

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**BIOATIVIDADE DE EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE DE
Sitophilus oryzae (LINNÉ, 1763) EM ARROZ**

TESE DE DOUTORADO

JOSÉ DOMINGOS JACQUES LEÃO

Santa Maria, RS, Brasil

2007

**BIOATIVIDADE DE EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE DE
Sitophilus oryzae (LINNÉ, 1763) EM ARROZ**

por

José Domingos Jacques Leão

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de

Doutor em Agronomia

Orientador: Prof. Dr. Ervandil Corrêa Costa

Santa Maria, RS, Brasil

2007

**CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Tese de Doutorado

**BIOATIVIDADE DE EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE DE
Sitophilus oryzae (LINNÉ, 1763) EM ARROZ**

elaborada por

JOSÉ DOMINGOS JACQUES LEÃO

como requisito parcial para obtenção do grau de
Doutor em Agronomia

COMISSÃO EXAMINADORA:

Ervandil Corrêa Costa, Dr. - UFSM
(Presidente/Orientador)

Solange São Paulo de Souza, Dr^a. - UFRRJ

Luiz Alberto da Silveira Mairesse, Dr. - UERGS

Ivan Francisco Dressler da Costa, Dr. - UFSM

Sidinei José Lopes, Dr. - UFSM

Santa Maria, 19 de setembro de 2007

DEDICATÓRIA

*À minha mãe, Desidéria,
exemplo de determinação, coragem e bondade;*

*À minha irmã, Aparecida, pessoa fundamental em
minha formação, e que me ensinou a magia das letras e
das palavras;*

*Às minhas queridas filhas: Thaliú e Luma,
Aos meus queridos filhos: Lucas e Samuel,
tesouros amados que recebi de Deus;*

*E à Eliza, minha rainha,
fonte de estímulo e encanto;*

*À vocês, a quem tanto amo,
dedico este trabalho.*

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela vida;

A minha família, pelo carinho e pelo amor;

Ao orientador, Prof. Dr. Ervandil Corrêa Costa, meu profundo reconhecimento e gratidão pelos valiosos ensinamentos e pela convivência;

A Prof^a. M. Sc. Eliza Beti de Cássia Stefanon, pelo estímulo e carinho;

Ao Prof. Dr. Ivan Dressler da Costa, mais que um amigo, um irmão;

Ao Jorge França, pelo apoio e amizade;

À Angelita Martins, pela colaboração inestimável;

Aos amigos da Clínica Fitossanitária: Fernando Saccol, Giuvan Lenz, e Tânia Bayer, pela ajuda e convivência;

Ao Prof. Dr. Cláudio Lovato, meu orientador no mestrado, e amigo;

À Eng. Agr. Betania Brum, pela valiosa colaboração;

Ao Sr. Luiz Marchiotti Fernandes, bibliotecário, pelo auxílio prestado;

Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia e a Universidade Federal de Santa Maria, pela oportunidade que recebi;

E ao Brasil, que apesar de tudo, é e será sempre uma grande nação.

EPÍGRAFE

“Mais vale o fim de uma coisa do que o seu começo, e a paciência é melhor que a pretensão”.

Eclesiastes 7,8

RESUMO

TESE DE DOUTORADO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA

BIOATIVIDADE DE EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE DE *Sitophilus oryzae* (LINNÉ, 1763) EM ARROZ

AUTOR: JOSÉ DOMINGOS JACQUES LEÃO

ORIENTADOR: ERVANDIL CORRÊA COSTA

LOCAL E DATA DA DEFESA: SANTA MARIA, 19 DE SETEMBRO DE 2007.

O crescimento contínuo da população mundial, a intensa competição entre humanos e pragas pelo mesmo tipo de alimentos, a resistência a inseticidas existentes por determinados insetos, e a persistência de resíduos de agrotóxicos no ambiente e nos alimentos, criam a necessidade de uma incessante busca de novos inseticidas. Nesse campo de pesquisa, as espécies vegetais surgem como fontes promissoras de metabólitos secundários com atividade inseticida. No caso do arroz armazenado, a principal praga no Estado do Rio Grande do Sul, é o gorgulho *Sitophilus oryzae* (LINNÉ, 1763). O presente trabalho baseou-se na realização de quatro experimentos. O primeiro experimento objetivou prospectar plantas com potencial inseticida para esse inseto, testou-se na Universidade Federal de Santa Maria (Santa Maria, RS) diversos extratos vegetais. Foram avaliadas, em laboratório, a mortalidade, a repelência e a emergência de adultos de *Sitophilus oryzae* em grãos de arroz (*Oryza sativa* L.) com casca, tratados com pós de *Piper nigrum* L., *Chenopodium ambrosioides* L., *Nicotiana glauca* Graham, *Nicotiana tabacum* L., *Corymbia citriodora* Hook, *Trichillia catigua* A. Juss., *Melia azedarach* L., *Mentha pulegium* L., *Calopogonium caeruleum* Hemsl., *Ricinus communis* L., e *Ruta graveolens* L. Os inseticidas padrões usados foram: Pirimifós-metil, Deltametrina, e Terra de Diatomáceas. O pó que provocou maior mortalidade foi *C. ambrosioides*. Para repelência, o pó com maior atividade foi *Corymbia citriodora*. Para *C. ambrosioides* e *C. caeruleum*, determinou-se a DL₅₀ sendo de 0,199 g e 0,254 g/20 g de arroz, respectivamente. O segundo experimento buscou determinar os danos causados por *Sitophilus oryzae* em arroz com casca, usando quatro populações de insetos adultos em amostras de arroz; e o crescimento populacional do gorgulho

usando amostras de arroz com quatro teores de umidade. Em relação aos danos causados, observou-se que o nível de dano aumentou de maneira linear com o aumento populacional, embora o consumo *per capita* tenha sido maior para a menor população. No estudo do crescimento populacional, constatou-se aumento da população de insetos com o aumento do teor de umidade dos grãos até 14,9% (B.U.), e a partir daí um decréscimo no crescimento populacional. O terceiro experimento tratou da realização do teste de citotoxicidade, para os extratos aquosos de *Chenopodium ambrosioides* e *Calopogonium caeruleum*, frente à *Artemia salina* Leach. A CL₅₀ dos extratos de *Chenopodium ambrosioides* e *Calopogonium caeruleum* foi determinada, sendo de 1,76 mg/ml e 4,78 mg/ml, respectivamente. E o quarto experimento tratou da investigação da toxicidade aguda oral do extrato aquoso, e análises dos parâmetros bioquímicos e histopatológicos em ratos, de *Chenopodium ambrosioides* e *Calopogonium caeruleum*. Para *C. ambrosioides*, somente o grupo dos machos não apresentou diferença estatística para creatinina, enquanto que, para todos os outros parâmetros, houve diferenças entre os grupos tratados e o controle. O *C. caeruleum* apresentou diferenças estatísticas para creatinina, TGO e TGP, em ambos os sexos, com exceção da uréia no grupo das fêmeas. Nos resultados dos estudos histopatológicos, o extrato de *C. ambrosioides* provocou, nas duas concentrações, discreta tumefação celular hepática para os ratos machos; enquanto o *C. caeruleum* apresentou resultado semelhante para os ratos machos a 9 %, e verificou-se discreta esclerose glomerular e discreta tumefação celular hepática no grupo das fêmeas.

ABSTRACT

DOCTORAL THESIS
AGRONOMY POST-GRADUATION PROGRAM
FEDERAL UNIVERSITY OF SANTA MARIA - BRAZIL

BIOACTIVITY OF VEGETABLE EXTRACTS ON THE CONTROL OF *Sitophilus oryzae* (LINNÉ, 1763) IN RICE

AUTHOR: JOSÉ DOMINGOS JACQUES LEÃO

ADVISER: ERVANDIL CORRÊA COSTA

DATE AND PLACE OF EXAMINATION: SANTA MARIA, SEPTEMBER, 19TH, 2007.

The continuous growth of the world population, intensive competition among humans and plant pests for the same food sources, the resistance to existing insecticides by some insects and the persistence of residues in the environment and food created the necessity for new insecticides. In this research field, vegetable species appear as a promising source of new metabolites with insecticide activity. In the case of stored rice, the most important insect pest in the State of Rio Grande do Sul is the weevil *Sitophilus oryzae* (Linné, 1763). In order to explore plants with potential insecticide activity against this insect, several plant extracts were tested in the Federal University of Santa Maria (Santa Maria, RS). In a laboratory were evaluated the mortality rate, repellence and adult emergence of *Sitophilus oryzae* in hulled rice (*Oryza sativa* L.) treated with powder of *Piper nigrum* L., *Chenopodium ambrosoides* L., *Nicotiana glauca* Graham, *Nicotiana tabacum* L., *Corymbia citriodora* Hook., *Trichillia catigua* A. Juss., *Melia azedarach* L., *Mentha pulegium* L., *Calopogonium caeruleum* Hemsl., *Ricinus communis* L., and *Ruta graveolens* L. As standard were used Pyrimifos-methyl, Deltametrin and Diatomaceous Earth. The powder that caused the highest mortality rates was from *C. ambrosoides*. The insecticides used as standard were more effective than the vegetable powders. As repellent, powder of *Corymbia citriodora* was the most effective and as adult emergence inhibitor, none presented a significant effect. As for the species that presented the highest insecticide activity, *C. ambrosoides* and *C. caeruleum*, the LD₅₀ was 0.1999g/20g of rice and 0.254g/20g of rice respectively. This work also aimed to determine the damages caused by *Sitophilus oryzae* in rice using four insect populations in hulled rice samples and the populational growth at four grain moisture levels. It was observed that damage levels increased linearly with insect

population although consumption *per capita* was higher at lower populations. There was an increase in insect population as grain moisture increased up to 14,9% (U.B.) and thereafter decreased. Other experiment aimed to test the insecticide activity of aqueous extracts of *Chenopodium ambrosoides* and *Calopogonium caeruleum* compared to *Artemia salina* Leach. This microcrustacean is used as a toxicity bioindicator of chemical substances, agrochemicals, pollutants and other products. The LC₅₀ of *Chenopodium ambrosoides* and *Calopogonium caeruleum* was found to be 1.76 mg/ml and 4.78 mg/ml respectively. In order to investigate the acute oral toxicity of the aqueous extracts and analyse the biochemical and histological parameters in rats the plants were studied: *Chenopodium ambrosoides* and the *Calopogonium caeruleum*. For *C. ambrosoides*, the group of the males did not only present difference statistics for creatinina, whereas, for all the other parameters had differences between the treat groups and the control. The *C. caeruleum* presented statistical differences for creatinina, TGO and TGP, in both the sexes, with exception of the urea in the group of the females. In the results of the histopathological studies, the extract of *C. ambrosoides* of both concentrations, in the males provoked discrete liver cellular swollen, already with *C. caeruleum* 9%, in the males, verified discrete sclerosis to glomerular and discrete liver cellular swollen in the group of the females.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	17
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	21
2.1 Considerações sobre <i>Sitophilus oryzae</i> (LINNÉ, 1763).....	21
2.1.1 Taxonomia.....	21
2.1.2 Origem e distribuição geográfica.....	21
2.1.3 Descrição, biologia e danos.....	21
2.2 Inseticidas de origem vegetal.....	23
2.2.1 Análogos hormonais de insetos (juvenóides, precocenos, ecdisonas).....	24
2.2.2 Repelentes e atraentes.....	25
2.2.3 Substâncias tóxicas.....	26
2.2.4 Substâncias deterrentes.....	27
2.3 Efeito de substâncias de origem vegetal sobre pragas de grãos armazenados.....	27
2.4 Classes de metabólitos secundários de origem vegetal.....	29
2.4.1 Quassinóides.....	29
2.4.2 Piretróides.....	29
2.4.3 Rotenóides.....	29
2.4.4 Alcalóides.....	30
2.4.5 Terpenóides.....	30
2.4.6 Furanocumarinas e cromenos.....	31
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	31
3.1 Localização, Clima e Condições Ambientais.....	31
3.2 Obtenção do Material Vegetal.....	32
3.3 Experimentos em Laboratório.....	34
3.3.1 Avaliação da bioatividade de extratos vegetais sobre o comportamento de <i>Sitophilus oryzae</i> L. em arroz.....	34
3.3.2 Crescimento populacional e quantificação de danos de <i>Sitophilus oryzae</i> (LINNÉ, 1763) em arroz.....	47
3.3.3 Avaliação da citotoxicidade de extratos aquosos de <i>Chenopodium ambrosioides</i> L. E <i>Calopogonium caeruleum</i> HEMSL. em <i>Artemia salina</i> LEACH (ANOSTRACEAE, ARTEMIIDAE).....	57
3.3.4 Investigação toxicologica do extrato aquoso de <i>Chenopodium ambrosioides</i> L. E <i>Calopogonium caeruleum</i> HEMSL. e análise dos parâmetros bioquímicos e histopatológicos em ratos wistar.....	65
4 CONCLUSÕES GERAIS.....	73
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	74
ANEXOS.....	80

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 Espécie vegetal, nome científico, nome comum e local da coleta...	32
EXPERIMENTOS EM LABORATÓRIO	
EXPERIMENTO 1:	
TABELA 2 Espécies, partes utilizadas, nomes comuns e famílias das plantas testadas para <i>Sitophilus oryzae</i>	38
TABELA 3 Efeito de pós-vegetais, inseticidas, terra de diatomáceas e testemunha sobre a mortalidade (%) de insetos adultos de <i>Sitophilus oryzae</i> em grãos de arroz.....	40
TABELA 4: Efeito da repelência, em porcentagem, de onze extratos vegetais sobre insetos adultos de <i>Sitophilus oryzae</i> em grãos de arroz, 24 horas após a infestação inicial.....	41
TABELA 5: Efeito de onze extratos vegetais e testemunha sobre o número de insetos de <i>Sitophilus oryzae</i> emergidos em grãos de arroz tratados, após 15 dias da infestação inicial.....	42
EXPERIMENTO 4:	
TABELA 6 Média dos valores bioquímicos encontrados no soro de ratos albinos fêmeas após tratamento com extrato aquoso do <i>Chenopodium ambrosioides</i> e <i>Calopogonium caeruleum</i>	70
TABELA 7 Média dos valores bioquímicos encontrados no soro de ratos albinos machos após tratamento com extrato aquoso de <i>Chenopodium ambrosioides</i> (ES) e <i>Calopogonium caeruleum</i> (T).	71
TABELA 8 Análise histológica de ratos albinos Wistar machos após 24 horas de administração via oral do extrato aquoso de <i>Chenopodium ambrosioides</i> e <i>Calopogonium caeruleum</i>	71
TABELA 9 Análise histológica de ratos albinos Wistar fêmeas após 24 horas de administração via oral do extrato aquoso de <i>Chenopodium ambrosioides</i> e <i>Calopogonium caeruleum</i>	72
ANEXO 3	
TABELA 3.1 Normais Climatológicas obtidas com dados do período 1961 – 1990.....	84
ANEXO 4	
TABELA 4.1 Análise de variância para a mortalidade de adultos de <i>Sitophilus oryzae</i> em grãos de arroz, aos 10 dias após aplicação de pós-vegetais, inseticidas e pó inerte.....	85
TABELA 4.2 Mortalidade (%) de adultos de <i>Sitophilus oryzae</i> em grãos de arroz aos 10 dias após aplicação de pós-vegetais, inseticidas e pó inerte.	85
TABELA 4.3 Análise de variância para o efeito de onze extratos vegetais e testemunha sobre o número de adultos de <i>S. oryzae</i> emergidos de grãos de arroz, 15 dias após a infestação inicial.....	86
TABELA 4.4: Análise de variância para o efeito de doses de pó de <i>Chenopodium ambrosioides</i> sobre a porcentagem de mortalidade de insetos adultos de <i>Sitophilus oryzae</i> , (não sexados), em arroz, 10 dias após a infestação inicial.....	86
TABELA 4.5 Análise de regressão para o efeito de doses de pó de <i>Chenopodium ambrosioides</i> sobre a porcentagem de mortalidade de insetos adultos de <i>Sitophilus oryzae</i> , (não	

	sexados), em arroz, 10 dias após a infestação inicial.	86
TABELA 4.6	Análise de variância para o efeito de doses de extrato vegetal de <i>Calopogonium caeruleuns</i> sobre a percentagem de mortalidade de insetos adultos de <i>S. oryzae</i> , (não sexados), em arroz, 10 dias após a infestação inicial.....	87
TABELA 4.7	Análise de regressão para o efeito de doses de pó de <i>Calopogonium caeruleuns</i> sobre a percentagem de mortalidade de insetos adultos de <i>Sitophilus oryzae</i> , (não sexados), em arroz, 10 dias após a infestação inicial.....	87
ANEXO 5		
TABELA 5.1	Análise de variância para o efeito de onze extratos vegetais sobre a percentagem de repelência de adultos de <i>Sitophilus oryzae</i> emergidas de grãos de arroz, 15 dias após a infestação inicial.....	88
TABELA 5.2	Efeito de onze extratos vegetais sobre o número de insetos repelidos de grãos de arroz tratados.....	88
TABELA 5.3:	Análise de variância para o efeito de diferentes números de insetos adultos (<i>S. oryzae</i>) sobre os danos provocados em grãos de arroz (g).....	88
TABELA 5.4:	Análise de regressão para o efeito de diferentes números de insetos adultos (<i>S. oryzae</i>) sobre os danos provocados em grãos de arroz (g).....	89
ANEXO 6		
TABELA 6.1	Análise de variância para o efeito de onze extratos vegetais sobre o número de adultos de <i>S. oryzae</i> emergidos de grãos de arroz, 15 dias após a infestação inicial.....	90
TABELA 6.2:	Análise de variância para a toxicidade aguda de quatro concentrações de <i>Calopogonium caeruleuns</i> em <i>Artemia salina</i> ...	90
ANEXO 7		
TABELA 7.1	Análise de variância para o efeito de três extratos vegetais sobre a quantidade de uréia (mg/dl), em ratos fêmeas.....	91
TABELA 7.2	Análise de variância para o efeito de três extratos vegetais sobre a quantidade de creatina (mg/dl), em ratos fêmeas.....	91
TABELA 7.3	Análise de variância para o efeito de três extratos vegetais sobre a quantidade de TGO (U/L), em ratos fêmeas.....	92
TABELA 7.4	Análise de variância para o efeito de três extratos vegetais sobre a quantidade de TGP (U/L), em ratos fêmeas.....	92
TABELA 7.5	Análise de variância para o efeito de três extratos vegetais sobre a quantidade de uréia (mg/dl), em ratos machos.....	92
TABELA 7.6:	Análise de variância para o efeito de três extratos vegetais sobre a quantidade de creatina (mg/dl), em ratos machos.....	93
TABELA 7.7	Análise de variância para o efeito de três extratos vegetais sobre a quantidade de TGO (U/L), em ratos machos.....	93
TABELA 7.8	Análise de variância para o efeito de três extratos vegetais sobre a quantidade de TGP (U/L), em ratos machos.....	93

LISTA DE FIGURAS

EXPERIMENTOS EM LABORATÓRIO

EXPERIMENTO 1:

- Figura 1** Efeito de diferentes doses de pó de *Chenopodium ambrosioides* na percentagem de mortalidade de insetos adultos (*Sitophilus oryzae*) não-sexados, em arroz, 10 dias após a infestação inicial..... 41
- Figura 2** Efeito de diferentes doses de extrato de *Calopogonium caeruleuns* na percentagem de mortalidade de insetos adultos (*Sitophilus oryzae*) não-sexados, em arroz, dez dias após a infestação inicial..... 42

EXPERIMENTO 2:

- Figura 3** Efeito da variação dos teores de umidade inicial de grãos de arroz sobre o número de insetos de *Sithopylus orizae* presentes em amostras de arroz, após 120 dias de armazenamento..... 51
- Figura 4** Efeito de quatro populações (5; 10; 20 e 30) de *Sitophilus orizae* nos danos causados em amostras de arroz..... 53

EXPERIMENTO 3:

- Figura 5** Toxicidade de diferentes doses de extrato de *Chenopodium ambrosioides* na percentagem de mortalidade de *Artemia salina*..... 60
- Figura 6** Toxicidade de diferentes doses de extrato de *Calopogonium caeruleuns* na percentagem de mortalidade de *Artemia salina*..... 60

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1 - Impacto Ambiental.....	80
ANEXO 2 - Desenvolvimento Sustentável.....	81
ANEXO 3 - Normais Climatológicas.....	82
ANEXO 4 - Análise estatística referente ao experimento 1.....	83
ANEXO 5 - Análise estatística referente ao experimento 2.....	86
ANEXO 6 - Análise estatística referente ao experimento 3.....	88
ANEXO 7 - Análise estatística referente ao experimento 4.....	89

1 INTRODUÇÃO

No poema épico, a *Odisséia*, Homero conta como Ulisses e seus companheiros resistiram à sedução das Sereias, navegaram com segurança entre Cila e Caribdes, e chegaram à ilha de Trinácia, onde pastavam os bois e as ovelhas do deus-sol. Ulisses fora advertido de que estes não deviam ser perturbados, mas seus companheiros sucumbem a tentação. “*Morrer de fome*”, declara Eurícolo, “*é o mais amargo dos destinos*”. Eles matam os animais e se fartam. Mal eles tornam a partir, Zeus envia um furacão como castigo. Todos perecem, exceto Ulisses.

A Revolução Verde dos anos 60 e 70, do século XX, foi um êxito excepcional. O uso pelos agricultores de novas tecnologias, baseadas em pesquisas científicas transformou a agricultura, e criou abundância alimentícia, debelando uma ameaça concreta de fome em escala mundial.

No entanto, o crescimento contínuo da população mundial, a diminuição atual de áreas agricultáveis pelo processo de desertificação mais a perspectiva das mudanças climáticas, transformando regiões produtoras em áreas inaptas, além da intensa competição entre humanos e insetos pelos mesmos alimentos, a resistência desenvolvida por alguns insetos a determinados inseticidas, e o risco crescente de resíduos tóxicos no ambiente e nos alimentos, criam a necessidade de uma obstinada busca de novos inseticidas.

O mercado mundial de agrotóxicos movimenta bilhões de dólares anualmente. Tradicionalmente, os inseticidas mais usados têm sido os piretróides e os fosforados, seguidos dos organoclorados (VIEIRA et al., 2003). Esses produtos apresentam um amplo espectro de ação e exterminam indiscriminadamente os insetos-praga, bem como aqueles que são benéficos ao ambiente. Essa situação é agravada pela persistência desses produtos no meio ambiente, e por meio de resíduos tóxicos em um grande número de alimentos (COSTA & COSTA, 2004).

As pragas, os patógenos e as ervas daninhas são as ameaças mais visíveis para a produção sustentável de alimentos. Desde a Segunda Guerra Mundial, a atitude mais comum diante desses problemas tem sido a aplicação de agrotóxicos. Afora os riscos que apresentam para a saúde humana, o uso contínuo destes pode levar ao desenvolvimento de resistência no organismo-alvo, além da eliminação dos inimigos naturais. Baseado nessas constatações pode-se afirmar que os agrotóxicos sintéticos provocam alto impacto ambiental (AZEVEDO, 2003).

É preciso que medidas criativas e ecológicas sejam tomadas para romper a arraigada atitude acrítica e dependente dos produtos químicos sintéticos, que prevalece em todos os níveis da cadeia produtiva.

De acordo com Mairesse (2005), a evolução da sociedade humana parece assemelhar-se ao movimento de um ponto em espiral ascendente, cuja projeção vai redesenhando uma circunferência. Há uma aparente repetitividade em função dessa projeção; entretanto a roda da história anda somente para frente, em movimento recursivo gerando o novo, que não somente vai substituindo o velho, mas que também vai sendo gerado por ele. Assim, os conhecimentos acumulados ao longo da história, devem ser empacotados, como o DNA nos cromossomos, e preservados, não somente para a pura e direta utilização, mas como moldes aos novos projetos de avanços científicos e tecnológicos.

A busca intensiva por praguicidas obtidos de espécies vegetais, para utilização na agricultura, começou a pouco mais de vinte anos, devido à necessidade de existirem produtos que ofereçam possibilidades de menor impacto ambiental. Também contribuiu para isso, o espetacular avanço que ocorreu na química sintética, permitindo modificações moleculares e síntese de compostos com estruturas complexas, em escala industrial, pois um dos entraves na utilização dos produtos de origem vegetal era a baixa estabilidade de seus componentes. Atualmente, consideram-se tais substâncias de plantas como um modelo para a síntese de praguicidas mais eficientes, menos tóxicos e menos persistentes no meio ambiente (SAITO & LUCCHINI, 1998). Um exemplo de busca maravilhosamente bem-sucedida está no uso de piretróides, que correspondem a, aproximadamente, um terço de todos os inseticidas usados no mundo (VIEIRA *et al.*, 2003).

Segundo Vendramim & Castiglioni (2000), o ressurgimento do interesse pelos inseticidas de origem vegetal originou-se da necessidade de buscar novas substâncias no controle de pragas, sem os problemas ambientais, resíduos em alimentos, efeitos nocivos sobre predadores e outros organismos úteis, retardando o aparecimento de resistência a inseticidas, comuns na utilização dos agrotóxicos convencionais. Acrescentam ainda, os autores, que a diminuição na disponibilidade de moléculas sintéticas, com características inseticidas e questões econômicas envolvidas, reforça o interesse em alternativas, como as representadas por ingredientes ativos tóxicos nos vegetais.

O arroz é um cereal de grande importância no mundo devido ao seu valor econômico, e também pelas suas propriedades nutricionais (alimento funcional); constituindo-se em alimento básico para metade da população mundial. No Brasil é um dos produtos agrícolas de maior importância, tendo atingido na safra 2006-2007, uma produção de 11.203.000 toneladas, e um consumo de 13.000.000 toneladas (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO, 2007).

É interessante ressaltar que o arroz é um glicídio de fácil digestão, o qual apresenta alto valor energético, e um índice glicêmico que se caracteriza pela absorção orgânica lenta e gradual. Isto significa que a energia obtida através do arroz dura por períodos maiores no organismo (MIDIO & MARTINS, 2000).

Estima-se que cerca de 20% do volume total de grãos colhidos anualmente no Brasil são desperdiçados no processo de colheita, no transporte e no armazenamento, e que metade dessa perda é devido ao ataque de pragas durante o armazenamento. Dentre os prejuízos, verificam-se perdas de massa e poder germinativo das sementes, desvalorização do produto e um meio favorável para a disseminação de fungos e outros microorganismos, cuja principal praga em sementes e grãos de arroz armazenados, é o gorgulho do arroz (PUZZI, 1986).

As pragas são as maiores causadoras de perdas físicas, além de serem responsáveis pela perda na qualidade dos grãos e dos subprodutos. Existem dois importantes grupos de pragas que atacam os grãos armazenados, que são os besouros e traças. Nos besouros encontram-se as espécies mais importantes por causarem maiores danos. Para o arroz, a praga mais importante é o *Sitophilus oryzae* (PACHECO & DE PAULA, 1995), sendo uma praga primária extremamente adaptada para viver na massa de grãos armazenados.

O momento atual da civilização humana emite sinais concretos que chegou a hora de vincular mais estreitamente tecnologia, economia e ecologia. A busca do desenvolvimento sustentável (ANEXO 1), que é aquele que atende às necessidades do presente sem comprometer a possibilidade das gerações futuras atenderem as suas próprias necessidades, deve orientar o planejamento das pesquisas, às quais devem ser antecedidas de estudos de impacto ambiental (ANEXO 2).

Dentro dessa nova mentalidade, o desenvolvimento de pesquisas com inseticidas de origem vegetal, abre perspectivas promissoras para a utilização destes produtos no controle dos insetos-praga em grãos armazenados.

A presente pesquisa, desenvolvida no Campus da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) e no Campus da Universidade de Cruz Alta (UNICRUZ), teve como objetivo geral avaliar a bioatividade de extratos vegetais sobre *Sitophilus oryzae*, em arroz com casca armazenado. Para atingir os objetivos específicos, a pesquisa foi conduzida na forma de quatro experimentos, os quais foram:

- ***Experimento 1:** Avaliação da bioatividade de extratos vegetais sobre o comportamento de *Sitophilus oryzae* L. em arroz;
- ***Experimento 2:** Crescimento populacional e quantificação de danos de *Sitophilus oryzae* (LINNÉ, 1763) em arroz;
- ***Experimento 3:** Avaliação da citotoxicidade de extratos aquosos de *Chenopodium ambrosioides* L. e *Calopogonium caeruleum* Hemsl. em *Artemia salina* Leach;
- ***Experimento 4:** Investigação toxicológica do extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides* L. e *Calopogonium caeruleum* Hemsl. e análise dos parâmetros bioquímicos e histopatológicos em ratos wistar.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Considerações sobre *Sitophilus oryzae* (Linné, 1763)

2.1.1 Taxonomia

O gorgulho-do-arroz, *Sitophilus oryzae*, é um coleóptero pertencente à família Curculionidae. Foi descrito por Linné, em 1763. É muito semelhante ao *Sitophilus zeamais* Mots. (1855) quanto à biologia, a etologia e a morfologia das formas jovens e adultas. As formas adultas de *S. oryzae* e *S. zeamais* podem ser distinguidas por meio de características externas, sendo, no entanto, mais segura a identificação pela técnica de KUSCHEL, proposta em 1961, para diferenciar estas duas espécies com base em caracteres da genitália (PACHECO & DE PAULA, 1995).

2.1.2 Origem e distribuição geográfica

É um inseto cosmopolita, supostamente oriundo da Índia, disseminado pelo mundo por grãos infestados transportados em navios (METCALF & FLINT, 1962).

Encontrado em todas as regiões quentes e tropicais do mundo. É praga primária do arroz, milho, trigo e sorgo armazenado, podendo infestar os grãos no campo antes do armazenamento. Também se desenvolve em produtos de cereais processados como macarrão, e em mandioca desidratada (EVANS, 1981; GALLO *et al.*, 1988).

2.1.3 Descrição, biologia e danos

Os adultos de *S. oryzae* medem cerca de 3,0 mm de comprimento, são de coloração castanho-escuro, com quatro manchas avermelhadas nos élitros, visíveis logo após a emergência. Caracteriza-se por apresentar cabeça projetada à frente dos olhos, formando um rostro bem definido, em cuja extremidade se encontra o aparelho bucal mastigador. Nos machos esse rostro é geralmente mais curto e grosso, e nas fêmeas, mais longo e afilado. Apresentam o pronoto fortemente pontuado e os élitros densamente estriados (GALLO *et al.*, 1988).

As antenas articulam-se no centro do rostro e são genículo-clavadas, com o primeiro segmento próximo à cabeça, alongado e em ângulo reto com os demais segmentos, terminando em uma clava distinta. As larvas são do tipo curculioniformes (ápodas, robustas e levemente curvas), brancas, e com a cabeça marrom-clara ou amarelada. Apresentam perfil dorsal semicircular, perfil central quase retilíneo e os

três primeiros segmentos abdominais com duas pregas ou sulcos transversais no dorso (GALLO *et al.*, 1988). As pupas são brancas (GALLO *et al.*, 1988; MOUND, 1989).

A faixa de temperatura ideal para o desenvolvimento é de 27 a 31°C, sendo que a 29°C e 70% U.R. o desenvolvimento ocorre em torno de 25 dias. Os ovos são raramente colocados em grãos com teor de umidade inferior a 10,5%, e tanto a duração do ciclo larval como a mortalidade dos estágios imaturos é aumentada em grãos com menos de 13% de umidade. A fecundidade é maior em grãos com 14% a 16% de umidade (EVANS, 1981).

As fêmeas depositam os ovos individualmente nos grãos, em pequenos orifícios que cavam com as mandíbulas. A seguir, glândulas associadas ao ovipositor secretam uma substância gelatinosa que é utilizada para fechar a cavidade, ficando os orifícios de postura de difícil visualização (EVANS, 1981).

Após a eclosão, a larva se alimenta do interior do grão, escavando um túnel enquanto se desenvolve, passando por quatro instares. A fase de pupa também é passada no interior do grão e o adulto, logo que emerge, cava a saída para o exterior, deixando um orifício de emergência característico. Se vários ovos são deixados no interior de um único grão, geralmente ocorre canibalismo e somente uma larva alcança o estágio de pupa (EVANS, 1981).

A biologia do inseto, a 28° C e 60% U.R. apresenta os seguintes valores em média: 5,9 dias de período pré-postura; 104,3 dias de período de postura; 282,2 ovos por fêmea; 2,7 ovos por dia; longevidade dos machos de 142 dias; longevidade das fêmeas 140,5 dias; período de ovo a adulto de 34 dias; período de incubação de 3 a 6 dias, e proporção de 26,9% de ovos que se desenvolvem até adulto (ROSSETO, 1972).

A proporção entre sexos é de aproximadamente 1:1, conforme os percentuais, para fêmeas e machos, de 51,9% e 48,1%, respectivamente (ROSSETO, 1972).

As larvas produzem muito calor metabólico e umidade durante o desenvolvimento, podendo então modificar o microclima local. O calor gerado pode contribuir para a formação de “bolsas de calor”, em que a temperatura dos grãos pode alcançar de 38 a 42°C, podendo causar o fenômeno de migração de umidade. Tais temperaturas são letais aos estágios imaturos e forçam os adultos a migrarem para áreas mais frias (EVANS, 1981).

Puzzi (1986) avaliou os danos ocasionados pelo gorgulho *S. oryzae*, em arroz armazenado a granel, constatando perdas em peso de 9,2%. Trabalho realizado por Gallo *et al.* (1988) menciona danos provocados por *Sitophilus* spp, em arroz, de 10 a 15% no Estado do Rio Grande do Sul.

2.2 Inseticidas de origem vegetal

Muitas considerações foram feitas sobre a co-evolução das plantas e outros organismos, e as adaptações ao meio em que vivem. Uma delas é a constatação de que as plantas ainda dominam a nossa paisagem, apesar da enorme população de herbívoros, que compreendem desde insetos até animais de maior porte, provavelmente devido a alguns mecanismos de defesa que elas adquiriram no decorrer dos tempos (HARBORNE, 1982).

Estudo realizado por Lagunes & Rodrigues (1989) considera que os primeiros inseticidas botânicos foram a nicotina, extraída do fumo (*Nicotiana tabacum* L.); a piretrina, extraída do piretro (*Chrysanthemum cinerariaefolium* Vis.); a rotenona, extraída de *Derris* spp. e *Lonchocarpus* spp.; a sabadina, extraídos de sabadila (*Schoenocaulon officinale* A. Gray); e a rianodina, extraída de *Ryania speciosa* Vahl.

As plantas inseticidas constituem-se em uma alternativa viável, devido ao seu baixo custo, facilidade de serem encontradas e de fácil preparação (OLIVEIRA, 1997).

As pesquisas com plantas inseticidas são realizadas basicamente com dois objetivos: primeiro, a descoberta de novas moléculas que permitam a obtenção de novos inseticidas sintéticos; segundo, obtenção de inseticidas botânicos naturais para uso direto no controle de pragas (VENDRAMIM & CASTIGLIONI, 2000).

As substâncias de origem vegetal apresentam diversas vantagens quando comparadas aos inseticidas sintéticos: reduzem a persistência e a acumulação de pesticidas no meio ambiente, têm maior seletividade, são biodegradáveis e não apresentam os conhecidos efeitos colaterais típicos dos inseticidas convencionais, segundo Gionetto & Chávez (2000).

Considerando as características dos produtos armazenados, a importância dos inseticidas de origem vegetal é ainda maior visto que os resíduos químicos dos inseticidas sintéticos permanecem acumulados por mais tempo, pelo fato de praticamente não haver atividade metabólica no vegetal, e principalmente pela não

ocorrência da ação dos elementos climáticos como: vento, radiação solar, chuva, temperaturas extremas, entre outros, que poderiam afetar a estabilidade desses compostos orgânicos.

Na busca de novas moléculas no controle de pragas, a preocupação principal é com os aspectos sócio-ambientais, como conseqüências do uso das mesmas. Nos primórdios do uso de defensivos agrícolas, um produto aceitável era medido pela sua maior eficiência no controle de pragas, combinado com o aspecto econômico. Posteriormente, a eficiência técnica e econômica do produto passou a ter como contraponto os aspectos relacionados à saúde e ao ambiente. Numa terceira etapa, a atual, há uma evidente inversão, de tal forma, que antes de se referir a um composto como as propriedades da molécula quanto aos seus mecanismos de ação, procura-se conhecer a especificidade, a sua degradação no ambiente e, conseqüentemente, quanto ao grau de segurança à saúde e ao ambiente (MAIRESSE, 2005)

A tendência em se buscar produtos mais adequados socialmente e ambientalmente (CASIDA & QUISTAD, 1998), parece coincidir com todo um direcionamento de mudança no contexto da civilização humana e na busca de um novo paradigma ecológico e que, como não poderia deixar de ser, envolve o uso de biocidas, entre os quais os metabólitos de origem vegetal ocupam espaço privilegiado, e cujas perspectivas são extremamente promissoras.

Outro fator relevante, à implementação das pesquisas nessa área, é o fato do Brasil possuir a maior diversidade de genes, de espécies e de ecossistemas (COSTA & COSTA, 2000).

De acordo com Saito & Lucchini (1998), as substâncias encontradas em plantas, do ponto de vista de controle de insetos, são normalmente classificadas como: análogos hormonais de insetos, repelentes e atraentes, toxinas e substâncias deterrentes.

2.2.1 Análogos hormonais de insetos (juvenóides, precocenos, ecdisonas)

As substâncias com atividade de hormônio juvenil em plantas foram descobertas acidentalmente, em papéis produzidos com material retirado de *Abies balsamea* (L.) que apresentou tal atividade ao inseto *Pyrrhocoris apterus* (Heteroptera, Pyrrhocoridae). Posteriormente, foi isolada a substância juvabiona, dessa planta, possibilitando confirmar sua atividade em insetos.

Os precocenos quando adicionados à dieta dos insetos, interferem na atividade do hormônio juvenil de tal forma que ocorre metamorfose precoce, transformando-os em adultos imperfeitos; porém, alguns estudos, têm constatado que sua ação é muito específica, atuando apenas contra o HJ3 (MARINI-BETTÓLO, 1977), o que limita muito a sua utilidade.

Quanto às ecdisonas, desde os primeiros trabalhos de isolamento e identificação desse hormônio de muda, foram pesquisadas as melhores fontes para a sua obtenção, e extraídas toneladas de bicho-da-seda, e de outros insetos e crustáceos, para alcançar quantidade apreciável.

As fitoecdisonas foram descobertas por acaso no Japão, quando se estudavam plantas com potencial farmacológico. Experimentadas em insetos, foi observado que apresentavam atividade similar à das ecdisonas. A grande vantagem das fitoecdisonas é a sua presença em quantidades muito maiores. As fitoecdisonas também compreendem a ecdisona, crustecdisona e outros ecdisteróides com estruturas idênticas às encontradas nos animais (JACOBSON & CROSBY, 1971). A propriedade mais fascinante das fitoecdisonas é sua enorme atividade hormonal, quando comparadas com alfa e beta ecdisonas; algumas chegam a ser mais de 20 vezes mais ativas (HARBORNE, 1982).

Os efeitos biológicos do hormônio obtido da planta dependem das vias de administração: cutânea, por ingestão ou injeção. Ocasionalmente causa malformação, esterilidade e morte, após a administração. A via que provoca menor efeito é a oral, provavelmente devido aos mecanismos de detoxicação dos insetos (SAITO & LUCCHINI, 1998).

2.2.2 Repelentes e atraentes

As substâncias repelentes ou as atraentes das plantas são principalmente de natureza terpênica, e se apresentam como moléculas de baixo peso molecular e voláteis. São as substâncias conhecidas como: aromáticas, essências ou óleos essenciais. Como exemplos bastante conhecidos, têm-se os óleos de citronela, de pinheiro e de eucalipto, que possuem em sua composição componentes importantes como citronelal, alfa e beta-pineno, eucaliptol, reconhecidamente repelentes a algumas espécies de insetos, e que estão presentes em muitas espécies de plantas.

Algumas plantas possuem substâncias que atraem insetos que fazem a sua polinização. Essas substâncias poderiam ser usadas para atrair insetos indesejáveis

para locais onde não haja cultivos importantes, que pudessem ser prejudicados por esses insetos. É também conhecida a propriedade atraente de algumas raízes de plantas, como ocorre em algumas espécies de Cucurbitáceas, usadas como atraentes de insetos para desviá-los de plantas cultivadas.

Alguns componentes de óleos voláteis possuem também outros tipos de atividade, como tóxica e deterrente contra insetos, e atividade alelopática (SAITO & LUCCHINI, 1998).

2.2.3 Substâncias tóxicas

As plantas tóxicas são aquelas que provocam efeitos indesejáveis para os humanos e outros animais. Dessa forma, relativamente poucas são as espécies realmente tóxicas e suas toxinas são quase sempre alcalóides; mas existem outras plantas, que são relativamente inócuas aos humanos, mas podem ser muito tóxicas a outros grupos de animais, como pássaros, peixes e, especialmente, insetos.

Algumas plantas inseticidas, como o fumo (*Nicotiana tabacum* L.), o piretro (*Chrysanthemum* sp.) e o timbó (*Derris* sp.) são bem conhecidas, mas existem milhares de espécies de plantas já citadas como tóxicas a insetos, que ainda não tiveram comprovação ou foram pouco estudadas.

Entre as toxinas das plantas, encontram-se substâncias nitrogenadas, como alguns aminoácidos não protéicos, glicósidos cianogenéticos, alguns peptídeos e proteínas, e alcalóides de diversos tipos. A toxicidade de uma substância química é sempre relativa, depende da dose tomada em determinado período, da idade e do estado de saúde do animal, do mecanismo de absorção e do modo de excreção. Essas toxinas, frequentemente apresentam-se, também, como repelente alimentar, pois sua presença é, muitas vezes, denunciada por algum sinal de perigo, de natureza visual ou olfatória. O óleo de mostarda, por exemplo, que ocorre em crucíferas, é tóxico a muitos insetos, tem um cheiro pungente e é, provavelmente, emitido continuamente em pequena quantidade por essas plantas. Compostos secundários potencialmente tóxicos podem ocorrer na cera da superfície da folha. Também os pêlos glandulares das folhas podem secretar uma quinona tóxica, ou pode haver um depósito de quinona sobre a superfície inferior da folha (SAITO & LUCCHINI, 1998).

A defesa química é frequentemente anunciada em plantas lenhosas, quando exsudam resinas da casca e dos frutos. No caso do HCN, as plantas cianofóricas

não liberam ácido prússico, pois o substrato e as enzimas para sua produção estão localizados em organelas diferentes. Somente quando a folha é danificada por herbívoros, é que o substrato e enzima entram em contato para produzir a toxina. Nos alcalóides e saponinas, o sinal de perigo é recebido pelo animal após ter iniciado a alimentação, na forma de gosto amargo. Muitos outros componentes de plantas são amargos, e com isso dão a base da repelência a herbívoros nessas plantas. O látex das plantas, tais como chicória, também tem um papel claro na deterrência em insetos, pois contém toxinas amargas entre seus constituintes (HARBORNE, 1982).

2.2.4 Substâncias deterrentes

Tem aumentado o interesse por substâncias com propriedade anti-alimentar deterrente para os insetos, pois frequentemente os insetos fitófagos têm um alto grau de especificidade por plantas. A ajugarina, a azadiractina e a imperatorina obtidas de plantas são consideradas como possuidoras dessa propriedade. Muitos deterrentes importantes para insetos são de natureza terpênica. Diterpenos, como ácidos caurenóico e traquilobanóico, presentes no girassol, também apresentam efeitos inibidor e larvicida para vários lepidópteros. As cucurbitacinas, substâncias amargas de algumas espécies de cucurbitáceas, atuam como atraentes à alguns besouros de pepino e também como repelente para muitos outros insetos. Outro triterpenóide com atividade antialimentar são as azadiractinas, descobertas através da observação de que a planta africana *Azadirachta indica*, que a produz, nunca é atacada pelo gafanhoto-do-deserto, *Schistocerca gregária* (Forsk). Outro grupo de substâncias que parecem ter ação deterrente importante são os flavonóides que se acumulam nas folhas de angiospermas (HARBORNE, 1982).

2.3 Efeito de substâncias de origem vegetal sobre pragas de grãos armazenados

Das folhas, caules e raízes da planta de canela (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) já foram isolados cerca de 72 compostos, destacando-se o cinamaldeído, eugenol e cânfora (SENANAYAKE & LWANDE, 1972).

A pimenta-do-reino (*Piper nigrum* Beyr.) moída constitui uma fonte segura e promissora de inseticida natural, sendo que seus frutos possuem alcalóides, especificamente do grupo amida insaturada com ação tóxica sobre muitas pragas de

grãos armazenados (MIYAKADO *et al.*, 1989). O efeito tóxico dessa planta foi demonstrado por Su (1977), quando este observou alta mortalidade de adultos de *Sitophilus oryzae*, quando expostos à grãos de trigo tratados com o extrato etanólico e com o pó do vegetal.

Mordue & Blackwell (1993), observaram que o limonóide azadiractina e outros compostos potencialmente bioativos encontrados no óleo e extrato de sementes de nim (*Azadirachta indica* A. Juss.) foram eficientes e promissoras para controle de pragas de grãos armazenados.

Pós de *Nicotiana* sp. e *Chenopodium* sp. mostraram-se efetivos no controle de várias pragas de armazenamento (KYAMANYWA *et al.*, 1999). Trabalho realizado por SU (1991) demonstrou a propriedade de repelência que óleo obtido de *Chenopodium* sp, apresentou em relação a quatro pragas de grãos armazenados.

Golob & Kilminster (1981) mencionam que, no sudeste da África, agricultores usam pó de tabaco para controlar infestações de insetos durante o armazenamento de milho. No Brasil, a utilização de folhas de eucalipto entre camadas de espigas de milho é prática relativamente comum entre os pequenos produtores (SANTOS *et al.*, 1984).

Em vários países, agricultores utilizam plantas para proteger os grãos armazenados dos insetos-pragas. Pela facilidade de aplicação e pela natureza do substrato a ser protegido, tem-se preferido o uso de pós em relação a outros derivados vegetais (PROCÓPIO *et al.*, 2003).

Bloszyk *et al.* (1990) estudaram o efeito repelente de seis compostos de origem vegetal (rotenona, helenalina, geigerinina, cubebina, juglone e gossipol), sobre *Rhyzopherta dominica* (FABR.) e *Sitophilus granarius* (L.), com o objetivo de verificar a proteção exercida pelos compostos aplicados sobre a superfície de diferentes materiais utilizados como embalagens para produtos alimentícios. Os autores observaram menores danos às embalagens tratadas com rotenona e helenalina em relação a *R. dominica*, enquanto juglone e geigerinina foram mais eficientes para *S. granarius*.

De acordo com Sighamony *et al.* (1986), grãos de trigo tratados com óleos de cravo-da-índia, cedro e com extrato de pimenta estão protegidos contra danos de *S. oryzae* e *R. dominica*.

2.4 Classes de metabólitos secundários de origem vegetal

As plantas sintetizam uma enorme variedade de metabólitos que são geralmente classificados em dois maiores grupos, de acordo com suas funções (BODE & MULLER, 2003). Os metabólitos primários são essenciais ao crescimento e desenvolvimento e são utilizados universalmente, enquanto os metabólitos secundários são extremamente diversos e variáveis, desempenhando o papel de garantir a sobrevivência do organismo no habitat natural. Os metabólitos secundários podem ser sintetizados constitutivamente em órgãos específicos, ou em específicos estádios de desenvolvimento, ou ainda, sua produção pode ser induzida por ataque de herbívoros ou de patógenos (GERSHENZON *et al.*, 2000).

2.4.1 Quassinóides

A quassina iniciou seu uso como inseticida no final do século XVII, a partir da utilização dos extratos aquosos do tronco e casca de plantas da espécie *Quassia amara* L. Outras espécies dessa mesma família, pertencentes aos gêneros *Aeschron*, *Picrasma* e *Ailanthus* (Simaroubaceae), existentes na América Central, do Norte e Índia, também foram utilizadas por suas propriedades inseticidas (CROSBY, 1981).

2.4.2 Piretróides

O piretro (pó-da-pérsia) foi utilizado na região do Cáucaso e norte do Irã no século XVII. Originalmente extraído das flores do crisântemo (gênero *Chrysanthemum* – Asteraceae), esse inseticida foi amplamente empregado. A grande vantagem, que impulsionou a utilização, foi a menor toxicidade dos piretróides para mamíferos, dentre todos os inseticidas em uso (RAY, 1991).

A síntese dos piretróides pode ser apontada como um exemplo de êxito absoluto no uso de produtos naturais como protótipo, conduzindo a vários processos de obtenção de derivados considerados pouco tóxicos ao homem (HENRICK, 1994).

2.4.3 Rotenóides

Dessa classe, a rotenona é a principal substância com atividade inseticida, tendo sido usada pela primeira vez como inseticida em 1848 na Malásia. A rotenona ocorre principalmente em espécies do gênero *Derris* e *Lonchocarpus* (timbós) (BOYCE *et al.*, 1974).

Os rotenóides já foram objeto de volumoso comércio, incluindo vultuosas importações de países onde as espécies fornecedoras não eram nativas, como os EUA, até a metade deste século. Um dos primeiros relatos do uso de rotenóides em práticas agrícolas data de 1919, na Guiana Holandesa, com a aplicação de timbós (plantas do gênero *Lonchocarpus*) no combate às formigas saúvas (*Dolichorus bidens*) (RANGEL, 1946).

A rotenona apresenta atividade fago-inibidora. A atuação dos rotenóides pode ser tanto de contato como por ingestão. O mecanismo de atuação da rotenona se dá na cadeia respiratória (transporte de elétrons), impedindo a regeneração do NAD⁺, ocorrendo uma diminuição do consumo de O₂ em cerca de 95%, levando o inseto à asfixia e conseqüente morte (O'BRIEN, 1967).

2.4.4 Alcalóides

Experimentos feitos com extratos de *Delphinium geyeri* Greene (*Ranunculaceae*) mostraram que a substância isolada dessa planta e que apresentou maior atividade foi a metilcaconitina, inibindo os receptores da acetilcolinesterase de insetos, de forma mais potente que a nicotina (JENNINGS *et al.*, 1986).

Quando os invasores espanhóis aportaram no Novo Mundo, em torno do ano de 1500, observaram índios que utilizavam um inseticida, que era o pó das sementes de uma planta bulbosa chamada de crbadijla. A sabadilha é, na verdade, uma fonte de alcalóides veratrínicos e a ocorrência dessa classe de substâncias já verificada em gêneros da família *Liliaceae* (CROSBY, 1981).

2.4.5 Terpenóides

Os limonóides são tetranortriterpenóides e talvez os maiores representantes dessa classe como substâncias inseticidas; no entanto, monoterpenos simples, como o limonemo e mirceno desempenham um papel de proteção contra insetos nas plantas que os produzem. Trabalhos mais recentes citados em revisões sobre este assunto (ADDOR, 1994) têm relatado o papel e ação de monoterpenos, bem como complexos terpenóides aldeídicos como, por exemplo, o gossipol, que transfere resistência a insetos em variedades de algodão.

Os limonóides são também conhecidos como meliacinas e são assim denominados devido ao seu sabor amargo. Tais substâncias foram isoladas de

plantas pertencentes às famílias *Meliaceae*, *Rutaceae* e *Cneoraceae*. Sua rota biossintética em plantas (CONNOLLY, 1983) prevê como precursor um triterpeno que, ao final, dá origem aos tetranortriterpenóides pela perda de quatro átomos de carbono do precursor original. Os limonóides são conhecidos pelo fato de apresentarem atividade contra insetos, seja interferindo no crescimento, seja pela inibição de sua alimentação (VIEIRA et al., 2003).

A azadiractina, de acordo com os trabalhos de Rembold (1989), interfere no funcionamento das glândulas endócrinas que controlam a metamorfose em insetos, impedindo o desenvolvimento da ecdise, apresentando, ainda, atividade fago-inibidora.

2.4.6 Furanocumarinas e cromenos

As furanocumarinas são tipicamente encontradas em plantas das famílias *Rutaceae* e *Apiaceae*. Algumas substâncias, dessa classe, agem reduzindo a capacidade reprodutiva de algumas borboletas, outras inibem o desenvolvimento larval por intermédio de uma atividade fago-inibidora (KLOCKE *et al.*, 1989).

Cromenos de diversas estruturas ocorrem em várias plantas superiores, principalmente na família *Asteraceae*. Sua distribuição e suas atividades biológicas foram relatadas para 167 substâncias (PROKSCH & RODRIGUEZ, 1983).

Além dos precocenos, conhecidos por sua capacidade de induzir metamorfose antecipada em alguns insetos através de destruição da glândula que secreta os hormônios juvenilizantes, vários outros cromenos também apresentam ação inseticida (ADDOR, 1994).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Entomologia do Departamento de Defesa Fitossanitária da Universidade Federal de Santa Maria – RS (UFSM), e no Laboratório de Farmacologia e Toxicologia da Universidade de Cruz Alta -RS (UNICRUZ).

3.1 LOCALIZAÇÃO, CLIMA E CONDIÇÕES AMBIENTAIS

Santa Maria-RS tem as seguintes coordenadas geográficas: longitude 53°54'35"W; latitude de 29°40'54"S; e altitude de 95 m. O clima desse local é do tipo

Cfa (sub-tropical úmido), de acordo com a classificação climática de Koppen (1884 apud MULLER, 1989, p.69.).O regime pluviométrico é do tipo isoigro. No Anexo 3 estão disponibilizadas as médias dos parâmetros meteorológicos mais relevantes, do ponto de vista agroclimático, para esta região.

A análise das normais climatológicas é importante para o presente trabalho, pois a produção de metabólitos pelas espécies vegetais testadas, que apresentam bioatividade em relação à insetos, depende da fase fenológica da planta, e das condições ambientais predominantes no local de coleta dos exemplares usados para a obtenção dos respectivos extratos.

3.2 OBTENÇÃO DO MATERIAL VEGETAL E DOS INSETOS

TABELA 1 Espécie vegetal, nome científico, nome comum e local da coleta. Santa Maria, 2007.

Espécie	Família	Nome comum	Local da coleta
<i>Piper nigrum</i> L.	Piperaceae	Pimenta-do-reino	Boca do Monte ¹
<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.	Chenopodiaceae	Erva de Santa Maria	Campus UFSM ¹
<i>Nicotiana glauca</i> Graham	Solanaceae	Fumo-bravo	Bairro N ^a . Sr ^a . de Lourdes ¹
<i>Nicotiana tabacum</i> L.	Solanaceae	Fumo	Boca do Monte ¹
<i>Corymbia citriodora</i> Hook.	Myrtaceae	Eucalipto	Boca do Monte ¹
<i>Trichillia catigua</i> A. Juss.	Meliaceae	Triquília	Boca do Monte ¹
<i>Melia azedarach</i> L.	Meliaceae	Cinamomo	Camobi ¹
<i>Mentha pulegium</i> L.	Lamiaceae	Poejo	Passo da Ferreira
<i>Calopogonium caeruleum</i> Hemsl.	Fabaceae	Cipó-timbó	Passo da Ferreira ¹
<i>Ricinus communis</i> L.	Euphorbiaceae	Mamona	Boca do Monte ¹
<i>Ruta graveolens</i> L.	Rutaceae	Arruda	Passo da Ferreira ¹

¹ Santa Maria, RS;

A identificação das espécies foi feita pelo Prof. Dr. Sérgio Machado (Departamento de Defesa Fitossanitária da UFSM), pelo Prof. Dr. Solon Jonas Longhi (Departamento de Ciências Florestais da UFSM), e pelo autor do presente trabalho, sendo que de cada uma das espécies coletadas depositou-se uma exsicata, no herbário do Departamento de Ciências Florestais da Universidade Federal de Santa Maria.

Os insetos foram obtidos de amostras de arroz com casca, coletadas em engenhos de arroz, no município de Santa Maria-RS, e posteriormente foram

mantidos e multiplicados em criação estoque no Laboratório de Entomologia do Departamento de Defesa Fitossanitária da UFSM.

NOTA:

Considerando que a presente tese foi conduzida na forma de quatro experimentos, os demais aspectos relativos ao item **Material e Métodos** serão apresentados na descrição de cada um dos respectivos experimentos, uma vez tratar-se de trabalhos distintos e que apresentam metodologias específicas.

3.3 EXPERIMENTOS EM LABORATÓRIO

3.3.1 Avaliação da bioatividade de extratos vegetais sobre o comportamento de *Sitophilus oryzae* L. em arroz¹

José Domingos Jacques Leão²; Ervandil Correa Costa³

RESUMO

Foram avaliadas, em laboratório, a mortalidade, a repelência e a emergência de adultos de *Sitophilus oryzae* em grãos de arroz com casca, tratados com pós de *Piper nigrum* L. (frutos), *Chenopodium ambrosioides* L. (folhas/flores/frutos), *Nicotiana glauca* Graham (folhas), *Nicotiana tabacum* L. (folhas), *Coymbia citriodora* Hook (folhas), *Trichillia catigua* A. Juss. (folhas/ramos), *Melia azedarach* L. (folhas/frutos), *Mentha pulegium* L. (folhas), *Calopogonium caeruleum* Hemsl. (folhas/ramos), *Ricinus communis* L. (folhas/fruto), e *Ruta graveolens* L. (folhas/ramos). Utilizaram-se como padrões: Pirimifós-metil, Deltametrina, Pó inerte (Terra de Diatomáceas) e testemunha. Os extratos que provocaram maior mortalidade foram *C. ambrosioides* e *C. caeruleum*, sendo que o primeiro extrato apresentou o efeito mais significativo. Os inseticidas usados como padrões apresentaram efeitos mais significativos na comparação com os pós-vegetais. Para repelência o extrato com maior atividade foi *Corymbia citriodora*. Em termos de inibição da emergência dos adultos, nenhum extrato apresentou efeito significativo. Para as espécies que apresentaram maior atividade inseticida, *C. ambrosioides* e *C. caeruleum*, determinou-se a DL₅₀ sendo de 0,199 g/20 g de arroz e 0,254 g/20 g de arroz, respectivamente.

PALAVRAS-CHAVE: Plantas inseticidas; gorgulho; grãos armazenados

ABSTRACT

In a laboratory were evaluated the mortality rate, repellence and adult emergence of *Sitophilus oryzae* in hulled rice treated with powder of *Piper nigrum* L. (seeds), *Chenopodium ambrosioides* L. (leaves, flowers and seeds) *Nicotiana glauca*,

¹ Parte da tese de doutorado: Bioatividade de Extratos Vegetais no Controle de *Sitophilus oryzae* (LINNÉ, 1763) em arroz. UFSM. 2007;

² Eng. Agr. Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria, RS. E-mail: jacques13@smail.ufsm.br

³ Eng. Agr. Dr. Orientador – Professor – Departamento de Defesa Fitossanitária – Universidade Federal de Santa Maria – Santa Maria, RS. E-mail: eccosta@smail.ufsm.br

Graham (leaves), *Nicotiana tabacum* L. (leaves), *Coymbia citriodora* Hook (leaves), *Trichillia catigua* A. Juss (leaves/branches), *Melia azedarach* L. (leaves/fruits), *Mentha spicata* L. (leaves), *Calopogonium caeruleum* Hemsl. (leaves,branches) *Ricinus communis* L (leaves/fruits), and *Ruta graveolens* L (leaves/branches). As standard were used pyrimifos-methyl, deltametrin, and inert powder (Diatomaceous Earth). The powders that caused the highest mortality rates were from *C. ambrosoides* and *C. caeruleum*, the former presenting the most significant effect. The insecticides used as standard were more effective than the vegetable powders. As repellent, powder of *Coymbia citriodora* was the most effective and as adult emergence inhibitor, none presented a significant effect. As for the species that presented the highest insecticide activity, *C. ambrosoides* and *C. caeruleum*, the LD₅₀ was 0.1999g/20g of rice and 0.254g/20g of rice respectively.

KEY WORDS: insecticidal plants; weevil; stored grains

INTRODUÇÃO

O caruncho do arroz *Sitophilus oryzae* é considerado uma praga primária, com grande capacidade destrutiva, podendo provocar danos significativos durante o armazenamento do arroz. O inseto adulto ataca os grãos inteiros e sadios, sendo que as larvas se desenvolvem no interior dos grãos (BRACCINI & PIKANÇO, 1995; REES, 1996).

No Brasil, devido à falta de armazéns adequados, e também pelo uso de técnicas inadequadas de armazenagem, as perdas pós-colheita provocadas por insetos são, aproximadamente, de 10% (ALMEIDA, 1987).

De acordo com Faroni *et al.* (1995) empregam-se inseticidas de alta toxicidade, sem considerar a capacidade que estes produtos apresentam de deixar resíduos nos alimentos e no solo, podendo provocar sérios danos ao homem, aos animais e ao meio ambiente.

A utilização de substâncias obtidas de plantas com atividade inseticida é uma das alternativas mais promissoras no controle das pragas de grãos armazenados. Segundo Vieira *et al.* (2001), para um inseticida natural ser comercialmente viável, ele não pode ser apenas eficaz, mas deve preencher uma série de requisitos, como: seletividade contra inimigos naturais (baixa toxicidade ambiental), baixa toxicidade em mamíferos, biodegradabilidade e ausência de fitotoxicidade.

Plantas, com potencial inseticida, têm sido utilizadas como método de controle de pragas, através de diversas formulações, tais como: pó, óleos e extratos. Devido à facilidade de aplicação, e pela natureza dos grãos, o uso de pós tem sido preferido em relação aos demais. Rodríguez (1999) cita o uso de *Azadirachta indica* A. Juss. para controle de *Rhizophthera dominica* (Fabr., 1792), *Sitophilus oryzae* (L., 1763), *Tribolium castaneum* (Herbest., 1797) e *Oryzaephilus surinamensis* (L., 1758), usando o pó a 1% de concentração. Maredia *et al.* (1992) verificaram alterações na sobrevivência de adultos de *Sitophilus zeamais* quando expostos ao pó e ao óleo de sementes de nim. Resultados promissores têm sido obtidos, em relação ao gênero *Sitophilus*, com o uso de pós de *Azadirachta indica* L., *Chenopodium ambrosioides* L., *Mentha spicata* L., *Piper nigrum* L., e *Ricinus communis* L. (CHAKRABORTY & GHOSE, 1988; ARAYA-GONZALEZ *et al.*, 1996; BANJO *et al.*, 2001).

Este experimento foi realizado com o objetivo de avaliar o efeito do pó de onze espécies vegetais na mortalidade, repelência e emergência de adultos de *Sitophilus oryzae*, e determinar o limiar de atividade inseticida das espécies vegetais mais promissoras.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Entomologia do Departamento de Defesa Fitossanitária, da UFSM, em Santa Maria (RS), sob temperatura de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12 a 14 horas, com *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae) e onze espécies vegetais (Tabela 3.1).

Os insetos utilizados foram obtidos da criação estoque, mantida em grãos de arroz, no laboratório citado acima, em frascos de vidro com a abertura vedada por tecido fino e permeável (filó).

As espécies vegetais, que foram usadas para a obtenção dos pós, foram coletadas no município de Santa Maria, RS. Após a coleta, as plantas foram transferidas para estufa com circulação forçada de ar, regulada a 40°C para secagem. Posteriormente, esse material foi moído em moinho de pedras, originando um pó de textura média e depois submetido a um moinho de lâminas metálicas, e com isso foi obtido um pó fino. Os pós foram armazenados individualmente por

espécie, em recipientes de vidro hermeticamente fechados, até a utilização dos mesmos.

Na avaliação do efeito dos pós-vegetais na mortalidade e emergência dos adultos de *Sitophilus oryzae*, utilizaram-se frascos plásticos, contendo cada um deles, 20 g de substrato (arroz com casca) e 0,6g (PROCÓPIO et al., 2003) do pó da espécie vegetal testada. Para os inseticidas usados como padrões (Pirimifós-metil, Deltametrina, e Terra de Diatomáceas), a dose aplicada foi àquela recomendada pelo fabricante, e na testemunha foi mantido apenas o substrato alimentar. Em cada recipiente foram colocados 20 insetos adultos não-sexados, com idade entre 7 e 14 dias. A mortalidade dos insetos foi avaliada diariamente, até o décimo dia após a infestação das unidades experimentais.

A emergência dos adultos foi avaliada diariamente, no período de 24 a 56 dias após a infestação dos adultos, contando-se e retirando-se os indivíduos à medida que emergiam. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com seis repetições para cada espécie vegetal, usando-se frascos plásticos (15 cm de altura e 5 cm de diâmetro). O mesmo procedimento foi adotado para a testemunha.

Para determinação do efeito dos pós-vegetais na repelência sobre os insetos, o delineamento experimental empregado foi o inteiramente casualizado, com seis repetições. Cada espécie vegetal foi testada isoladamente, usando-se uma arena constituída por cinco caixas plásticas circulares (6,1 cm de diâmetro e 2,1 cm de altura), tendo uma caixa central, interligada simetricamente às demais por estruturas cilíndricas plásticas.. Nos recipientes A e C foram colocadas 10 g de arroz, misturados com 0,3 g de pó da planta testada. Nos recipientes B e D (testemunhas), colocou-se apenas o substrato alimentar. No recipiente central (E) foram liberados 20 insetos adultos não-sexados, e após 24 horas, foi contado o número de insetos em cada recipiente.

Para as espécies vegetais que apresentaram maior bioatividade no ensaio de mortalidade, foi determinada a DL_{50} , através da análise de regressão, utilizando-se as doses de 0,15; 0,30; 0,42; 0,52 e 0,60 g.

Os dados obtidos para os experimentos de mortalidade, repelência e emergência de adultos foram analisados estatisticamente pelo teste Scott-Knott, em nível de 5% de probabilidade de erro. Para DL_{50} utilizou-se análise de regressão a 5% de probabilidade.

TABELA 2 Espécies, partes utilizadas, nomes comuns e famílias das plantas testadas para *Sitophilus oryzae*. Santa Maria-RS, 2007.

Espécies	Partes utilizadas	Nome comum	Família
<i>Piper nigrum</i> L.	Fruto	Pimenta-do-reino	Piperaceae
<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.	Folhas/Frutos	Erva de Santa Maria	Chenopodiaceae
<i>Nicotiana glauca</i> Graham	Folhas	Fumo-bravo	Solanaceae
<i>Nicotiana tabacum</i> L.	Folhas	Fumo	Solanaceae
<i>Corymbia citriodora</i> Hook.	Folhas	Eucalipto	Myrtaceae
<i>Trichillia catigua</i> A. Juss.	Folhas/ramos	Triquília	Meliaceae
<i>Melia azedarach</i> L.	Folhas/ frutos	Cinamomo	Meliaceae
<i>Mentha pulegium</i> L.	Folhas	Poejo	Lamiaceae
<i>Calopogonium caeruleum</i> Hemsl.	Folhas/ramos	Cipó-timbó	Fabaceae
<i>Ricinus communis</i> L.	Folhas/frutos	Mamona	Euphorbiaceae
<i>Ruta graveolens</i> L.	Folhas/ramos	Arruda	Rutaceae

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme pode ser observado na Tabela 3 e Anexo 4, os inseticidas sintéticos (100% de mortalidade) e, também o pó inerte (88,4%), foram altamente eficientes no controle de *Sitophilus oryzae*, na comparação com os pós-vegetais, diferindo significativamente destes. Dos onze pós-vegetais testados, *C. ambrosioides* apresentou a maior atividade inseticida (78,34%). A espécie que apresentou menor atividade inseticida foi *C. catigua* (9,17%), seguida por *R. communis* (17,5%) e *E. citriodora* (18,34%), sendo que estas duas últimas citadas, não diferiram estatisticamente entre si.

Os resultados obtidos para *C. ambrosioides* estão de acordo com os obtidos por Tavares (2002), Procópio & Vendramim (1995), Malik & Mujitaba (1984), Abdallah *et al.* (1988) e Su (1991). Trabalho conduzido por Procópio *et al.* (2003) obteve mortalidade total para adultos de *Sitophilus zeamais*, em grãos tratados com pó de *C. ambrosioides*. Esta planta também apresentou efeito tóxico sobre outras pragas de grãos armazenados, conforme foi observado por Mazzonetto (2002) para *Zabrotes subfasciatus* e *Acanthocelides obtectus*. O resultado obtido para *R. communis* discorda daquele encontrado por Niber *et al.* (1992), o qual relatou alta toxicidade dessa espécie em relação ao inseto estudado; e está de acordo com aqueles obtidos por Procópio *et al.* (2003). Os resultados encontrados no presente experimento para *C. caeruleum* assemelham-se aos obtidos por Almeida *et al.* (2005).

TABELA 3: Efeito de pós-vegetais, inseticidas, terra de diatomáceas e testemunha sobre a mortalidade (%) de insetos adultos de *Sitophylus oryzae* em grãos de arroz. Santa Maria, 2007.

Extratos vegetais	Médias
Pirimifós metil	100,0000 a
Deltametrina	100,0000 a
Terra de diatomáceas	88,3333 b
<i>Chenopodium ambrosioides</i>	78,3333 c
<i>Calopogonium caeruleus</i>	73,3333 d
<i>Piper nigrum</i>	71,6667 d
<i>Mentha pulegium</i>	69,1667 d
<i>Ruta graveolens</i>	68,3333 d
<i>Nicotiana glauca</i>	45,8333 e
<i>Nicotiana rustica</i>	43,3333 e
<i>Melia azedarach</i>	27,5000 f
<i>Corymbia citriodora</i>	18,33 g
<i>Ricinus communis</i>	17,50 g
<i>Trichillia catigua</i>	9,17 h
Testemunha	0,00 i

* Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de Scott-Knott, em nível de 5 % de probabilidade de erro.

Conforme pode ser observado na Tabela 4 e Anexo 4, *Corymbia citriodora* apresentou a maior atividade repelente (82,5%), diferindo estatisticamente dos demais tratamentos. Logo abaixo, aparecem as espécies *R. graveolens* (74,17%), *P. nigrum* (70,84%), e *M. pulegium*, as quais não diferiram estatisticamente entre si. As menores percentagens de insetos repelidos foram observadas para *T. catigua* (45%), *C. caeruleum* (45%), *M. azedarach* (47,5%), e *R. communis* (48,34%).

Mazzonetto & Vendramim (2003) obtiveram resultados semelhantes para *C. citriodora*, e *R. graveolens*. O efeito do pó de *C. citriodora* na repelência de *Sitophilus zeamais* já tinha sido mencionado por Santos *et al.* (1984) e Sharaby (1988). Resposta semelhante foi obtida por Procópio *et al.* (2003) para *Sitophilus zeamais*. Trabalho realizado por Lagunes e Rodriguez (1989) apresentou resultados discordantes. Mazzonetto (2002) encontrou resultados significativos, em relação a repelência provocada por *C. citriodora*, *M. pulegium* e *R. graveolens* para os insetos *Zabrotes subfasciatus* e *Acanthoscelides obtectus*.

As diferenças entre os resultados encontrados no presente trabalho, em relação a outros, pode ser explicada pelas condições ambientais, e pelo estágio de desenvolvimento das plantas no momento da coleta do material vegetal (folhas, frutos, ramos e sementes), sendo que esses fatores, muito provavelmente, tenham sido diferentes.

TABELA 4: Efeito da repelência, em porcentagem, de onze extratos vegetais sobre insetos adultos de *Sitophilus oryzae* em grãos de arroz, 24 horas após a infestação inicial. Santa Maria, 2007.

Extratos vegetais	Médias
<i>Corymbia citriodora</i>	82,5000 a
<i>Ruta graveolens</i>	74,1667 b
<i>Piper nigrum</i>	70,8333 b
<i>Mentha pulegium</i>	70,8333 b
<i>Nicotiana tabacum</i>	68,3333 c
<i>Nicotiana glauca</i>	66,6667 c
<i>Chenopodium ambrosioides</i>	51,6667 d
<i>Ricinus communis</i>	48,3333 e
<i>Melia azedarach</i>	47,5000 e
<i>Trichillia catigua</i>	45,0000 e
<i>Calopogonium caeruleum</i>	45,0000 e

* Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de Scott-Knott, em nível de 5 % de probabilidade de erro.

Em relação á emergência de adultos de *Sitophilus oryzae*, pode ser visto na Tabela 5 e Anexo 4, que os tratamentos apresentaram respostas muito semelhantes á testemunha. O único tratamento que diferiu dos demais foi *C. ambrosioides*, embora o número médio de adultos emergidos ainda tenha sido de 8,17 insetos. Trabalho conduzido por Procópio *et al.* (2003) constatou que a erva-santa-maria inibiu a emergência total dos adultos. Almeida *et al.* (2005) observaram que *C. caeruleum* apresentou-se eficiente no controle das fases imaturas de *Callosobruchus maculatus* em feijão vigna. Salles & Rech (1999) trabalhando com *Azadiracta indica* e *Melia azedarach* sobre *Anastrepha fraterculus*, constataram que ambas produziram insetos adultos deformados. Makanjuola (1989) trabalhando com *A.*

indica, verificou que os extratos testados reduziram a emergência de adultos de *S. zeamais* e *S. oryzae*.

TABELA 5: Efeito de onze extratos vegetais e testemunha sobre o número de insetos de *Sitophilus oryzae* emergidos de grãos de arroz tratados, após 15 dias da infestação inicial. Santa Maria, 2007.

Extratos vegetais	Médias	
<i>Trichillia catigua</i>	13,5000	a*
<i>Ricinus communis</i>	13,3333	a
Testemunha	13,1667	a
<i>Nicotiana glauca</i>	12,8333	a
<i>Melia azedarach</i>	12,3333	a
<i>Corymbia citriodora</i>	11,6667	b
<i>Mentha pulegium</i>	11,3333	b
<i>Nicotiana tabacum</i>	11,1667	b
<i>Calopogonium caeruleum</i>	11,0000	b
<i>Ruta graveolens</i>	10,5000	b
<i>Piper nigrum</i>	10,5000	b
<i>Chenopodium ambrosioides</i>	8,1667	c

* Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de Scott-Knott, em nível de 5 % de probabilidade de erro.

As diferenças nos resultados obtidos, em relação a outros trabalhos citados, podem ser explicadas pelo momento em que o material vegetal foi coletado, e pelas diferenças nas normais climatológicas, o que altera a produção de metabólitos pelas plantas, e conseqüentemente os extratos podem apresentar concentrações diferentes daquelas substâncias que possuem bioatividade sobre o inseto estudado.

No estudo da DL_{50} , o trabalho foi direcionado para as espécies vegetais que apresentaram os melhores resultados nos testes de mortalidade dos adultos de *S. oryzae*, as quais foram *C. ambrosioides* e *C. caeruleum*, embora esta última não tenha apresentado diferença estatística em relação à *Piper nigrum*, *Mentha pulegium* e *Ruta graveolens*. Para *C. ambrosioides* constatou-se mortalidade de 81,97; 68,00; e 39,99% nas dosagens de 0,6; 0,3 e 0,15 g de pó/20 g de arroz. Pela análise de regressão (figura 1 e Anexo 5), foi estimada que a DL_{50} , para esse tratamento é de 0.199 g de pó/ 20 g de grãos, sendo o ponto de máxima eficiência técnica obtido com a dose de 0,508 g/ 20 g de arroz.

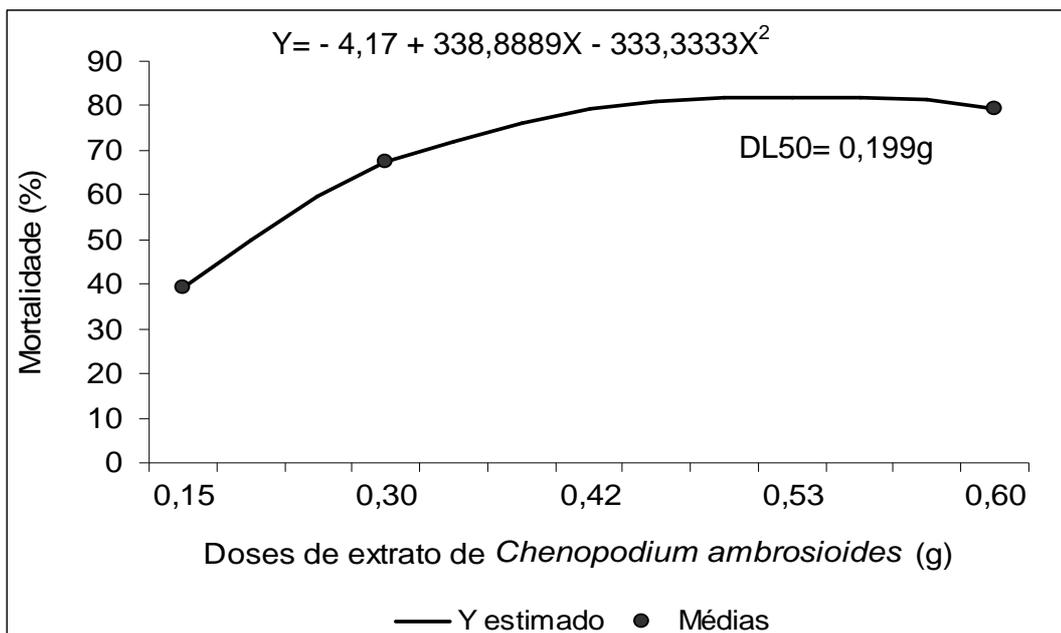


Figura 1: Efeito de diferentes doses de pó de *Chenopodium ambrosioides* na percentagem de mortalidade de insetos adultos de *Sitophilus oryzae*, não-sexados, em arroz, 10 dias após a infestação inicial. Santa Maria, 2007.

Para *C. caeruleum* constatou-se mortalidade de 29,79; 56,67; 75,28% nas dosagens de 0,15; 0,3 e 0,6 g de pó/ 20 g de arroz. Pela análise de regressão (figura 2 e Anexo 4), foi estimada que a DL₅₀, para esse tratamento é de 0,254 g de pó/ 20 g de grãos, sendo que o ponto de máxima eficiência técnica foi obtido com a dose de 0,54 g/ 20 g de arroz.

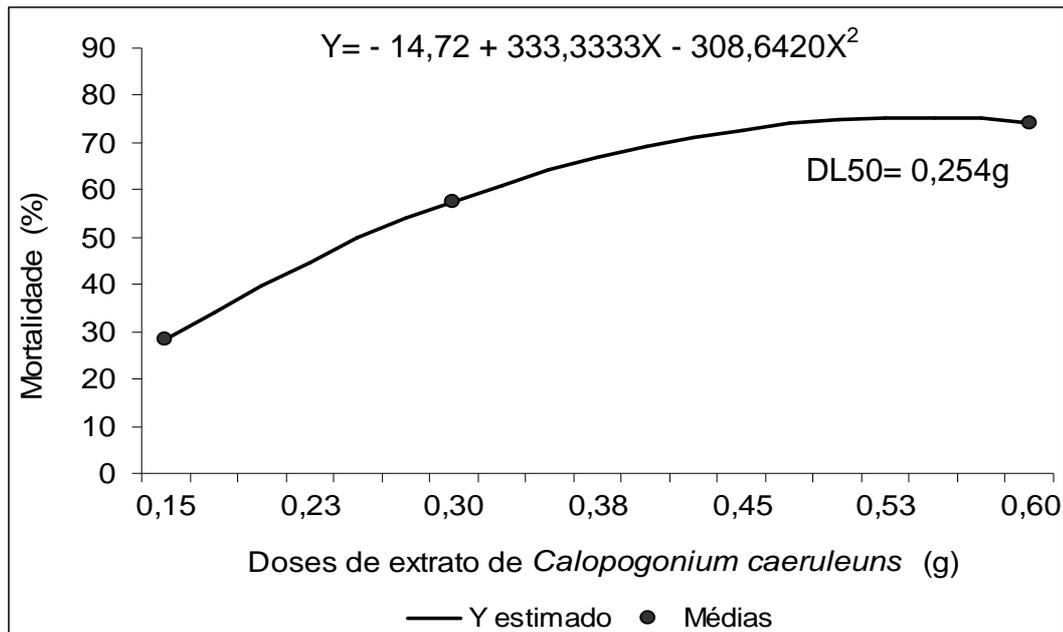


Figura 2: Efeito de diferentes doses de extrato de *Calopogonium caeruleus* na porcentagem de mortalidade de insetos adultos de *Sitophilus oryzae*, não-sexuados, em arroz, dez dias após a infestação inicial. Santa Maria, 2007.

CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos pelo presente trabalho, e para as condições em que o mesmo foi realizado, pode-se concluir que os inseticidas sintéticos e o pó inerte, apresentaram maior eficiência na mortalidade dos adultos de *S. oryzae*, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos, sendo que entre os extratos vegetais, o pó de *C. ambrosioides* causou a maior mortalidade dos adultos. Em relação à repelência, a espécie vegetal mais eficiente foi *C. citriodora*. No estudo da emergência de insetos adultos, os pós-vegetais apresentaram baixa eficiência, pois embora tenha havido diferença estatística entre os tratamentos, o número de insetos adultos foi elevado. A DL₅₀ estimada para *C. ambrosioides* foi de 0,199 g do pó/ 20 g de arroz, e para *C. caeruleum* foi de 0,254 g do pó/ 20 g de arroz.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDALLAH, M.D.; KANDIL, M.A.; FARAG, A.A. Bioactivity of plant extracts against *Sitophilus granarius* (L.) and *Tribolium castaneum* (Hbst.). **Bulletin of the Entomological Society to Egypt. Economic Series**, Cairo, v.15, p. 199-205, 1988.

ALMEIDA, A. A. Natureza dos danos causados por insetos em grãos armazenados. In: Congresso Brasileiro de Entomologia, 11, Campinas, 1987. **Anais...** Campinas: Fundação Cargill, v. 4, 1987, p. 16-32.

ALMEIDA, F. A. C.; SANTOS, N. R.; GOUVEIA, J. P. G.; ALMEIDA, S. A.; RODRIGUES, J. P. Emprego de extratos de origem vegetal no controle do gorgulho do milho. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, v. 30, n.1, p. 44-51, 2005.

ARAYA-GONZALEZ, J.A.; SANCHEZ-ARROYO, H.; LAGUNES-TEJEDA, A.; MOTA-SANCHEZ, D. Control de plagas de maiz e frijol almacenado mediante polvos minerales y vegetales. **Agrociência**, Concepcion, v.30, p. 223-231, 1996.

BANJO, A. D.; ODUTAYO, I. O.; OJERINDE, T. O. The use of some locally available plants parts of protectants of maize (*Zea mays*) grains against infestation of *Sitophilus zeamais*. **Crop Protection**, Guildford, v. 21, p. 208-213, 2001.

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

CHAKRABORTY, S. K.; GHOSE, S. K. Efficacy of some plant materials against the rice weevil *Sitophilus oryzae* (L.). **Environment and Ecology**, v.6, p. 833-839, 1988.

FARONI, L. R. A.; MOLIN, L.; ANDRADE, E. T.; CARDOSO, E. G. Utilização de produtos naturais no controle de *Acanthosceledes obtectus* em feijão armazenado. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, v. 20, p. 44-48, 1995.

LAGUNES, T. A.; RODRIGUEZ, H. C. **Busqueda de tecnologia apropiada para el combate de plagas del maíz almacenado en condiciones rústicas**. Chapingo: (s.n.), 1989, 150p.

MAKANJUOLA, W.A. Evaluation of extracts of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) for the control of some stored product pests. **Journal of Stored Products Reserch**, Elmsford, v. 25, p. 231-237, 1989.

MALIK, M. M.; MUJITABA, S. H. Screening of some indigenous plants as repellents or antifeedants for atored grain insects pests. **Journal of Stored Products Research**, Elmsford, v. 20, p. 41-44, 1984.

MAREDIA, 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.

MAZZONETO, F. **Efeito de genótipos de feijoeiro e de pós de origem vegetal sobre *Zabrotes subfasciatus* (BOH) e *Acanthoscelides obtectus* (SAY)(Col: Bruchidae)**. Piracicaba, 2002. 134p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Universidade de São Paulo.

MAZZONETTO, F.; VENDRAMIM, J. D. Efeito de pós de origem vegetal sobre *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleóptera: Bruchidae) em feijão armazenado. **Neotrop. Entomol.**, v. 32, n.1, p. 145-149, 2003.

NIBER, T.; HELENIUS, J.; VARIS, A.L. Toxicity of plant extract to three storage beetles (Coleóptera); **Journal Applied Entomology**, Hamburg, v.113, p.202-208, 1992.

PROCOPIO, S.O.; VENDRAMIM, J.D. Avaliação do potencial inseticida de diversos pós de origem vegetal para controle de *Sitophilus zeamais* Mots. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 15., Caxambu, 1995. **Anais**. Caxambu: SBE, 1995. 622p.

PROCÓPIO, S.O.; VENDRAMIM, J.D.; JÚNIOR, J.I.R.; SANTOS, J.B. Bioatividade de diversos pós de origem vegetal em relação a *Sitophilus zeamais* MOTTS. (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE). **Ciência Agrotecnica**, Lavras. V.27, n.6, p. 1231-1236, nov/dez., 2003.

REES, D. P. Coleóptera. In: Subramanyam, Hagstrum, D. W. (eds.) **Integrated management of insects in stored products**. New York: M. Dekker, 1996. p. 1-39.

RODRÍGUEZ, C. Receitas de nim *Azadirachta indica* (Meliaceae) contra plagas. In: SIMPOSIO NACIONAL SOBRE SUBSTANCIAS VEGETALES Y MINERALES EM

EL COMBATE DE PLAGAS, 5., 1999, Aguascalientes. **Memórias**. Aguascalientes: SME. 1999, p. 39-59.

SALLES, L. A.; RECH, N. L. Efeito de extratos de nim (*Azadirachtha indica*) e cinamomo (*Melia azedarach*) sobre *Anastrepha fraterculus* (WIED.) (DIPTERA: TEPHRITIDAE). **Revista Brasileira de Agrociência**, v.5, n.3, p. 225-227, 1999.

SANTOS, J. P.; CRUZ, I.; FONTES, R. A. **Armazenamento e controle de pragas**. Brasília: EMBRAPA/CNPMS, 1984. 30 p.

SHARABY, A. Evaluation of some Myrtaceae plant leaves as protectants against the infestation by *Sitophilus oryzae* L. and *Sitophilus granarius* L. **Institute of Science Applied**, v. 9, p. 465-468, 1988.

SU, H.C.F. Toxicity and repellency of *Chenopodium* oil to four species of stores products insects. **Journal of Entomological Science**, v.26, p.178-182, 1991.

TAVARES, M. A. G. C. **Bioatividade da erva-de-santa-maria, *Chenopodium ambrosioides* L. (Chenopodiaceae) em relação a *Sitophilus zeamais* Mots., 1855 (Col.: Curculionidae)** / Piracicaba, 2002, 59 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2002.

VIEIRA, P.C.; MAFEZOLI, J.; BIAVATTI, M.W. Inseticidas de origem vegetal. In: FERREIRA, J.T.B.; CORRÊA, A.G.; VIEIRA, P.C. **Produtos Naturais no Controle de Insetos**. São Carlos: EdUFSCar, 2001, 176 p.

3.3.2 CRESCIMENTO POPULACIONAL E QUANTIFICAÇÃO DE DANOS DE *Sitophilus oryzae* (LINNÉ, 1763) EM ARROZ¹

José Domingos Jacques Leão² & Ervandil Correa Costa³

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivos determinar os danos causados por *Sitophilus oryzae* em arroz (*Oryza sativa* L.), usando quatro populações de insetos adultos em amostras de 20 g de arroz em casca, e o crescimento populacional usando amostras de arroz com quatro teores de umidade. No primeiro experimento foram usadas as seguintes populações: 5; 10; 20 e 30 insetos/20 g de arroz, por um período de 120 dias. No segundo experimento utilizaram-se amostras de arroz com os seguintes teores de umidade: 10; 12; 14 e 16% de umidade (B.U.), onde cada amostra foi infestada com 16 casais de insetos. Os respectivos trabalhos foram conduzidos em laboratório, cuja temperatura variou de 20 a 30 ± 5°C. Cada tratamento constou de seis repetições com insetos adultos em 20 g de arroz em casca. Em relação aos danos causados, observou-se que o nível de dano aumentou de maneira linear com o aumento populacional, embora o consumo per capita tenha sido maior para a menor população. No estudo do crescimento populacional, constatou-se aumento da população de insetos com o aumento do teor de umidade dos grãos até determinado limite, e partir daí um decréscimo no crescimento populacional.

Palavras-chave: gorgulho; umidade dos grãos; perda de peso

ABSTRACT

This work also aimed to determine the damages caused by *Sitophilus oryzae* in rice (*Oryza sativa* L.) using four insect populations in 20g hulled rice samples and the populational growth at four grain moisture levels. The populations were: 5; 10; 20 and 30 insects/20g of rice for a time period of 120 days. In the second experiment, the samples had 10; 12; 14 and 16 of umidity and each was infested by 16 insect couples. The temperature inside the laboratory was maintained in the 20-30 ± 5°C

¹ Parte da tese de doutorado: Bioatividade de Extratos Vegetais no Controle de *Sitophilus oryzae* (LINNÉ, 1763) em arroz. UFSM. 2007;

² Eng. Agr. Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria, RS. E-mail: jacques13@smail.ufsm.br

³ Eng. Agr. Dr. Orientador – Professor – Departamento de Defesa Fitossanitária – Universidade Federal de Santa Maria – Santa Maria, RS. E-mail: eccosta@smail.ufsm.br

range and each treatment was replicated six times. And each experimental unit consisted of adult insects and 20 g of rice. It was observed that damage levels increased linearly with insect population although consumption *per capita* was higher at lower populations. There was an increase in insect population as grain moisture increased up to a certain limit and thereafter decreased.

KEY WORDS: weevil; grain of humidity; loss of weight

INTRODUÇÃO

Os insetos dos grãos armazenados apresentam características de acordo com o ambiente onde os grãos estão depositados. A massa de grãos proporciona alimento abundante para as pragas, proporcionando um ambiente relativamente homogêneo para a proliferação destas. Os grãos são ineficientes na condução de calor, e com isso protegem os insetos da influência letal da baixa temperatura, retêm calor produzido pelos insetos e microorganismos, auxiliando sua sobrevivência e o crescimento populacional. Bronswijk & Sinha (1971) observaram que trigo infestado por *Sitophilus* spp e *Cryptolestes ferrugineus* mostrou forte infecção por *Aspergillus versicolor* e *Penicillium* sp. A maior parte dos insetos, que infesta os grãos armazenados, se alimenta do endosperma na sua fase inicial e, num estágio posterior, ataca o embrião. O processo de alimentação causa uma considerável perda de peso, redução de nutrientes e reduz o poder germinativo (PUZZI, 1986). Estudo realizado por Gallo *et al.* (1988) cita danos de 10 a 15% provocados por *Sitophilus* spp. em arroz no Rio Grande do Sul, e relata ainda, que as pragas de grãos armazenados possuem características peculiares, que justificam sua importância, e o tratamento diferenciado que se deve impor no manejo destas pragas.

Os insetos que atacam os grãos armazenados pertencem à ordem Coleóptera (pequenos besouros, chamados popularmente de carunchos ou gorgulhos), e ordem Lepidóptera (pequenas mariposas ou traças). Apresentam em seu ciclo evolutivo uma metamorfose completa com quatro estágios distintos. O ovo é posto dentro ou sobre a superfície do grão. A larva representa o estágio compreendido entre a eclosão do ovo e a fase pupal, apresentando duas características bem definidas: alimentação e crescimento. No estágio de pupa o inseto sofre profundas mudanças, e é um período de repouso durante o qual, o

inseto adquire caracteres de adulto. A fase de inseto adulto tem como principal função a reprodução e disseminação da espécie (FARONI, 2000).

De acordo com Rosseto (1966), no Brasil, os insetos de maior importância para os grãos armazenados são: *Sitophilus oryzae*, *Sitophilus zeamais*, *Sitotroga cerealella*, *Araecerus fasciculatus*, *Acanthoscelides obtectus* e *Plodia interpunctella*. Mas, recentemente, *Rizopertha dominica*, devido a resistência ao inseticida malation e, principalmente a fosfina, tornou-se uma das principais pragas de grãos armazenados no Brasil (SARTORI *et al.*, 1990). No Rio Grande do Sul, *Sitophilus oryzae*, *Sitophilus zeamais*, e *Rizopertha dominica* estão entre os insetos de maior importância para os grãos armazenados, provocando perdas quantitativas e qualitativas. Essas três espécies de insetos são encontradas em todas as regiões quentes e tropicais do mundo e são pragas primárias de arroz armazenado, podendo infestar os grãos no campo, antes do armazenamento, por serem ótimos voadores. A faixa ideal de temperatura para o desenvolvimento dessas espécies ocorre na faixa de 26 a 30°C (PACHECO, 1995).

As pragas dos grãos armazenados retiram dos grãos a umidade necessária para os processos vitais. Por esse motivo o teor de umidade dos grãos torna-se um fator crítico para a sobrevivência do inseto em qualquer estágio do ciclo evolutivo, independentemente da temperatura do ambiente. Até certo ponto, o grau de umidade elevado favorece o rápido aumento da população daquelas pragas. De acordo com Puzzi (1986), para se obter um armazenamento altamente eficiente dos cereais, deve-se ter em vista, que o principal elemento reside no baixo teor de umidade, sendo que a elevação do teor de umidade dos grãos constitui o meio ideal para o desenvolvimento de insetos e microorganismos. Segundo Evans (1981), os ovos de *Sitophilus oryzae* raramente são colocados em grãos com teor de umidade inferior a 10,5% e tanto a duração do ciclo larval como a mortalidade dos estádios imaturos é aumentada em grãos com menos de 13% de umidade; a fecundidade é maior em grãos com 14 a 16% de umidade. As características psicrométricas da atmosfera intergranular pouco variam em um armazenamento, e a umidade do grão também pouco varia, portanto para esse sistema pode-se assumir condições Malthusianas, isto é, o crescimento populacional é geométrico porque não há, praticamente, limitações de alimento, de espaço, e climáticas (THRONE, 1995).

A presente pesquisa teve por objetivos, avaliar o crescimento populacional desse inseto em função de quatro teores de umidade dos grãos. Determinar os danos causados por quatro populações de *Sitophilus oryzae* em amostras de arroz.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Entomologia do Departamento de Defesa Fitossanitária da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), em Santa Maria, RS. Os insetos utilizados nesta pesquisa foram provenientes da criação estoque, mantida no próprio laboratório acima citado.

Para o experimento do crescimento populacional de *Sitophilus oryzae* em função do teor de umidade dos grãos, foram utilizados recipientes plásticos com capacidade para 500 ml, com tampa plástica perfurada para permitir as trocas gasosas com o ambiente, onde colocou-se 400 g de arroz com casca, e os quatro teores de umidade estudados foram: 10; 12; 14 e 16% de umidade (B.U.). A seguir, cada amostra foi infestada por 16 casais de insetos adultos, com idade de 4 a 8 dias. O delineamento experimental usado foi inteiramente casualizado com seis repetições, e os dados obtidos foram analisados estatisticamente pelo teste Tukey, em nível de 5% de probabilidade de erro. Os grãos usados foram obtidos em uma cerealista no município de Santa Maria e submetidos à expurgo, seis dias antes da infestação. Após 120 dias foi efetuada a contagem dos insetos presentes em cada amostra.

Para o experimento de danos, foram utilizados potes plásticos com capacidade para 500 ml, onde colocou-se 100 g de arroz com casca, teor de umidade de 13% (B.U.), e em seguida infestou-se as amostras com as populações a serem testadas: 5; 10; 20 e 30 insetos/100 g de arroz; tendo esses insetos idade de quatro a oito dias, e em seguida os recipientes foram fechados com tampas plásticas perfuradas, a fim de facilitar as trocas gasosas. O delineamento experimental empregado foi inteiramente casualizado, onde cada tratamento constou de seis repetições, e os dados obtidos foram analisados estatisticamente pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade de erro. Para correção do peso devido à variação das condições psicrométricas do ar atmosférico, e também para eliminar o efeito da quebra técnica do armazenamento, utilizaram-se seis recipientes contendo 100 g de arroz cada um deles, porém sem infestação de insetos, as quais foram mantidas nas mesmas condições dos grãos infestados, sendo que a referida

correção foi efetuada considerando-se a média desses seis recipientes. Os grãos usados foram submetidos a expurgo com fosfina, seis dias antes da infestação. Após 120 dias, os insetos foram retirados, e as amostras foram submetidas a pesagem.

As leituras de temperatura, realizadas nas amostras de grãos deste experimento, apresentaram temperaturas de 18,1°C a 18,7°C, em setembro, para a amostra com 10% de umidade, e de 28,6 a 29,8°C para a amostra com 16% de umidade. No mês de dezembro, as leituras das temperaturas foram 21,7°C a 22,5°C para os grãos com 10% de umidade, e de 32,9 a 35,2°C para os grãos com 16% de umidade.

Nas amostras de arroz, usadas para a avaliação de crescimento populacional, efetuou-se uma análise qualitativa da incidência de fungos, relacionada ao aumento do teor de umidade dos grãos. Utilizou-se a contagem do número de grãos que apresentaram incidência de fungos, em quatro repetições de 100 grãos, cada amostra.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 3 e Anexo 5, são apresentadas as contagens médias do número de insetos adultos, após 120 dias de armazenamento, em amostras de arroz com quatro teores de umidade. Verificou-se que o menor número de insetos, foi observado na amostra de grãos com teor de umidade de 10%, e que a densidade populacional aumentou para os teores de 12% e 14% de umidade, sendo que para 14% foi obtida a maior população de insetos. Para o teor de umidade de 16%, observou-se um decréscimo no número de insetos, na comparação com a umidade de 14%. De acordo com o teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade de erro, observa-se que houve diferença significativa entre os quatro tratamentos testados. Os resultados obtidos na presente pesquisa estão de acordo com aqueles encontrados por Cotton & Wilbur (1974), Puzzi (1977), Hagstrum (1992), Fields (1992), White & Lessch (1996) e Silva et al. (2006). Corroborando com os resultados obtidos por Sinha (1973), conforme a umidade dos grãos aumentou, e por conseqüência a temperatura, ocorreu uma diminuição dos insetos, e um aumento da ocorrência de *Penicillium* sp. e *Aspergillus* sp. Na presente pesquisa, assim como Bronswijk & Sinha (1972) já haviam observado, a presença de *Penicillium* sp é comum em todas as formas de armazenamento de grãos, mas o maior conteúdo de umidade facilitou o desenvolvimento do microorganismo. Relacionando os resultados

obtidos com as condições ideais de umidade e temperatura para o desenvolvimento de *Sitophilus oryzae*, citados por Pacheco (1995), pode-se afirmar que a umidade dos grãos é um fator muito importante no desenvolvimento dessa praga, uma vez que grãos com baixo teor de umidade dificultam a postura, e grãos úmidos alteram consideravelmente a temperatura da massa de grãos. Portanto, a redução populacional observada para o nível de 16% de umidade dos grãos pode ser explicada pelo aumento da temperatura observado, onde a temperatura dos grãos ficou acima de 31°C (limite superior da faixa ótima de temperatura); enquanto o baixo crescimento populacional, nos menores teores de umidade, também pode ser explicado pela ocorrência de temperaturas abaixo da temperatura de 27°C, a qual é considerada o limite inferior da faixa ótima de temperatura para esse inseto (EVANS, 1981).

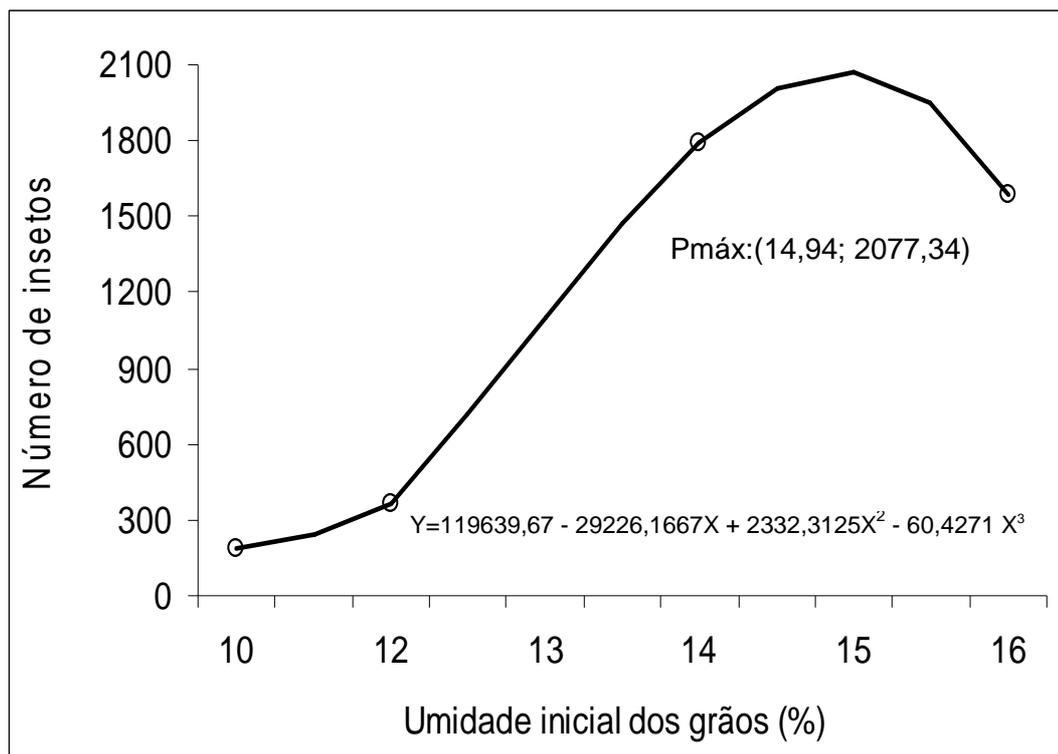


Figura 3: Efeito da variação dos teores de umidade inicial de grãos de arroz sobre o número de insetos de *Sitophilus oryzae* presentes em amostras de arroz, após 120 dias de armazenamento. Santa Maria, 2007.

Os fatores mais importantes no impedimento ou favorecimento das infestações de insetos nos grãos armazenados são: temperatura, teor de umidade

dos grãos, danos mecânicos e grau de impurezas. Cada espécie de inseto, ou de microorganismo, necessita de um conjunto de condições físicas do ecossistema (massa de grãos), para um desenvolvimento ótimo. À medida que as condições físicas desse meio distanciam-se da faixa ótima, todo ciclo biológico do inseto é afetado, e conseqüentemente, o crescimento populacional da espécie.

Nas Figuras 4 e Anexo 5, observa-se a porcentagem de perda de peso, devido aos danos causados por *Sitophilus oryzae*, nas amostras de arroz infestadas pelas quatro populações de insetos observadas, durante 120 dias. Observando os dados da Tabela 1, pode-se constatar que o dano aumentou de maneira diretamente proporcional ao aumento do número de insetos. Pelos resultados apresentados na referida tabela, verifica-se que a infestação com o menor número de insetos provocou uma redução no peso de grãos em 2,43%, sendo que essa redução no peso foi aumentando, até atingir 14,13% para a maior população de insetos. Puzzi (1986) trabalhando com arroz armazenado observou perdas significativas tanto quantitativas como qualitativas. Santos & Oliveira (1991) e também Smiderle & Belarmino (1993) observaram em arroz armazenado, não apenas reduções drásticas no peso, como também severas perda de qualidade nas sementes infestadas por insetos. Matioli & Almeida (1978) verificaram, em sementes de milho infestadas por *Sitophilus oryzae*, que o aumento da população de insetos reduziu o peso e o poder germinativo das sementes. Os resultados permitem observar um consumo diário de 0,0047 g/inseto para a população de 30 adultos; 0,0046 g/inseto para população de 20 adultos; 0,0048 g/ para população de 10 adultos e 0,0049 g/ inseto para a população de 5 adultos. Baseado nestes números verificou-se que o consumo *per capita* foi maior para a menor população, enquanto o consumo diminuiu para uma maior densidade populacional. Esses dados de consumo são importantes nos estudos de *Sitophilus oryzae*, devido ao fato desta praga apresentar canibalismo e somente uma larva alcança o estágio de pupa (PACHECO, 1995). No desenvolvimento de um programa de manejo de pragas em grãos armazenados, o conhecimento do consumo diário pode ser uma importante ferramenta para o estabelecimento dos parâmetros a serem adotados.

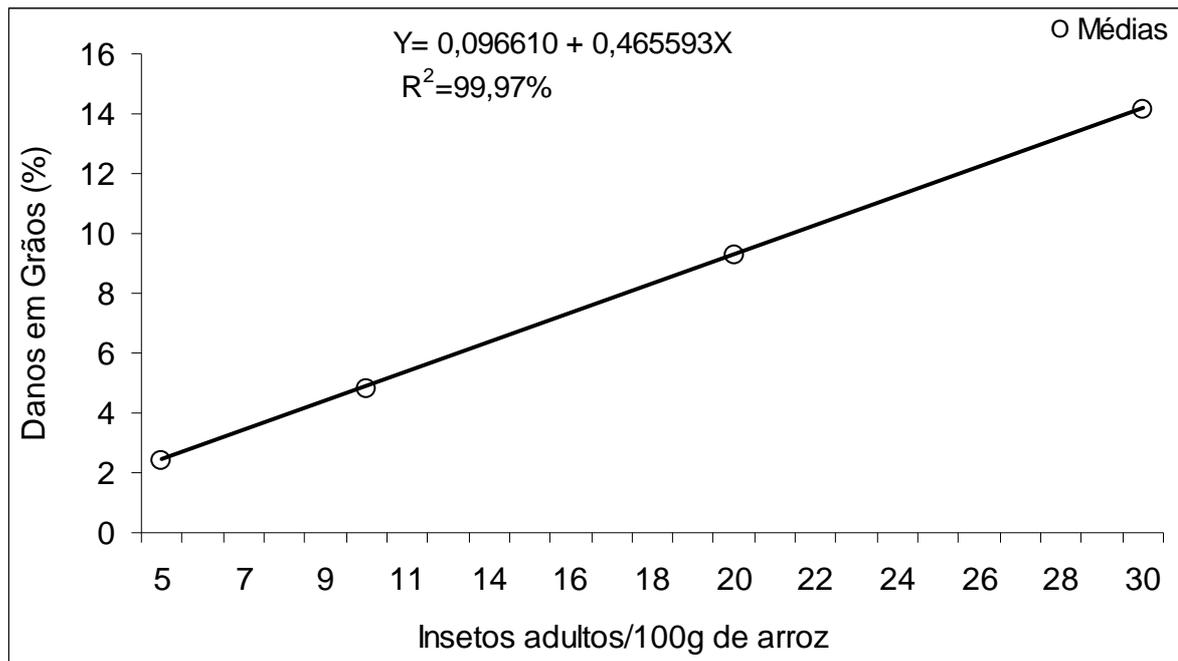


Figura 4: Efeito de quatro populações (5; 10; 20 e 30) de *Sitophilus oryzae* nos danos causados em amostras de arroz. Santa Maria, 2007.

CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos para crescimento populacional de *Sitophilus oryzae*, em função do teor de umidade dos grãos, e na avaliação da quantificação dos danos provocados por esse inseto, foi possível concluir que:

- O maior crescimento populacional ocorreu com teor de umidade dos grãos de 14,9% de umidade, enquanto o menor ocorreu com teor de umidade de 10%;
- O crescimento populacional aumentou de acordo com o aumento do teor de umidade, até 14,9%;
- O aumento do teor de umidade dos grãos proporcionou um aumento de fungos dos gêneros *Alternaria*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Phoma*, *Epiccocum*, *Aspergillus*, *Curvularia* e *Aspergillus*;
- A umidade dos grãos influi no crescimento populacional de *Sitophilus oryzae*;
- O aumento do nível de dano foi diretamente proporcional ao aumento da população;

- O estudo do dano causado pelas quatro populações de insetos permitiu estabelecer o consumo *per capita*, em cada uma das densidades populacionais;
- O consumo *per capita* foi maior nas menores populações.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRONSWIJK, J. E. M. H.; SINHA, R. N. Interrelations among physical, biological, and chemical variates in stored-grain ecosystems: a descriptive and multivariate study. **Ann. Entomol. Soc. Am.**, v.64, p. 785-803, 1971.

COTTON, R. T.; WILBUR, D. A. Insects-Storage of Cereal Grains and Their Products. American Association of Cereal Chemists – University of Minnesota. p. 193-231, 1974.

EVANS, D. E. The biology of stored products Coleoptera. In: **Proc. Aust. Dev. Asst.** Course on Preservation of Stored Cereals, 1981, p. 149-85.

FARONI, L. R. D. Fatores que influenciam a qualidade dos grãos armazenados. **Revista Brasileira de Armazenamento**, v.22, p. 44-48, 2000.

FIELDS, P. G. The control of stored-product insects and mites with extreme temperature. **Journal of Stored Products Research**. Oxford, v. 28, p. 89-118, 1992.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BATISTA, G. C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIN, J. D. **Manual de Entomologia Agrícola**. São Paulo, Agronômica Ceres, 1988. 649 p.

HAGSTRUM, D. W.; FLINN, P. W. Integrated pest management of stored-grain insects. In: Sauer, D. B. (ed.), **Storage of Cereal Grains and their Products**. St. Paul: American Association of Cereal Chemists, p. 535-562, 1992.

MATIOLI, J. C. & ALMEIDA, A. A.; Efeitos da infestação de *Sitophilus oryzae* sobre a germinação de sementes de milho armazenado. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, v.3, n.4, p. 15-18, 1978.

PACHECO, I. A. & PAULA, D. C. **Insetos de grãos armazenados – identificação e biologia**. Campinas, Fundação Cargill, 1995, 228 p.

PUZZI, D. **Abastecimento e armazenamento de grãos**. Campinas: Instituto Campineiro de Ensino Agrícola, 1986. 603 p.

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

SANTOS, J. P.; OLIVEIRA, A. C. Perda de peso em grãos armazenados, devido ao ataque de insetos. Sete Lagoas, Embrapa-CNPMS: 1991. 6 p. (**Comunicado técnico, 6**).

SARTORI, M. R.; PACHECO, I. A.; TAYLOR, R. W. D. Ocorrência e especificidade de resistência ao inseticida malation em insetos-pragas de grãos armazenados no Estado de São Paulo. **Coletânea do ITAL**, v. 20, n.2, p. 94-209, 1990.

SILVA, A. A. L.; FARONI, L. R. D. A.; GUEDES, R. N. C.; MARTINS, J. H.; PIMENTEL, M. A. G. Modelos analíticos do crescimento populacional de *Sitophilus zeamais* em trigo armazenado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 10, n.1, Campina Grande, mar. 2006.

SINHA, R. N. Ecology of storage. Ann. **Technol. Agric.**, Paris, v. p. 351-369, 1973.

SMIDERLE, O. J.; BELARMINO, L. C. Danos provocados por *Rhizopertha dominica* Fabr. 1792 em sementes de arroz irrigado armazenadas. In: REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 20., 1993, Pelotas. **Anais...Pelotas: Embrapa-CPACT**, 1993, p. 205 (Embrapa—CPACT. Documentos, 1).

THRONE, J. E. Computer modeling of the population dynamics of stored-product pests. In: **Stored-Grain Ecosystems**. New York: Marcel Dekker, 1995, p. 169-197.

WHITE, N. D. G.; LEESCH, J. G. Chemical control. In: SUBRAMAMYAN, B.; HAGSTRUM, D. **Intergrated manegement of insects in stored products**. New York: Marcel Dekkes, 1996. p. 287-330.

3.3.3 AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DE EXTRATOS AQUOSOS DE *Chenopodium ambrosioides* L. E *Calopogonium caeruleum* HEMSL. EM *Artemia salina* LEACH (ANOSTRACA, ARTEMIIDAE)¹

José Domingos Jacques Leão², Ervandil Correa Costa³, Eliza Beti de Cássia Stefanon⁴

RESUMO

Este experimento teve como objetivo testar a atividade tóxica de extratos aquosos de *Chenopodium ambrosioides* L. e *Calopogonium caeruleum* frente a *Artemia salina* Leach. Este microcrustáceo é utilizado como bioindicador de toxicidade de substâncias químicas, agrotóxicos, poluentes e outros produtos. Neste trabalho, os cistos de *Artemia salina* foram incubados em solução salina (35 ppm), a temperatura de 28°C, e em condições de saturação de O₂. Após 24 horas, os náuplios foram separados e incubados em solução salina por 24 horas nas mesmas condições anteriores. Em tubos de ensaio, dez larvas de metanáuplios, foram incubadas na presença dos extratos, em volume final de 5 ml (seis repetições) e mantidas por 24 horas no escuro, e temperatura de 25°C ± 1°C. As plantas coletadas na região de Santa Maria-RS, foram moídas e diluídas em água destilada, e os extratos filtrados. A CL₅₀ dos extratos de *Chenopodium ambrosioides* e *Calopogonium caeruleum* foi determinada, sendo de 1,76 mg/ml e 4,78 mg/ml, respectivamente.

Palavras-chave: microcrustáceo; extratos vegetais; bioindicador

ABSTRACT

Other experiment aimed to test the insecticide activity of aqueous extracts of *Chenopodium ambrosioides* (L). and *Calopogonium caeruleum* (Hemsl). compared to *Artemia salina*, Leach. This microcrustaceous is used as toxicity bioindicator of chemical substances, agrochemicals, pollutants and other products. Cysts of *Artemia salina* were incubated in a saline solution (35ppm) and 28°C temperature and O₂ saturation. After 24 hours the nauplii were separated and incubated in a saline

¹ Parte da tese de doutorado: Bioatividade de Extratos Vegetais no Controle de *Sitophilus oryzae* (LINNÉ, 1763) em arroz. UFSM. 2007;

² Eng. Agr. Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria, RS. E-mail: jacques13@smail.ufsm.br

³ Eng. Agr. Dr. Orientador – Professor – Departamento de Defesa Fitossanitária – Universidade Federal de Santa Maria – Santa Maria, RS. E-mail: eccosta@smail.ufsm.br

⁴ Farmacêutica, Prof^ª. MSc. Toxicologia – UNICRUZ – Cruz Alta, RS

solution for 24 hours under the same conditions. In glass tubes the metanauplii larvae were incubated in the presense of extracts and 5ml final volume(six replications) and mantained in dark for 24 hours at $25 \pm 1^\circ\text{C}$. The plants collected in the Santa Maria region were grinded and diluted in destiled water and the extracts filtred. The CL_{50} of *Chenopodium ambrosoides* and *Calopogonium caeruleum* was found to be 1.76 mg/ml and 4.78 mg/ml respectively.

KEY WORDS: microcrustaceous; plant extracts; bioindicator

INTRODUÇÃO

Artemia salina é um microcrustáceo da classe *Anostraca*, que vive em águas salinas e salobras de todo mundo. Possuem quatro estágios de desenvolvimento (ovo, náuplio, metanáuplio e adulto) e alguns mecanismos de adaptação que as tornam cosmopolitas, como a osmorregulação, a presença de pigmentos respiratórios como a hemoglobina e a disponibilidade de alternativas reprodutivas que facilitam a dispersão e a perpetuação da espécie (LOPES, 2005). Os bioensaios, realizados com este organismo, utilizam a CL_{50} (Concentração Letal 50%) como parâmetro de avaliação da atividade biológica (XAVIER, 2005).

Segundo Vendramin & Castiglioni (2000), o ressurgimento do interesse pelos inseticidas de origem vegetal originou-se da necessidade de buscar novas substâncias no controle de pragas, sem os problemas ambientais, resíduos em alimentos, efeitos nocivos sobre predadores e outros organismos úteis, retardando o aparecimento de resistência a inseticidas, comuns na utilização dos agrotóxicos convencionais.

Um grande número de plantas apresenta princípios ativos com potencial inseticida, dentre as quais *Chenopodium ambrosioides* e *Calopogonium caeruleum* destacam-se no controle de *Sitophilus oryzae* (ADDOR,1994).

A erva-de-santa-maria (*Chenopodium ambrosioides*, Fam. *Chenopodiaceae*) de acordo com Correa (1984), constitui-se em um inseticida doméstico usado para repelir pulgas e percevejos. Peterson *et al.* (1989) isolaram e caracterizaram compostos biologicamente ativos de extratos hexânico e etanólico de frutos da erva-de-santa-maria, com propriedades inseticidas sobre *Tribolium castaneum* e *Sitophilus oryzae*, sendo isoladas quatro frações de *C. ambrosioides* que demonstraram esta atividade. Procópio & Vendramim (1997), verificando a atividade inseticida de seis pós de origem vegetal em relação a *A. obtectus*, constataram que

Chenopodium ambrosioides ocasionou mortalidade de 100% dos insetos já no primeiro dia após o contato com o pó, não ocorrendo emergência de nenhum adulto.

O cipó-timbó (*Calopogonium caeruleum*, Fam. *Fabaceae*) é uma planta com atividade biológica, em função das mesmas produzirem uma classe de substâncias isoflavonóidicas relacionadas à rotenona, que possuem atividade piscicida e inseticida (INÁCIO, 1996). De acordo com Almeida (1987) os tratamentos de sementes de milho com *C. caeruleum* e *R. graveolens* demonstraram total eficiência no controle de adultos de *S. zeamais*.

Extratos vegetais são largamente utilizados por agricultores, nas mais diversas regiões do mundo, portanto, o estudo da letalidade destes extratos sobre bioindicadores (biomarcadores) como *Artemia salina*, é extremamente necessário. Convém ressaltar que, o termo bioindicador ou biomarcador é usado de forma ampla, incluindo qualquer medida que possa refletir a interação entre o sistema biológico e um agente ambiental, que pode ser químico, físico ou biológico. Pode ser definido como qualquer resposta biológica correspondente a uma exposição, efeito ou suscetibilidade dos indivíduos aos agentes químicos e/ou estressores ambientais, entretanto seu uso deve considerar os fatores éticos e sociais (AZEVEDO & CHASIN, 2003).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a toxicidade dos extratos vegetais de *Chenopodium ambrosioides* e *Calopogonium caeruleum*, utilizando-se larvas de *Artemia salina* Leach.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Entomologia do Departamento de Defesa Fitossanitária (UFMS).

Em um recipiente plástico (aquário), os cistos de *Artemia salina* (10 mg/100 ml) adquiridos no comércio local, foram incubados em solução marinha sintética (60g sal marinho/litro água destilada), sob aquecimento artificial (aquecedor de 8W), temperatura constante de 28°C, e estado de saturação de oxigênio, obtido com o auxílio de uma bomba de ar conectada ao fundo do recipiente. Após 24 horas, a válvula de oxigênio foi fechada e a bomba desligada. O aquário foi recoberto por papel alumínio deixando-se um pequeno espaço descoberto no fundo, onde foi iluminado. Como as larvas (náuplio) têm afinidade pela luz, ou seja, apresentam

fototropismo positivo, foi possível separá-las dos cistos, abrindo-se a válvula de controle de oxigênio. As mesmas foram colocadas em um becker contendo solução marinha sintética (100 ml) e mantidas em incubação por mais 24 horas, nas mesmas condições de luz e temperatura acima mencionadas. Após essa fase, obtém-se tão somente o estágio de metanúplio.

Foram utilizados extratos de *C. ambrosioides* (folhas, frutos e ramos) e *C. caeruleum* (folhas e ramos), coletadas na região de Santa Maria-RS, sendo as excicatas armazenadas no herbáreo da UFSM. As plantas foram moídas e maceradas em água destilada e, o extrato obtido foi filtrado.

O bioensaio envolvendo *Artemia salina* consiste em avaliar a exposição de um determinado composto frente a esse microcrustáceo. A análise é feita mediante o cálculo da Concentração Letal Média (CL₅₀), ou seja, a concentração que dizima metade de uma população (DOLABELA, 1997).

O efeito tóxico dos extratos naturais foi testado, empregando-se cinco concentrações para cada uma das plantas testadas. Essa solução foi aplicada em tubos de ensaio, onde também foram colocadas 10 larvas de *Artemia salina*, em volume final de 5 ml. O tratamento-controle continha somente água e as larvas. Os tubos contendo o grupo controle e tratamentos foram incubados no escuro a 25°C, sendo feita após 24 horas a leitura do número de indivíduos sobreviventes. Os valores da CL₅₀ (24h) foram calculados de acordo com a curva obtida pela análise de regressão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos extratos vegetais investigados, neste experimento, *C. ambrosioides* apresentou CL₅₀ de 1,76 mg/ml, enquanto para *C. caeruleum* a CL₅₀ foi de 4,78 mg/ml. Portanto, fica bem evidenciada a maior toxicidade do extrato de *C. ambrosioides*, em relação a *C. caeruleum* (Figuras 5 e 6 e Anexo 6).

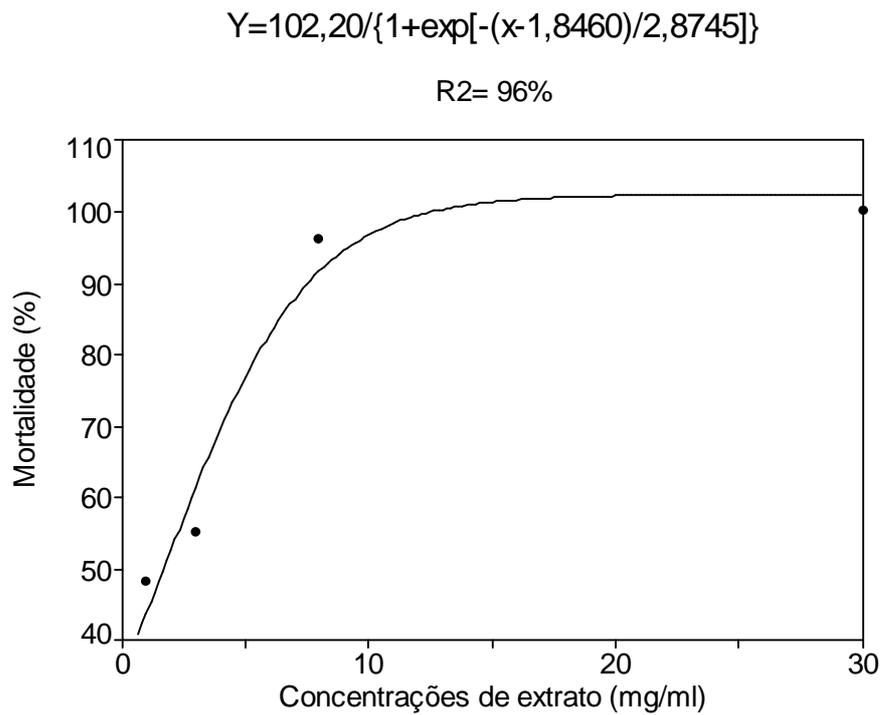


Figura 5: Toxicidade de diferentes concentrações do extrato de *Chenopodium ambrosioides* na percentagem de mortalidade de *Artemia salina*. Santa Maria, 2007.

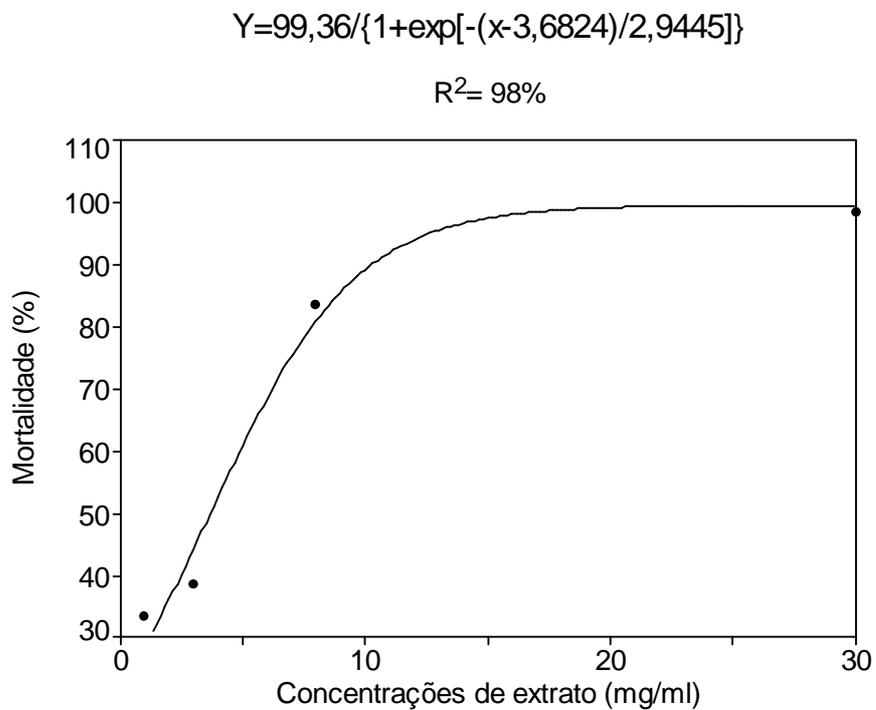


Figura 6: Toxicidade de diferentes concentrações do extrato de *Calopogonium caeruleum* na percentagem de mortalidade de *Artemia salina*. Santa Maria, 2007.

Trabalho realizado por Lopes (2005) apresentou as seguintes toxicidades para as espécies testadas: *Casearia grandiflora* (CL₅₀: 0,4 mg/ml), *Mandevilla velutina* (CL₅₀: 3,6 mg/ml) e *Moringa oleifera* (CL₅₀: 4,0 mg/ml). Jamal (1998) determinaram a toxicidade de *Casearia sylvestris* com CL₅₀: 10,7 mg/ml.

Embora as espécies vegetais testadas não sejam as mesmas, é possível perceber, a partir da análise dos resultados, a adequação dessa metodologia aos objetivos pretendidos. Esse bioensaio se caracteriza por ser de baixo custo, rápido e não exigir técnicas assépticas. A técnica baseia-se no princípio da toxicidade, que as substâncias bioativas apresentam nas diferentes doses testadas, sobre a letalidade das larvas de *Artemia salina* (INÁCIO, 1996).

Na comparação dos efeitos provocados, pelos extratos (pós) obtidos das duas plantas testadas sobre *Sitophilus oryzae*, e sobre *Artemia salina*, pode-se verificar que, em ambas as situações, *Chenopodium ambrosioides* apresentou maior bioatividade.

No presente trabalho, não foram usados solventes juntamente com os extratos vegetais. A justificativa para esse procedimento diferencial em relação a grande maioria dos trabalhos existentes, foi eliminar possíveis substâncias que pudessem provocar mortalidade nas larvas do crustáceo, que não fossem àquelas presentes nos extratos das plantas em estudo.

Foram testadas várias soluções, ocorrendo baixa eclosão dos cistos na maioria delas. Os melhores resultados foram obtidos com a solução descrita por Meyer (1982), que consiste em utilizar sal marinho sintético e cistos de alta eclosão. Mantendo condições adequadas de temperatura, oxigenação e iluminação, foi possível reproduzir as condições ambientais ótimas para *Artemia salina*, e dessa maneira, obter-se altos índices de eclosão e sobrevivência das larvas.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos, nas condições em que o experimento foi conduzido, permitem concluir que:

- Os extratos vegetais testados exibiram diferente grau de toxicidade, provavelmente relacionado à composição química das substâncias biologicamente ativas, em cada espécie vegetal;

- A avaliação da atividade citotóxica frente às larvas de *Artemia salina* revelou o extrato de *Chenopodium ambrosioides*, como sendo bastante ativo;
- O extrato de *Calopogonium caeruleum* apresentou menor bioatividade frente ao bioindicador;
- *Artemia salina* se apresentou como excelente bioindicador de toxicidade, além de constituir um teste relativamente simples, rápido e de baixo custo;
- É necessária a realização desse tipo de teste para um maior número de espécies vegetais, e dessa forma estabelecerem-se padrões confiáveis, e uma escala de toxicidade adequada para os estudos de controle de insetos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADDOR, R. W. Insecticides. In: GODFREY, C. R. A. (ed.). **Agrochemical from natural products**. New York: Marcel Dekker, 1994, p.1.

ALMEIDA, F.A.C. Efeitos de extratos alcoólicos de plantas sobre o caruncho do feijão vigna (*Callosobruchus maculatus*). **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.9, n.4, p.585-590, 2005. Campina Grande, PB, DEAG/UFCG.

AZEVEDO, F.A., CHASIN, A.A.M. **As bases toxicológicas da ecotoxicologia**. São Carlos: RiMa, 2003. São Paulo: 340p.

BAIRD, Colin. **Química ambiental**. 2.ed. Porto Alegre: Bookman, 2002. 622 p.

CORREA, M.P. **Dicionário das Plantas Úteis e das Exóticas Cultivadas**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, 1984. v.4.

DOLABELA, M.F. **Triagem in vitro para a atividade antitumoral e anti-*T.cruzi* de extratos vegetais, produtos naturais e substâncias sintéticas**. 1997. 128 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. 1997.

INÁCIO, M.V.de S. Avaliação da Citotoxicidade e Modificação Estrutural de Rotenóides Isolados da Espécie *Derris urucu*. In: 29º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 1996, Caxambu. **Livro de resumos**, 463 p, p.87.

JAMAL, C.M. A toxicidade de extratos de *Abatia tomentosa* Mart. e *Casearia sylvestris* SW. (Flacourtiaceae) frente *Artemia salina*. In: **XV SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL**. 1998, Águas de Lindóia-SP, Livro de resumos, 227p, p.71.

LOPES, W. Desenvolvimento de um método alternativo ao uso de animais de laboratório para avaliação da toxicidade de extratos vegetais. In: **XIV CONGRESSO BRASILEIRO DE TOXICOLOGIA**. 2005, Recife, Pernambuco, Livro de resumos, 341p, p.92.

MEYER, B.N. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta Médica**, v.45, p.35-34, 1982.

PETERSON, G.S. Isolation and characterization of biologically active compounds from some plants extracts. **Pesticide Science**, v.25, n.4, p.337-342, 1989.

PROCÓPIO, S.O.; VENDRAMIM, J.D. Avaliação da atividade inseticida de diversos pós de origem vegetal em relação a *Acanthoscelides obtectus* (Say). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA,16., Salvador, 1997. **Resumos**. Salvador: SBE, 1997. p.326.

VENDRAMIM, J.D., CASTIGLIONI, E. Aleloquímicos, resistência de plantas e plantas inseticidas, In: **Bases e Técnicas do Manejo de Insetos**. Ed. Pallotti, Santa Maria, p.113-128, 2000.

XAVIER, J. O controle de pragas agrícolas e a sustentabilidade ecológica. **Ciência e Ambiente**. Santa Maria, v.27, n.2, 2005, p. 67-84.

3.3.4 INVESTIGAÇÃO TOXICOLÓGICA DO EXTRATO AQUOSO DE *Chenopodium ambrosioides* L. E *Calopogonium caeruleum* HEMSL. E ANÁLISE DOS PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E HISTOPATOLÓGICOS EM RATOS WISTAR¹

José Domingos Jacques Leão², Ervandil Correa Costa³, Eliza Beti de Cássia Stefanon⁴

RESUMO

O *Chenopodium ambrosioides* (erva-de-santa-maria) e o *Calopogonium caeruleum* (cipó-timbó) são plantas com atividade inseticida. O objetivo deste trabalho foi analisar os parâmetros bioquímicos e histológicos em ratos wistar frente ao extrato aquoso, das espécies vegetais acima citadas, por via oral. Foram utilizados oito ratos albinos Wistar (peso entre 150-200 g) de ambos os sexos, para cada tratamento. O grupo controle recebeu solução fisiológica. Os testes de uréia, creatinina, transaminase glutâmico oxalacética (TGO) e transaminase glutâmico pirúvica (TGP), foram realizadas através de aparelho automatizado Cobas Micra Plus. Os resultados foram avaliados estatisticamente pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade de erro. Para *C. ambrosioides*, somente o grupo dos machos não apresentou diferença estatística para creatinina, enquanto que, para todos os outros parâmetros houve diferenças entre os grupos tratados e o controle. O *C. caeruleum* apresentou diferenças estatísticas para creatinina, TGO e TGP, em ambos os sexos, com exceção da uréia no grupo das fêmeas. Nos resultados dos estudos histopatológicos, o extrato de *C. ambrosioides* de ambas concentrações, nos machos provocou discreta tumefação celular hepática, já com *C. caeruleum* em 9 %, nos machos, verificou-se discreta esclerose glomerular e discreta tumefação celular hepática no grupo das fêmeas.

Palavras-chave: toxicidade; extratos vegetais; roedores

ABSTRACT

¹ Parte da tese de doutorado: Bioatividade de Extratos Vegetais no Controle de *Sitophilus oryzae* (LINNÉ, 1763) em arroz. UFSM. 2007;

² Eng. Agr. Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria, RS. E-mail: jacques13@smail.ufsm.br

³ Eng. Agr. Dr. Orientador – Professor – Departamento de Defesa Fitossanitária – Universidade Federal de Santa Maria – Santa Maria, RS. E-mail: eccosta@smail.ufsm.br

⁴ Farmacêutica, Prof^a. MSc. Toxicologia – UNICRUZ – Cruz Alta, RS

The *Chenopodium ambrosoides* (erva-de-santa-maria) and the *Calopogonium caeruleum* (cipó-timbó) are plants with insecticidal activity. The objective of this work was to analyze the parameters biochemists and histological in rats to wistar front to the watery extract for saw verbal. 8 albino rats Wistar (weight between 150-200g) of both had been used the sexes, for each treatment. The group control received solution physiological. The urea tests, creatinina, transaminase Glutâmico Oxalacética (TGO) and transaminase Glutâmico Pirúvica (TGP), had been carried through automatized device Cobas Micra Plus. The results had been evaluated statistical by the test of Tukey, in level of 5% of error probability. For *C. ambrosioides*, the group of the males did not only present difference statistics for creatinina, whereas, for all the other parameters had differences between the treat groups and the control. The *C. caeruleum* presented statistical differences for creatinina, TGO and TGP, in both the sexes, with exception of the urea in the group of the females. In the results of the histopathological studies, the extract of *C. ambrosoides* of both concentrations, in the males provoked discrete liver cellular swollen, already with *C. caeruleum* 9%, in the males, verified discrete sclerosis to glomerular and discrete liver cellular swollen in the group of the females.

KEY WORDS: toxicity; plant extracts; rodent

INTRODUÇÃO

O *Chenopodium ambrosoides* (erva-de-santa-maria), família Chenopodiaceae, é uma erva anual de odor característico rançoso. Cresce em terrenos ricos em nitratos, e pode atingir de 20 a 40 cm de altura. Todas as partes da planta contêm óleo essencial, a quenopodina, que parece ser responsável pelos efeitos tóxicos. A utilização dessa planta pela população de baixa renda, e as múltiplas utilidades que lhe são atribuídas, estimularam estudos sobre a diversidade genética dessa espécie, bem como os metabólitos produzidos por esse vegetal (SANTOS & CORRÊA, 2006). O consumo de doses excessivas do óleo de quenopódio pode provocar intoxicações, às vezes, graves (SCHVARTSMAN, 1992).

O *C. ambrosioides* apresenta ampla distribuição pelo mundo, é utilizada como febrífugo, antiespasmódico, tônico, auxiliar da digestão, anti-reumático, sendo considerada pela Organização Mundial da Saúde como umas das espécies mais utilizadas entre os remédios populares no mundo (LORENZI & MATOS, 2002). Apesar uso popular como anti-helmíntico a erva-de-santa-maria, possui

propriedades emenagogas, abortivas e alta toxicidade segundo a literatura (ALONSO, 1998; COSTA & TAVARES, 2006; DIARIO OFICIAL RJ, 2002) e por isso deve ser utilizada com cautela.

O *Calopogonium caeruleum*, família Fabaceae, conhecido popularmente como cipó-timbó, é uma planta com atividade inseticida, em função das mesmas produzirem uma classe de substâncias isoflavonóidicas relacionadas à rotenona, que apresenta atividade piscicida e inseticida (INÁCIO, 1996).

A utilização de plantas inseticidas como método alternativo de controle de pragas, não é uma técnica recente e seu uso é comum, sobretudo em países tropicais (ALMEIDA et al., 2005). As pesquisas atuais e o conhecimento dos prejuízos advindos do uso indiscriminado de inseticidas, associados à preocupação dos consumidores quanto à qualidade dos alimentos, têm incentivado estudos de inseticidas naturais de origem vegetal (TAVARES, 2002). E como estas duas espécies estão sendo utilizadas como inseticidas naturais, o presente trabalho busca verificar maiores informações científicas a respeito da toxicidade destas plantas.

MATERIAL E MÉTODOS

As plantas de *Chenopodium ambrosioides* (ES) e *Calopogonium caeruleum* (T) foram coletadas no mês de dezembro, no município de Santa Maria-RS, e identificadas no herbário da UFSM. Posteriormente, foram secadas em estufas a 40°C, e moídas em moinho e armazenadas em frascos âmbar, sob a forma de pó, no Laboratório de Entomologia do Departamento de Defesa Fitossanitária – UFSM.

Foram preparados extratos aquosos (EA), a 9% e 18% com os pós das plantas em estudo, sendo usadas folhas, ramos e frutos de *C. ambrosioides*, e folhas e ramos de *C. caeruleum*. Diluindo-se com água destilada, em becker, e colocando-se em Ultrasonic por cinco minutos para homogeneização do extrato. Após o uso do Ultrasonic, deixou-se o extrato decantar e retirou-se o extrato sobrenadante.

Utilizaram-se ratos albinos Wistar (peso entre 150-200 g) de ambos os sexos, obtidos no biotério da Universidade de Cruz Alta sob condições adequadas. Estes foram mantidos à temperatura ambiente de 25°C, e ração e água *ad libitum*. O ensaio biológico foi conduzido conforme normas do conselho de ética da Universidade Federal de Santa Maria.

O ensaio toxicológico foi conduzido conforme Akindahunai & Olaleye (2003), e Brito (1994), adaptando-se as técnicas. Os animais foram separados em grupos de

quatro machos e quatro fêmeas, para cada concentração de extrato a ser administrado. O grupo controle recebeu solução fisiológica via oral, para comparação com os animais do tratamento. Os extratos foram administrados com os animais em jejum por três horas, e após foram administradas doses de extrato aquoso a 9% e 18%, através de sonda nasogástrica. Os grupos receberam somente uma dose, em mL/Kg de peso do animal, de extrato no dia, e após 24 horas, foram coletadas amostras de sangue, através de capilar da via ocular. Após, foi realizada a necrópsia, retirando-se os rins e o fígado para análise histológica. Os testes de uréia e creatinina, transaminase glutâmico oxalacética (TGO) e transaminase glutâmico pirúvica (TGP), foram realizadas em triplicata, através de aparelho automatizado COBAS MICRA PLUS (Roche).

Para investigação histopatológica, realizou-se a necrópsia e retirou-se o fígado e o rim, os quais foram acondicionados em formol, até o momento da análise histopatológica. Estas amostras foram fixadas em formol a 10%, incluídas em parafina, cortadas a cinco micras e coradas por hematoxilina-eosina.

Os valores obtidos foram analisados pelo teste Tukey, em nível de 5% de probabilidade de erro.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após administração, pela via oral, do extrato de *C. ambrosioides* e *C. caeruleum*, os animais não apresentaram nenhum sinal de toxicidade. O jejum foi mantido por uma hora, e após receberam ração e água *ad libitum*. Nas 24 horas depois da administração do EA, coletou-se sangue e realizou-se a necrópsia retirando-se o fígado e os rins.

Os resultados da investigação toxicológica para *C. ambrosioides* e *C. caeruleum* apresentaram diferenças estatisticamente significativas nos resultados da transaminase glutâmico oxalacética (TGO) e transaminase glutâmico pirúvica (TGP) em ambos os sexos, que receberam o extrato na concentração de 18% e 9% em comparação com o grupo controle, conforme mostram as Tabelas 6 e 7; e Anexo 7.

Quando as enzimas TGO e TGP estiverem elevadas é indicativo de que pode ter ocorrido algum dano hepático (LEHNINGER, 2006; BURTIS & ASHWOOD, 1998; PARCIONIK, 1990). *C. ambrosioides* foi retirada da farmacopéia brasileira devido a sua capacidade de provocar problemas renais e hepáticos. A toxicidade é causada por um monoterpene constituinte de seu óleo essencial denominado

ascaridol (Souza, 1991). Apesar da intensa utilização a espécie foi retirada da Farmacopéia Brasileira devido a sua toxidez, podendo causar convulsões, irritação de mucosas, vômitos, vertigens, torpor, dores de cabeça, problemas renais e hepáticos e surdez temporária (COSTA & TAVARES, 2006).

Não houve diferença significativa na análise da uréia no grupo das fêmeas, em relação ao grupo controle, em se tratando do extrato do *C. caeruleum*. Entretanto, as fêmeas que receberam o EA do *C. ambrosioides*, apresentaram diferença estatística significativa nos resultados da uréia, quando comparadas com o grupo controle. O grupo dos machos apresentou diferenças estatísticas significativas para os dois extratos com relação à uréia, com exceção do grupo que foi tratado com *C. ambrosioides* a 9%, o qual não apresentou significado estatístico.

TABELA 6: Média dos valores bioquímicos encontrados no soro de ratos albinos fêmeas após tratamento com extrato aquoso do *Chenopodium ambrosioides* e *Calopogonium caeruleum*. Santa Maria, 2007.

Tratamentos ratos fêmeas	Índices bioquímicos			
	Uréia (mg/dl)	Creatinina (mg/dl)	TGO (U/l)	TGP (U/l)
Erva de Santa Maria 9%	43,6667 a	0,43333 a	218,0000 b	60,0000 b
Erva de Santa Maria 18%	42,6667 ab	0,41667 a	282,5000 a	82,0000 a
Timbó 18%	39,6667 bc	0,23333 b	205,3333 bc	49,0000cd
Controle	39,3333 bc	0,23333 b	191,0000 c	47,6667 d
Timbó 9%	38,6667 c	0,33333 a	218,3333 b	55,0000 bc

* Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de Tukey, em nível de 5 % de probabilidade de erro.

Com relação a Creatinina o tratamento para fêmeas (Tabela 6), com *C. ambrosioides* apresentou diferença significativa entre os tratamentos, enquanto que para os machos não houveram diferenças significativas. Entretanto, o tratamento com o EA de *C. caeruleum* (Tabela 7), apresentou diferença significativa para ambos os sexos quando comparado com o grupo controle. Alterações em relação a uréia e creatinina sugerem alterações renais (BURTIS & ASHWOOD, 1998).

TABELA 7: Média dos valores bioquímicos encontrados no soro de ratos albinos machos após tratamento com extrato aquoso do *Chenopodium ambrosioides* e *Calopogonium caeruleum*. Santa Maria, 2007.

Tratamentos ratos fêmeas	Índices bioquímicos			
	Uréia (mg/dl)	Creatinina (mg/dl)	TGO (U/l)	TGP (U/l)
Erva de Santa Maria 9%	43,0000 c	0,2500 a	210,5000 bc	62,3333 b
Erva de Santa Maria 18%	54,5000 a	0,2667 a	240,6667 a	85,1667 a
Timbó 18%	50,6667 a	0,3000 a	233,3333 ab	74,6667 ab
Controle	45,6667 bc	0,2667 a	187,6667 c	33,3333 c
Timbó 9%	50,0000 ab	0,2333 a	247,0000 a	32,0000 c

* Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem significativamente pelo teste de Tukey, em nível de 5 % de probabilidade de erro.

Os estudos histopatológicos, do fígado e rim, de ambos os sexos dos ratos wistar, foram realizados comparando com o grupo controle, conforme mostram as Tabelas 8 e 9 (Anexo 7).

TABELA 8 Análise histológica de ratos albinos Wistar machos após 24 horas de administração via oral do extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides* e *Calopogonium caeruleum*.

Tratamento ratos wistar machos	Fígado	Rins
Grupo controle de machos	Características Histopatológicas normais	Características Histopatológicas normais
<i>Chenopodium ambrosioides</i> 9%	Discreta tumefação celular	Não foram observadas alterações microscópicas
<i>Chenopodium ambrosioides</i> 18%	Discreta tumefação celular	Não foram observadas alterações microscópicas
<i>Calopogonium caeruleum</i> 9%	Não foram observadas alterações microscópicas	Discreta esclerose glomerular
<i>Calopogonium caeruleum</i> 18 %	Não foram observadas alterações microscópicas	Não foram observadas alterações microscópicas

TABELA 9 Análise histológica de ratos albinos Wistar fêmeas após 24 horas de administração via oral do extrato aquoso de *Chenopodium ambrosioides* e *Calopogonium caeruleum*

Tratamento ratos wistar fêmeas		Fígado	Rins
Grupo controle fêmeas	de	Características Histopatológicas normais	Características Histopatológicas normais
<i>Chenopodium ambrosioides</i> 9%		Não foram observadas alterações microscópicas	Não foram observadas alterações microscópicas
<i>Chenopodium ambrosioides</i> 18%		Não foram observadas alterações microscópicas	Não foram observadas alterações microscópicas
<i>Calopogonium caeruleum</i> 9%		Há discreta tumefação celular	Não foram observadas alterações microscópicas
<i>Calopogonium caeruleum</i> 18 %		Não foram observadas alterações microscópicas	Não foram observadas alterações microscópicas

CONCLUSÕES

Os estudos histopatológicos demonstraram que nos machos, tratados com extrato de erva-santa-maria a 18%, o fígado apresentou uma discreta tumefação celular, e com o extrato de timbó a 9% nos rins verificou-se uma discreta esclerose glomerular. A análise histopatológica do fígado, dos ratos fêmeas que receberam timbó a 9%, mostrou uma discreta tumefação celular. O grupo controle não apresentou alterações histopatológicas. Estas alterações demonstram que o extrato das plantas em estudo, apresenta potencial para provocar injúrias no tecido hepático e renal, mesmo em concentrações baixas.

REFERÊNCIAS

- AKINDAHUNSI, A. A.; OLALEYE, M. T. Toxicological investigation of aqueous-methanolic extract of the calyces of *Hibiscus sabdariffa* L. **Journal of ethnopharmacology**, 89 (2003), 161-164, 2003.
- ALMEIDA, F. de A. C., ALMEIDA, S. A. de, SANTOS, N. R. Efeitos de extratos alcoólicos de plantas sobre o caruncho do feijão vigna (*Callosobruchus maculatus*). **Rev. bras. eng. agríc. ambient.**, vol. 9, nº.4, Campina Grande, Oct./Dec. 2005.
- ALONSO, J. R. **Tratado de Fitomedicina. Bases clínicas e farmacológicas**. 1998. Isis editorial. Buenos Aires, Argentina. 1998.

BRITO, A. S. **Manual de ensaios toxicológicos *in vivo***. São Paulo:UNICAMP, 1994.

BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R. Tietz. **Fundamentos de Química Clínica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 4ª ed., 836 p,1998.

COSTA, M. V. L.; TAVARES, E. S. Anatomia foliar de *Chenopodium ambrosoides* L. (Chenopodiaceae) - erva-santa-maria. **Revista Bras. Pl. Méd.**, Botucatu, V. 8, n. 3 P. 63-71, 2006.

DIÁRIO OFICIAL RJ. **Resolução SES/RJ Nº 1757**, de 18 de fevereiro/2002, Secretaria do Estado do Rio de Janeiro.

INÁCIO, M.V.de S.. Avaliação da Citotoxicidade e Modificação Estrutural de Rotenóides Isolados da Espécie *Derris urucu*. In: 29 Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 1996, Caxambu. **Livro de resumos**, 463 p, p.87.

LEHNINGER, N. C. **Princípios de Bioquímica** – Lehninger. Manole: São Paulo, 4ª ed. 2006.

LORENZI, H., MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa-SP:Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 542 p, 2002.

RESOLUÇÃO SES/RJ Nº 1757, de 18 DE FEVEREIRO 2002, **Diário oficial RJ**, Secretaria do Estado do Rio de Janeiro. 2002.

SANTOS, S.G. & CORRÊA, R. X. Diversidade genética de *Chenopodium ambrosoides* da região cacauzeira da Bahia com base em marcadores RAPD. **Pesq.agrop. bras.** Brasília, v.41, n.1, p.161-164, jan. 2006.

SCHVARTSMAN, S. **Plantas Venenosas e Animais Peçonhentos**. São Paulo: Sarvier, 1992.

SOUZA, M. P. **Constituintes químicos ativos de plantas medicinais brasileiras**. Edições UFC, 1991, 416p.

TAVARES, M. A. G. C. **Bioatividade da erva-de-santa-maria, *Chenopodium ambrosioides* L. (Chenopodiaceae) em relação a *Sitophilus zeamais* Mots.,**

1855 (Col.: Curculionidae) / Piracicaba, 2002, 59 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2002.

4 CONCLUSÕES GERAIS

De acordo com os resultados obtidos, pode-se concluir que:

- Alternativas menos impactantes ao ambiente necessitam serem estudadas, objetivando a sustentabilidade na produção de grãos;
- A busca de novos inseticidas constitui-se num campo de investigação aberto, amplo, e contínuo;
- As plantas representam uma fonte potencial de substâncias, com diferentes bioatividades, no controle de insetos;
- Estudos de dano econômico devem ser implementados, para que possam ser aplicados, com segurança, no manejo de pragas de grãos armazenados;
- A característica de repelência apresentada por algumas espécies, principalmente *Corymbia citriodora* (Hook), abre perspectivas para à aplicação de extratos, dessa planta, em embalagens de alimentos, eliminando o contato direto entre o alimento estocado e a substância de controle;
- As pesquisas devem incluir estudos do impacto ambiental, que a tecnologia gerada, possa causar à saúde humana e ao meio ambiente.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDALLAH *et al.* Bioactivity of plants extracts against *Sitophilus granarius* (L.) and *Tribolium castaneum* (Hbst.). **Bulletin of Entomological Society to Egypt**. v. 15, n. 2, p 199-205, 1988.

ADDOR, R. W. Insecticides. In: GODFREY, C. R. A.(ed.). **Agrochemical from natural products**. New York: Marcel Dekker, 1994, p.1.

AZEVEDO, F. A. **As bases toxicológicas da ecotoxicologia**. São Carlos; São Paulo: Rima; Intertox, 2003. 340 p.

BAIRD, C. **Química ambiental**. - 2.ed. - Porto Alegre: Ed. Bookmann, 2002. 622 p.

BLOSZYK, E.; NAWROT, J.; HARMATHA, J.; DROZDZ, B.; CHMIEELEWICZ, Z. Effectiveness of antifeedants of plant origin in protection of packaging materials against storage insects. **Journal Applied Entomology**, v. 110, n. 1, p. 96-100, 1990.

BODE, H. B. ; MULLER, R. Possibility of bacterial recruitment of plant genes associated with the biosynthesis of secondary metabolites. **Plant Physiological.**, v. 132, n. 4, p. 1153-1161, 2003.

BOYCE, A. M. In: METCALF, R. L.; MCKELVE Jr., J. J. (ed.). **The future of insecticides. Needs and Prospects**. New York: John Willey, 1974.

CASIDA, J. E.; QUISTAD, G. B. Gold age of insecticide research: past, present, or future. **Ann. Rev. Entomol.** v. 43, p. 1-16, 1998.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. [http:// www. Conab.gov. br](http://www.Conab.gov.br) (07. Ago. 2007).

CONNOLLY, J. D. Chemistry of the Limonoids of the Meliaceae and Cneoraceae. In: CONNOLLY, J, D, et al. **Chemistry and chemical taxonomy of the rutales**. London: Academic, 1983, p. 175.

COSTA, E. C. Situação florestal entomológica do Rio Grande do Sul. In: GUEDES, J.V.C. et al. **Bases e Técnicas do Manejo de Insetos**. Ed. Pallotti, Santa Maria, 2000, p. 227-234.

COSTA, M. A. G. ; COSTA, E. C. **Poluição ambiental: herança para gerações futuras**. Santa Maria: Ed. Orium, 2004. p.256.

CROSBY, D. G. Minor Insecticides of Plant Origin. In: CROSBY, D,G et al. **Naturally occurring insecticides**. New York: Marcel Dekker, 1981, p. 177-178.

DOBIE *et al.* **Insects and arachnids of tropical stored products, their biology and identification: a training manual**. UK, Tropical Development and Research Institute, 1984.

DOLABELA, M. F. **Triagem in vitro para a atividade antitumoral e anti-*T. cruzi* de extratos vegetais , produtos naturais e substâncias sintéticas**. 1997. 128 f..
Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte 1997.

EVANS, D. E. **The biology of stored products Coleoptera**. In: Proc. Aust. Dev. Asst. Course on Preservation of Stored Cereals, 1981, p. 149-85.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BATISTA, G. C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIN, J. D. **Manual de Entomologia Agrícola**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1988. 649 p.

GERSHENZON, J.; McCONKEY, M. E.; CROTEAU, R. B. Regulation of monoterpene accumulation in leaves of peppermint. **Plant Physiol.**, v. 122, p. 205-214, 2000.

GIONETTO, F.; CHÁVEZ, E. C. Desarrollo actual de las investigaciones alelopáticas de la producción de inseticidas botánicos en michoacán (México). In: SIMPOSIO NACIONAL SOBRE SUBSTANCIAS VEGETALES Y MINERALES EM EL COMBATE DE PLAGAS, 6., Acapulco, 2000. **Memórias...** Acapulco: SME, 2000. p. 123-134.

GOLOB, P. ; KILMINSTER, A. The use of local available materials as protectants of maize grain against insects infestation during storage in Malawi. **Journal of Stored Products Research**, v. 18, n. 2, p. 67-74, 1981.

HARBORNE, J. B. **Introduction to ecological biochemistry**. 2nd ed. London: Academic Press, 1982.

HENRICK, C. A. Pyrethroids. In: HENRICK, C.A. et al. **Agrochemicals from natural products**. New York: Marcel Dekker, 1994, p.64.

JACOBSON, M.; CROSBY, D. G. **Naturally occurring insecticides**. New York: Marcel Dekker, 1971.

JENNINGS, K. R.; BROWN, D. G.; WHRIGHT, D. P. Methylcaconitine, a naturally occurring insecticides with a high affinity for the insects cholinergic receptor. **Experientia**, v.42, n.6, p. 611-613, 1986.

KLOCKE, J. A.; BALANDRIM, M. F.; BARNBY, M. A.; YAMASAKI, R. B. Toxicity and fate of acetylchromenes in pest insects. In: BARNBY, M. A. et al. **Insecticides of plant origin**. New York: American Chemical Society, 1989, p.44. (ACS Series 387)

KYAMANYWA, S.; BISIKWA, J.; AYESIGA, R. Effect of Kawunyila (*Chenopodium* sp.) and other traditional storage protectants on population of bean bruchids and their damage on stored beans. **African Crop Science Journal**, v. 7, n.2, p. 207-215, 1999.

LAGUNES, T. A.; RODRIGUEZ, H. C. **Búsqueda de tecnología apropiada para el combate de plagas del maíz almacenado em condiciones rústicas**. Chapingo: CONACYT-CP, 1989, 150 p.

LIN *et al.* Induced resistance in soybean to the Mexican bean beetle (Coleoptera: Coccinellidae): compararisons of inducing factors. **Environmental entomology**, v.19, n.6, p.1852-1857, 1990.

MAIRESSE, L. A. da S. **Avaliação da bioatividade de extratos de espécies vegetais, enquanto excipientes de aleloquímicos**. 2005. 326 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria. 2005.

MALIK, M. M.; MUJITABA, S. H. Sceening of some indigenous plants as repellents or atifeedants for stored grain insects pests. **Journal of Stored Products Research**, v. 20, n. 3, p. 41-44, 1984.

MARINI-BETTÓLO, G. B. **Natural products and the protection of plants:** proceedings of a study week at the Pontifical Academy of Sciences. New York: Elsevier, 1977. 846 p.

MAZZONETO, Fábio. **Efeito de genótipos de feijoeiro e de pós de origem vegetal sobre *Zabrotes subfasciatus* (BOH) e *Acanthoscelides obtectus* (SAY)(Col: Bruchidae).** 2002.168 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2002.

METCALF, C. L.; FLINT, W. P. **Destructive and useful insects:** their habit and control. New York; London: Mc Graw Hill, 1962. 1087 p.

MIDIO, A. F. ; MARTINS, D. I. **Toxicologia de alimentos.** São Paulo: Varela, 2000. 294 p.

MIYAKADO, M.; NAKAYAMA, I.; OHNO, N. Insecticidal unsaturated isobutylamides from natural products to agrochemical leads. In: ARNASON, J. T. *et al.* **Insecticides of plant origin.** Washington: ACS, 1989. 213 p.

MORDUE, A. J. M. ; BLACKWEL L. Azadirachtin: on update. **Journal of Insect Physiology**, v.39, n.6, p.903-924, 1993.

MOUND, L. (ed.). **Common Insect Pests of Stored Food Products. A guide to their identification.** British Museum (Natural History), 1989. 68 p. (Economic Series ; 15). London, Academic.

MULLER, P. B. **Bioclimatologia aplicada aos animais domésticos.** 3. ed. Porto Alegre, Sulina, 1989. 262 p.

NIBER *et al.* Toxicity of plant extract to three storage beetles (Coleoptera). **Journal Applied Entomology**, v. 113, n. 22, p. 202-208, 1992.

O'BRIEN, R. D. **Insecticides action and metabolism.** London: Academic, 1967, p.159.

OLIVEIRA, J. V. Controle de pragas de grãos armazenados com substâncias de origem vegetal, In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 16., Salvador, 1997. **Resumos...** Salvador: SBE, 1997. p.10.

PACHECO, I. A.; DE PAULA, D. C. **Insetos de grãos armazenados – identificação e biologia**. Campinas: Fundação Cargill, 228 p, 1995.

PROCÓPIO, S. O.; VENDRAMIM, J. D. Bioatividade de diversos pós de origem vegetal em relação a *Sitophilus zeamais* Mots. (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE). **Ciênc. Agrotec.**, v. 27, n.6, p 1231-1236, 2003.

PROKSCH, P.; RODRIGUEZ, E. Chromenes and bensofuranes of the Asteraceae, their chemistry and biological significance. **Phytochemistry**, v.22, n. 11, p. 2335-2348, 1983.

PUZZI, D. **Abastecimento e armazenagem de grãos**. Campinas: Instituto Campineiro de Ensino Agrícola, 1986. 604 p.

RANGEL, V. S. Plantas inseticidas do Brasil. **Boletins do Ministério da Agricultura**. v.35, n.1, p. 1-34, 1946.

RAY, D. E. Pesticides derived from plants and other organisms. In: RAY, D. E. et al. **Classes of Pesticides**, New York: Academic, 1991, p. 593

REMBOLD, H. Azadirachtins. In: REMBOLD, H. et al. **Insecticides of plant origin.**, Washington: ACS, 1989, p.150. (ACS Symposium Series ; 387)

ROSSETO, C. J. O complexo de *Sitophilus* spp. (Coleóptera, Curculionidae) no Estado de São Paulo. **Bragantia**, v.28, n.10, p.127-48, 1969.

_____. **Resistência de milho a pragas da espiga, *Helicoverpa zea* (Boddie), *Sitophilus zeamais* Mots. e *Sitotroga cerealella* (Olivier)**. 1972. 144 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 1972.

SAITO, M. L.; LUCCHINI, F. **Substâncias obtidas de plantas e a procura por praguicidas eficientes e seguros ao meio ambiente**. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPMA, 1998. 46 p. (EMBRAPA-CNPMA, Documentos ; 12).

SANTOS, J. P.; CRUZ, I.; FONTES, R. A. **Armazenamento e controle de pragas**. Brasília: EMBRAPA/ CNPMS, 1984. 30 p. (Documentos ; 1).

- SENANAYAKE, M.; LWANDE, W.. **Volatile constituents of *Cinnamomum zeylanicum* oils**. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.26, p.822-824, 1972.
- SIGHAMONY, S.; ANEES, I.; CHANDRAKALA, T.; OSMANI, Z. Efficacy of certain indigenous plant products as grain protectants against *Sitophilus oryzae* (L.) and *Rhyzopertha dominica* (F.). ***Journal of Stored Products Research***, v.22, p.21-23, 1986.
- SU, H. C. F. Insectidal properties of black pepper to rice weevils and cowpea weevils. ***Journal of Economic Entomology***, v.70, n.1, p. 18-21, 1977.
- SU, H. C. F. Toxicity and repellency of *Chenopodium* oil to four species of stored-product insects. ***Journal of Entomology Science***, v. 26, n. 1, p. 178-182, 1991.
- TAVARES, M. A. G. C. **Bioatividade da erva-de-santa-maria, *Chenopodium ambrosioides* L. (Chenopodiaceae) em relação a *Sitophilus zeamais* Mots., 1855 (Col.: Curculionidae)** / Piracicaba, 2002, 59 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2002.
- VENDRAMIM, J. D.; CASTIGLIONI, E. Aleloquímicos, Resistência e Plantas Inseticidas. In: GUEDES, J. C.; DRESSLER da COSTA, I.; CASTIGLIONI, E. **Bases e Técnicas do Manejo de Insetos**. Santa Maria: UFSM/CCR/DFS: Palloti, 2000. cap.8, p. 113-128.
- VENDRAMIM, J. D.; PROCÓPIO, S. O. **Bioactivity of powders from some plants on *Zabrotes subfasciatus* (BOH)(Coleoptera: Bruchidae)**. In: International Congress of Entomology, 20, Firenze, 1996.
- VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B.; ANDREI, C. C. Plantas Inseticidas. In: **Farmacognosia da planta ao medicamento**. São Carlos: EduFSCAR, 176 p. 2003.

ANEXO 1

DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL

É aquele que atende às necessidades do presente, sem comprometer a possibilidade de as gerações futuras atenderem às suas próprias necessidades.

Dois conceitos-chave estão implícitos:

1. O conceito de necessidades (sobretudo as necessidades essenciais dos pobres do mundo, que devem receber a máxima prioridade);
2. A noção das limitações que o estágio atual da tecnologia e da organização social impõe ao meio ambiente, impedindo-o de atender às necessidades presentes e futuras.

Fonte: Nosso Futuro Comum/Comissão Mundial sobre Meio Ambiente e Desenvolvimento – 2ª ed. Rio de Janeiro: Editora da Fundação Getúlio Vargas, 1991. XVIII, 430p.

ANEXO 2

IMPACTO AMBIENTAL

Art. 1º da Resolução nº 1/86 CONAMA (2002):

Considera-se impacto ambiental qualquer alteração das propriedades físicas, químicas e biológicas do meio ambiente, causada por qualquer forma de matéria ou energia resultante das atividades humanas que, direta ou indiretamente, afetam:

- I – a saúde, a segurança e o bem-estar da população;
- II – as atividades sociais e econômicas;
- III – a biota;
- IV – as condições estéticas e sanitárias do meio ambiente;
- V – a qualidade dos recursos ambientais.

Fonte: COSTA, 2004.

ANEXO 3

TABELA 3.1 Normais Climatológicas obtidas com dados do período 1961 – 1990. Est. Climat. Princ. Santa Maria/RS.

MESES►													
PARÂMETROS▼	JAN	FEV	MAR	ABR	MAI	JUN	JUL	AGO	SET	OUT	NOV	DEZ	ANUAL
Pressão atmosférica (mb)	997,3	998,4	1000,2	1002,3	1003,4	1004,2	1005,1	1004,0	1003,4	1000,9	997,7	996,3	1001,1
Temperatura do ar (°C)	24,6	24,0	22,2	18,8	16,0	12,9	13,5	14,6	16,2	18,8	21,4	22,7	18,8
Temperatura máxima (°C)	30,4	30,0	28,2	25,0	22,1	19,2	19,6	20,3	21,9	24,8	27,3	29,5	24,9
Temperatura mínima (°C)	19,1	19,5	17,9	14,5	11,8	9,3	9,5	10,4	11,3	13,5	15,9	18,3	14,2
Temperatura máx. absoluta ¹ (°C)	39,4 16/86	38,5 06/79	37,2 18/78	35,0 03/73	34,1 05/81	30,9 27/62	31,8 15/87	33,3 23/74	35,4 11/77	36,3 14/85	40,2 15/85	38,3 29/62	40,2 15/11/85
Temperatura mínima (°C)	11,4 02/75	10,4 25/62	3,1 25/70	3,0 26/71	-1,0 28/71	-2,6 17/71	-2,2 20/62	-0,8 29/90	0,2 30/64	3,6 17/69	5,8 22/70	3,0 12/72	-2,6 17/06/71
Precipitação total (mm)	145,1	130,2	151,7	134,7	129,1	144,0	148,6	137,4	153,6	145,9	132,2	133,5	1686,1
Dias de chuva	11	11	10	9	9	10	11	11	11	10	10	9	123
Precipitação máxima em 24 horas (mm)	93,1 24/81	90,0 23/66	128,4 30/89	182,2 16/84	153,0 21/84	109,2 15/82	105,0 13/76	97,0 29/66	108,4 25/79	145,0 22/82	98,0 11/66	93,7 06/75	182,2 16/04/84
Evaporação total (mm)	97,3	76,0	68,4	55,9	51,4	46,4	59,3	65,7	64,5	82,3	95,3	111,4	874,1
Umidade relativa do ar (%)	71	76	79	80	82	81	80	78	78	73	71	69	77
Insolação total (horas e décimos)	225,2	196,7	197,5	168,7	151,3	125,0	133,1	141,4	160,7	206,8	223,3	244,7	2174,5
Nebulosidade (0 a 10)	5,8	6,3	6,0	5,7	6,0	6,2	6,3	6,4	6,2	6,0	5,7	5,8	6,0

¹ Temperatura máxima absoluta dentre todos os janeiros do período de 1961 a 1990, foi de 39,4°C ocorrida no dia 16 de janeiro de 1986 (idem para os demais parâmetros).

Fonte: **Normais Climatológicas**. Ministério da Agricultura e do Abastecimento – MA - Instituto Nacional de Meteorologia – INMET. Oitavo Distrito de Meteorologia - 8º DISME - Estação Climatológica Principal de Santa Maria/RS - Brasília - 1992

ANEXO 4

Análise estatística referente ao experimento 1

BIOATIVIDADE DE EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE DE *SITOPHILUS ORYZAE* (LINNÉ, 1763) EM ARROZ

TABELA 4.1: Análise de variância para a mortalidade de adultos de *Sitophilus oryzae* em grãos de arroz aos 10 dias após aplicação de pós-vegetais, inseticidas, pó inerte e testemunha. Santa Maria, 2007.

Causas de variação	GL	SQ	QM	Fcalculado	F (5%)
Extratos (trat.)	14	16,84209	1,203006	774,5691	1,825908
Resíduo	75	0,116485	0,001553	-	-
Total	89	16,95858	-	-	-

Coeficiente de variação: 4,67 %

OBS: Para os dados de percentagem de insetos foi aplicada a transformação arco seno raiz quadrada.

TABELA 4.2: Análise de variância para o efeito de onze extratos vegetais sobre a percentagem de repelência de adultos de *Sitophilus oryzae* de grãos de arroz, 24 horas após a infestação inicial. Santa Maria, 2007.

Causas de variação	GL	SQ	QM	Fcalculado	F (5%)
Extratos (trat.)	10	1,2384	0,1238	78,49146	2,0078
Resíduo	55	0,0868	0,0016	-	-
Total	65	1,3252	-	-	-

Coeficiente de variação: 4,41 %

OBS: Para os dados de percentagem de insetos foi aplicada a transformação arco seno raiz quadrada.

ANEXO 4 (Cont.)

TABELA 4.3: Análise de variância para o efeito de onze extratos vegetais e testemunha sobre o número de adultos de *S. oryzae* emergidos de grãos de arroz, 15 dias após a infestação inicial. Santa Maria, 2007.

Causas de variação	GL	SQ	QM	NMS
Extratos (trat.)	11	3,4132	0,3103	0,0000
Resíduo	60	1,9572	0,0326	-
Total	71	5,3704	-	-

Coeficiente de variação: 5,203%

OBS: Para os dados de percentagem de insetos foi aplicada a transformação arco seno raiz quadrada.

TABELA 4.4: Análise de variância para o efeito de doses de pó de *Chenopodium ambrosioides* sobre a percentagem de mortalidade de insetos adultos de *Sitophilus oryzae*, (não sexados), em arroz, 10 dias após a infestação inicial. Santa Maria, 2007.

Causas de variação	GL	SQ	QM
Doses (trat.)	2	0,5650	-
Resíduo	15	0,0698	0,0046
Total	17	0,6348	-

Coeficiente de variação: 7,47%

TABELA 4.5: Análise de regressão para o efeito de doses de pó de *Chenopodium ambrosioides* sobre a percentagem de mortalidade de insetos adultos de *Sitophilus oryzae*, (não sexados), em arroz, 10 dias após a infestação inicial. Santa Maria, 2007.

Modelo	GL	SQ	QM	NMS
Linear	1	0,5650	0,2825	0,0000
Quadrática	2	0,4799	0,0046	0,0000

OBS: Para os dados de percentagem de insetos foi aplicada a transformação arco seno raiz quadrada.

ANEXO 4 (Cont.)

TABELA 4.6: Análise de variância para o efeito de doses de extrato vegetal de *Calopogonium caeruleuns* sobre a percentagem de mortalidade de insetos adultos de *S. oryzae*, (não sexados), em arroz, 10 dias após a infestação inicial. Santa Maria, 2007.

Causas de variação	GL	SQ	QM
Doses (trat.)	2	0,7017	-
Resíduo	15	0,0394	0,0026
Total	17	0,7411	-
Coeficiente de variação: 6,25 %			

TABELA 4.7: Análise de regressão para o efeito de doses de pó de *Calopogonium caeruleuns* sobre a percentagem de mortalidade de insetos adultos de *Sitophilus oryzae*, (não sexados), em arroz, 10 dias após a infestação inicial. Santa Maria, 2007.

Modelo	GL	SQ	QM	NMS
Linear	1	0,6250	0,6250	0,0000
Quadrática	2	0,7017	0,3508	0,0000

OBS: Para os dados de percentagem de insetos foi aplicada a transformação arco seno raiz quadrada.

ANEXO 5

Análise estatística referente ao experimento 2

CRESCIMENTO POPULACIONAL E QUANTIFICAÇÃO DE DANOS DE *Sitophilus oryzae* (LINNÉ, 1763) EM ARROZ

TABELA 5.1: Análise de variância para o efeito de diferentes teores de umidade dos grãos, sobre o número insetos (*S. oryzae*) emergidos em grãos de arroz, 120 dias após o armazenamento. Santa Maria, 2007.

Causas de variação	GL	SQ	QM
Teores de umidade (trat.)	3	12289240,1250	-
Resíduo	20	30594,8333	0,0046
Total	23	12319834,9583	-

Coeficiente de variação: 3,99%

TABELA 5.2: Análise de regressão para o efeito de diferentes teores de umidade dos grãos, sobre o número insetos (*S. oryzae*) emergidos em grãos de arroz, 120 dias após o armazenamento. Santa Maria, 2007.

Modelo	GL	SQ	QM	NMS
Linear	1	9537804,6750	9537804,6750	0,0000
Quadrática	1	227565,3750	227565,3750	0,0000
Cúbica	1	2523870,0750	2523870,0750	0,0000

TABELA 5.3: Análise de variância para o efeito de diferentes números de insetos adultos (*S. oryzae*) sobre os danos provocados em grãos de arroz (g). Santa Maria, 2007.

Causas de variação	GL	SQ	QM
número de insetos/100g de arroz (trat.)	3	479,6843	-
Resíduo	20	0,8846	0,0442
Total	23	480,6486	-

Coeficiente de variação: 2,74%

ANEXO 5 (Cont.)

TABELA 5.4: Análise de regressão para o efeito de diferentes números de insetos adultos (*S. oryzae*) sobre os danos provocados em grãos de arroz (g). Santa Maria, 2007.

Modelo	GL	SQ	QM	NMS
Linear	1	479,6192	479,6192	0,0000
Quadrática	1	239,8421	239,8421	0,0000
Cúbica	1	159,9213	159,9213	0,0000

ANEXO 6

Análise estatística referente ao experimento 3

Artemia salina – CITOTOXICIDADE

Chenopodium ambrosioides

TABELA 6.1: Análise de variância para a toxicidade aguda de quatro concentrações de *Chenopodium ambrosioides* em *Artemia salina*. Santa Maria, 2007.

Causas de variação	GL	SQ	QM	NMS
Doses (trat.)	3	3,1153	1,0384	0,000
Resíduo	20	0,1617	0,0081	-
Total	23	3,2770	-	-

Coeficiente de variação: 7,7532 %

OBS: Foi aplicada a transformação arco seno raiz quadrada.

Artemia salina – CITOTOXICIDADE

Calopogonium caeruleus

TABELA 6.2: ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA A TOXICIDADE AGUDA DE QUATRO CONCENTRAÇÕES DE *CALOPOGONIUM CAERULEUNS* EM *ARTEMIA SALINA*. Santa Maria, 2007.

Causas de variação	GL	SQ	QM	NMS
Doses (trat.)	3	3,3029	1,1001	0,000
Resíduo	20	0,1581	0,0079	-
Total	23	3,4610	-	-

Coeficiente de variação: 8,9961 %

OBS: Foi aplicada a transformação arco seno raiz quadrada.

ANEXO 7

Análise estatística referente ao experimento 4

RATOS E RATAS

TABELA 7.1: Análise de variância para o efeito de três extratos vegetais sobre a quantidade de uréia (mg/dl), em ratos fêmeas. Santa Maria, 2007.

Causas de variação	GL	SQ	QM	F calc	F 5%
Tratamentos	4	0,7278	0,1819	6,8271	2,7586
Resíduo	25	0,6663	0,0266	-	-
Total	29	1,3941	-	-	-

Coeficiente de variação: 2,55 %

OBS: Para os dados de quantidades de uréia foi aplicada a transformação raiz quadrada.

TABELA 7.2: Análise de variância para o efeito de três extratos vegetais sobre a quantidade de creatina (mg/dl), em ratos fêmeas. Santa Maria, 2007.

Causas de variação	GL	SQ	QM	F calc	F 5%
Tratamentos	4	0,1721	0,0430	14,4347	2,7586
Resíduo	25	0,0745	0,0029	-	-
Total	29	0,2466	-	-	-

Coeficiente de variação: 9,62 %

OBS: Para os dados de quantidades de creatina foi aplicada a transformação raiz quadrada.

ANEXO 7 (Cont.)

TABELA 7.3: Análise de variância para o efeito de três extratos vegetais sobre a quantidade de TGO (U/L), em ratos fêmeas. Santa Maria, 2007.

Causas de variação	GL	SQ	QM	F calc	F 5%
Tratamentos	4	29538,8000	7384,7000	70,6760	2,7586
Resíduo	25	2612,1670	104,4867	-	-
Total	29	32150,9700	-	-	-

Coeficiente de variação: 4,58%

TABELA 7.4: Análise de variância para o efeito de três extratos vegetais sobre a quantidade de TGP (U/L), em ratos fêmeas. Santa Maria, 2007.

Causas de variação	GL	SQ	QM	F calc	F 5%
Tratamentos	4	4644,5330	1161,1330	85,5451	2,7586
Resíduo	25	339,3333	13,573330	-	-
Total	29	4983,8670	-	-	-

Coeficiente de variação: 6,27%

TABELA 7.5: Análise de variância para o efeito de três extratos vegetais sobre a quantidade de uréia (mg/dl), em ratos machos. Santa Maria, 2007.

Causas de variação	GL	SQ	QM	F calc	F 5%
Tratamentos	4	2,4945	0,6236	17,7858	2,7586
Resíduo	25	0,8766	0,0350	-	-
Total	29	3,371121	-	-	-

Coeficiente de variação: 2,68%

OBS: Para os dados de quantidades de uréia foi aplicada a transformação raiz quadrada.

ANEXO 7 (Cont.)

TABELA 7.6: Análise de variância para o efeito de três extratos vegetais sobre a quantidade de creatina (mg/dl), em ratos machos. Santa Maria, 2007.

Causas de variação	GL	SQ	QM	F calc	F 5%
Tratamentos	4	0,0148	0,0037	1,6667	2,7586
Resíduo	25	0,0555	0,0022	-	-
Total	29	0,0703	-	-	-
Coeficiente de variação: 9,23%					

OBS: Para os dados de quantidades de creatina foi aplicada a transformação raiz quadrada.

TABELA 7.7: Análise de variância para o efeito de três extratos vegetais sobre a quantidade de TGO (U/L), em ratos machos. Santa Maria, 2007.

Causas de variação	GL	SQ	QM	F calc	F 5%
Tratamentos	4	14376,6700	3594,1670	13,5659	2,7586
Resíduo	25	6623,5000	264,9400	-	-
Total	29	21000,1700	-	-	-
Coeficiente de variação: 7,27%					

TABELA 7.8: Análise de variância para o efeito de três extratos vegetais sobre a quantidade de TGP (U/L), em ratos machos. Santa Maria, 2007.

Causas de variação	GL	SQ	QM	F calc	F 5%
Tratamentos	4	13906,67	3476,667	53,1005	2,758692873
Resíduo	25	1636,833	65,47333	-	-
Total	29	15543,5	-	-	-
Coeficiente de variação: 14,07%					