/2014 foi de 5,71 milhões, uma variação de 6,2%. Essa quantidade colhida se deve às boas condições do tempo, não tendo havido perdas ou frustração de safra proporcionada por estiagem tal como ocorreu no estado em 2010/2011 (CONAB, 2014).



## **2.2 *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae)**

### **2.2.1 Descrição e biologia**

Os insetos denominados de *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae) são besouros encontrados em todas as regiões tropicais do mundo. Possuem corpo medindo entre 2,0 a 3,5 mm de comprimento, coloração castanho-escuro, com quatro manchas (estrias) dorsais mais claras nas asas anteriores (élitros), visíveis logo após a emergência dos gorgulhos. As asas posteriores são bem desenvolvidas, possibilitando vôos longos (até 1 km em busca de alimento) e rápidos, permitindo a infestação de grãos ainda no campo. A cabeça desses coleópteros é projetada para frente como uma tromba, em cuja extremidade, em formato de rostro curvado, encontram-se as peças bucais (LOECK, 2002; LORINI *et al.*, 2002; LORINI, 2008).

As larvas de *S. zeamais* são de cor amarelo-clara, com cabeça marrom-escuro (castanha), enquanto que as pupas são completamente brancas. O período de oviposição é de aproximadamente 100 dias e o número de ovos por fêmea é cerca de 300.

O ciclo de vida de uma fêmea (longevidade) dura em média 140 dias. O período de incubação oscila entre três a seis dias. O ciclo de ovo até a emergência de adultos, em condições ótimas de temperatura e umidade relativa do ar (28 °C e 60% UR) se dá em torno de 34 dias. Com as peças bucais, a fêmea faz um orifício no grão, onde deposita um só ovo de cada vez, fechando o buraco com uma espécie de teia “gelatinosa” (LOECK, 2002; LORINI *et al.*, 2002; LORINI, 2008).

### 2.2.2 Danos

O gorgulho do milho causa danos extensivos aos mais diversos tipos de grãos armazenados e, sobretudo, aos produtos derivados desses grãos. Em certos casos, as perdas quantitativas causadas por insetos pragas de grãos armazenados podem atingir 5-10% nas regiões de clima temperado e 20-30% nas regiões de clima tropical (HAQUE *et al.*, 2000).

Em relação ao Brasil, segundo Silva *et al.* (2007), as perdas quantitativas e qualitativas na pós-colheita, ocasionadas em decorrência de pragas (insetos, ácaros e fungos), podem chegar à 20% da produção total de grãos, o que tem demandado novos estudos e tecnologias para a melhoria das condições no armazenamento ou de controle de pragas em todo o país. Todo e qualquer método alternativo de controle, contanto que seja eficiente e passível de ser realizado economicamente e tecnicamente falando, precisa ser adotado na prática o mais rápido possível por todos os envolvidos nas cadeias produtivas de grãos, tendo em vista os inúmeros registros de níveis elevados de resistência a inseticidas utilizados atualmente em insetos de grãos armazenados no Brasil (PIMENTEL, *et al.*, 2009).

A utilização de óleos essenciais pode ser uma boa alternativa ou adjuvante no controle de populações de insetos resistentes a esses inseticidas convencionais.

A grande importância do *S. zeamais* como praga de produtos armazenados caracteriza-se pelo fato dele possuir elevada diversidade biótica, podendo apresentar infestação cruzada, isto é, a capacidade de infestar os grãos tanto no campo quanto no armazém. Esse inseto consegue penetrar a grandes profundidades na massa de grãos estocada com extrema facilidade. Além disso, é um gorgulho detentor de elevado potencial reprodutivo, e isso ocorre devido a duas particularidades principais: uma, por ser uma praga primária interna, onde tanto larvas como adultos são prejudiciais e

atacam grãos inteiros e sadios. E segunda, por possuir hábito polífago (vários hospedeiros), tal é a sua ampla habilidade para se multiplicar em meio a distintas dietas alimentares. Atacam grãos, tais como trigo, milho, arroz, cevada, triticale, entre muitos outros, inclusive alguns tipos de frutas tais como uva, maçã e pêssego (BOTTON, 2005).

A postura é realizada no interior dos grãos. Após a eclosão, as larvas vão se alimentando e escavando uma espécie de túnel enquanto se desenvolvem, passando por quatro ínstares. Quando atingem o seu máximo desenvolvimento continuam dentro do grão e transformam-se em pupas. Passada essa fase no interior do grão, o adulto logo que emerge, cava a saída para o exterior, deixando um orifício de emergência característico (EVANS, 1981; LORINI, 2008; MANUAL, 2002).

### **2.3 Importância dos compostos bioativos**

Os condimentos e as especiarias foram amplamente utilizados por civilizações antigas para realçar a palatabilidade de alimentos e bebidas e como medicinais tais como a sálvia (*Salvia officinalis* L.) e o alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.). Mas devido as suas propriedades antifúngicas, antimicrobianas e antioxidantes, foram utilizadas em outras aplicações além destas. Na antigüidade, egípcios aproveitavam as características preservativas destes temperos na mumificação de seus mortos. Os óleos essenciais de cravo (*Dianthus caryophyllus* L.), canela (*C. zeylanicum*) e cássia (*Cassia fistula* L.) foram muito empregados por eles nesse processo, devido a suas propriedades inibitórias no desenvolvimento de microrganismos deterioradores (SHELEF, 1983).

Estudos cada vez mais têm comprovado a eficiência de compostos isolados, extraídos de óleos essenciais de plantas, como antimicrobianos em geral. Em trabalho testando o efeito de vários óleos de plantas sobre quatro bactérias gram-positivas

(*Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*), quatro bactérias gram-negativas (*Alcaligenes faecalis*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*), dois fungos (*Aspergillus niger*, *Rhizopus oligosporus*) e uma levedura (*Candida albicans*), Chao & Young (2000) observaram que o óleo da casca de canela (*Cinnamomum zeylanicum* Breyn) e de melaleuca (*Melaleuca alternifolia* Cheel) inibiu o desenvolvimento de todos esses microorganismos.

No contexto das pesquisas de novos produtos com potencial antifúngico, aqueles oriundos de plantas, podem possibilitar o isolamento de substâncias conhecidas ou inéditas, e até o seu uso como modelos para moléculas sintéticas (DI SALVO, 1974). Trabalhos realizados com extrato bruto ou óleos essenciais, obtidos a partir de plantas medicinais têm demonstrado o potencial destas no controle de fitopatógenos, tanto por ação fungitóxica direta, inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos, quanto pela indução de fitoalexinas, indicando a presença de compostos com características de elicitores (STANGARLIN *et al.*, 1999). Algumas dessas plantas testadas pelos autores tais como, o manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) e arruda (*Ruta graveolens* L.), mostraram que o extrato bruto acima de 10% dessas espécies inibiu totalmente o crescimento micelial do fungo *Sclerotium rolfsii*.

Quanto à ação antibacteriana, alguns óleos essenciais são capazes de controlar tanto bactérias Gram-positivas quanto Gram-negativas. Como típicos compostos lipofílicos, os óleos essenciais atravessam a parede celular e a membrana citoplasmática. A atividade citotóxica parece estar ligada ao rompimento das estruturas das diferentes camadas de polissacarídeos, ácidos graxos e fosfolipídios, das paredes celulares dessas bactérias (PRASHAR *et al.*, 2003). O óleo de melaleuca (*M. alternifolia*) causa lise e perda da integridade da membrana, devido à saída de íons e

inibição da respiração celular (CARSON *et al.* 2006). Em trabalho realizado por Lama (2013), ela observou que o extrato hidroalcoólico da vassourinha ou alecrim do campo (*Baccharis dracunculifolia* D. C.) foi eficaz no controle de várias bactérias (*Staphylococcus aureus*, *Salmonella choleraesuis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii*), sendo bastante promissora sua utilização como desinfetante de superfícies para a diminuição das infecções hospitalares.

Dentre os inseticidas de origem vegetal até hoje descobertos pelo homem e formulados, presentes no mercado, destacam-se os alcalóides de veratrina, anabasina, nicotina, nornicotina, piretrinas, rianodina e rotenona. Para fundamentar a importância de se trabalhar cientificamente os compostos bioativos, pode-se observar o que ocorreu com o piretro (*Chrysanthemum cinerariaefolium* (Trev.) Bocc), que começou a ser usado como inseticida a partir de 1850 (CREMLYN, 1979). Apesar da sua elevada e rápida eficiência no controle de insetos, combinada com a sua baixa toxicidade a mamíferos, o seu uso na agricultura foi limitado devido à sua instabilidade em presença de ar e de luz. No entanto, sem o conhecimento obtido com o piretro, e o posterior estudo dos princípios ativos extraídos de suas flores (piretrinas), não teria sido possível os avanços nessa área, como o desenvolvimento de novos inseticidas, levando ao surgimento de várias gerações de derivados do piretro, chamados de piretróides sintéticos (CREMLYN, 1979).

O estudo e a experimentação do controle de insetos pragas de grãos armazenados, através de extratos vegetais, pode permitir muito mais do que somente a descoberta ou a “redescoberta” de novos métodos alternativos eficazes (COATS *et al.*, 1991). Poderá também, possibilitar uma maior e melhor compreensão dos mecanismos bioquímicos que regem as interações comportamentais entre os insetos, e as estruturas químicas dos produtos obtidos naturalmente, sem uma manipulação sintética. Desse

modo, o conhecimento obtido através do entendimento da ecologia química, tornará possível abordagem mais próxima do biorracionalismo, no desenvolvimento de novos agentes biocidas (COATS, 1994).

A avaliação de compostos bioativos com diferentes finalidades, como o controle de fungos e insetos em grãos armazenados, é recente, haja visto o número crescente de trabalhos de pesquisa desenvolvidos e publicados nessa área. Assim sendo, é de fundamental importância a pesquisa constante e a procura de novos grupos químicos com efeitos fungicidas e inseticidas (PROCÓPIO *et al.*, 2003a).

#### **2.4 Controle de insetos pragas em grãos armazenados com compostos bioativos**

Diante de um cenário atual cada vez mais exigente e criterioso quanto ao controle químico por questões técnicas, econômicas, sociais e ambientais, os métodos alternativos no controle de insetos pragas de grãos armazenados nas etapas de pós-colheita, tais como os óleos essenciais de plantas, se mostram muito necessários atualmente (RIBEIRO, 2008; MOREIRA *et al.*, 2007; RAJENDRAN e SRIRANJINI, 2008). Essa importância se dá principalmente, uma vez que a maioria dos agrotóxicos existentes no presente, foram desenvolvidos em uma época em que as exigências em termos de avaliação da toxicidade para os seres humanos, e o impacto que causavam sobre o ambiente eram menores. Mas hoje, se sabe que muitos deles apresentam riscos consideráveis (BARBOSA, 2004).

Os pesticidas naturais, baseados em óleos essenciais de plantas, além de serem uma alternativa promissora na proteção de grãos armazenados, oferecem menos riscos à saúde de quem consome esses alimentos (ISMAN, 2000). O modo de ação rápida, da maioria dos óleos essenciais eficazes, está relacionado principalmente no seu controle

por meio de efeito neurotóxico. Evidências mostram que a atuação deles recai sobre a interferência no neuromodulador octopamina, encontrado em todos os invertebrados, mas não nos mamíferos ou nos canais de cálcio modulados pelo GABA (ISMAN, 2006). A octopamina se assemelha à noradrenalina e age como neurohormônio, neuromodulador e neurotransmissor, regulando os batimentos cardíacos, os movimentos, o comportamento e o metabolismo dos insetos (ROEDER, 1999).

Os óleos essenciais de muitas plantas superiores são abundantes em terpenos, especialmente os monoterpenos e seus análogos, os quais são compostos essencialmente lipofílicos. Essa característica confere a esses metabólitos secundários dos vegetais, enorme potencial para o desencadeamento de efeitos tóxicos (envenenamento) ou danosos aos insetos pragas de produtos armazenados, sejam eles, alterações de natureza bioquímica básica, fisiológica e/ou comportamental (COATS *et al.*, 1991; PRATES *et al.*, 1998; PRATES & SANTOS, 2000).

Entre as substâncias úteis para o controle de insetos, destacam-se aquelas com ação inseticida, com ação esterilizadora, ou que apenas afastam os insetos das plantas, como os repelentes e inibidores da alimentação (SAITO *et al.*, 2004). A atividade repelente é o modo de ação mais comum dos óleos essenciais e de seus componentes majoritários. Por meio do contato, podem interagir com o tegumento do inseto, provocando inclusive asfixia, além de atuar em enzimas digestivas e neurológicas (ISMAN, 2006).

Os monoterpenos cineol e limoneno possuem elevada ação inseticida sobre importantes pragas de grãos armazenados. A ação dessas substâncias são bastantes tóxicas devido ao modo de atuação múltipla sobre o corpo do inseto: penetração no organismo via sistema respiratório (efeito fumigante), através da cutícula (toxicidade tópica de contato) e pelo aparelho digestivo (efeito antialimentar de ingestão). Os

inseticidas provenientes dos óleos essenciais de plantas mais eficientes são aqueles dotados de ação por contato e/ou ingestão e, ao mesmo tempo, ação fumigante (PRATES & SANTOS, 2000). Por causa disso, a pressão de vapor (taxa de evaporação) é um aspecto importante a ser avaliado nesses compostos (RESTELLO, *et al.* 2009; REGNAULT & ROGER, 1997). O efeito dos extratos vegetais, sejam totais ou fitoquímicos purificados, nos insetos, apresentam-se sob diversas formas (SADEK, 2003), incluindo a toxicidade geral (HIREMATH *et al.*, 1997), o retardamento no desenvolvimento ou crescimento (BREUER & SCHMIDT, 1995), a inibição da alimentação (WHEELER & ISMAN, 2001), a deterrência à oviposição (ZHAO *et al.*, 1998), a redução da reprodução pela diminuição da fecundidade e fertilidade (MUTHUKRISHNAN & PUSHPALATHA, 2001).

Sabe-se que o comportamento alimentar dos insetos depende da conexão entre o sistema nervoso central e os quimiorreceptores, localizados nos tarsos, peças bucais e cavidade oral. Certas substâncias extraídas de vegetais, tal como a azadiractina extraída do nim, pode ser capaz de atuar sobre esses quimiorreceptores, estimulando as “células deterrentes específicas” (células que causam comportamento antagônico à alimentação, situadas nas peças bucais) ou bloqueando os fagoestimulantes, como as “células receptoras de açúcar”. O desencadeamento dessas funções pode terminar acarretando a inibição da vontade de se alimentar, levando-os a inanição e à morte (KNAAK & FIUZA, 2010).

Os métodos alternativos disponíveis atualmente, no controle de pragas de grãos armazenados, são uma ferramenta a mais a ser utilizada, além dos métodos ditos convencionais. São algumas dessas alternativas: o uso de óleos essenciais e/ou compostos bioativos de plantas, objeto deste trabalho, e o uso de pós-inertes, visando evitar ou pelo menos diminuir as perdas na pós-colheita (LORINI *et al.*, 2002). No



entanto, apesar desses métodos alternativos já serem conhecidos e usados há bastante tempo, eles precisam de aprimoramentos e/ou aperfeiçoamentos para se tornarem eficazes e viáveis na aplicação em larga escala em grandes quantidades de grãos, principalmente no que se refere aos compostos bioativos (GUERRA, 1985; ROEL, 2001).

Para assegurar a eficiência, uma das características a serem observadas nos produtos extraídos naturalmente dos vegetais, é a persistência dos mesmos ao longo do tempo, devido à degradação mais rápida da maioria dos compostos bioativos na sua forma natural sem qualquer transformação ou manipulação, o que acaba impossibilitando a proteção dos grãos durante períodos prolongados (COITINHO *et al.*, 2010). O uso de compostos bioativos, no controle de pragas de grãos armazenados, não deve ser encarado como um método isolado e sim integrado a outros métodos alternativos já existentes (KANAAK & FIUZA, 2010).

No interior do RS, o emprego de diversos pós-inertes (calcário agrícola, cal hidratada e cinzas de madeira) e de folhas frescas de louro (*Cordia trichotoma*), eucalipto cheiroso (*Eucalyptus citriodora*) e cinamomo (*Melia azedarach*) na conservação de produtos agrícolas, tais como milho e feijão eram práticas corriqueiras entre os agricultores no passado (GUERRA, 1985). Em alguns casos, devido à facilidade de aplicação e pela natureza do substrato a ser protegido, tem-se optado pelo uso do extrato seco (pó) das plantas, em detrimento de outros derivados vegetais (VENDRAMIN, 1997).

Nacionalmente, ainda não há registros de produtos comerciais à base de óleos essenciais para o controle de pragas de grãos armazenados. No entanto, na Europa e nos EUA, há muitos produtos comerciais formulados (KANAAK & FIUZA, 2010). No Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários (AGROFIT) do Ministério da Agricultura,

Pecuária e Abastecimento (MAPA), há cadastrado apenas produto à base de terra diatomácea (pó inerte). Registro de produto comercial à base do ingrediente ativo azadiractina que é um concentrado emulsionável já existe, porém ele é indicado para o controle de insetos pragas em lavouras e não em grãos armazenados (BRASIL, 2014).

A utilização de plantas no controle de pragas de grãos armazenados por agricultores no Brasil e em outros países do mundo, foi um dos estímulos que levou a pesquisa a verificar a sua eficiência nesta finalidade. Uma dessas plantas bastante estudada é a *Azadirachta indica*, originária das regiões áridas da Índia e conhecida popularmente como nim (ROEL, 2001; PROCÓPIO *et al.*, 2003a).

Agricultores de Gana na África utilizam as folhas secas de *A. indica* misturadas com grãos armazenados e/ou, esmagam os seus frutos nas paredes dos armazéns, para evitar danos provocados pelos gorgulhos (KOUL *et al.*, 1990). Jotwani & Sicar (1967) verificaram que as sementes de *A. indica*, na forma de pó, quando misturada às sementes de feijão de corda (*Vigna unguiculata* L.), exerciam proteção satisfatória por até 11 meses, contra o ataque do caruncho *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775). Essa planta possui seu efeito inseticida agindo das seguintes formas: inibindo a alimentação, a síntese do ecdisônio, biossíntese da quitina, provocando deformações em pupas e adultos, reduzindo a fecundidade e longevidade de adultos, alterando a capacidade de “sentir” os feromônios, esterilizando, inibindo a oviposição e causando mortalidade. (KOUL *et al.*, 1990; GOLOB *et al.*, 1999).

Conforme trabalho realizado por Souza & Trovão (2009), de diversos extratos secos de espécies vegetais, dentre estes, o angico (*Anadenanthera macrocarpa* Benth), craibeira (*Tabebuia caraiba* Bur) e faveleira (*Cnidoscylus quecifolius* Pax & Hoffm); apenas o extrato de nim se mostrou eficiente no combate a *S. zeamais*. O experimento consistiu na aplicação de duas dosagens (6 e 12 g) de extrato seco de cada planta em

200 g de milho, acondicionados em recipientes metálicos de 6 cm de diâmetro e 9 cm de altura, de modo a simular o armazenamento em silos metálicos usados pelos agricultores. A infestação foi realizada com seis insetos adultos não-sexados em cada repetição. Após 15 dias, efetuou-se a abertura dos recipientes para a verificação da mortalidade. Nos tratamentos com 6 g de pó de nim, houve mortalidade de 37% em média, enquanto no tratamento com 12 g de pó, a mortalidade chegou a 70%.

A toxicidade aguda de *A. indica* também foi verificada por Coitinho *et al.* (2006a), que utilizaram o óleo de nim na dose de 50  $\mu\text{L} \cdot 20 \text{ g}^{-1}$  de grãos, e constataram a mortalidade de 100% de adultos de *S. zeamais* em grãos de milho. Conforme Araya-Gonzalez *et al.* (1996), que testaram o efeito do pó de semente de *A. indica* sobre o gorgulho do milho, esta planta possibilitou 90% de mortalidade.

A tentativa de associar a utilização de extratos vegetais com fungos entomopatogênicos (*Metharhizium anisopliae*, *Paecilomyces farinosus* e *Beauveria bassiana*) para aumentar a eficiência do controle biológico de pragas foi testada por Marques, *et al.* (2004). Esses autores usaram óleo de nim em várias concentrações e constataram que apesar de afetar o crescimento e a esporulação, ele não diminuiu a viabilidade dos conídios destes fungos, mostrando que na dose de 0,019% ele pode ser aplicado em conjunto. Esse resultado mostra que apesar dos compostos bioativos naturais degradarem mais rápido que os produtos sintéticos, eles tem a vantagem de possuírem propriedades que favorecem os insetos benéficos (PLIIMOOR *et al.*, 1993).

O cinamomo, pertencente à família Meliaceae, a mesma do nim, também vem a tempo sendo estudado pelas suas propriedades inseticidas (SILVA, 1990). Assim como o nim, o óleo de cinamomo também tem o composto inseticida azadiractina, apesar de estar presente em menor quantidade. Além disso, possui salanina, meliatriol e nimbina. Extratos dessa planta realizados com folhas e frutos frescos ou secos já eram

recomendados no controle de gafanhotos migratórios (*Schistocerca cancellata*) para a proteção das culturas agrícolas em geral, devido aos resultados satisfatórios de mortalidade ou repelência, obtidos por meio deles (LEPAGE *et al.*, 1946).

Em trabalho onde se avaliou o efeito do extrato bruto obtido de folhas frescas de nove espécies vegetais, sobre o desenvolvimento da “vaquinha” (*Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) o cinamomo foi o único extrato a causar uma mortalidade de 100% ao término de 10 dias do início do experimento (MIGLIORINI *et al.*, 2010). O extrato bruto das plantas foi obtido macerando 50 gramas de folhas e adicionando-se depois 200 mL de água destilada. Esse preparado foi deixado em repouso durante sete dias. Foram realizadas 4 repetições para cada tratamento. Cada unidade experimental foi constituída por folhas de feijoeiro (*P. vulgaris*) imersas no extrato bruto de cada planta juntamente com cinco espécimes de *D. speciosa*. A avaliação da sobrevivência foi feita a cada 24 horas, durante 10 dias.

Valiati *et al.* (2007), testaram folhas frescas de eucalipto (*Eucalyptus* spp.) dispostas em camadas, sob, sobre e entre as espigas de milho no controle de *S. zeamais*. As espigas de milho empalhadas foram acondicionadas em tonéis metálicos com capacidade de 20 L, com fundo perfurado. Os tonéis foram fechados na parte superior com uma tampa de madeira, colocados sobre tijolos e dispostos aleatoriamente em três camadas em silo de concreto, o qual possuía entrada de ar. O silo foi coberto e o milho permaneceu com o tratamento por um período de seis meses. Segundo estes autores, o tratamento com *E. citriodora* foi eficiente no controle de pragas para as sementes colhidas mecanicamente. Quando comparado com a testemunha, esse tratamento apresentou menor infestação durante o armazenamento. De acordo com os dados destes autores, enquanto na amostra testemunha havia 35 insetos, no eucalipto havia apenas sete no quarto mês. Vale salientar que essa eficiência constatada em relação a

testemunha, foi diminuindo ao término do experimento (quinto e sexto mês) devido provavelmente, a biodegradação dos compostos naturais.

Os ingredientes ativos contidos nas folhas de *Eucalyptus citriodora*, e outras espécies do gênero se mostraram promissores para o controle tanto de pragas de grãos armazenados, quanto de formigas cortadeiras do gênero *Atta* (NAKANO & CORTEZ, 1967; ANJOS & SANTANA, 1994). Num estudo realizado pela Embrapa Milho e Sorgo, em Sete Lagoas/MG, folhas inteiras e fragmentos de folhas frescas de *E. citriodora*, proporcionaram elevada repelência em todos os testes, nos quais, foi dada aos insetos da espécie *S. zeamais* a escolha do alimento. Foi observado que os insetos preferiam se alimentar com os grãos de milho livres da presença do eucalipto (LORINI *et al.*, 2002).

A ação repelente deve sempre ser levada em conta ao trabalhar-se com óleos vegetais no controle de pragas de grãos armazenados, pois a tendência é que quanto maior for à repelência, menor será a infestação dos grãos, reduzindo ou mesmo suprimindo a postura, e conseqüentemente o número de insetos emergidos (COITINHO *et al.*, 2006a). Substâncias derivadas de plantas como *Eucalyptus globulus* Labill., *Eucalyptus citriodora* Hook, *A. indica* A. Juss, *Melaleuca alternifolia* Cheel, *Melaleuca leucadendron* (L.) L., *Melaleuca linariifolia* Sm., possuem atividades fisiológicas e comportamentais sobre insetos de produtos armazenados (HO *et al.*, 1996; RAJEDRAN & SRIRANJINI, 2008).

Segundo Antonelli *et al.* (2012), que realizaram teste de repelência de duas espécies vegetais (eucalipto cheiroso e erva de santa maria) e sementes de abóbora sobre *S. zeamais*, todas elas demonstraram repelência sobre os adultos do caruncho do milho. Os respectivos percentuais de repelência, para os pós finos (obtidos de folhas secas e moídas) de erva de santa maria, eucalipto e sementes de abóbora foram

respectivamente: 87%, 72% e 65%. O teste de preferência alimentar ou repelência foi realizado em arenas (unidades experimentais), cada qual constituída por cinco caixas plásticas circulares, interligadas diagonalmente entre si, onde a caixa central foi interligada às outras por cilindros plásticos. Cada tratamento constituiu-se de seis arenas. Em duas caixas de cada arena foram colocadas amostras de 10 g de milho e 0,3 g dos pós-vegetais, enquanto o milho não tratado foi colocado nas outras duas caixas restantes. Para a infestação das arenas, 10 casais de insetos recém emergidos foram colocados na caixa central. Após 24 horas, realizaram-se as observações para a contagem dos insetos presentes no milho tratado e na testemunha.

Segundo Procópio *et al.* (2003a), os quais avaliaram o fator de repelência de pós de seis espécies vegetais: *A. indica*, nim (frutos), *Capsicum frutescens* L., pimenteira (frutos e folhas, separadamente), *Chenopodium ambrosioides* L., erva-de-santa-maria (folhas, flores e frutos, conjuntamente), *E. citriodora*, eucalipto (folhas), *M. azedarach*, cinamomo (folhas) e *Ricinus communis* L., mamona (folhas), no controle de adultos de *S. zeamais*, observaram que a maior repelência aos insetos foi proporcionada pela planta *E. citriodora*. No entanto, das seis espécies vegetais testadas, a única que provocou mortalidade total dos insetos (*S. zeamais*) e não permitiu nenhuma emergência dos adultos ao final de 10 dias do contato com os pós-vegetais, foi *C. ambrosioides*. A dosagem mínima para que isso ocorresse foi de 0,1645 g de pó seco para cada 20 g de milho.

No referido trabalho, a dosagem de pó utilizada para a avaliação da repelência e da atividade inseticida das plantas foi de 0,6 g de pó para cada 20 g de milho. O teste de repelência foi similar ao procedimento realizado por Antonelli *et al.* (2012) por meio de arenas, a única diferenciação deste, foi o número de repetições, enquanto eles fizeram seis, Procópio *et al.* (2003a) realizaram dez. A infestação foi realizada sempre com

adultos de *S. zeamais*, não sexados, na proporção de 20 indivíduos, com idade entre 10 e 20 dias.

Em outro trabalho, Procópio *et al.* (2003b), também constataram a eficiência da *C. ambrosioides* contra *Acanthoscelides obtecus* (Say, 1831) e *Zabrotes subfasciatus* (Bohemann, 1833) em feijão cultivar carioca (*Phaseolus vulgaris* L). Nesse experimento, com caruncho do feijão, o único tratamento capaz de causar a mortalidade de 100% dos insetos infestantes (20 adultos não sexados, colocados em 20 g de feijão cultivar Carioca e 0,6 g de pó seco) foi a erva-de-santa-maria. Por apresentar tamanha bioatividade, testaram-se dosagens menores para essa planta e o resultado obtido foi que a quantidade mínima de pó seco de *C. ambrosioides*, para provocar uma DL<sub>95</sub>, ou seja, uma mortalidade de 95%, para *A. obtecus* e *Z. subfasciatus*, foi na quantidade de 0,122 e 0,036 g.20 g<sup>-1</sup> de feijão, respectivamente. Nesse trabalho foram testados além do pó da mistura de folhas, flores e frutos de *C. ambrosioides*, os pós de frutos de *A. indica* e *C. frutescens*; folhas de *C. frutescens*, *E. citriodora*, *M. azedarach* e *R. comunis*.

O teste de repelência foi realizado por meio de arenas, com as mesmas semelhanças já descritas para Antonelli *et al.* (2012) e Procópio *et al.* (2003a): Foram utilizadas dez repetições (arenas) para cada tratamento, foram utilizados 20 insetos adultos não-sexados, e em cada arena dois dos recipientes continham 10 g de feijão e 0,3 g de pó da espécie vegetal avaliada, enquanto outros dois continham apenas o feijão carioca. O pó de eucalipto agiu como um bom repelente para ambas as espécies de pragas, repelindo 77% e 95% dos insetos de *A. obtecus* e *Z. subfasciatus*, respectivamente. Considerando o efeito apenas sobre *Z. subfasciatus*, a erva-de-santa-maria e o cinamomo também apresentaram um bom índice de repelência (88% e 63%) (PROCÓPIO *et al.*, 2003b).

Uma verificação prática da persistência ao longo do tempo de diversos óleos de plantas entre elas: nim, *A. indica*; eucalipto, *Eucaliptus globulus* Labill. e *E. citriodora*; andiroba, *Carapa guianensis* Aubl.; alecrim, *Lippia gracillis* HBK.; cedro, *Cedrela fissilis* Vell.; pequi, *Caryocar brasiliense* Camb. e óleo de eugenol, no controle de *S. zeamais*, foi realizada por Coitinho *et al.*(2006b). Segundo esses autores, todos os óleos avaliados por eles são eficientes no controle de adultos do caruncho do milho, mas apenas no período inicial de armazenamento do produto, ou seja, tempo zero até chegar aos 60 dias. Os índices de mortalidade, para todos esses óleos, durante os 60 dias, foram acima de 79%.

A metodologia adotada foi a infestação das parcelas de 50 g cada com 8 adultos (machos e fêmeas) de *S. zeamais*, com idade de 0 a 15 dias, em três períodos de 60 dias. O milho desinfestado em baixa temperatura (-10 °C durante 7 dias), foi tratado no tempo zero com os óleos vegetais e mantido armazenado em condições controladas de umidade e temperatura para as posteriores infestações. Após cinco dias de cada infestação, foi realizada a contagem dos insetos vivos e mortos, descartando-os em seguida. Por sua vez, os insetos emergidos foram quantificados diariamente e descartados a partir do 35º dia até o término da emergência (cinco dias seguidos sem emergência). Aos 60 e 120 dias após o armazenamento, a mortalidade causada por todos os óleos foi inexpressiva, abaixo de 2,5%. No entanto, mesmo havendo baixo índice de mortalidade após 60 dias, a maioria dos óleos testados, demonstraram efeito ovicida e/ou larvicida em todos os períodos, quando se comparou o número de insetos emergidos nesses tratamentos com o tratamento testemunha. (COITINHO *et al.*, 2006b).

A ação tóxica, tanto da fumigação quanto do contato e da ingestão de óleos essenciais, em adultos de *S. zeamais* também foi demonstrada por Coitinho *et al.*



(2011). Na ação por contato, os valores de  $CL_{50}$  (concentrações letais para matar a metade da população) para os adultos do caruncho do milho, tratado com óleos essenciais extraídos de folhas de malvaíscio, *Piper hispidinervum* C. DC.; pitanga, *Eugenia uniflora* L.; canela, *Cinnamomum zeylanicum* Blume; malvaíscio, *Piper marginatum* Jacq.; aroeira, *Schinus terebinthifolius* Raddi.; melaleuca, *Melaleuca leucadendron* L.; dos frutos verdes de aroeira *S. terebinthifolius* e do composto eugenol, foram estimados em: 1,0; 11,6; 14,2; 21,1; 57,7; 75,8; 98,8 e 14,8  $\mu\text{L}\cdot 40\text{ g}^{-1}$  de milho, respectivamente. No entanto, em relação à ação fumigante dos óleos vegetais, as concentrações letais ( $CL_{50}$ ) para matar a metade da população adulta variaram de 0,53 a 94,7  $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$  de ar, sendo que o composto mais letal foi aquele proveniente de *Piper hispidinervum* C. DC e o menos letal foi o composto eugenol (COITINHO *et al.*, 2011). A concentração letal da maioria dos óleos essenciais de plantas que se mostram eficazes, avaliados em trabalhos de pesquisa para o controle do *S. zeamais* em milho, atualmente, é de aproximadamente 50  $\mu\text{L}$  em 20 g de grãos, o que equivale a 2,5 litros por tonelada de grãos (COITINHO *et al.*, 2006a; 2006b).

Além dos óleos essenciais extraídos de partes das plantas (folhas, frutos, sementes), com algum potencial inseticida sobre pragas de grãos armazenados, devido aos efeitos de seus princípios ativos, há também estudos sobre óleos vegetais brutos. Nos trabalhos desenvolvidos por Hall & Harman (1991), o tratamento com óleo de soja (*Glycine max* (L.) Merr.) de sementes armazenadas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) controlou os insetos e não alterou a germinação e nem a viabilidade das sementes.

Salas & Hernandez (1985), mencionam que os óleos vegetais de soja, mamona, coco, gergelim e oliva foram tóxicos aos adultos de *Acanthoscelides obtectus* (Say, 1831), causando mortalidade de até 100% após 1 hora de contato, na dosagem de 10mL.kg<sup>-1</sup> de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris*). Segundo Uvah & Ishaya (1992),

o efeito de óleos vegetais brutos adicionados às sementes, se deve ao bloqueio do oxigênio para que ocorra a respiração dos insetos e, também, pela ação inseticida de alguns de seus componentes, principalmente triglicerídeos.

### **2.5 Controle de fungos em grãos armazenados com compostos bioativos**

Os fungos que podem se desenvolver nas sementes ou grãos de milho armazenado, ao longo do tempo, podem ser divididos em dois grupos: os fungos de campo e aqueles denominados de armazenamento propriamente dito. Os primeiros recebem esse nome porque invadem ou colonizam as sementes ainda no campo, requerendo para o seu crescimento umidade relativa do ar acima de 90% aproximadamente. Por consequência, o tempo de sobrevivência desses fungos depende intrinsecamente das condições ambientais de armazenagem. Por outro lado, fungos de armazenamento estão presentes nas sementes e/ou grãos recém-colhidos, porém em quantidades muito pequenas, sendo capazes de sobreviver numa condição de baixa umidade relativa (menor que 90, mas acima de 65%). Esse tipo de fungo geralmente se desenvolve em sucessão aos fungos de campo, causando ainda maior deterioração das sementes e dos grãos (TANAKA *et al.*, 2001).

No Brasil, dentre os vários fungos de campo relatados e observados em grãos, o mais frequente é sem dúvida do gênero *Fusarium*, enquanto os fungos de armazenamento mais frequentes são do gênero *Aspergillus* e *Penicillium*. No entanto, subentende-se que todos os três gêneros de fungos *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium*, podem ocorrer em sementes e/ou grãos de milho durante e/ou após a maturação. Em qualquer um dos casos, dependendo das condições de temperatura e umidade, podem se desenvolver e provocar danos durante o armazenamento, reduzindo a germinação, o vigor dessas sementes e a qualidade dos grãos, situação essa que requer a adoção de

medidas de controle. A importância em se estudar métodos de controles que inibam o desenvolvimento fúngico na massa de grãos armazenados, seja para consumo humano ou animal, reside no risco de produção de micotoxinas (TANAKA *et al.* 2001).

A utilização de óleos vegetais como fungicidas também poderá ser um método alternativo e eficaz no controle de doenças de plantas, pois apresentam as vantagens de minimizarem os problemas de toxicidade resultantes dos produtos químicos sintéticos (ROMERO *et al.*, 2009). Num trabalho testando o efeito antifúngico do óleo essencial de *Mentha arvensis* L., ficou demonstrado que esse óleo, na concentração de 100 µL, foi capaz de inibir o desenvolvimento das seguintes estirpes fitopatogênicas *in vitro*: *Aspergillus* sp., *Penicillium rubrum*, *Sclerotinia* sp., *Fusarium verticillioides* cepa UEM e *Corynespora cassiicola* (SILVA *et al.*, 2012).

O uso de compostos bioativos no controle de fungos tem sido fonte de diversas pesquisas que validam cada vez mais a sua eficiência. Num estudo realizado no sudoeste da Nigéria, para testar o efeito antifúngico de extratos aquosos de algumas plantas locais, dentre elas a *A. indica*, todas elas desencadearam um efeito inibitório do crescimento do fungo do gênero *Fusarium* sp. em sementes de milho (OWOLADE *et al.*, 2000). O uso de pós de alguns vegetais dentre eles *M. azedarach* (e de alguns pós minerais como a cal) na quantidade a 1% foram testados no controle de fungos de grãos de milho armazenado. Os pós vegetais inibiram principalmente o desenvolvimento dos fungos do gênero *Aspergillus* spp. (HERNANDEZ *et al.*, 1998).

Dentre alguns extratos aquosos e metanólicos de plantas medicinais, utilizados no controle de fungos fitopatogênicos do gênero *Fusarium* sp. e *Sclerotium* sp. em sementes de alface, os extratos metanólicos de erva cidreira (*Lippia Alba* (mill) N. E. Brown.) e funcho (*Foeniculum vulgare* Mill.) foram os mais eficientes (SOUZA *et al.*, 2002). Dois extratos aquosos, um de alho (*Allium sativum* L.) e outro de agave (*Agave*

*sisalana* Perrine), ambos na concentração de 40%, impediram a germinação de conídios e crescimento micelial do fungo agente causal da murcha-de-fusarium (*Fusarium oxysporum* S.) em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) (MORAIS *et al.*, 2010).

Salgado *et al.* (2003) realizaram um experimento onde mostraram que os óleos essenciais de três espécies de eucaliptos: *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake, *E.camaldulensis* Dehn e *E. citriodora* mostraram variadas inibições nos crescimentos miceliais de todas as espécies inoculadas (*Fusarium oxysporum* Schlecht, *Botrytis cinerea* Pers. e *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoemaker (*Helminthosporium sativum* Pammel, King e Bakke)). Para esses fungos, o *E. urophylla* foi o mais eficiente na redução e/ou inibição do crescimento micelial nas concentrações utilizadas (5, 50 e 500mg de óleo/kg do meio de cultura).

O óleo de melaleuca (*Melaleuca alternifolia* Cheel) é referido na literatura pela sua eficiência no controle de fitopatógenos, principalmente bactérias e fungos. No entanto, a maior parte desses estudos relaciona a utilização do óleo desta planta ao controle de doenças humanas e de outros animais, tais como as micoses (MARTINS *et al.*, 2010). Segundo os mesmos autores, ao estudarem a sensibilidade de *Alternaria alternata* ao óleo de melaleuca, verificaram que as concentrações de 0,6 e 0,8% promoveram a inibição desse fungo.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Grãos de milho (*Zea mays*)

Utilizaram-se grãos de milho híbrido (*Z. mays*) da cultivar Pioneer 30K75Y com a tecnologia YieldGard® (milho Bt) recém-colhidos da safra agrícola 2011/2012, com umidade de aproximadamente 16% b.u. Os grãos foram provenientes da Estação Experimental Agronômica da UFRGS, localizada no município de Eldorado do Sul, no km 47 da BR 290. Depois de colhido, o milho foi secado no Pólo de Pós-Colheita da Estação (30°05'34" S, 51°40'22" O e altitude média de 45m) até a umidade em base úmida aproximada de 12% em média. Logo após a secagem, os grãos foram submetidos aos tratamentos apresentados a seguir.

#### 3.2 Tratamentos

O experimento, realizado no laboratório do Departamento de Fitossanidade da Faculdade de Agronomia da UFRGS entre o período de setembro de 2012 a janeiro de 2013, foi conduzido sob delineamento completamente casualizado, com dez tratamentos e 3 repetições. Foram testados a eficiência de quatro compostos bioativos no controle do caruncho do milho, *S. zeamais*, e fungos do gênero *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium*, considerados pragas de grãos armazenados. O período total do experimento foi de cinco meses (150 dias), subdividido em cinco períodos de infestações dos insetos que ocorreram em: 0, 30, 60, 90 e 120 dias após a aplicação dos produtos nos grãos.

Os insetos utilizados na infestação dos grãos vieram de criação própria, em sala climatizada do laboratório de pós-colheita de grãos ( $25 \pm 5^\circ\text{C}$ ;  $60 \pm 5\%$  UR e fotofase de 16 horas). A dieta dos insetos criados era a base de milho, sendo a mesma trocada a cada 15 dias.

Os tratamentos utilizados no presente trabalho foram: 1. Óleo essencial bruto (extrato puro sem veículo) de *Melaleuca* sp., adquirido no comércio local, nas concentrações de 0,5; 1,0 e 2,0 litros por tonelada de grãos de milho; 2. Produto inseticida comercial Neenmax® jardim formulado à base de óleo de nim (*Azadirachta indica*) com 1% de princípio ativo azadiractina e 99% de veículo, do fabricante Insetimax Indústria Química Eireli, nas concentrações de 2 e 4 L por tonelada, o fabricante não informou qual a composição química do veículo do princípio ativo, por ser confidencial; 3. Folhas semi-secas de eucalipto, *E. citriodora*, equivalentes a 15 e 30 kg de matéria seca por tonelada de grãos e 4. Folhas semi-secas de cinamomo, *M. azedarach*, equivalentes a 15 e 30 kg de matéria seca por tonelada de grãos. O tratamento controle ou testemunha foi realizado em grãos de milho livres de qualquer produto, apenas procedendo-se a infestação dos gorgulhos.

### **3.2.1 Metodologia**

A metodologia na condução e avaliação de todos os tratamentos realizados foi igual e seguiram os procedimentos descritos a seguir. Algumas particularidades dos compostos bioativos são listadas posteriormente.

Os produtos bioativos testados foram aplicados nas suas dosagens correspondentes, apenas inicialmente (tempo zero), em 3,5 kg de grãos de milho, visando testar o efeito residual ao longo do tempo. Dessa forma, os grãos tratados previamente permaneceram armazenados no mesmo local de realização do experimento,

em recipientes plásticos fechados, com volume para 5 L, sob condições controladas de umidade e temperatura ( $25 \pm 5$  °C;  $60 \pm 5\%$  UR e fotofase de 16 horas) durante todo o experimento. A cada 30 dias, para todos os tratamentos, por ocasião da infestação dos insetos, foram usados cerca de 1/5 do milho tratado previamente.

Cada parcela experimental foi constituída por 150 gramas de grãos de milho, retirados dos 3,5 kg tratados, e que foram colocados em recipientes plásticos de 300 mL, juntamente com 20 insetos adultos de *S. zeamais*, com idades variando de 20 a 50 dias, e não sexados (sem padronização sexual). Os recipientes plásticos sempre permaneceram fechados com tecido tipo voile e elástico-atilho para permitir que ocorressem as trocas gasosas com o ambiente externo e evitar a fuga dos insetos.

Todos os insetos colocados nas parcelas foram identificados com tinta têmpera branca, de fácil visualização, para evitar problemas nas verificações/contagens devido às emergências de novos insetos. A marcação foi feita na região abdominal dorsal, na parte final dos élitros, de modo a evitar qualquer risco de morte do inseto provocado pela tinta. A realização da contagem da mortalidade e emergência ocorreu aos 15 e 30 dias, após o início de cada infestação e assim sucessivamente, até o final do experimento, sendo que os resultados de mortalidade e emergência foram somados e apresentados a cada 30 dias.

### **3.2.2 Óleo de Melaleuca (*Melaleuca* sp.) e inseticida de nim (*Azadirachta indica* A. Juss)**

A aplicação do óleo de melaleuca e do inseticida de nim foi realizada com micropipeta de 1 mL, revolvendo manualmente os grãos de milho após cada pipetada de produto, visando à melhor homogeneização possível. No final de cada aplicação,

realizou-se a mistura manual durante 2 minutos, para se evitar grãos sem contato com o óleo ou inseticida de nim.

### **3.2.3 Folhas semi-secas de cinamomo (*Melia azedarach* L.) e de eucalipto (*Eucalyptus citriodora* Hook)**

As folhas de cinamomo (*M. azedarach*) foram procedentes do campus da Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Depois de colhidas, deixaram-se as mesmas, por cerca de 5 dias, secando à sombra, num ambiente com temperatura de  $25 \pm 5$  °C e umidade relativa do ar de aproximadamente 60%, para redução do teor de água (processo de murchamento). Nesse experimento optou-se por fazer dessa forma, visando testar o efeito dos compostos voláteis que ainda exalam das folhas no estágio semi-seco, pois se aplicadas totalmente secas ou na forma de pós nos grãos, o efeito no controle dos insetos ocorre mais por ingestão e contato do que propriamente por efeito residual fumigante. As folhas de cinamomo, recém-colhidas (verdes), detinham percentual de umidade média de 70% b.u. As folhas usadas no experimento foram secas até 30% b.u. Esse teor de água das folhas foi determinado pelo método da estufa a  $105 \pm 3$  °C, com circulação natural de ar, por 24 horas.

As folhas de eucalipto cheiroso (*E. citriodora*) foram provenientes da Estação Experimental Agronômica da UFRGS. As folhas de eucalipto recém-colhidas (verdes) detinham um percentual de umidade média em b.u de 35%. As folhas usadas no experimento também apresentavam 30% b.u. Essa diferença na umidade das folhas de eucalipto quando comparada com as folhas de cinamomo ocorre devido a própria estrutura da folha, a qual é mais coriácea na folha de eucalipto e mais membranosa na folha de cinamomo. Essa morfologia confere naturalmente à folha de eucalipto um menor teor de água em sua constituição.



As folhas semi-secas foram aplicadas em três camadas no interior dos recipientes plásticos de 5L, sob, entre e sobre os grãos de milho. Essas folhas foram aplicadas em 3,5 kg de grãos de milho acondicionado nesses recipientes. Foram testadas duas dosagens dessas folhas para o estudo do efeito inseticida no controle de *S. zeamais*. As quantidades de folhas semi-secas utilizadas foram definidas previamente, com base no teor de umidade (30% b.u), correspondendo em matéria seca, a 15 e 30 kg por tonelada de grãos. Similarmente como se fez nos recipientes grandes, realizou-se com as parcelas experimentais. A quantidade calculada de folhas semi-secas para 150 g de grãos de milho foi colocada nas três camadas.

### **3.3 Análises**

As análises de mortalidade e emergência foram realizadas quinzenalmente, aos 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120, 135 e 150 dias. As análises, microbiológica, tecnológica, umidade, peso de 1000 grãos e massa específica, foram realizadas para todos os tratamentos no tempo zero e a cada 30 dias até o final do experimento (0, 30, 60, 90 e 120 e 150 dias). As amostras para a realização dessas análises em todos os tratamentos eram as próprias parcelas experimentais de 150 g de grãos de milho.

#### **3.3.1 Mortalidade**

Os insetos adultos de *S. zeamais* mortos foram contabilizados em intervalos de 15 dias entre uma avaliação e outra. Portanto, a avaliação da mortalidade logo após a colocação dos insetos não foi efetuada e sim, somente a mortalidade acumulada aos 15 e aos 30 dias de cada período de infestação. Dessa forma, para cada período de 30 dias entre uma infestação e outra, da colocação dos 20 insetos nos recipientes plásticos, contendo os grãos de milho, houve duas avaliações de mortalidade. Considerou-se

morto, o inseto que durante dois minutos de observação não apresentou nenhum movimento e/ou não mostrou nenhuma reação ao toque. Esse procedimento é necessário, para evitar possíveis erros na contagem, devido à tanatose (tática de defesa do inseto pela qual ele se encolhe e se finge de morto). Todos os insetos mortos eram retirados das parcelas a cada contagem efetuada.

### **3.3.2 Emergência**

A emergência dos insetos adultos de *S. zeamais* foi avaliada quinzenalmente, juntamente a análise da mortalidade. A cada duas análises realizadas, coincidiam ao término de um período de infestação e início do outro, até o final do experimento. Os insetos vivos, bem como aqueles que emergiam, permaneciam nas parcelas de cada tratamento, até o final de cada período de infestação, equivalente a 30 dias.

### **3.3.3 Análise microbiológica**

A análise microbiológica foi realizada no Laboratório de Epidemiologia de Plantas, do Departamento de Fitossanidade da Faculdade de Agronomia da UFRGS, pelo método de sanidade do papel filtro "*Blotter Test*", de acordo com as recomendações para análise de sementes do Ministério da Agricultura (BRASIL, 2009). Os 150 gramas de cada parcela experimental constituíram as amostras de grãos de milho para as análises. Elas eram realizadas com 200 grãos de cada amostra, colocados em oito caixas de gerbox plástico, previamente limpos com álcool etílico 70%. Dentro de cada gerbox, sobre três folhas de papel filtro previamente umedecidas com água destilada e autoclavada, em câmara de fluxo laminar, colocaram-se 25 grãos de milho, espaçados de forma equidistantes entre si. A seguir, todos os recipientes foram colocados em câmara de crescimento sob iluminação contínua, à temperatura de  $25 \pm 2$

°C, por um período de sete a dez dias. Esse tempo de espera para a contagem dos fungos *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp. e *Penicillium* spp, permite maior crescimento dos mesmos para melhor visualização. Através de exame individual dos grãos de milho, contabilizou-se o percentual de prevalência desses fungos. A identificação foi apenas em nível de gênero e foi realizada por meio de microscópio estereoscópico e microscópio ótico quando necessário.

#### **3.3.4 Determinação da umidade**

A determinação da umidade, para cada amostra de 150 g de grãos de milho foi realizada pelo método da estufa a  $105 \pm 3$  °C, com circulação natural de ar, por 24 horas, conforme as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Os resultados foram expressos em % de umidade, em base úmida (b.u.).

#### **3.3.5 Massa específica**

Foi determinada com a pesagem dos grãos de milho das amostras de 150 g em balança eletrônica com precisão de 0,001g. A avaliação ocorreu com uma quantidade de grãos colocados em recipiente de volume conhecido, sendo os resultados expressos em  $\text{kg.m}^{-3}$ .

#### **3.3.6 Peso de 1000 grãos**

O peso de 1000 grãos foi determinado através da contagem de oito repetições de 100 grãos advindos das amostras de 150 g e posterior pesagem em balança analítica (BRASIL, 2009). Os resultados médios foram multiplicados por dez, sendo expressos em gramas.

### 3.3.7 Análise tecnológica

A análise tecnológica foi realizada com os grãos de milho das parcelas experimentais de cada tratamento. Para sua execução seguiu-se a Instrução Normativa nº 60, de 22 de dezembro de 2011, que entrou em vigor em 1º de setembro de 2013 (BRASIL, 2013).

A seguir, são transcritas os critérios mais importantes dessa Instrução e que foram utilizados para a execução das análises tecnológicas dos grãos de milho. Dentre outros conceitos, ela define o seguinte: **Grãos carunchados:** os grãos ou pedaços de grãos que se mostram atacados por insetos considerados pragas de grãos armazenados em qualquer de suas fases evolutivas; **Grãos avariados:** os grãos ou pedaços de grãos que se apresentam ardidos, chochos ou imaturos, fermentados, germinados, gessados e mofados. Seguindo, a norma especifica cada tipo desses danos:

a) Grãos ardidos; grãos ou pedaços de grãos que perderam a coloração ou a cor característica, ficando escurecidos pela ação do calor, umidade ou fermentação avançada, atingindo a massa total do grão. São ainda considerados ardidos devido ao aspecto semelhante, os grãos totalmente queimados;

b) Grãos chochos ou imaturos; os grãos desprovidos de massa interna, que se enrijeceram e mostram um aspecto rugoso externamente por causa de um desenvolvimento fisiológico incompleto. Os grãos pequenos e aqueles dotados de endosperma córneo (ponta de espiga) não devem ser considerados chochos ou imaturos e sim, ser classificados como grãos normais;

c) Grãos fermentados; grãos ou pedaços de grãos que apresentam escurecimento parcial do germe ou do endosperma provocado por um processo fermentativo ou calorífico. Podem ser considerados como fermentados, devido à aparência similar, os

grãos que se apresentam parcialmente queimados. No entanto, grãos que apresentam plúmula roxa, como característica varietal, não são considerados grãos defeituosos;

d) Grãos germinados; grãos ou pedaços de grãos com germinação visível;

e) Grãos gessados; são os grãos ou pedaços de grãos que tiveram alteração na sua coloração original e em decorrência disso, apresentam externamente uma aparência esbranquiçada ao opaco, permitindo a visualização interior de todo o seu endosperma amiláceo, sob uma cor e um aspecto de gesso (farináceo);

f) Grãos mofados; os grãos ou pedaços de grãos contendo contaminações fúngicas (bolor ou mofo) visíveis a olho nu, independentemente do tamanho da área atingida, bem como os grãos ou pedaços de grãos dotados de uma coloração esverdeada ou azulada no germe, produzida pela presença de fungos;

Continuando os conceitos gerais, a norma assim determina:

**Grãos quebrados**: todos os pedaços de grãos que vazam pela peneira de crivos circulares de 5mm (cinco milímetros) de diâmetro e ficam retidos na peneira de crivos circulares de 3,00 mm (três milímetros) de diâmetro;

**Impurezas**: pedaços de grãos que vazam pela peneira de crivos circulares de 3,00 mm (três milímetros) de diâmetro, bem como detritos do próprio produto que ficam retidos nas peneiras de crivos circulares de 5,00 mm (milímetros) e de 3,00 mm (três milímetros) de diâmetro, que não são grãos ou pedaços de grãos de milho;

**Matérias estranhas**: todos os corpos, materiais ou detritos de qualquer natureza, estranhos ao produto avaliado, tais como grãos ou sementes de outras espécies vegetais, sujidades, insetos mortos, etc;

Para efeito deste trabalho, a classificação quanto ao tipo foi feita de acordo com a qualidade dos grãos e pelos limites máximos de tolerância estabelecidos na instrução normativa, expressos em percentual (%), conforme a Tabela 1. Neste trabalho, avaliou-

se o percentual de grãos avariados totais, o percentual de grãos carunchados e impurezas e matérias estranhas, conforme a tabela abaixo:

TABELA 1. Limites máximos de tolerância para classificação do milho, expressos em percentual (%).

Enquadramento	Grãos Avariados		Grãos Quebrados	Matérias Estranhas e Impurezas	Carunchados
	Ardidos	Total			
Tipo 1	1,00*	6,00	3,00	1,00	2,00
Tipo 2	2,00	10,00	4,00	1,50	3,00
Tipo 3	3,00	15,00	5,00	2,00	4,00
Fora de tipo	5,00	20,00	Maior que 5,00	Maior que 2,00	8,00

\*Limites máximos de tolerância expressos em percentual (%). Extraído da tabela 1 da IN60 do MAPA.

O milho é considerado como “fora de tipo” quando não atende os parâmetros definidos para o tipo 3 (Tabela 1).

### 3.4 Delineamento experimental e análise estatística

O experimento foi conduzido segundo o delineamento inteiramente casualizado, sob esquema fatorial 10 x 6 (tipo/dose de produto x tempo residual), com três repetições. Os valores observados foram submetidos à análise de variância,  $P \leq 0,05$ , com auxílio do software Statistica 10.0<sup>®</sup>. Quando observado efeito significativo, na análise de variância pelo teste F, os dados foram submetidos à análise de regressão linear e não linear com o auxílio do software SigmaPlot 10.0<sup>®</sup>.

Os valores de mortalidade dos insetos, em função dos diferentes tratamentos, foram ajustados conforme proposto por Abbott (1925) na equação abaixo:

$$MC (\%) = \frac{(\%MO - \%Mt)}{(100 - \%Mt)} \times 100$$

Onde:

MC(%) = percentual de morte corrigida;

MO(%) = percentual de morte no tratamento;

Mt (%) = percentual de morte no tratamento testemunho.

Devido a essa correção dos dados, que teve por objetivo reduzir a variação que existia entre eles, os valores de mortalidade de todos os tratamentos foram apresentados na Figura 1 dos resultados e discussão, exceto os da testemunha.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Avaliação do controle de *Sitophilus zeamais* com uso de diferentes compostos bioativos, em grãos de milho armazenados

#### 4.1.1. Mortalidade

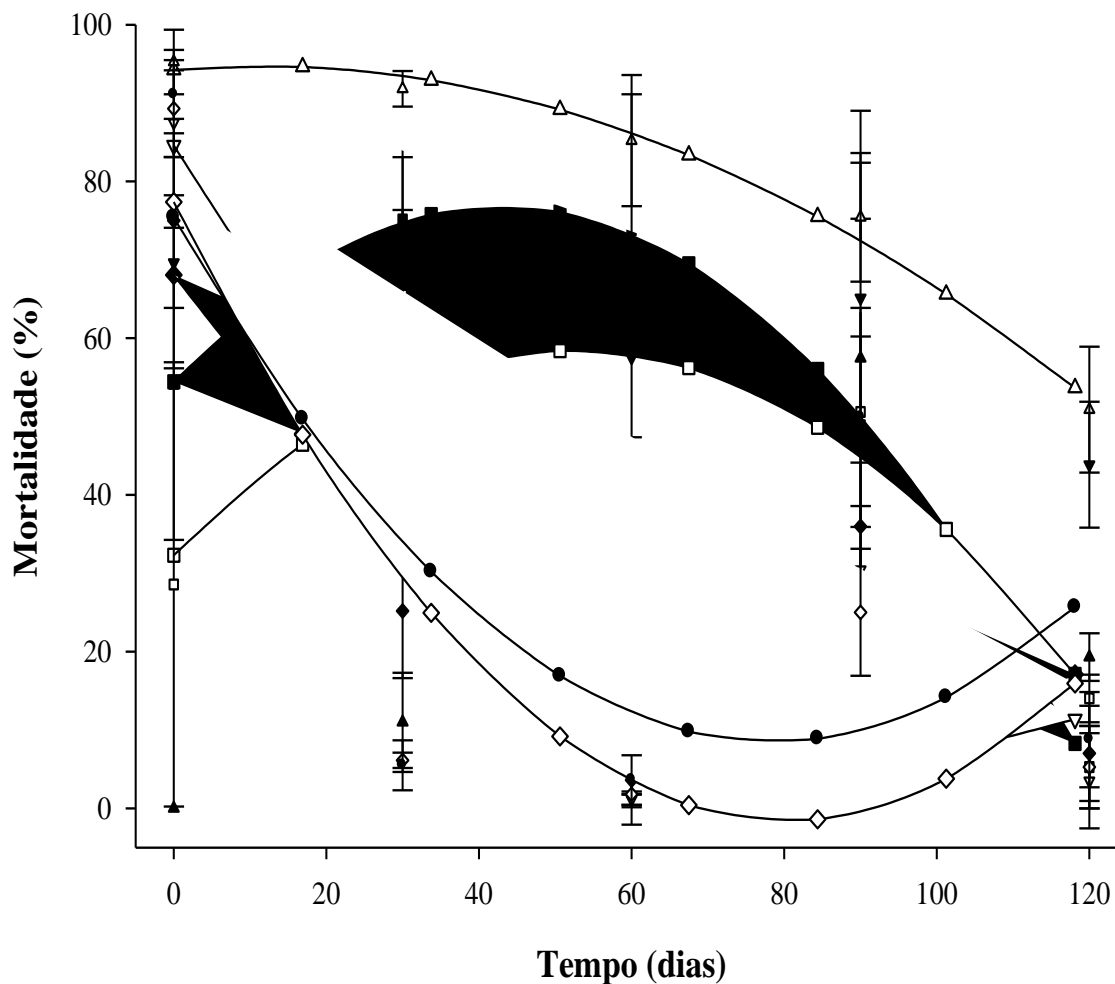
A análise de variância demonstra que ocorreram diferenças significativas para os efeitos simples (tipo/dose de produto e tempo residual), bem como para a interação entre ambos. O tempo residual de cada composto bioativo ocorreu após os 30 dias.

Conforme a Figura 1, as curvas com melhor ajustes foram dos tratamentos nim 2 L ( $r^2 = 0,88$  e  $P < 0,0001$ ), melaleuca 0,5 L ( $r^2 = 0,85$  e  $P < 0,0001$ ) e cinamomo 15 kg ( $r^2 = 0,80$  e  $P < 0,0001$ ). Ocorreram variações significativas na mortalidade dos insetos em função do efeito residual e do tipo/dose de produto ao longo do tempo de armazenagem, exceção para as doses de melaleuca 2 L t<sup>-1</sup> e nim 4 L t<sup>-1</sup> de grãos, que apresentaram, respectivamente, taxas de mortalidade média de 18,5 e 59,6%. Nos tratamentos com cinamomo e eucalipto 15 e 30 kg t<sup>-1</sup>, ocorreu redução na mortalidade dos insetos até 90 dias de efeito residual, com posterior estabilização até o final da estocagem. Entretanto, nos tratamentos com melaleuca 0,5 e 1 L t<sup>-1</sup> observou-se aumento na mortalidade até os 50 dias de efeito residual, com posterior redução na mesma até o final do experimento.

O tratamento nim 2 L foi o tratamento mais eficiente, apesar de diminuir o efeito sobre a mortalidade ao longo do tempo, foi o que apresentou a maior taxa de mortalidade entre os tratamentos avaliados (Figura 1). Nesse tratamento, até os 60 dias,



a mortalidade foi de 100%. Após esse período, aos 90, 120 e 150 dias, a mortalidade foi de 91,67, 83,33 e 58,33%, respectivamente.



- Melaleuca 0,5 L, onde  $Y = 54,44 + 1,0415X - 0,0121X^2$ , sendo  $r^2 = 0,85$  e  $P < 0,0001$
- Melaleuca 1 L, onde  $Y = 32,31 + 0,991X - 0,0095X^2$ , sendo  $r^2 = 0,45$  e  $P = 0,0286$
- ▲ Melaleuca 2 L, onde  $Y = 18,5$  (ns)
- △ Nim 2 L, onde  $Y = 94,25 + 0,0820X - 0,0036X^2$ , sendo  $r^2 = 0,88$  e  $P < 0,0001$
- ▼ Nim 4 L, onde  $Y = 59,6$  (ns)
- ▽ Cinamomo 15 kg, onde  $Y = 84,60 - 1,6091X + 0,0084X^2$ , sendo  $r^2 = 0,80$  e  $P < 0,0001$
- ◆ Cinamomo 30 kg, onde  $Y = 68,06 - 1,3283X + 0,0076X^2$ , sendo  $r^2 = 0,63$  e  $P = 0,0025$
- ◇ Eucalipto 15 kg, onde  $Y = 77,38 - 1,9676X + 0,0123X^2$ , sendo  $r^2 = 0,71$  e  $P = 0,0006$
- Eucalipto 30 kg, onde  $Y = 75,39 - 1,7064X + 0,0109X^2$ , sendo  $r^2 = 0,46$  e  $P = 0,0242$

FIGURA 1. Mortalidade (%) de *Sitophilus zeamais* em grãos de milho durante 150 dias, sob o efeito residual de diferentes compostos bioativos.

Enquanto nos tratamentos com melaleuca 0,5 e 1 L, o efeito inseticida persistiu até 50 dias e depois decaiu rapidamente, no nim a eficiência diminuiu a taxas menores. Neste trabalho, a maior taxa de mortalidade e o maior efeito residual observado foi no tratamento nim.

Esse comportamento pode ocorrer porque, apesar da sensibilidade do princípio ativo da azadiractina à fotodegradação, provavelmente o produto comercial de nim tem na sua formulação química (99% de veículo e 1% de princípio ativo), moléculas mais estáveis e se degrada de forma mais lenta. A volatilização que ocorreria com o óleo puro não acontece, o que acaba conservando as qualidades do produto por muito mais tempo (JOHNSON *et al.*, 2003; KOSSOU, 1989; MAREDA *et al.*, 1992; O NIM, 2011). Esse comportamento do produto comercial do óleo de nim testado, mostra que há necessidade de mais experimentos futuros comparando o efeito, não somente de doses, mas também de formas distintas de um mesmo composto bioativo ao longo do tempo (óleo essencial, pó, extrato ou produto comercial).

Coitinho *et al.* (2006a), observaram que o efeito do óleo essencial de nim (*A. indica*), na dose de 2,5 L ton<sup>-1</sup> sobre *S. zeamais*, 5 dias após a impregnação (início do armazenamento), em grãos de milho, resultou na mortalidade de 100% de adultos. Em outro trabalho, Coitinho *et al.* (2006b) ao avaliarem a persistência dos óleos vegetais ao longo do tempo no controle de *S. zeamais*, observaram que o o óleo essencial de nim na mesma dosagem do trabalho anterior, foi eficiente por até 60 dias, com índice de mortalidade acima de 79%. Em seguida, até 120 dias, o efeito sobre a mortalidade foi inexistente, porém continuou atuando como ovicida e larvicida.

Barilli *et al.* (2014) avaliaram o efeito do produto comercial inseticida à base do princípio ativo azadiractina (Azamax<sup>®</sup>) no controle de *S. zeamais* em grãos de milho, em cinco doses diferentes (0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5%). A avaliação de mortalidade foi

efetuada 10 dias após a aplicação do produto e da infestação dos insetos. A eficiência de controle foi de 60% na maior dose testada. Quanto maior foi à dose desse produto comercial, maior foi à mortalidade de *S. zeamais*. Cada tratamento consistiu de oito repetições. Cada parcela experimental era formada por 10 insetos adultos não sexados, colocados em 100 g de milho em recipientes plástico fechado. O produto foi aplicado juntamente com cinza na forma de veículo, após seca, foi colocado nos grãos.

Conforme os dados obtidos para o produto de nim comercial e para o óleo puro de melaleuca, ambos testados neste trabalho, a concentração maior resultou numa mortalidade menor. Esse tipo de comportamento foi verificado pelos autores Franz & Crespo (2013), os quais observaram que o óleo comercial de nim, contendo 1% de azadiractina, apresentou melhor efeito inseticida, nas primeiras 24h, do que óleos com 10, 25 e 50% do princípio ativo, sobre o caruncho (Coleoptera) em ração de frango. Enquanto o óleo a 1% matou 87,8% dos insetos nesse período, as demais concentrações apresentaram mortalidade de 40,6, 3,55 e 5,7%, respectivamente. Oliveira & Vendramim (1999), constataram que o óleo de nim, nas dosagens de 0,4 e 0,8 L.ton<sup>-1</sup> em sementes de feijão, foram eficazes no controle de *Zabrotes subfasciatus* (Coleoptera), ambos provocando mortalidades superiores a 85%, indicando que o nim pode ser eficiente em baixas concentrações.

A persistência menor do efeito na mortalidade do *S. zeamais*, inerente ao óleo de melaleuca, quando comparado com o produto comercial de nim, encontra semelhança com o trabalho de Coitinho *et al.* (2010). Eles também observaram que a mortalidade de *S. zeamais*, quando utilizaram óleo de melaleuca (*M. leucadendron*) na dose 3 L ton<sup>-1</sup>, logo após a impregnação, foi de  $93,8 \pm 2,55\%$ , enquanto aos 30 dias, foi de  $1,6 \pm 1,56\%$ , mostrando baixo efeito residual deste óleo essencial ao longo do tempo. Esta

propriedade dos óleos essenciais de plantas pode limitar o uso dos mesmos por períodos prolongados de armazenamento (COITINHO *et al.*, 2010).

Oliveira & Vendramim (1999), descreveram que os óleos essenciais de plantas, atuam mais como repelentes, deterrentes de alimentação e oviposição, reguladores de crescimento, do que propriamente com efeito inseticida direto (efeito choque, knock - down), muito comum nos inseticidas químicos sintéticos. Segundo eles, é por causa disso, que a mortalidade causada pelos óleos essenciais nos insetos, nem sempre é muito efetiva.

As substâncias derivadas do *E. citriodora*, *Melaleuca* spp. *A. indica*, *M. azedarach*, tais como eucaliptol, citronelal, 1,8-cineol, azadiractina possuem atividades fisiológicas (terpenóide) e comportamentais sobre insetos de produtos armazenados (HO *et al.*, 1996; RAJEDRAN & SRIRANJINI, 2008). Os óleos essenciais por meio do contato com o tegumento dos insetos, também podem provocar asfixia, além de atuar em enzimas digestivas e neurológicas (ISMAN, 2006).

Conforme Koul *et al.* (1990), Golob *et al.* (1999), Isman (2006) e O Nim (2011), a bioatividade do óleo essencial de nim, está intrinsecamente ligada ao seu principal princípio ativo azadiractina, um triterpenóide que, por possuir semelhança com o hormônio da ecdise, tem ampla ação inseticida, agindo na inibição da síntese do ecdisônio e na biossíntese da quitina. Interfere no funcionamento das glândulas endócrinas que controlam a metamorfose em insetos, além dos tubos de Malpighi, afetando o desenvolvimento larval.

Tais efeitos provocam deformações em larvas e pupas, impedindo o seu crescimento e a troca do esqueleto externo. Os insetos que chegam à fase adulta podem apresentar deformações de tegumento, asas, pernas e outras partes do corpo. Age também, inibindo a alimentação e retardando o desenvolvimento. Altera a capacidade

de “sentir” os feromônios. Exerce efeito de repelência, sobre oviposição e viabilidade dos embriões nos ovos das fêmeas, reduz a fecundidade, longevidade de adultos e causa mortalidade (KOUL *et al.*, 1990; GOLOB *et al.*, 1999; ISMAN 2006; O NIM, 2011).

Ainda, segundo os mesmos autores, de todas as formas de ação mencionadas para azadiractina, a que mais é considerada eficaz por eles, consiste na ação fisiológica como reguladora de crescimento, já que os efeitos de supressão alimentar e repelência são muito variáveis entre as diversas espécies de pragas existentes. Esses autores chegam a mencionar que, mesmo insetos que são repelidos inicialmente pela substância, são capazes de rápida dessensibilização à azadiractina.

O produto comercial Neenmax<sup>®</sup> testado nesse trabalho, pode ter apresentado uma ação inseticida múltipla, de repercussão tanto fisiológica, bioquímica, repelente, quanto interferido na alimentação do *S. zeamais*, causando a morte por inanição. Em trabalho realizado por Showler *et al.* (2004), no qual avaliaram produtos comerciais à base de óleo de nim Agroneem<sup>®</sup>, Ecozin<sup>®</sup>, Neemix<sup>®</sup> e um extrato de sementes de nim, no controle do bicudo-do-algodoeiro *Anthonomus grandis grandis* Boheman, 1843 (Curculionidae), eles obtiveram percentuais entre 46–60% e 62–82% de redução na alimentação e oviposição, respectivamente, em comparação com os tratamentos controle.

Além do efeito inseticida dos compostos bioativos testados, a resistência comportamental do *S. zeamais* precisa ser considerada. Este inseto é capaz de diminuir sua locomoção e a sua atividade metabólica frente a alguma ameaça detectada acima do seu limiar de aceitação, como altas concentrações de um produto no ambiente (efeito fumigante). Essa tática de defesa (narcose protetora) faz com que absorva menos produto (inalação, contato, ingestão), e com isso retardando a sua morte. (MARCOMINI *et al.*, 2009; VAYIAS *et al.*, 2008).

Pereira *et al.* (2008), em trabalho testando óleos essenciais e vegetais brutos, dentre eles o óleo essencial de *Melaleuca* sp. no controle do *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) (Bruchidae) em grãos de feijão caupi *Vigna unguiculata* (L.) Walp., observaram que esse óleo causou a mortalidade do gorgulho apenas nas concentrações acima de  $2 \text{ L t}^{-1}$ . Além disso, todos os outros óleos essenciais testados, reduziram em 100% o número de ovos viáveis e de insetos emergidos, exceto melaleuca. Tal resultado sugere que há necessidade de se testarem doses maiores para o óleo essencial de melaleuca no controle de *S. zeamais* em milho.

O efeito do óleo essencial de melaleuca e do produto comercial de nim na mortalidade do *S. zeamais*, pode ocorrer também devido a ação mecânica e não somente inseticida desses compostos bioativos. Em trabalho realizado, Salas & Hernandez (1985), observaram que alguns óleos vegetais brutos, dentre eles, o de soja, foram tóxicos aos adultos de *A. obtectus*, causando 100% de mortalidade, após 1 hora de contato, na dosagem de  $10 \text{ L t}^{-1}$  de sementes de feijão (*P. vulgaris*). Os resultados obtidos nesse trabalho mostraram que os óleos essenciais podem ser utilizados no controle de pragas de grãos armazenados e não inviabilizaram a germinação no caso de tratamento de sementes.

Segundo Uvah & Ishaya (1992), o efeito dos óleos vegetais brutos adicionados as sementes e grãos, sobre pragas de grãos armazenados, se deve principalmente a falta de oxigênio provocada, pela oclusão dos orifícios existentes nos grãos, impedindo a respiração dos insetos. Além disso, alguns óleos também causam toxicidade direta através de seus componentes majoritários, principalmente triacilgliceróis. A penetração do óleo nos grãos depende do grau de saturação, os lipídios mais insaturados penetram melhor através da testa e se acumulam na superfície dos cotilédones, formando uma película, sendo mais eficientes no controle.

Uvah & Ishaya (1992), obtiveram reduções significativas na postura, surgimento de progênie e longevidade de *C. maculatus* em feijão caupi (*V. unguiculata*) aplicando óleo bruto de amendoim e palma na dosagem 2,5 a 30 L t<sup>-1</sup>. O azeite de oliva também reduziu a longevidade dos adultos. A média de longevidade dos adultos de *C. maculatus* em sementes tratadas e não tratadas, respectivamente, foi de 2,2 a 2,7 e 3,1 a 3,8 dias.

Para os grãos tratados com folhas semi-secas, a redução do seu efeito na mortalidade dos insetos pode ter sido por causa da exalação de compostos voláteis até a secagem completa das mesmas. Valiati *et al.* (2007), observaram comportamento semelhante, ao testarem folhas frescas de eucalipto (*Eucalyptus* spp.) dispostas em três camadas, sob, sobre e entre as espigas de milho empalhadas, acondicionadas em tonéis metálicos, no controle de *S. zeamais*. As espigas foram armazenadas logo após colhidas, durante seis meses. O aparecimento de insetos no tratamento testemunha foi observado a partir do segundo mês de armazenamento. A partir do terceiro mês, a infestação aconteceu em todos os tratamentos, mas permaneceu maior na testemunha, indicando efeito repelente dos tratamentos com folhas, sendo que o *E. citriodora* foi mais eficiente que o eucalipto comum.

Pode-se observar que ao final do tempo de armazenamento, tanto os tratamentos com folhas de cinamomo e de eucalipto (15 e 30 kg), bem como os grãos tratados com óleo de melaleuca (0,5 e 1 L), apresentaram taxas de mortalidade similar, com média inferior a 20%. Procópio *et al.* (2003a), avaliando o efeito de pós de seis espécies vegetais no controle de *Sitophilus* sp. em grãos de milho, dentre elas nim, eucalipto e cinamomo, observaram respectivamente, mortalidade de 6,67, 7,50 e 6,67%, no décimo dia de avaliação, resultados que se assemelham aos encontrados neste trabalho para folhas de eucalipto e cinamomo, aos 120 dias de efeito residual. Também, pode-se verificar que o melhor efeito residual foi obtido com a utilização do produto de nim (2 e

4 L), que apresentaram ao final do tempo, taxas de mortalidade de aproximadamente 60%.

De acordo com Oliveira & Vendramim (1999), a baixa eficiência de certos vegetais pode estar relacionada com a concentração utilizada, no entanto ressalta-se que na prática o aumento demasiado na concentração dos extratos secos naturais não deve ser recomendada devido ao aumento dos custos de controle. Por outro lado, a mortalidade não deve ser considerada como critério único na avaliação do efeito de inseticidas naturais no controle de pragas de grãos armazenados, pois esses compostos podem influir também na biologia e comportamento dos insetos.

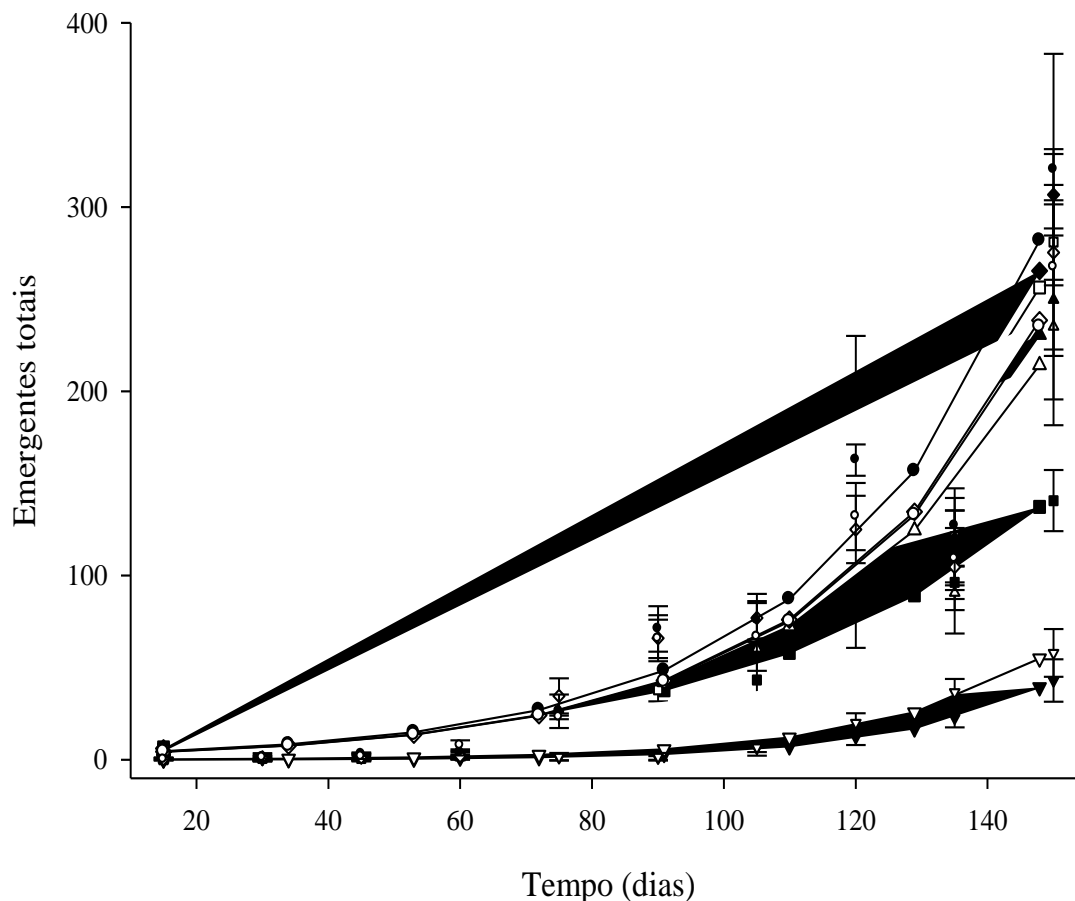
#### **4.1.2 Emergência**

Ocorreram variações significativas na emergência total (vivos e mortos) de *S. zeamais* tanto para os efeitos simples (tipo/dose produto e tempo residual), quanto para a interação entre ambos.

Conforme a Figura 2, o modelo com melhor ajuste para todos os tratamentos foi o modelo exponencial, todos com  $r^2$  superior a 0,78 e  $P < 0,000$ .

Na Figura 2, observa-se que para todos os tratamentos ocorreu aumento na emergência de insetos. Este aumento na emergência de insetos pode estar relacionado com a baixa persistência dos óleos ou baixo efeito residual dos mesmos (ISMAN, 2006).





- Testemunho, onde  $Y = 4,78 \cdot \exp(0,0227 \cdot X)$ , sendo  $r^2 = 0,90$  e  $P < 0,0001$
- Melaleuca 0,5 L, onde  $Y = 3,51 \cdot \exp(0,0290 \cdot X)$ , sendo  $r^2 = 0,86$  e  $P < 0,0001$
- ▲ Melaleuca 1 L, onde  $Y = 3,35 \cdot \exp(0,0286 \cdot X)$ , sendo  $r^2 = 0,81$  e  $P < 0,0001$
- △ Melaleuca 2 L, onde  $Y = 3,14 \cdot \exp(0,0285 \cdot X)$ , sendo  $r^2 = 0,78$  e  $P < 0,0001$
- ▼ Nim 2 L, onde  $Y = 0,057 \cdot \exp(0,0442 \cdot X)$ , sendo  $r^2 = 0,93$  e  $P < 0,0001$
- ▽ Nim 4 L, onde  $Y = 0,151 \cdot \exp(0,0399 \cdot X)$ , sendo  $r^2 = 0,94$  e  $P < 0,0001$
- ◆ Cinamomo 15 kg, onde  $Y = 3,99 \cdot \exp(0,0284 \cdot X)$ , sendo  $r^2 = 0,89$  e  $P < 0,0001$
- ◇ Cinamomo 30 kg, onde  $Y = 2,78 \cdot \exp(0,0301 \cdot X)$ , sendo  $r^2 = 0,88$  e  $P < 0,0001$
- Eucalipto 15 kg, onde  $Y = 2,91 \cdot \exp(0,0309 \cdot X)$ , sendo  $r^2 = 0,90$  e  $P < 0,0001$
- Eucalipto 30 kg, onde  $Y = 2,76 \cdot \exp(0,0300 \cdot X)$ , sendo  $r^2 = 0,90$  e  $P < 0,0001$

FIGURA 2. Emergentes totais (vivos e mortos) de *Sitophilus zeamais* em grãos de milho, durante 150 dias, tratados com diferentes compostos bioativos.

Pode-se verificar que o melhor efeito residual foi obtido com a utilização do produto nim (2 e 4 L), que apresentou, ao final do tempo de armazenamento, emergência média de 42,33 e 57 insetos, respectivamente. Importante mencionar que para as duas doses desse produto, a emergência até 75 dias de armazenamento, foi inferior a 2 insetos, enquanto que no tratamento testemunha, neste mesmo período, a

emergência média foi de 26,33 insetos, e ao final da estocagem de 137,67 insetos (Figura 2).

De acordo com Leão (2007), que testou o efeito de vários pós-vegetais na repelência, mortalidade e emergência dos adultos de *Sitophilus oryzae* L. (Curculionidae), em arroz com casca (*Oryza sativa* L.), o tratamento com pó das folhas e frutos de cinamomo não foi eficiente em nenhuma das formas de controle citada (mortalidade, repelência, emergência) quando comparado com os demais tratamentos realizados.

Para a avaliação da mortalidade, o autor utilizou em cada parcela experimental, 20 insetos adultos não sexados e a quantidade de pó de cada planta 30 kg t<sup>-1</sup> de grãos. A mortalidade foi contada diariamente até o décimo dia. Além dos pós vegetais, foram utilizados dois inseticidas sintéticos e terra diatomácea. Entre os extratos vegetais, o pó de *C. ambrosioides* causou a maior mortalidade (78,34%). A terra diatomácea apresentou maior controle comparado aos pós (88,33%) e menor que os inseticidas (100%). Quanto à repelência, após 24 horas da infestação inicial, a espécie vegetal mais eficiente foi *Corymbia citriodora* Hook, uma espécie de eucalipto, com 82,5%. E quanto à emergência, nenhuma das espécies vegetais testadas, apresentou resultado satisfatório (LEÃO, 2007).

Os resultados obtidos neste trabalho mostram que o produto comercial nim testado, pode ter potencial para uso no controle da emergência de insetos desta espécie, no armazenamento de grãos de milho. Coitinho *et al.* (2006a) observaram comportamento semelhante no controle de *S. zeamais*, quando utilizaram óleo de nim, na concentração de 2,5 L.ton<sup>-1</sup>. O tratamento com o composto bioativo apresentou baixa taxa de emergência,  $1,0 \pm 0,45$  inseto, durante 120 dias de armazenamento.

Procópio *et al.* (2003a), avaliando o efeito de pós de seis espécies vegetais no controle de *Sitophilus* sp. em grãos de milho, dentre eles, nim, eucalipto e cinamomo, observaram emergência média no período de até 60 dias de 9,67; 3,83 e 7,17 adultos não diferindo da testemunha. Makanjuola (1989) observando a ação inseticida de extratos de folhas e sementes de nim, sobre *Sitophilus oryzae*, em grãos de milho durante o armazenamento, observou redução da emergência de adultos desta espécie. Conforme o mesmo autor, o nim não age somente como supressor de oviposição, mas também como ovicida.

Souza e Trovão (2009) ao avaliarem o efeito de quatro espécies vegetais, dentre elas o nim, sobre *S. zeamais*, observaram mortalidade de 36,6 e 70%, nesse tratamento, utilizando, respectivamente, 60 e 120 kg de pó por tonelada de grãos de milho, após 15 dias da infestação.

#### **4.2 Avaliação da ocorrência de fungos em grãos de milho armazenados, infestados com *Sitophilus zeamais*, tratados com diferentes compostos bioativos**

O desenvolvimento de três gêneros de fungos (*Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium*) nos grãos de milho tratados com diferentes compostos bioativos foi analisado separadamente. Os resultados foram apresentados em forma de porcentagem da predominância de cada gênero.

##### **4.2.1 *Aspergillus* spp.**

Para avaliação do desenvolvimento deste gênero de fungo, os melhores ajustes ocorreram com os modelos quadráticos, independentemente do tratamento avaliado.

Para todos os tratamentos, as maiores médias de desenvolvimento de fungos deste gênero ocorreram no período inicial do armazenamento, reduzindo a partir deste período até em torno dos 100 dias. Os tratamentos melaleuca 1 e 2 L e o cinamomo 15 kg apresentaram aumento no desenvolvimento deste gênero de fungo após este período até os 150 dias.

Os tratamentos cinamomo 30 kg, melaleuca 0,5 L, nim 2 e 4 L e eucalipto 15 e 30 kg apresentaram redução no desenvolvimento do fungo *Aspergillus* spp. até o final dos 150 dias. O comportamento desses compostos foi semelhante ao resultante no tratamento testemunha, que também apresentou redução no desenvolvimento deste fungo até o final do experimento. Os tratamentos que apresentaram menor variação no desenvolvimento de *Aspergillus* após os 100 dias foram os tratamentos nim 4 L e eucalipto 15 e 30kg (Figura 3).

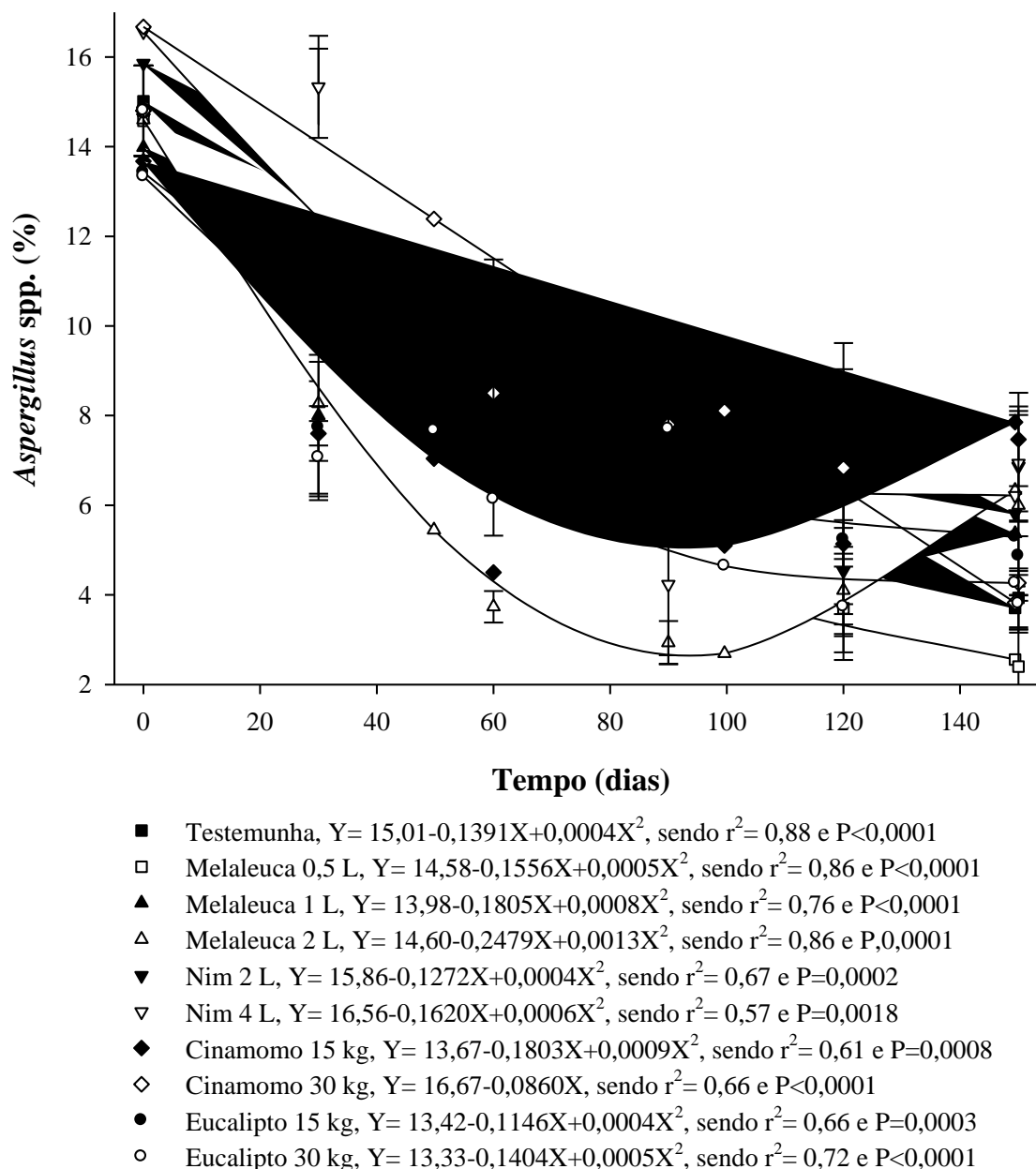


FIGURA 3. Desenvolvimento de *Aspergillus* spp. (%) em grãos de milho infestados com *Sitophilus zeamais*, durante 150 dias de armazenamento, sob diferentes tratamentos.

Aos trinta dias ocorreu variação média no desenvolvimento de fungos do gênero *Aspergillus*, de 7,07 (eucalipto 30 kg) a 15,33% (nim 4 L). Ao final dos 150 dias de estocagem, esta incidência foi inferior a 7,48% para todos os produtos avaliados (Figura 3).

O comportamento dos compostos bioativos testados neste trabalho, pode estar relacionado à volatilização do óleo, produto comercial e na diminuição da liberação de

compostos voláteis da folha, respectivamente, resultando na redução da sua ação fungicida após os 90 dias, mostrando baixa persistência ao longo do tempo (COITINHO *et al.*, 2006a; 2010; ISMAN, 2006).

Os tratamentos com óleo de melaleuca nas concentrações de 0,5, 1 e 2 L apresentaram desenvolvimento médio de fungos do gênero *Aspergillus* de 5,51; 5,71 e 5,00% durante o armazenamento. No entanto, o tratamento melaleuca 0,5 L foi o que apresentou redução no desenvolvimento de *Aspergillus* spp. até o final do armazenamento, com valor médio mais baixo ao final deste período de 2,40%.

Mariano, *et al.* (2014) analisaram os efeitos antifúngicos de óleo de *M. alternifolia* no controle de patógenos transmitidos pelas sementes de girassol (*Helianthus annuus* L.) e no desenvolvimento inicial da plântula de girassol no campo. As doses testadas do óleo variaram na concentração de zero a 1,5%. Eles observaram que na dosagem de 0,83%, o óleo proporcionou o maior controle de *Aspergillus* sp. Nas maiores doses, o óleo de melaleuca não apenas diminuiu o seu efeito no controle do fungo patogênico, como também interferiu de forma negativa no desenvolvimento da cultura.

Tatsadjieu *et al.* (2010) estudando o efeito de três óleos essenciais de plantas, sobre o desenvolvimento de *Aspergillus flavus*, observaram inibição variando de 34,59 a 95,04% para todos os tratamentos. De acordo com Chao & Young (2000), compostos isolados, extraídos de óleos essenciais de plantas, atuam como fungicidas naturais inibindo a atividade fúngica. Tal resultado pode ser verificado neste trabalho, onde foi observado redução do desenvolvimento de *Aspergillus* spp., em grãos de milho tratados com óleo de melaleuca 0,5 L.

Segundo Stangarlin *et al.* (1999), os trabalhos desenvolvidos com extrato bruto ou óleos essenciais derivados de plantas medicinais têm mostrado o potencial destes no

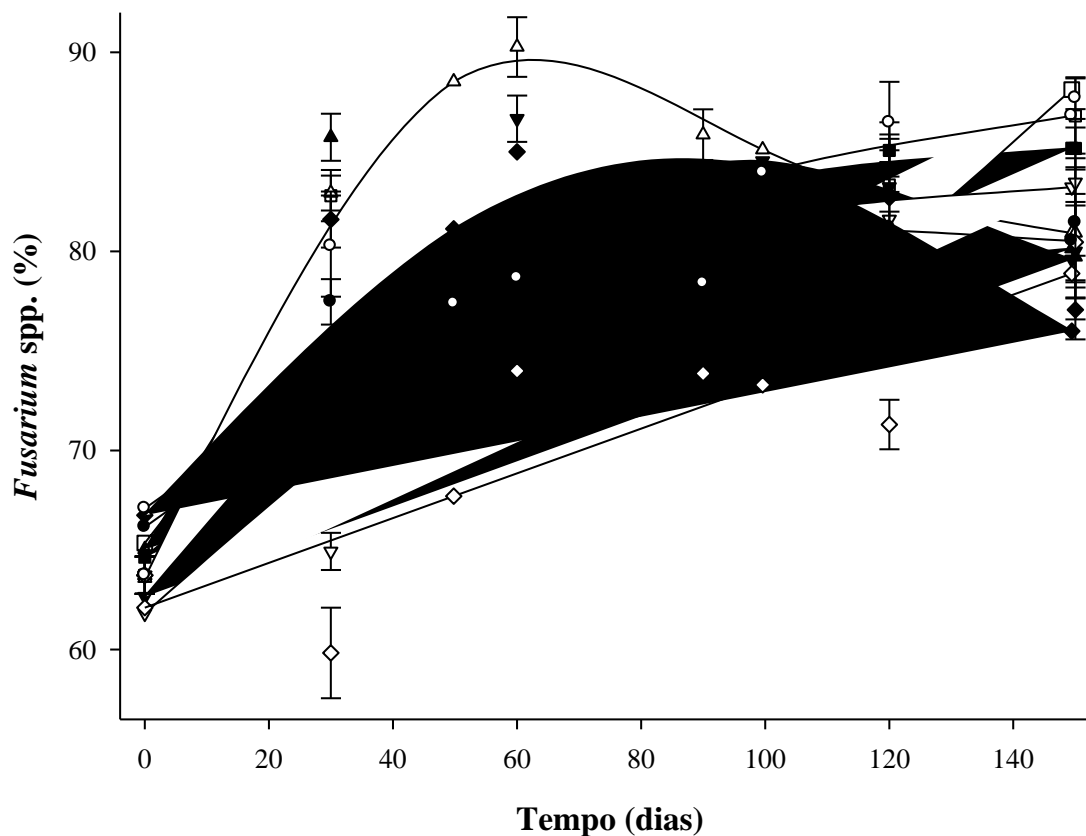
controle de fitopatógenos, tanto por ação fungitóxica direta, inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos, quanto, pela indução de fitoalexinas, indicando a presença de compostos com características de elicitores. Carson *et al.* (2006) relataram que o óleo de melaleuca possui efeito antifúngico em *Aspergillus* spp. Conforme os mesmos autores, o mecanismo de ação antifúngica pode estar relacionado ao aumento da permeabilidade da membrana dos microrganismos, e também, a redução da taxa respiratória destes microrganismos, quando são submetidos ao tratamento com óleo de melaleuca.

#### **4.2.2 *Fusarium* spp.**

A análise de variância mostra que houve diferença estatística tanto para o efeito simples (dose e tempo residual), quanto para a interação entre ambos.

Os melhores ajustes, para a maioria dos tratamentos, ocorreram com a utilização de modelo quadrático. No início do experimento, a porcentagem de desenvolvimento de fungos do gênero *Fusarium* variou entre 60 a 70% para todos os tratamentos. Os resultados médios mais baixos do desenvolvimento de fungos deste gênero aos trinta dias, ocorreram nos tratamentos nim 2 L (69,47%), 4 L (64,93%) e cinamomo 30 kg (59,83%).

Nos tratamentos testemunha, nim 4L, cinamomo e eucalipto 30 kg observou-se aumento da presença desse fungo durante toda a estocagem dos grãos de milho. O tratamento eucalipto 15 kg apresentou um aumento no desenvolvimento do gênero *Fusarium* até cerca de 100 dias, e após esse período, até o final do armazenamento, uma estabilização no seu desenvolvimento (Figura 4).



- Testemunha,  $Y = 64,64 + 0,2949X - 0,0011X^2$ , sendo  $r^2 = 0,93$  e  $P < 0,0001$
- Melaleuca 0,5 L,  $Y = 65,35 + 0,6767X - 0,0098X^2 + 4,18E-5X^3$ , sendo  $r^2 = 0,73$  e  $P = 0,0003$
- ▲ Melaleuca 1 L,  $Y = 65,04 + 0,8024X - 0,0100X^2 + 3,57E-5X^3$ , sendo  $r^2 = 0,71$  e  $P = 0,0005$
- △ Melaleuca 2 L,  $Y = 63,59 + 0,9701X - 0,0113X^2 + 3,72E-5X^3$ , sendo  $r^2 = 0,91$  e  $P < 0,0001$
- ▼ Nim 2 L,  $Y = 62,66 + 0,4324X - 0,0021X^2$ , sendo  $r^2 = 0,80$  e  $P < 0,0001$
- ▽ Nim 4 L,  $Y = 61,82 + 0,3093X - 0,0011X^2$ ,  $r^2 = 0,81$  e  $P < 0,0001$
- ◆ Cinamomo 15 kg,  $Y = 66,74 + 0,4023X - 0,0023X^2$ ,  $r^2 = 0,66$  e  $P = 0,0003$
- ◇ Cinamomo 30 kg,  $Y = 62,11 + 0,1123X$ , sendo  $r^2 = 0,64$  e  $P < 0,0001$
- Eucalipto 15 kg,  $Y = 66,15 + 0,2536X - 0,0011X^2$ ,  $r^2 = 0,73$  e  $P < 0,0001$
- Eucalipto 30 kg,  $Y = 67,08 + 0,2442X - 0,0008X^2$ , sendo  $r^2 = 0,72$  e  $P < 0,0001$

FIGURA 4. Desenvolvimento de *Fusarium* spp. (%) em grãos de milho infestados com *Sitophilus zeamais*, durante 150 dias de armazenamento, sob diferentes tratamentos.

Para os tratamentos nim 2 e cinamomo 15 kg, o aumento dos fungos deste gênero, ocorreu até aproximadamente os 100 dias de armazenamento, com posterior redução. O tratamento melaleuca 0,5, 1 e 2 L apresentaram um comportamento semelhante, com aumento do gênero *Fusarium* até os 60 dias, e após, redução na incidência até os 100 dias aproximadamente. Depois desse período, enquanto o tratamento melaleuca 0,5 L apresentou aumento na incidência de *Fusarium* spp até o



final do período de armazenamento, os outros dois continuaram apresentando uma pequena diminuição.

As folhas de *E. citriodora* podem apresentar alguma ação antifúngica porque possuem na sua constituição química, a nível celular, compostos secundários como o citroneol, que quando liberados possuem atividade antimicrobiana (BONALDO *et al.*, 2004).

Conforme Canepelle (2003) existe correlação positiva entre a incidência de insetos e fungos em grãos. Quando os insetos se alimentam, provocam danos no tegumento do grão e expõem o endosperma, facilitando a entrada do microrganismo. Através da atividade metabólica dos insetos, ocorre aumento da produção de gás carbônico e água pela semente (processo de degradação), elevando a umidade de toda a massa armazenada.

Quanto maior for a umidade dos grãos, significa que há aumento da taxa respiratória e elevação da temperatura. Essas condições ambientais favoráveis facilitam a multiplicação de fungos e ácaros, que por sua vez, provocam ainda maior liberação de água e calor, elevando a umidade e favorecendo o crescimento de mais fungos (SANTOS, 2006; LOECK, 2002; LAZZARI, 1997).

Conforme alguns trabalhos de pesquisa (MILLS, 1989; MARIN *et al.*, 1998; ALMEIDA *et al.*, 2000; DILKIN *et al.*, 2000), fungos do gênero *Fusarium* são considerados como de campo e tem preferência por alta umidade (20-25% b.u). No entanto, atualmente sabe-se que o *Fusarium verticillioides*, por exemplo, pode se desenvolver após a colheita e durante o armazenamento, principalmente quando este é realizado de forma incorreta, podendo permanecer inclusive durante e após o processamento do alimento (MARIN *et al.*, 2004; CHULZE, 2010). Os fungos considerados como de armazenamento, como *Aspergillus* e *Penicillium*, normalmente

contaminam as sementes após a colheita e têm a capacidade de viverem associados, em condições de baixo teor de umidade (13 a 18% b.u) e temperaturas mais elevadas (25 °C) (LAZZARI, 1997; LOECK, 2002).

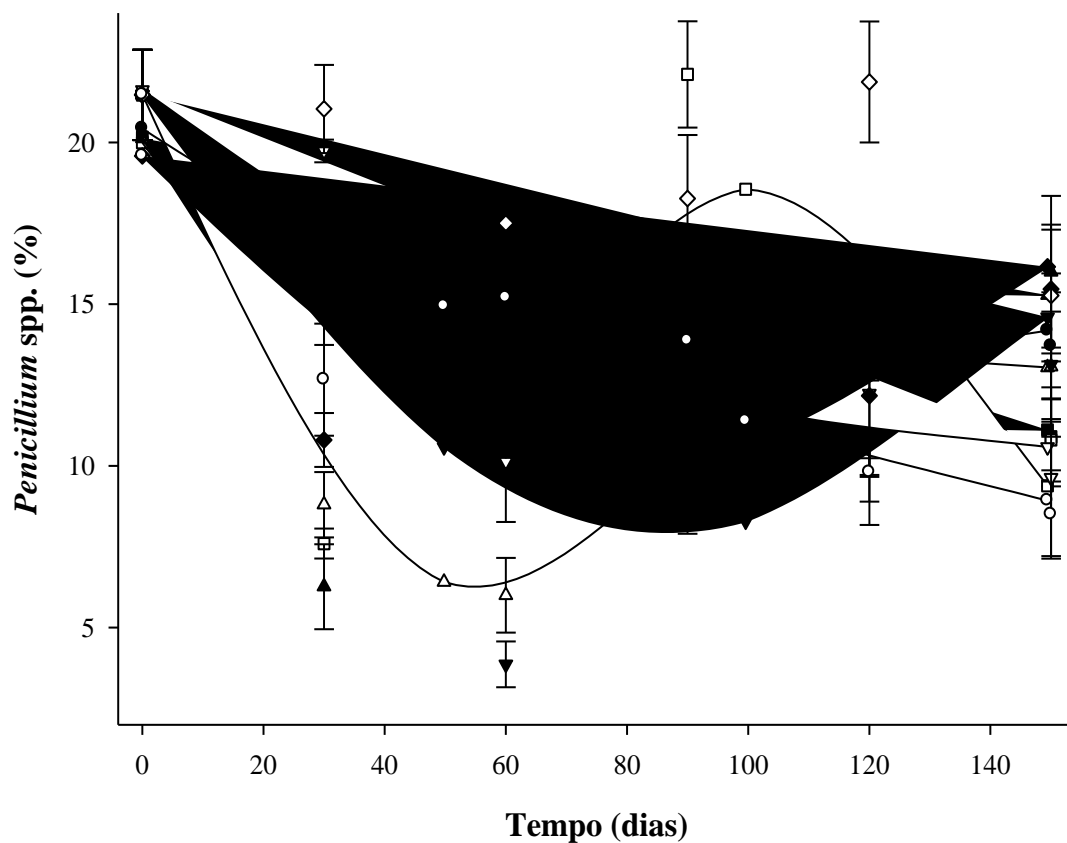
#### **4.2.3 *Penicillium* spp.**

Os resultados obtidos neste experimento mostram que não ocorreram variações significativas para a maioria das doses testadas, entre elas e o tempo residual, no desenvolvimento de fungos deste gênero. Os melhores ajustes ocorreram com as equações de segundo grau (modelo quadrático), sendo os tratamentos melaleuca 2 L ( $P < 0,0001$ ,  $r^2 = 0,81$ ) e testemunha ( $P < 0,0004$ ,  $r^2 = 0,65$ ) os melhores ajustes.

No tratamento na dose melaleuca 1 e 2 L houve diminuição até 60 dias, e após, aumento no desenvolvimento de *Penicillium* spp. durante toda a estocagem. Para a dose melaleuca 0,5 L também ocorreu redução até 60 dias, mas o aumento ocorreu somente até os 100 dias, com posterior diminuição deste gênero de fungo até os 150 dias.

Nos tratamentos eucalipto e cinamomo 15 kg e nim 2 L, o desenvolvimento de *Penicillium* spp. diminuiu até aproximadamente os 100 dias de armazenamento, aumentando a partir deste período, até o final das avaliações.

Os tratamentos testemunha, eucalipto 30 kg e nim 4L apresentaram diminuição no desenvolvimento deste fungo até os 150 dias de armazenamento. O tratamento cinamomo 30 kg foi o único que não apresentou variação significativa no desenvolvimento de *Penicillium* spp (Figura 5).



- Testemunha,  $Y = 20,16 - 0,1387X + 0,0005X^2$ , sendo  $r^2 = 0,65$  e  $P = 0,0004$
- Melaleuca 0,5 L,  $Y = 19,99 - 0,5078X + 0,0090X^2 - 4,07E-5X^3$ , sendo  $r^2 = 0,45$  e  $P = 0,0354$
- ▲ Melaleuca 1 L,  $Y = 20,12 - 0,4907X + 0,0068X^2 - 2,50E-5X^3$ , sendo  $r^2 = 0,46$  e  $P = 0,0295$
- △ Melaleuca 2 L,  $Y = 21,49 - 0,6730X + 0,0091X^2 - 3,32E-5X^3$ , sendo  $r^2 = 0,81$  e  $P < 0,0001$
- ▼ Nim 2 L,  $Y = 21,48 - 0,3052X + 0,0017X^2$ , sendo  $r^2 = 0,61$  e  $P = 0,0010$
- ▽ Nim 4 L,  $Y = 21,62 - 0,1476X + 0,0005X^2$ , sendo  $r^2 = 0,50$  e  $P = 0,0062$
- ◆ Cinamomo 15 kg,  $Y = 19,58 - 0,2221X + 0,0013X^2$ , sendo  $r^2 = 0,52$  e  $P = 0,0041$
- ◇ Cinamomo 30 kg,  $Y = 13,92$  (ns)
- Eucalipto 15 kg,  $Y = 20,42 - 0,1390X + 0,0007X^2$ , sendo  $r^2 = 0,60$  e  $P = 0,0011$
- Eucalipto 30 kg,  $Y = 19,58 - 0,1042X + 0,0002X^2$ , sendo  $r^2 = 0,63$  e  $P = 0,0006$

FIGURA 5. Desenvolvimento de *Penicillium* spp. (%) em grãos de milho infestados com *Sitophilus zeamais*, durante 150 dias de armazenamento, sob diferentes tratamentos.

### **4.3 Avaliação da qualidade física dos grãos de milho armazenados, infestados com *Sitophilus zeamais*, tratados com diferentes compostos bioativos**

#### **4.3.1 Determinação da umidade**

Os resultados da análise de variância da umidade dos grãos de milho, nos diferentes tratamentos, mostraram variações significativas tanto para o efeito simples (dose e tempo residual), quanto, para a interação entre ambos.

Os resultados apresentados indicaram ajuste com  $r^2$  superior a 0,86 para todos os tratamentos, exceto para os tratamentos melaleuca 1 L ( $P < 0,0001$  e  $r^2 > 0,82$ ) e nim 2 L ( $P = 0,0003$  e  $r^2 > 0,67$ ) que apresentaram ajustes menores.

Houve aumento linear da umidade para todas as doses testadas, ao longo do período de armazenamento dos grãos de milho. A umidade inicial dos grãos de milho foi de 11,97% e aos trinta dias variou de 11,79% (nim 2 L) a 12,44% (eucalipto 15 kg). Ao final dos 150 dias a umidade variou de 12,93% (nim 2 L) a 15,39% (cinamomo 15 kg), evidenciando aumento da umidade dos grãos. Conforme Makanjuola (1989) e Alves *et al.* (2008), a intensa atividade metabólica de insetos e fungos, através do seu crescimento populacional, eleva a umidade dos grãos durante o armazenamento.

Nos tratamentos com óleo de nim 2 e 4 L, a umidade dos grãos apresentou os menores valores finais, com médias de umidade de 12,93 e 13,07%, respectivamente (Figura 6). Pela IN N° 60, apenas o milho com até 14% de umidade seria recomendado para a comercialização, o que torna os tratamentos cinamomo 15 e 30 kg impróprios para a venda ao final do armazenamento (BRASIL, 2013).

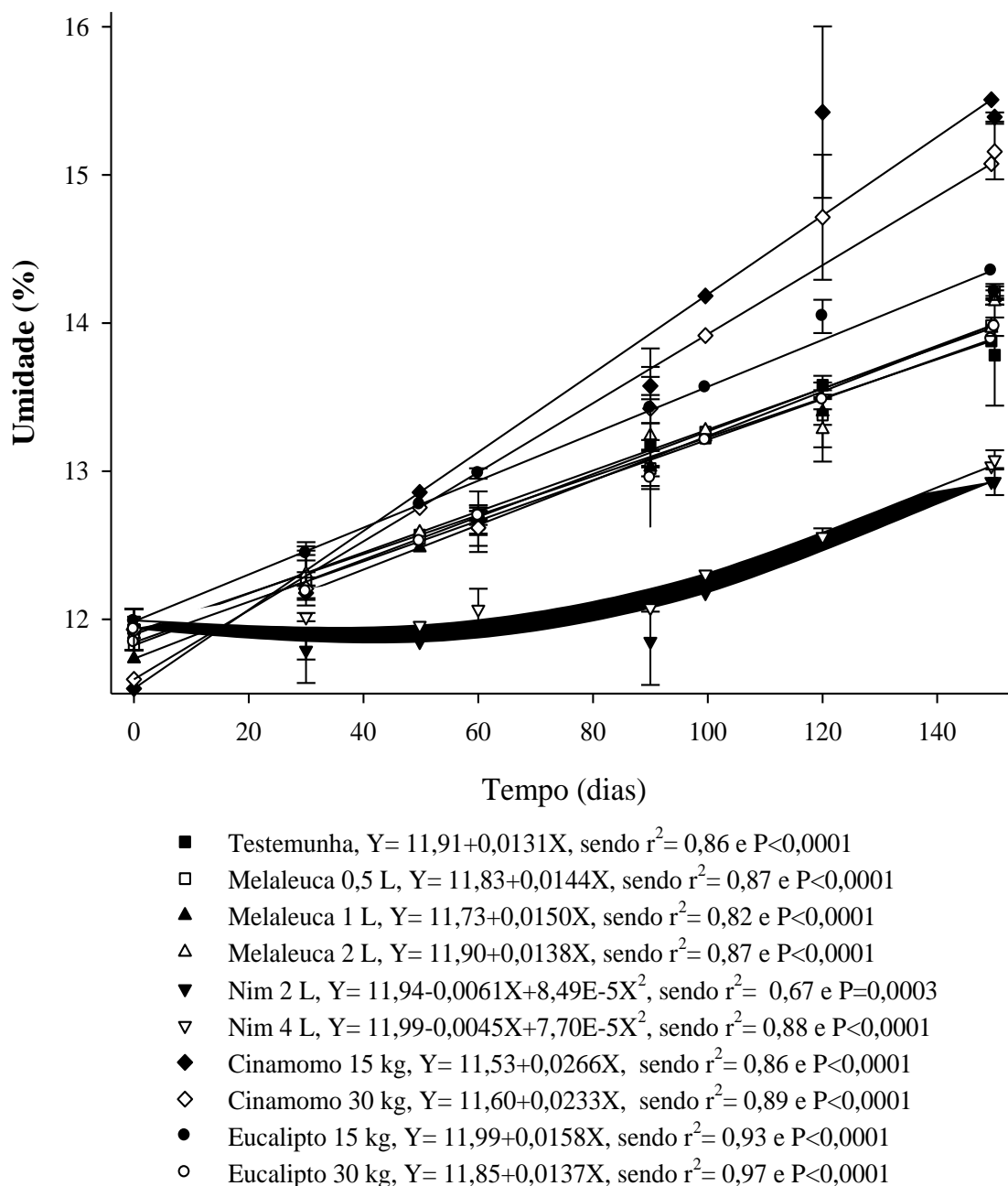


FIGURA 6. Umidade (% b.u.) de grãos de milho armazenados, durante 150 dias, infestados com *Sitophilus zeamais*, sob diferentes tratamentos.

Em trabalho realizado com extratos de folhas e sementes de nim, Makanjuola (1989) observou aumento da umidade dos grãos de milho durante o armazenamento, por cinco meses. No tratamento com extrato de sementes de nim, observou-se variação de 12,3 para 14,8% (b.u.) ao final do período. Estes resultados mostram que a umidade dos grãos de milho, infestados com insetos pragas, tende a se elevar ao final do tempo de armazenamento. Outros autores também relatam que o aumento do teor de água, em

grãos armazenados, está relacionado a presença de insetos (GARCIA *et al.*, 2000; ANTUNES *et al.*, 2011). De acordo com Pinto Junior (2008) este aumento do teor de umidade se deve ao metabolismo dos insetos, ou seja, devido à sua respiração. Segundo Almeida *et al.* (2006), o desenvolvimento de *S. zeamais* é acelerado em grãos armazenados quando o teor de umidade permanece entre 14 a 16% b.u., pois abaixo de 13%, as fases jovens têm a sua viabilidade reduzida e abaixo de 10%, de maneira geral, as fêmeas paralisam a oviposição.

#### 4.3.2 Massa específica

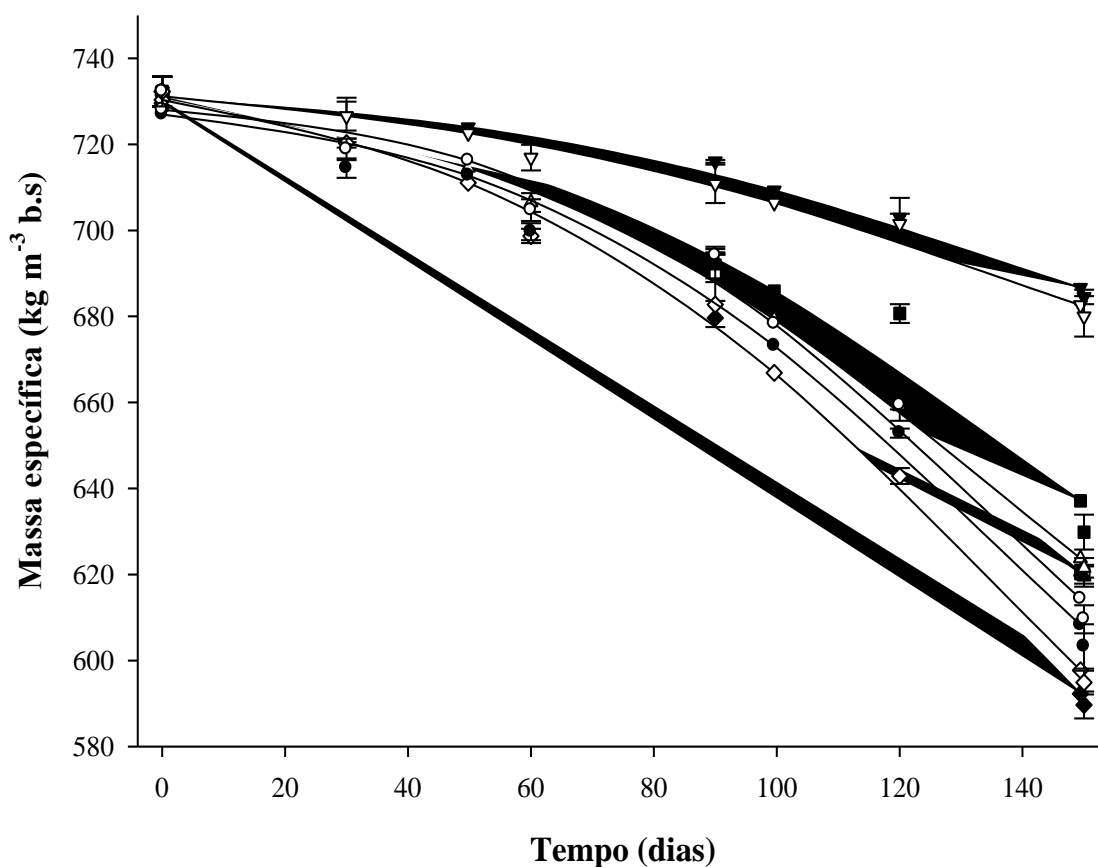
Os resultados obtidos na análise de variância para massa específica mostraram que ocorreram variações significativas tanto para o efeito simples (doses e tempo residual), quanto para a interação entre ambos.

Houve redução quadrática da massa específica dos grãos de milho durante o armazenamento em todos os tratamentos. O modelo quadrático apresentou excelente ajuste aos dados coletados, sendo o  $r^2 > 0,90$  e  $P < 0,0001$ , para todos os tratamentos estudados.

A massa específica média inicial foi de 732,27 kg.m<sup>-3</sup> b.s. Aos trinta dias variou de 714,46 kg m<sup>-3</sup> (eucalipto 15 kg) a 726,56 kg m<sup>-3</sup> (nim 4 L). Aos 150 dias esta variação foi de 589,66 kg m<sup>-3</sup> (cinamomo 15 kg) a 684,51 kg m<sup>-3</sup> (nim 2 L), mostrando redução significativa na massa específica dos grãos de milho, tratados com os diferentes compostos bioativos.

Os resultados da Figura 7 mostram que nos tratamentos com produto de nim 2 e 4 L, foram os que apresentaram as menores perdas de massa específica durante o armazenamento, e ao final dos 150 dias estes valores médios foram de 684,51 e 680,02

$\text{kg m}^{-3}$ , respectivamente. A perda de massa específica nos tratamentos nim 2 e 4 L, entre 0 e 150 dias foi, respectivamente, de 6,52 e 7,13%.



- Testemunha,  $Y = 729,10 - 0,0703X - 0,0036X^2$ , sendo  $r^2 = 0,95$  e  $P < 0,0001$
- Melaleuca 0,5 L,  $Y = 729,93 - 0,2652X - 0,0031X^2$ , sendo  $r^2 = 0,97$  e  $P < 0,0001$
- ▲ Melaleuca 1 L,  $Y = 730,01 - 0,1727X - 0,0037X^2$ , sendo  $r^2 = 0,98$  e  $P < 0,0001$
- △ Melaleuca 2 L,  $Y = 729,40 - 0,0934X - 0,0041X^2$ , sendo  $r^2 = 0,98$  e  $P < 0,0001$
- ▼ Nim 2 L,  $Y = 730,72 - 0,0553X - 0,0016X^2$ , sendo  $r^2 = 0,91$  e  $P < 0,0001$
- ▽ Nim 4 L,  $Y = 731,18 - 0,0950X - 0,0015X^2$ , sendo  $r^2 = 0,90$  e  $P < 0,0001$
- ◆ Cinamomo 15 kg,  $Y = 729,51 - 0,1807X - 0,0049X^2$ , sendo  $r^2 = 0,99$  e  $P < 0,0001$
- ◇ Cinamomo 30 kg,  $Y = 730,33 - 0,1365X - 0,0050X^2$ , sendo  $r^2 = 0,99$  e  $P < 0,0001$
- Eucalipto 15 kg,  $Y = 726,94 - 0,0310X - 0,0051X^2$ , sendo  $r^2 = 0,97$  e  $P < 0,0001$
- Eucalipto 30 kg,  $Y = 728,05 - 0,0235X - 0,0053X^2$ , sendo  $r^2 = 0,98$  e  $P < 0,0001$

FIGURA 7. Massa específica ( $\text{kg m}^{-3}$ ) de grãos de milho armazenados, durante 150 dias, infestados com *Sitophilus zeamais*, sob diferentes tratamentos.

No tratamento testemunha, a perda de massa específica foi de 13,97%, evidenciando maiores perdas ocasionadas principalmente pelo *S. zeamais* e ocorrência de fungos na massa de grãos. A redução da massa específica dos grãos se relaciona com a presença de insetos pragas, pois, ao se alimentarem da parte interna dos grãos, ela

diminui. Alguns autores que observaram esta relação na redução da massa específica em função do ataque de insetos foram Alencar *et al.* (2009) e Filho (2011).

Conforme Elias *et al.* (1997), a massa específica está diretamente relacionada com a integridade biológica dos grãos, e a sua redução durante o armazenamento, ocorre em função do consumo de nutrientes, geralmente em consequência do metabolismo de qualquer organismo associado, seja ele inseto, ácaro ou fungo e dos próprios grãos.

Azevedo *et al.* (2010), observaram diferença significativa na redução da massa específica de grãos de milho, infestados por *S. zeamais*, do tratamento testemunha, comparado a outros tratados previamente com óleos essenciais de citronela (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle.) e *E. citriodora*. Ambos os tratamentos com óleos, em relação a testemunha, ao final de 45 dias de armazenamento, variaram mais de 100% na preservação da massa de grãos, nas concentrações de 3 e 6 L t<sup>-1</sup>. Em cada unidade experimental de 50 g foram colocados 50 adultos de *S. zeamais*. A diminuição da massa na testemunha foi de 2,47%, enquanto nos tratamentos com citronela e eucalipto na menor e maior dose foi respectivamente de 0,69; 0,50 e 0,56, 0,34%. Essa menor perda da massa de grãos de milho tratados com óleos ocorreu devido à alta porcentagem de repelência de *S. zeamais* dos mesmos, a qual variou de 70 a 97% (3 a 6 L t<sup>-1</sup>) para *C. nardus* e 81 a 96% (1,5 a 3 L t<sup>-1</sup>) para *E. citriodora*.

#### **4.3.3 Peso de 1000 grãos**

Os resultados obtidos na análise de variância para o peso de mil grãos mostraram variação significativa somente para o efeito simples do tempo de armazenamento, não existindo diferença significativa entre as doses do produto. Ocorreu redução do peso de mil grãos ao longo do armazenamento em todos os tratamentos ( $P < 0,0001$  e  $r^2 = 0,65$ ).



O peso inicial de 1000 grãos de milho foi de 302,25 g. Aos trinta dias, os valores oscilaram entre 299,61 a 300,85 g nas diferentes doses dos compostos bioativos testados, e ao final do armazenamento, os valores ficaram entre 294,4 a 297,25 g. A média de peso de 1000 grãos ao final dos 150 dias de armazenamento, de todas as doses de produto testadas, foi: 295, 57 g (Figura 8).

A perda média aproximada de peso de 1000 grãos, no período de armazenamento considerado, 150 dias, foi de 2,2%. Da mesma forma que para a massa específica, o peso de mil grãos está diretamente relacionado com a integridade biológica dos grãos, ou seja, sua redução, durante o armazenamento, significa consumo de nutrientes, geralmente em consequência, do metabolismo de organismos associados e dos próprios grãos (DIONELLO, 2000; ELIAS, 2002; 2008).

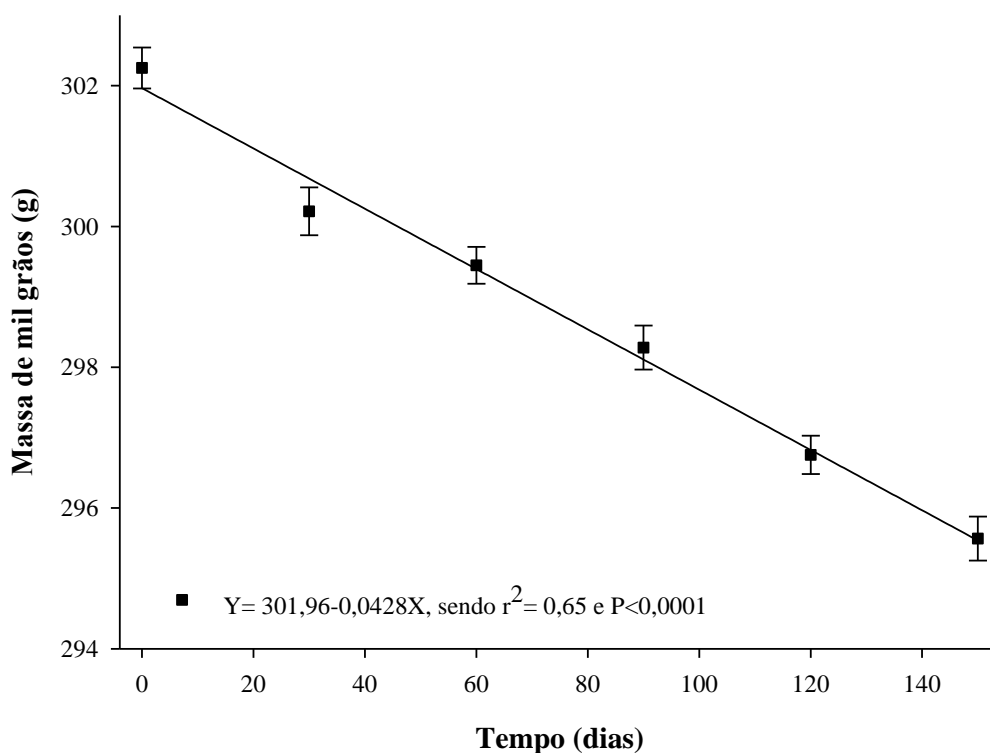


FIGURA 8. Peso de mil grãos (g) de grãos de milho armazenados, durante 150 dias, infestados com *Sitophilus zeamais*, sob diferentes tratamentos.

#### 4.4 Avaliação da qualidade tecnológica dos grãos de milho armazenados, infestados com *Sitophilus zeamais*, tratados com diferentes compostos bioativos

##### 4.4.1 Grãos avariados

A análise de variância mostra que os resultados obtidos para grãos avariados (ardidos, chochos ou imaturos, fermentados, germinados, gessados e mofados) apresentaram diferença significativa tanto para o efeito simples (dose e tempo), quanto para a interação entre ambos. O modelo com melhor ajuste foi o quadrático dos tratamentos nim 4 L ( $P = 0,0012$  e  $r^2 = 0,67$ ) e cinamomo 30 kg ( $P = 0,0008$  e  $r^2 = 0,69$ ).

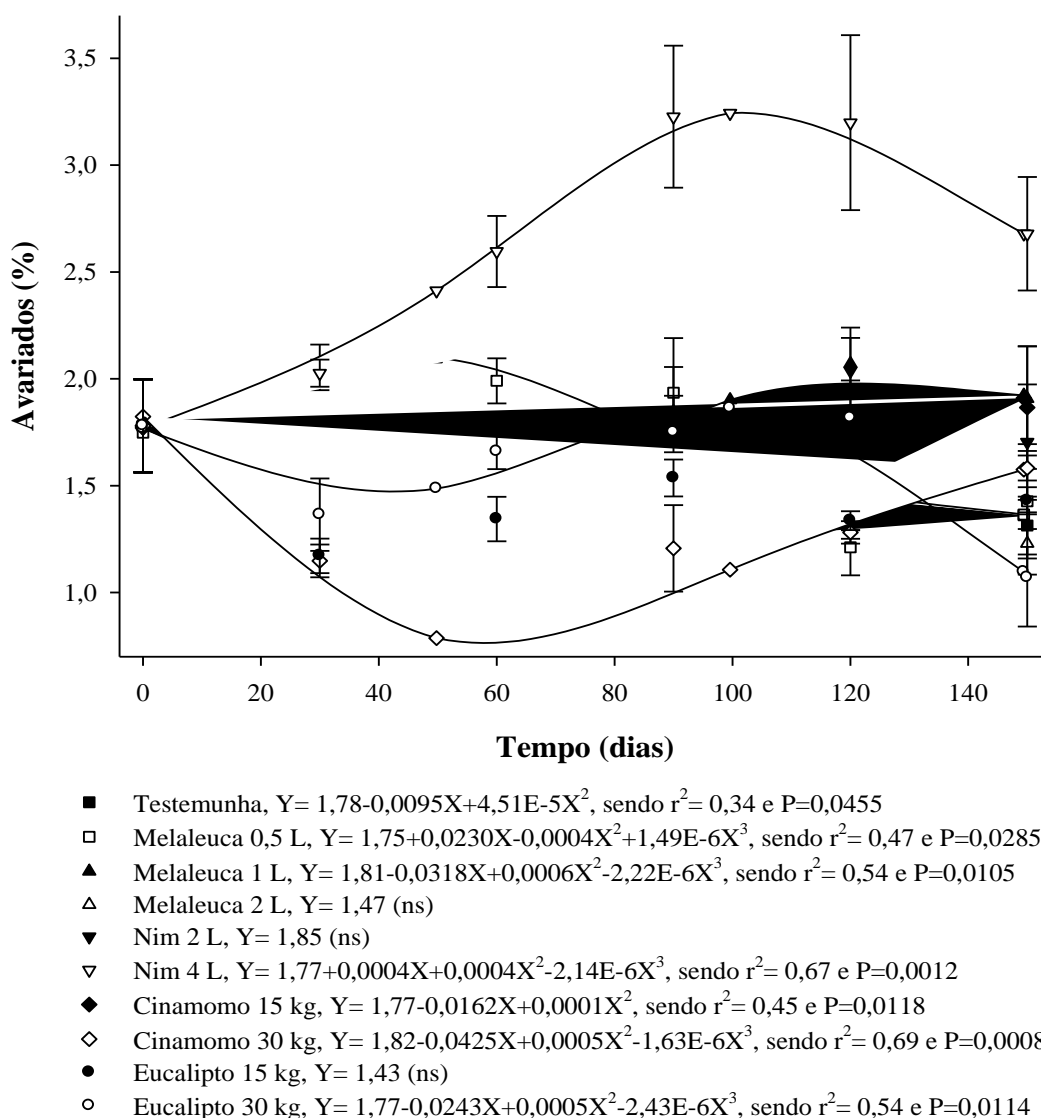


FIGURA 9. Avariados (%), em grãos de milho armazenados durante 150 dias, infestados com *Sitophilus zeamais*, sob diferentes tratamentos.

Os tratamentos dos grãos de milho melaleuca 2 L, nim 2 L e eucalipto 15 kg não apresentaram variação significativa quanto a avariados durante o armazenamento.

Os tratamentos melaleuca 1 L, nim 4 L e eucalipto 30 kg apresentaram um comportamento semelhante. Enquanto só houve aumento desses defeitos até cerca dos 100 dias no nim 4 L, no eucalipto 30 kg e melaleuca 1 L, após leve decréscimo inicial até os 50 dias, também houve aumento até esse período. Após os 100 dias, houve redução até o final do armazenamento para o nim 4L e eucalipto 30 kg e estabilidade nos valores de avariados no tratamento melaleuca 1 L (Figura 9).

O tratamento melaleuca 0,5 L apresentou comportamento diferente de todos os demais. Houve aumento dos avariados até os 30 dias e após, redução deste defeito até o final do armazenamento. Os tratamentos cinamomo 15 e 30 kg do início aos 50 dias aproximadamente, apresentaram uma diminuição dos avariados e depois, até os 150 dias, um aumento do percentual. A testemunha apresentou comportamento semelhante ao cinamomo 15 e 30 kg. No entanto, após os 50 dias, em vez de apresentar aumento dos valores de avariados, estes permaneceram estabilizados.

O comportamento anômalo verificado em cada tratamento com composto bioativo pode ter ocorrido devido ao aumento crescente de grãos carunchados desde o início até o final do armazenamento, desse modo, alguns grãos com defeito avariado e carunchado juntos, provavelmente acabaram sendo classificados como carunchados diminuindo o outro. Essa variação, para mais ou para menos, nas categorias de defeitos, ao longo do tempo, encontra semelhança no trabalho realizado por Antunes *et al.* (2011).

Nos tratamentos testemunha e cinamomo 15 kg, verificaram-se redução nos percentuais de grãos avariados até 90 dias, e após esse período, aumento. No tratamento

cinamomo 15 kg, esse aumento foi maior do que o ocorrido na testemunha. Esse comportamento pode estar relacionado ao aumento de umidade dos grãos de milho no final do armazenamento, a qual pode ter ocasionado mais grãos ardidos, fermentados, germinados e mofados em comparação aos demais tratamentos.

Com relação a grãos avariados, a IN N° 60, define como limite máximo de tolerância para este defeito, o percentual de 6%, para que o produto seja classificado como tipo 1. Dessa forma, no início deste experimento, os grãos de milho utilizados foram classificados nesse tipo, porque apresentaram 1,78% de avariados totais. Da mesma forma, os resultados de grãos avariados, obtidos no final do armazenamento, em todos os tratamentos, mostraram que o percentual destes defeitos permaneceu inferior a 6%, mantendo a mesma classificação inicial quanto a esse aspecto (BRASIL, 2013).

#### **4.4.2 Grãos carunchados**

Os resultados obtidos mostraram que ocorreu variação significativa no percentual de grãos de milho carunchados entre os tratamentos e ao longo do armazenamento.

Houve aumento de grãos carunchados para todos os tratamentos até o final do armazenamento. O modelo exponencial apresentou ótimo ajuste em relação aos resultados obtidos com  $r^2$  superior a 0,95 e  $P < 0,0001$  para todos os tratamentos avaliados.

O aumento dos grãos carunchados tende a elevar a umidade dos grãos, pois uma grande infestação de pragas associadas (insetos, fungos, ácaros) aumenta-a, que por sua vez torna os grãos mais vulneráveis ao ataque (KAWAMOTO *et al.*, 1992; LORINI *et al.*, 2002). Podemos observar, que os tratamentos nim 2 e 4 L, apresentaram tendência

de aumento dos grãos carunchados, porém menor do que para os demais tratamentos (Figura 10).

Esse comportamento ocorreu em função dos tratamentos à base do produto de nim terem apresentado um melhor controle de *S. zeamais*. De acordo com Alencar *et al.* (2011), que avaliaram a qualidade física de grãos de milho durante o armazenamento, em decorrência da infestação por *Tribolium castaneum* Herbst, *S. zeamais* e associação entre eles, quanto maior foi a população desses insetos na massa de grãos, maior foi a sua deterioração.

O tratamento testemunha, aos 60 dias, estava com 2,33% de grãos carunchados, o que o classifica como tipo 2, aos 90 dias com 3,83%, tipo 3, aos 120 dias com 7,25, o que o classifica como fora de tipo e aos 150 dias com 15,09%, o que o torna desclassificado e proibida a sua comercialização (BRASIL, 2013).

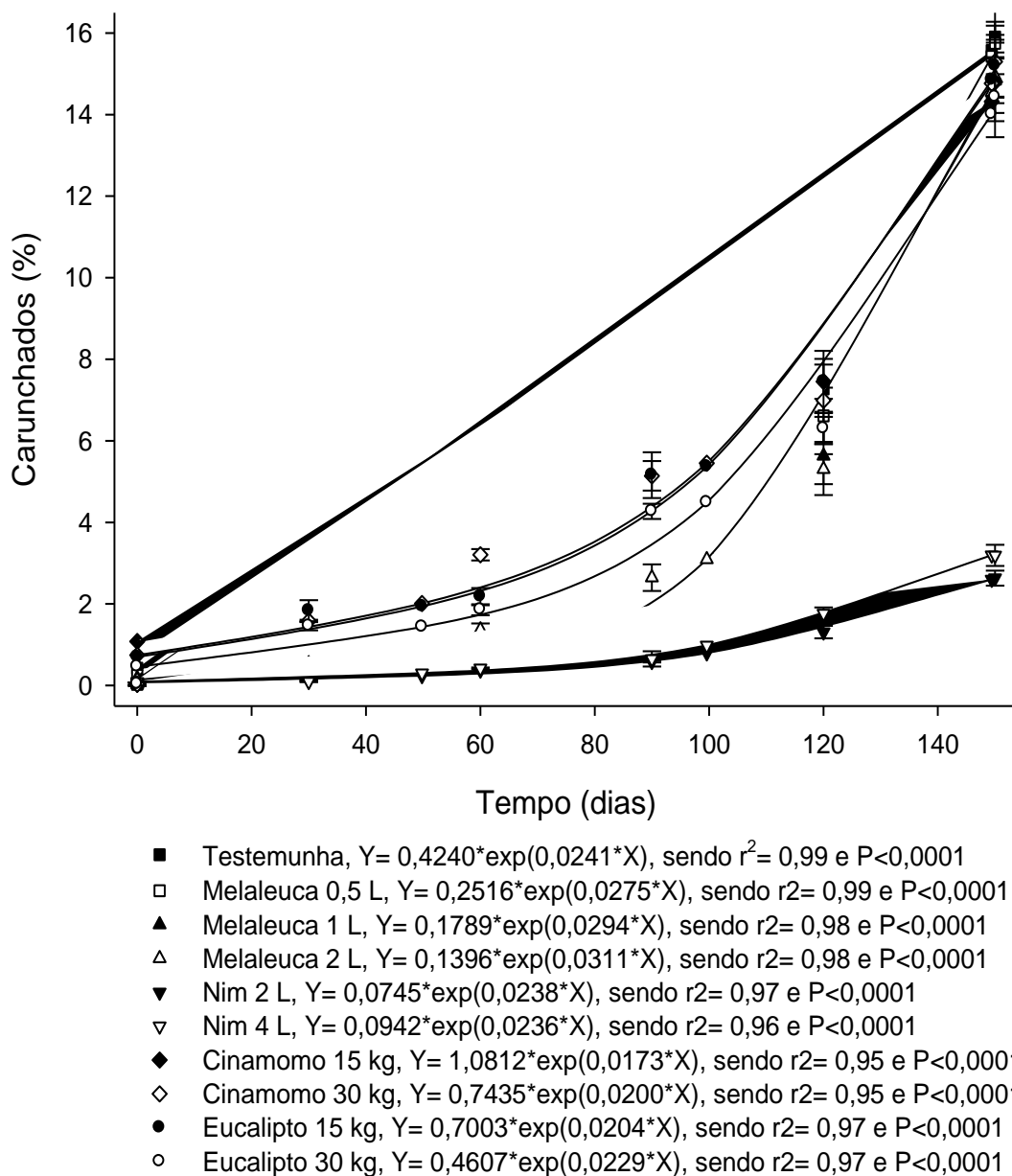


FIGURA 10. Carunchados (%), em grãos de milho armazenados durante 150 dias, infestados com *Sitophilus zeamais*, sob diferentes tratamentos.

Antunes *et al.* (2011), ao avaliarem os danos em grãos de milho, infestados com *S. zeamais* durante 120 dias de armazenamento, observaram aumento no percentual (%) de grãos carunchados de 33,48%, no final do período. Esse percentual maior obtido por eles, em relação ao valor encontrado neste trabalho para a testemunha, está relacionado a quantidade inicial de insetos utilizada por eles, 150 insetos em 600 g de grãos de milho, enquanto neste trabalho foram 20 insetos em 150 g.

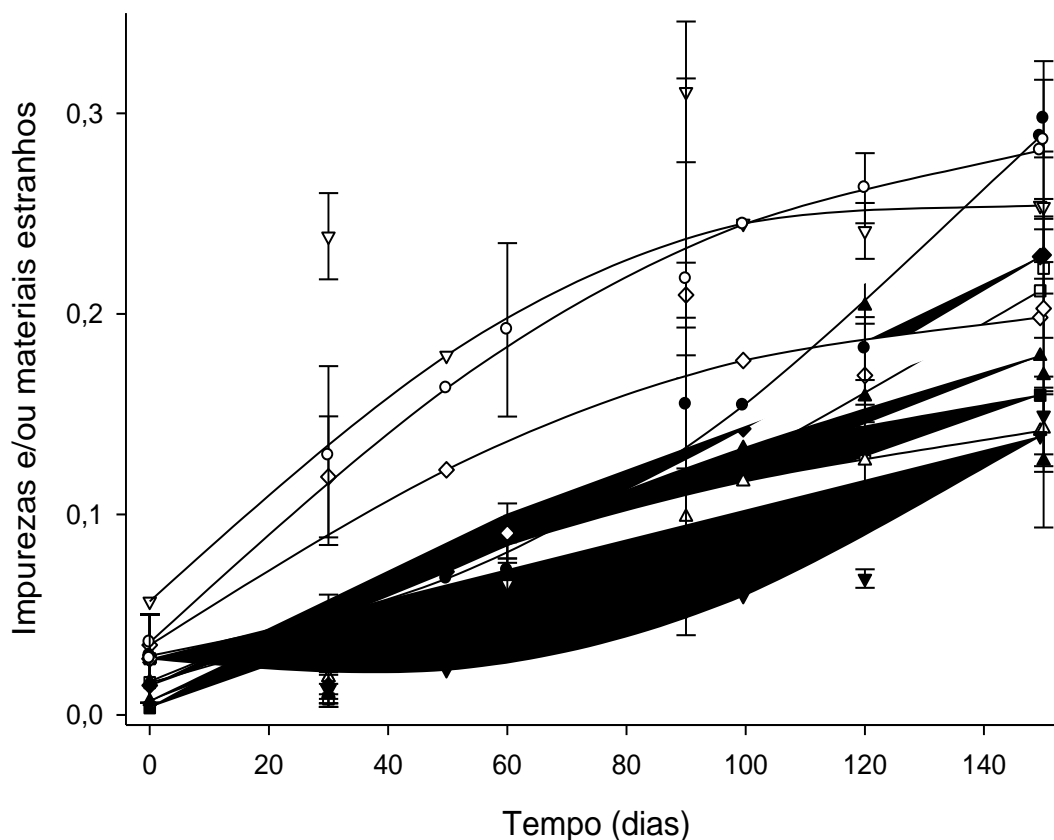
Ao final do experimento, os grãos de milho que se mantiveram dentro da classificação de tipos, foram os tratados com produto de nim 2 L e 4 L, os quais tiveram menor percentual de carunchados quando comparado aos demais tratamentos. Aos 120 e 150 dias de armazenamento, os grãos tratados com produto comercial à base de nim 2 L apresentaram uma média de carunchados de 1,31 e 2,63% (tipo 1 e 2) e com nim 4 L, uma média de 1,77 e 3,19% (tipo 1 e 3).

Enquanto isso, aos 90 dias, todos os quatro tratamentos com folhas (cinamomo e eucalipto 15 e 30 kg) já estavam fora do tipo, mostrando baixa eficiência no controle dos insetos, após os 60 dias. Aos 120 e 150 dias, todos os tratamentos, incluindo a testemunha, mas excetuando-se os dois tratamentos com nim, estavam, respectivamente nesses períodos, fora do tipo e desclassificados, com percentuais de carunchados acima de 4% e 8% (BRASIL, 2013).

Dessa forma, os grãos que ainda poderiam ser comercializados e aceitos no mercado ao final de 150 dias de armazenamento, de acordo com os limites máximos permitidos pela normativa do Ministério da Agricultura, foram aqueles tratados com produto à base de nim (BRASIL, 2013). Estes resultados mostram que o produto comercial a base de nim testado, nas condições de laboratório, em comparação aos demais compostos bioativos utilizados, apresentou-se eficiente na mortalidade de *S. zeamais* em grãos de milho, resultando em menor percentual de grãos carunchados.

#### **4.4.3 Impurezas e matérias estranhas**

Os resultados obtidos para impurezas e matérias estranhas mostraram variação significativa ao longo do tempo e entre os tratamentos. A Figura 11 mostra que ocorreu tendência de aumento de impurezas e matérias estranhas ao longo do tempo de armazenamento.



- ▲ Testemunha,  $Y = 0,0036 + 0,0018X - 4,74E-6X^2$ , sendo  $r^2 = 0,58$  e  $P = 0,0017$
- Melaleuca 0,5 L,  $Y = 0,0160 + 0,0007X + 3,89E-6X^2$ , sendo  $r^2 = 0,74$  e  $P < 0,0001$
- ▲ Melaleuca 1 L,  $Y = 0,0068 + 0,0015X - 2,30E-6X^2$ , sendo  $r^2 = 0,68$  e  $P = 0,0002$
- △ Melaleuca 2 L,  $Y = 0,0166 + 0,0013X - 3,31E-6X^2$ , sendo  $r^2 = 0,64$  e  $P = 0,0005$
- ▼ Nim 2 L,  $Y = 0,0281 - 0,0005X + 8,60E-6X^2$ , sendo  $r^2 = 0,78$  e  $P < 0,0001$
- ▽ Nim 4 L,  $Y = 0,0566 + 0,0030X - 1,15E-5X^2$ , sendo  $r^2 = 0,44$  e  $P = 0,0141$
- ◆ Cinamomo 15 kg,  $Y = 0,0147 + 0,0010X + 2,94E-6X^2$ , sendo  $r^2 = 0,79$  e  $P < 0,0001$
- ◇ Cinamomo 30 kg,  $Y = 0,0348 + 0,0021X - 6,64E-6X^2$ , sendo  $r^2 = 0,61$  e  $P = 0,0010$
- Eucalipto 15 kg,  $Y = 0,0295 + 0,0003X + 9,66E-6X^2$ , sendo  $r^2 = 0,87$  e  $P < 0,0001$
- Eucalipto 30 kg,  $Y = 0,0361 + 0,0030X - 9,05E-6X^2$ , sendo  $r^2 = 0,58$  e  $P = 0,0016$

FIGURA 11. Impurezas e matérias estranhas (%) em grãos de milho armazenados durante 150 dias, infestados com *Sitophilus zeamais*, sob diferentes tratamentos.

De acordo com a instrução normativa nº 60 (BRASIL, 2013), todos os tratamentos com relação ao percentual de impurezas e matérias estranhas foram classificados como tipo 1. Os resultados obtidos estiveram sempre abaixo de 0,3%. Normalmente, as impurezas e matérias estranhas têm elevados teores de água, fornecendo aos grãos a umidade necessária para o desenvolvimento dos fungos, o que aumenta a sua degradação (LAZZARI, 1997).



O aumento das impurezas e matérias estranhas ao final do tempo de 150 dias de armazenamento pode estar relacionado ao maior número de *S. zeamais* presentes na massa de grãos nesse período. Conforme Antunes *et al.* (2011), quanto maior o número de insetos, maior também será o resíduo, que é o pó gerado pelo carunchamento dos grãos de milho pelos gorgulhos.

O aumento das impurezas e matérias estranhas ao longo do tempo também está de acordo como os resultados obtidos por Alencar *et al.* (2011). Segundo os resultados obtidos por esses autores, o teor de impurezas e de matérias estranhas em grãos de milho, apresentou variação significativa, em decorrência da interação entre presença, ou não, de insetos e período de armazenamento. Os autores observaram aumento significativo em todos os tratamentos ao longo de 180 dias, sendo que o maior valor foi nos grãos infestados somente por *S. zeamais*.

## 5 CONCLUSÕES

1. Nas condições de laboratório, o produto comercial inseticida a base de óleo de nim foi o composto bioativo testado mais eficiente na mortalidade de adultos e emergência de *Sitophilus zeamais* em grãos de milho, ao longo de 150 dias de armazenamento;

2. Dos tratamentos com folhas semi-secas, apenas aqueles com folhas de eucalipto mostraram algum efeito na mortalidade de *Sitophilus zeamais*;

3. O óleo de melaleuca na dosagem de  $0,5 \text{ L.}^{-1}$  mostrou diminuição na presença de fungos do gênero *Aspergillus* spp., em grãos de milho armazenado;

4. Os grãos de milho tratados com o produto à base de óleo de nim apresentaram a menor perda de massa específica e a menor incidência de grãos carunchados durante o período de armazenamento.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

1. Estudos futuros para avaliar o efeito dos mesmos compostos bioativos testados sobre outros insetos pragas de grãos armazenados devem ser realizados;

2. Os óleos essenciais de *M. azedarach* e *E.citriodora* devem ser testados no controle de *S. zeamais*, em substituição às folhas semi-secas dessas plantas;

3. O efeito dos óleos essenciais dessas plantas (cinamomo, eucalipto, nim e melaleuca) sobre *S. zeamais*, pode ser comparado com o efeito de óleos vegetais brutos de plantas tais como de soja e mamona;

4. O efeito do produto comercial à base de óleo de nim, testado neste trabalho, na mortalidade de *S. zeamais*, deve ser comparado com o efeito do óleo essencial puro dessa mesma planta, sem veículo;

5. O efeito do óleo de nim, bem como seu produto comercial aplicados em grãos armazenados, devem ser avaliados quanto à toxicidade ao ser humano. Testes preliminares em animais são necessários. Dessa forma, produtos à base de óleo de nim poderão vir a ser usados dentro do manejo integrado de pragas em grãos armazenados, como futura alternativa no controle de *S. zeamais*, desde que seja registrado no MAPA para essa finalidade.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOT, W. S. 1925. A method for computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 18, p. 265-267, 1925.
- ABIMILHO. Associação Brasileira dos Produtores de Milho. Disponível em: <<http://www.abimilho.com.br/>>. Acesso em: 06 de maio de 2014.
- ALENCAR, E. R. *et al.* Qualidade dos grãos de soja armazenados em diferentes condições. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 13, n. 5, p. 606-613, 2009.
- ALENCAR, E. R. *et al.* Qualidade de milho armazenado e infestado por *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum*. **Revista Brasileira de Engenharia na Agricultura**, Viçosa, v.19, n.1, p.9-18, 2011.
- ALMEIDA, A. P. *et al.* Mycoflora and aflatoxin/fumonisin production by fungal isolates from freshly harvested corn hybrids. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo. Vol. 31, n. 4, p. 321-326, 2000.
- ALMEIDA, F. de A. C.; DUARTE, M. E. M.; MATA, M. E. R. M. C; **Tecnologia de armazenamento em sementes**, Campina Grande: UFCG, 2006, p. 274 e 375-402.
- ALVES, W. M. *et al.* Influência do inseto-praga *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) (Coleoptera: Curculionidae) na taxa respiratória e na perda de matéria seca durante o armazenamento de milho. **Engenharia na Agricultura**, Viçosa, MG, v.16, n.3, p.260-269, 2008.
- ALVES, H. C. R.; AMARAL, R. F. Produção, Área Colhida e Produtividade do Milho no Nordeste. Escritório Técnico de Estudos Econômicos do Nordeste ETENE, Ambiente de Estudos, Pesquisas e Avaliação AEPA. Ano V, n.16, 2011.
- ANJOS, N.; SANTANA, D. L. Q. Alterações deletérias no comportamento de *Atta laevigata* (F. Smith) e *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera: Formicidae), causadas por folhas de Eucaliptus spp. Sociedade Entomológica do Brasil. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 23, n. 1, 1994, p. 25-30.
- ANTONELLI, L. A. R. *et al.* Utilização de pós vegetais como alternativa de controle de *Sitophilus zeamais* em milho armazenado. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 19., 2011, São Paulo. Disponível em: <<https://uspdigital.usp.br/siicusp/cdOnlineTrabalhoVisualizarResumo?numeroInscricaoTrabalho=3350&numeroEdicao=19>> Acesso em: 2 ago 2012.

ANTUNES, L. E. G. Características físico-químicas de grãos de milho atacados por *Sitophilus zeamais* durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental (Online)**, Campina Grande, v. 15, n. 6, p. 615-620, 2011.

AZEVEDO, E. B. Avaliação da bioatividade dos óleos essenciais de *C. nardus* e *E. citriodora* para *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). Seminário de Iniciação Científica. 9 a 12 de novembro, Campus de Palmas, UFT, 2010.

ARAYA-GONZALEZ, J.A. *et al.* Control de plagas de maíz e frijol almacenado mediante polvos minerales y vegetales. **Agrociência**, Concepcion, v. 30, p. 223-231, 1996.

BARBOSA, L. C. A. Os pesticidas, o homem e o meio ambiente. Viçosa: UFV, 2004. 215p.: il. col.; 21 cm.

BARILLI, D. R. *et al.* Efeito de produto a base de azadiractina no controle de *Sitophilus zeamais* Mots. 1855 (Coleoptera: Curculionidae). **Cadernos de Agroecologia**, v. 9, n.1, 2014.

BONALDO, S. M. *et al.* Fungitoxicidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de pepino contra *Colletotrichum lagenarium* pelo extrato aquoso de *Eucalyptus citriodora*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, p. 128-134, 2004.

BOTTON, M. O gorgulho do milho *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) como praga em frutíferas de clima temperado. Bento Gonçalves: EMBRAPA Uva e Vinho, 2005. (Circular técnica, n. 58)

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA/DAS/ACS). **Regras para Análise de Sementes**. Brasília, 2009. 399p.

BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo Agropecuário 2006. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/2006/agropecuario.pdf>>. Acesso em: 18 ago. 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 60, de 22 de dezembro de 2011. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, Seção 1, 23 dez. 2011. Disponível em: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>>. Acesso em: 04 dez. 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. AGROFIT. Disponível em <[http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons)>. Acesso em: 10 abr. 2014.

BREUER, M.; SCHMIDT, G.H. Influence of a short period treatment with *Melia azedarach* extract on food intake and growth of the larva of *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lep., Noctuidae). **Journal of Plant Diseases and Protection**, Stuttgart, v. 102, p. 633-654, 1995.

CANEPPELE, M.A.B. 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**, Curitiba, v.47, n.4, p.625-630, 2003.

Carson, C. F.; Hammer, K. A.; Riley, T. V. *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) oil: a Review of antimicrobial and on the medicinal properties. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v.19, n.1, p. 50-62, jan. 2006.

CHAO, S. C.; YOUNG, D. G. Screening for inhibitory activity of essential oils ou selected bacteria, fungi and viruses. **Journal Essentials Oil Research**, Carol Stream, v. 12, p. 630-649, 2000.

CHULZE, S. N. Strategies to reduce mycotoxin levels in maize during storage: a review. **Food Additives and Contaminants**, London, v. 27, n. 5, p. 651-657, 2010.

COATS, J. R.; KARR, L.L; DREWERS, C. D. Toxicity and neurotoxic effects of monoterpenoids. In: HEDIN, P.A (Ed.). **Naturally occurring pest bioregulators**. Washington: American Chemical Society, 1991. p. 305-316. (ACS Symposium Series 449)

COATS, J. R. Risks from natural versus synthetic insecticides. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 39, p. 489-515, 1994.

COITINHO, R. L. B. C. *et al.* Atividade inseticida de óleos vegetais sobre *Sitophilus zeamais* Mots (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) em milho armazenado. **Caatinga**, Mossoró, v. 19, n. 2, p. 176-182, 2006a.

COITINHO, R. L. B. C. *et al.* Efeito residual de inseticidas naturais no controle de *Sitophilus zeamais* Mots. em milho armazenado. **Caatinga**, Mossoró, v. 19, n. 2, p. 183-191, 2006b.

COITINHO, R. L. B. C. *et al.* Persistência de óleos essenciais em milho armazenado, submetido à infestação de gorgulho do milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 7, p. 1492-1496, 2010.

COITINHO, R. L. B. C. *et al.* Toxicidade por fumigação, contato e ingestão de óleos essenciais para *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1885 (Coleoptera: Curculionidae). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, p. 172-178, 2011.

CONAB. Décimo Segundo Levantamento. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos**, Brasília, v. 1 - Safra 2013/14, n. 12, p. 1-127, set. 2014. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/14\\_09\\_10\\_14\\_35\\_09\\_boletim\\_graos\\_setembro\\_2014.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/14_09_10_14_35_09_boletim_graos_setembro_2014.pdf)>. Acesso em: 28 set. 2014.

CREMLYN, R.J. **Pesticides: preparation and mode of action**. Chichester: John Wiley & Sons, 1979. 240 p.

DILKIN, P.*et al.* Classificação macroscópica, identificação da microbiota fúngica e produção de aflatoxinas em híbridos de milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, Vol. 30, n. 1, p. 137-141, 2000.

DIONELLO, R. G. **Método de Secagem e sistema de armazenamento na qualidade dos grãos e na ocorrência de micotoxinas em milho**. 2000. 42 f. Dissertação

(Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) - Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2000.

DI SALVO, A.S. Antifungal properties of a plant extrat. I. Source and expectrum of antimicrobial activity. **Mycopathologia et mycologia applicata**, Den Haag, v. 54, n. 2, p. 215-219, 1974.

ELIAS, M. C. *et al.* **Secagem e armazenamento de grãos: sistemas, métodos e processos**. Pelotas: UFPEL - FAEM – DCTA, 1997. 52p.

ELIAS, M. C. **Armazenamento e conservação de grãos, em médias e pequenas escalas**. 3. ed. Pelotas: Ed. UFPEL, 2002. 218p.

ELIAS, M. C. **Manejo tecnológico da secagem e do armazenamento de grãos**. Pelotas: Ed. Santa Cruz, 2008. 457p.

EVANS, D. E. The biology of stored products Coleoptera. In: AUSTRALIAN DEVELOPMENT ASSISTANCE COURSE ON THE PRESERVATION OF STORED CEREALS, 1., 1981, Canberra. **Proceedings...** Canberra: CSIRO, 1981. p. 149-185.

FILHO, E. F. **Métodos e temperaturas de secagem sobre a qualidade físico-química e microbiológica de grãos de milho no armazenamento**. 2011. 95 f. Dissertação (Mestrado - Horticultura) - Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2011.

FRANZ, G. M.; CRESPO, N. C. Efeito do nim (*Azadirachta indica* Juss.) no controle do caruncho de ração de frango. CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 22-24 abril 2013. Cáceres/MT. **Anais**. Cáceres/MT, 2013. v. 8.

GARCIA, M.J.D.M.; FERREIRA, W.A.; BIAGGIONI, M.A.M.; Almeida, A.M. **Desenvolvimento de insetos em milho armazenado em sistema vedado**. Arq. Inst.Biol. v.72. p. 1-16. 2000.

GOLOB, P. *et al.* **The use of spices and medicinals as bioactive protectants for grains**. Rome: FAO, 1999. (FAO Agricultural Services Bulletin, n.137)

GUERRA, M.S. **Receituário caseiro: alternativas para o controle de pragas e doenças de plantas cultivadas e de seus produtos**. Brasília: EMBRATER, 1985. 166p.

HALL, J.S.; HARMAN, G.E. Effi cacy of oil treatments of legume seeds for control of *Aspergillus* and *Zabrotes*. **Crop Protection**, Guildford, v.10, p.315-319, 1991.

HAQUE, M. A. *et al.* Developmentinhibiting activity of some tropical plants against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 36, p. 281 - 287, 2000.

HERNANDEZ, A. A. M. *et al.* Use of plant and mineral powders as an alternative for the control of fungi in stored maize grain. **Agrociencia**, Texcoco, v. 32, n.1, p.75-79, 1998.

HIREMATH, I.G.; AHN, Y.J.; KIM, S.I. Insecticidal activity of Indian plant extracts against *Nilaparvata lugens* (Homoptera; DelpHacidae). **Applied Entomology and Zoology**, v. 32, n.1, p. 159-166, 1997.

HO, S. H. *et al.* The oil of garlic, *Allium sativum* L. (Amaryllidaceae), as a potential grain protectant against *Tribolium castaneum* (Herbst) and *Sitophilus zeamais* Motsch. **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v.9, p.41–48, 1996.

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

ISMAN, M.B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v.51, p. 45-66, 2006.

JOHNSON, S.; DUREZA, P.; DHINGRA, S. Photostabilizers for azadirachtin-A: a neem-based pesticide. **Journal of Environmental Sciences Health**, Tablas, v.38, n.4, p.451-462. 2003.

JOTWANI, M. G.; SICAR, P. Neem seed as a protectant against bruchid *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) infesting some leguminous seeds. **Indian Journal of Entomology**, New Delhi, v. 29, 1967, p. 21-24.

KAWAMOTO, H.; SINHA, R. N.; MUIR, W. E. Computer simulation modeling for stored-grain pest management. **Journal of Stored Product Research**, Amsterdam, v. 28, n. 2, p. 139-145, 1992.

KNAAK, N.; FIUZA, L. M. Potencial dos óleos essenciais de plantas no controle de insetos e microrganismos. **Neotropical Biology and Conservation**, São Leopoldo, v.5, p.120-132, 2010.

KOUL, O.; ISMAN, M. B.; KETKAR, C. M. Properties and uses of neem, *Azadirachta indica*. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 68, n.1, p. 1-11, 1990.

KOSSOU, D. K. Evaluation of different products of neem *Azadirachta indica* A. Juss for the control of *Sitophilus zeamais* Mots. on stored maize. **Insect Science and its application**, Elmsford, v. 10, n. 3, p. 365-372, 1989.

LAMA, D. S. D. A naturalidade da desinfecção origem, processo produtivo e eficácia da *Baccharis dracunculifolia* D. C. **Revista Científica ANAP Brasil**, v. 6, n. 8, p. 29-40, dez. 2013.

LAZZARI, F. A. Umidade, fungos e micotoxinas na qualidade de sementes, grãos e rações. 2ª ed. Curitiba: Edição do autor, 1997.

LEÃO, J. D. J. **Bioatividade de extratos vegetais no controle de *Sitophilus oryzae* (Linné, 1763) em arroz**. 2007. 91f. Tese (Doutorado - Produção Vegetal) - Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2007.

LEPAGE, H. S.; GIANNOTTI, O.; ORLANDO, A. Proteção das culturas contra gafanhotos por meio de extratos de *Melia azedarach*. **O Biológico**, São Paulo, v. 12, p. 265-271, 1946.

LOECK, A. E. **Pragas de produtos armazenados**. Pelotas: EGUFPEL, 2002. 113 p.



LORINI, I. ; LINCOLN, H. M.; SCUSSEL, V. M. **Armazenagem de grãos**. Campinas: Instituto Biogeneziz, 2002. v. 1, 1000 p.

LORINI, I. **Manejo integrado de pragas de grãos de cereais armazenados**. Passo Fundo, RS: EMBRAPA TRIGO, 2008. v. 2, 72 p.

MANUAL de entomologia agrícola. Piracicaba, SP: FEALQ, 2002. 920 p.

MARCOMINI, A. M. *et al.* Atividade inseticida de extratos vegetais e do óleo de nim sobre adultos de *Alphitobius diaperinus* Panzer (Coleoptera: Tenebrionidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 76, n. 3, p. 409-416, 2009.

MAKANJUOLA, W. A. Evaluation of extracts of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) for the control of some stored product pests. **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 25, n. 4, pp. 231-237, 1989.

MAREDA, K. M.; SEGURA, O. L.; MIHM, J. A. Effects of neem, *Azadirachta indica*, on six species of maize insect pests. **Tropical Pest Management**, Basingstoke, v. 38, p. 190-195, 1992.

MARIANO, D. C. *et al.* Uso de óleo de *Melaleuca alternifolia* no tratamento de sementes de girassol. **Revista Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v. 10, n.18; p. 2691. jul. de 2014.

MARIN, S. *et al.* Environmental-factors, in-vitro interactions, and niche overlap between *Fusarium moniliforme*, *F. proliferatum*, and *F. graminearum*, *Aspergillus* and *Penicillium* species from maize grain. **Mycological Research**, Cambridge, v. 102, n. 7, p. 831-837, 1998.

MARIN, S. *et al.* Fumonisin producing strains of *Fusarium*: a review of their ecophysiology. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 61, p. 1792-1805, 2004.

MARQUES, R. P.; MONTEIRO, A. C.; PEREIRA, G. T. Crescimento, esporulação e viabilidade de fungos entomopatogenicos em meios contendo diferentes concentrações do óleo de Nim (*Azadirachta indica*). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 6, p. 1675-1680, nov./ dez. 2004. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-8478200400060000>. Acesso em: 05 mai. 2014.

MARTINS, J.A.S.; SAGATA, E.; SANTOS, V.A.; JULIATTI, F.C. Avaliação do efeito do óleo de *Melaleuca alternifolia* sobre o crescimento micelial in vitro de fungos fitopatogênicos. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 27, n. 1, p. 49-51, 2010.

MIGLIORINI, P.; LUTINSKI J. A.; GARCIA F. R. M. Eficiência de extratos vegetais no controle de *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) (Coleoptera: Chrysomelidae), em laboratório. **Revista Biotemas**, v. 23, n. 1, p. 83-89, 2010.

MILLS, J. T. Ecology of mycotoxigenic *Fusarium* Species on cereal seeds. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 52, n. 10, p. 737-742, 1989.

MORAIS, M. S. *et al.* Eficiência dos extratos de alho e agave no controle de *Fusarium oxysporum* S. **Revista Brasileira de Agroecologia**. v. 5, n. 2, p. 89-98, 2010.

MOREIRA, D.M. *et al.* Plant compounds insecticide activity against coleoptera pests of stored products. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.42, n.7, p. 909-915, 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/pab/v42n7/01.pdf>> Acesso em: 28 de julho de 2012.

MUTHUKRISHNAN, J.; PUSHPALATHA, E. Effects of plant extracts on fecundity and fertility of mosquitoes. **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 125, n.1-2, p.31-35, 2001.

NAKANO, O.; CORTEZ, J. Ensaio de controle às pragas do milho armazenado, com óleo de eucalipto (*Eucalyptus citriodora* Hooker) e sua eficiência comparada ao malathion. **Revista da Agricultura**, Piracicaba, v. 42, n. 3, p. 95-98, 1967.

OLIVEIRA, J. V.; VENDRAMIM, J. D. Repelência de óleos essenciais e pós vegetais sobre adultos de *Zabrotes subfasciatus* (Boh.) (Coleoptera: Bruchidae) em sementes de feijoeiro. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 28, set. 1999.

O NIM - *Azadirachta indica* - natureza, usos múltiplos, produção. 2ª ed. Londrina: IAPAR, 2011. 205 p.

OWOLADE, O. F.; AMUSA, A. N.; OSIKANLU, Y. O. Q. Efficacy of certain indigenous plant extracts against seed-borne infection of *Fusarium moniliforme* on maize (*Zea mays* L.) in south western Nigeria. **Cereal Research Communications**, Szeged, v. 28, p. 323-27, 2000.

PEREIRA, A. C. R. L. *et al.* Atividade inseticida de óleos essenciais e fixos sobre *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) (Coleoptera: Bruchidae) em grãos de caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). **Revista Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 3, p. 717-724, maio/jun, 2008.

PIMENTEL, M. A. G. *et al.* Phosphine resistance, in Brazilian population of *Sitophilus zeamais* Motschusky (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Stored Product Insect**, Oxford, v. 45, n. 9, p. 71-74, 2009.

PINTO JUNIOR; A. R. Eficiência de terra de diatomáceas no controle de *Sitophilus oryzae* (L.), *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens), *Tribolium castaneum* (Herbst) em milho armazenado a granel. **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia**, Uruguaiana, v.15, n.1, p. 61-70, 2008.

PLIIMOOR, J.; WRIGHT, K.; TERRY, A.S. Natural products as a source of agrochemicals and leads for chemical synthesis. **Pesticide Science**, Oxford, v. 39, p.131-140, 1993.

PRASHAR, A. *et al.* Antimicrobial action of palmarosa oil (*Cymbopogon martinii*) on *Saccharomyces cerevisiae*. **Phytochemistry**, New York, v. 63, p. 569-575, 2003.

PRATES, H. T. *et al.* The potential use of monoterpenes to control stored grain pests. **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 34, n. 4, p. 243-249, 1998.

PRATES, H. T.; J. P. SANTOS. P. Óleos essenciais no controle de pragas de grãos armazenados In: ARMAZENAGEM de Grãos. Campinas: IBG, 2000. p. 443-461.

- PROCÓPIO, S. O. *et al.* Bioatividade de diversos pós de origem vegetal em relação à *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, p.1231–1236, nov-dez. 2003a.
- PROCÓPIO, S. O. *et al.* Efeito de pós vegetais sobre *Acanthoscelides obtectus* (Say) e *Zabrotes subfasciatus* (Boh.) (Coleoptera: Bruchidae). **Revista Ceres**, Viçosa, v. 50, p. 395-405, 2003b.
- RAJEDRAN, S.; SRIRANJINI,V. 2008. Plants products as fumigants for stored-product insect control. **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 44, p. 126–135, 2008.
- REGNAULT & ROGER, C. The potential of botanical essential oils for insect pest control. **Integrated Pest Management Reviews**, [Dordrecht], v. 2, n.1, p. 25-34, 1997.
- 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**, São Paulo, v. 53, n.2, p. 304–307, jun. 2009.
- RIBEIRO, L. P. *et al.* Avaliação da eficácia de pós inertes minerais no controle de *Sitophilus zeamais* mots. (Coleoptera: Curculionidade). **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia**, Uruguaiana, v. 15, p. 19-27, 2008.
- ROEDER, T. “Octopamine in invertebrates”. **Progress in Neurobiology**, Oxford, v. 59, n. 5, p. 533-561, 1999.
- ROEL, A. R. Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o Desenvolvimento Rural Sustentável. **Interações : Revista Internacional de Desenvolvimento Local**, Campo Grande, v.1, n.2, p.43-50, 2001.
- ROMERO, A. L. *et al.* Atividade do óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris* L.) contra fungos fitopatogênicos. **UNOPAR Científica: Ciência Biologia Saúde**, Londrina, v. 11, n. 4, p. 15-18, 2009.
- SADEK, M. M. Antifeedant and toxic activity of *Adhatoda vasica* leaf extract against *Spodoptera littoralis* (Lep., Noctuidae). **Journal of Applied Entomology**, Berlin, v. 127, p. 396-404, 2003.
- SAITO, M.L.; FERRAZ, J.M.G.; NASCIMENTO, R.S. Avaliação de plantas com atividade deterrente alimentar em *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith) e *Anticarsia gemmatalis* Hubner. **Pesticidas: Revista Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 14, p.1-10, 2004.
- SALAS, J.; HERNANDEZ, G. Protection de semillas de quinchoncho (*Cajanus cajan*) contra el ataque de *Acanthoscelides obtectus* y *Callosobruchus maculatus* através del uso de aceites vegetales. **Agronomia Tropical**, Maracay, v. 35, n.4/6, 1985, p. 19-27.
- SALGADO, A. P. S. P. *et al.* Avaliação da atividade fungitóxica de óleos essenciais de folhas de *Eucalyptus* sobre *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* e *Bipolaris sorokiniana*. **Ciência e Agrotecnologia**, [online], Lavras, v. 27, n. 2, p. 249-254,

mar./abr. 2003. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542003000200001>>. Acesso em: 03 mar. 2014.

SANTOS, J.P. **Controle de pragas durante o armazenamento de milho**. Sete Lagoas: EMBRAPA, 2006. 20 p. (Circular Técnica, 84).

SHELEF, L. A. Antimicrobial effects of spices. **Journal of Food Safety**, Westport, n. 6, p. 29-44, 1983.

SHOWLER, A.T.; GREENBERG, S.M.; ARNASON, J.T. Deterrent effects of four neem-based formulations on gravid female boll weevil (Coleoptera: Curculionidae) feeding and oviposition on cotton squares. **Journal of Economic Entomology**, v.97, n.2, p.414-421, 2004.

SILVA, P. H. *et al.* Controle alternativo de *S. zeamais* MOTS., 1855 (Col.: Curculionidade) em grãos de milho. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Porto Alegre, v. 2, p. 902-905, 2007.

SILVA, A. C. da. **Efeitos inseticida, deterente e supressor alimentar de alguns extratos vegetais sobre *Ceratitis capitata* (Wiedmann, 1824) (Diptera: Tephritidae) e *Ascia monuste orseis* (Latreille, 1819) (Lepidoptera: Pieridae), em laboratório**. 1990, 129 p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras, 1990.

SILVA, J. S; OLIVEIRA, R. C. de; DINIZ, S. P. S. de S. Óleo essencial de *Mentha arvensis* L. como agente no controle de fungos fitopatogênicos (Bioactivity of essential oils of *Mentha arvensis* L. in the control of phytopathogenic fungi). **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**, Recife, v.17, n.1, p.1-2, jan-jun. 2012.

SOUZA, M. A. A., *et al.* Efeito de extratos aquosos, metanólicos e etanólicos de plantas medicinais sobre a germinação de sementes de alface e sobre o desenvolvimento micelial de fungos fitopatogênicos de interesse agrícola. **Revista Universidade Rural: Série Ciências da Vida**, Rio de Janeiro, v. 22, p. 181-185, 2002.

SOUZA, M. C. C.; TROVÃO, D. M. B. M. Bioatividade do extrato seco de plantas da caatinga e do nim (*Azadiractha indica*) sobre *Sitophilus zeamais* Mots em milho armazenado. **Revista Verde**, Mossoró, v.4, n.1, p.120 - 124, jan./mar. 2009.

STANGARLIN, J.R. *et al.* Plantas Medicinais e controle alternativo de fitopatogênicos. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, v.11, p.16-21, 1999.

TANAKA, M.A.S.; MAEDA, J.A.; PLAZAS, I.H.A.Z. Microflora fúngica de sementes de milho em ambientes de armazenamento. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.58, p.501-508, 2001.

TATSADJIEU, N.L.; YAOUBA, A.; NUKENINE, E.N.; NGASSOUM, M.B.; MBOFUNG, C.M.F. Comparative study of the simultaneous action of three essential oils on *Aspergillus flavus* and *Sitophilus zeamais* Motsch. **Food Control**. v. 21, p. 186-190, 2010.

UVAH, I.I.; ISHAYA, A.T. Effect of some vegetable oils on emergence, oviposition and longevity of the bean weevil, *Callosobruchus maculatus* (F.). **Tropical Pest Management**, Basingstok, v.38, p.257-260, 1992.

VALIATI, M. I. *et al.* Aplicação de repelentes alternativos em insetos presentes nas sementes do milho armazenado em espigas. **Varia Scientia**, Cascavel, v. 7, n. 13, p. 63-76, jan./jul. 2007.

VAYIAS, B. J.; ATHANASSIOU, C. G.; BUCHELOS, C. T. Evaluation of resistance development by *Tribolium confusum* Du Val (Coleoptera: Tenebrionidae) to diatomaceous earth under laboratory selection. **Journal of Stored Products Research**, Amsterdam, v. 44, p. 162-168, 2008.

VENDRAMIN, J. D. Uso de plantas inseticidas no controle de pragas: In: II CICLO de palestras sobre agricultura orgânica. Campinas: Fundação Cargill, 1997. p. 64-69

WHEELER, D.A.; ISMAN, M.B. Antifeedant and toxic activity of *Trichilia Americana* extract against the larva of *Spodoptera litura*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v.98, p.9-16, 2001.

ZHAO, B. *et al.* Deterring and inhibiting effects of quinolizidine alkaloids on spruce budworm (Lepidoptera: Tortricidae) oviposition. **Environmental of Entomology**, Lanham, v.27, p.984-992, 1998.