

Efeito Inseticida do Óleo Essencial e Extratos Etanólicos das Folhas de Mastruz (*Chenopodium ambrosioides* L.) Sobre o Gorgulho do Milho (*Sitophilus zeamais* Mots)

Insecticidal Effect of Essential Oil and Ethanolic Extracts of Mastruz Leaves (*Chenopodium ambrosioides* L.) on Maize Weevil (*Sitophilus zeamais* Mots)

Rafael Cavalcante Figueiredo^{a*}; Waldireny Caldas Rocha^b; Adriana Dantas Gonzaga de Freitas^c

^aUniversidade Federal do Amazonas, Curso de Biotecnologia, AM, Brasil.

^bUniversidade Federal do Amazonas, Instituto de Saúde e Biotecnologia, AM, Brasil.

^cUniversidade Federal do Amazonas, Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Morfologia, AM, Brasil.

*E-mail: rafael.cavalcante.2017@gmail.com

Resumo

Os gorgulhos atacam indistintamente grãos armazenados, causando anualmente enormes prejuízos. Medidas de controle, que causem menor impacto ambiental, como alternativa para diminuir a aplicação de agrotóxicos e a utilização de inseticidas vegetais são importantes. O Mastruz (*C. ambrosioides*) é uma planta medicinal herbácea, originária da América Central e do Sul, suas folhas e frutos acumulam óleo essencial rico em ascaridol, princípio ativo responsável pelo efeito vermífugo da planta. O presente trabalho tem como objetivo investigar o potencial de ação inseticida do Mastruz sobre o gorgulho *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) em condições experimentais. Os experimentos foram realizados na Universidade Federal do Amazonas. O 1kg do material vegetal foi coletado na cidade de Coari, Amazonas, para a extração do óleo e para os extratos contendo etanol. Os insetos utilizados no experimento foram criados no laboratório de Zoologia. Foi realizada a cromatografia, em camada delgada, no laboratório QBioma. Foram pesadas as amostras extraídas da planta, total de 0,010g, e diluídas em 10mL de água destilada, preparada em cubas e as placas cromatográficas de 5cm x 10cm, contendo na cuba uma proporção de fase móvel de 1:1 de 1:1 de Hexano e Acetato de etila totalizando 10mL de solução, obteve-se uma separação das bandas. Nas concentrações de óleo, a eficiência no efeito inseticida foi observada a partir de 15µL, e os extratos etanólicos apenas nas concentrações de 1:1\2 e 1:1, mostrando a eficiência da planta como inseticida para o inseto-praga.

Palavras-chave: Gorgulho do Milho. Extratos de Plantas. Toxicidade de Plantas. Bioensaios, Cromatografia.

Abstract

The weevils indiscriminately attack stored grains, causing enormous losses annually. Control measures that cause less environmental impact as an alternative to reduce the application of agrochemicals and the use of plant insecticides are important. Mastruz (*C. ambrosioides*) is an herbaceous medicinal plant, originating in South Central America, its leaves and fruits accumulate essential oil rich in ascaridol, active principle responsible for the plant's vermifuge effect. The present work aims to investigate the Mastruz insecticidal action potential on the weevil *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) under experimental conditions. The experiments were carried out at the Federal University of Amazonas. 1kg of the vegetal material was collected in the city of Coari, Amazonas for the extraction of the oil and for the extracts containing ethanol. The insects used in the experiment were created in the Zoology laboratory. Thin layer chromatography was performed in QBioma laboratory. Samples extracted from the plant, total of 0.010g, and diluted in 10mL of distilled water prepared in vats and 5cm x 10cm chromatographic plates were weighed, containing in the vat a 1:1 mobile phase ratio of 1:1 of Hexane and ethyl acetate totaling 10mL of solution, a separation of the bands was obtained. In the concentrations of oil the efficiency in the insecticidal effect was observed from 15µL, and the ethanolic extracts only at concentrations of 1:1\2 and 1:1, showing the plant efficiency as insecticide for the insect-plague.

Keywords: Corn weevil. Plant extracts. Plant toxicity. Bioassays. Chromatography.

1 Introdução

Os óleos essenciais são substâncias naturais voláteis que se encontram em grande variedade nas plantas. Os óleos essenciais - OE são formados, principalmente, por isoprenoide, monoterpenos e sesquiterpenos que são os portadores do odor que se encontra nas plantas aromáticas (ROSSI et al., 2011).

Chenopodium ambrosioides L., planta nativa da América tropical, originária do México, encontra-se vastamente distribuída no Brasil, com ocorrência em quase todo o território. Esta espécie tem sido usada no tratamento de diversas doenças. No Maranhão, a *C. ambrosioides* é reconhecida por "mastruz". No Brasil, estudos sobre a composição química

do óleo de diversos espécimes têm mostrado como principal componente o Ascaridol (folhas até 9,2% de óleo essencial de ascaridol e frutos de 20% de óleo com 80 a 90% de ascaridol) e outros monoterpenos, além de outros compostos como ácidos butílicos e salicílicos, 2- etilisomentona e o Transpinorcavol também têm sido referidos por diversos pesquisadores (ALONSO, 2004; JARDIM, 2008).

O emprego de substâncias, extraídas de plantas silvestres, na qualidade de inseticida, tem inúmeras vantagens quando comparado ao emprego de sintéticos. Os inseticidas naturais são obtidos de alguns recursos renováveis e rapidamente degradáveis. O desenvolvimento da resistência dos insetos a essas substâncias compostas da associação de vários princípios ativos é um processo lento. Alguns pesticidas são

de fácil acesso e obtenção por agricultores, não deixando, por sua vez, resíduos nos alimentos, além de apresentarem baixo custo de produção.

Os derivados botânicos podem causar diversos efeitos sobre os insetos, tais como: repelência, inibição de oviposição, da alimentação e alterações no sistema hormonal. Como consequências causam distúrbios no desenvolvimento, deformações e mortalidade nas diversas fases.

A ação tóxica de uma planta se deve à presença de constituintes químicos, ou princípios ativos tóxicos, encontrados nos vegetais. Dentre os principais metabólitos causadores de intoxicação estão: ricina e curcuma que são provenientes do metabolismo primário das plantas; alcalóides, terpenos e compostos fenólicos diversos e do metabolismo secundário. A intoxicação vai depender da quantidade de substância tóxica absorvida, da natureza dessa substância e da via de introdução (CARVALHO, 2008).

A proliferação de insetos em alimentos armazenados ocorre, principalmente, pelo gênero dos curculionídeos conhecido populamente como gorgulhos. A designação gorgulho é comum a diversos insetos coleópteros pentâmeros que pertencem à família *Bruchidae*. Por serem fitófagos, alimentam-se, por exemplo, de cereais e de feijão armazenados, reduzindo-os a pó, razão por que são considerados insetos daninhos. Assim como os cupins, as vespas: os gorgulhos também são xilófagos, portanto, perfuram madeiras (ARAÚJO; ZUCCHI 2003).

Atacam indistintamente milho, arroz, feijão, trigo, sorgo, centeio, cevada, aveia e outros cereais e produtos, causando anualmente enormes prejuízos. Erroneamente, alguns autores brasileiros os têm confundido, quando atacam o trigo, com o *Sitophilus granarius*. Entretanto, esta praga, ao contrário do *Sitophilus oryzae* e do *Sitophilus zeamais*, não voa e não existe no Brasil. Ao *Sitophilus zeamais* é atribuída a maior causa das infestações em nível de campo, pela sua maior capacidade de voo. Entretanto, as duas espécies têm sido encontradas com frequência, atacando o mesmo produto. Embora alguns técnicos assegurem ser possível distingui-los com um simples exame visual, pelas suas características morfológicas externas, uma identificação segura somente pode ser feita em âmbito de laboratório, com o exame no microscópio, das genitálias dos referidos insetos (PEREIRA; PINTO JUNIOR; FURIATTI, 2003).

Tendo em vista a problemática atual com o uso de agrotóxicos, outras medidas de controle devem ser estudadas para minimizar os danos ambientais, portanto o objetivo deste trabalho foi investigar o potencial de ação inseticida do Mastruz (*Chenopodium ambrosioides* L.) sobre o gorgulho (Coleoptera: Curculionidae) em condições experimentais; determinando a menor concentração possível de óleo essencial para o efeito inseticida desejado no experimento.

2 Material e Métodos

O experimento (bioensaios) foi realizado nos laboratórios de Química Analítica, Química Geral e Química Orgânica, e zoologia localizados na Universidade Federal do Amazonas, no município de Coari, Amazonas, Brasil.

O material vegetal foi coletado na cidade de Coari nas proximidades da feira do produtor rural, estando frescas por terem sido coletadas às 6 horas da manhã, com o total de 2kg de material, a planta foi utilizada ainda fresca, para a extração do óleo da planta, que foi realizado no laboratório de Química Orgânica da Universidade Federal do Amazonas - UFAM, e armazenada em frasco âmbar e mantida refrigerada.

Os insetos, que foram utilizados no experimento, foram criados no laboratório de Zoologia, o crescimento destes insetos foi avaliado, periodicamente, por 6 meses, uma vez que os insetos adultos ovopositaram no grão do milho e dentro de 30 dias foram obtidos novos indivíduos, logo após ovopositarem os adultos foram retirados do frasco para que se tivesse a primeira colônia pura com juvenis do gorgulho (*Sitophilus zeamais*), repetindo o mesmo processo a cada 30 dias, mantendo uma temperatura de 28 °C durante todos os processos envolvendo os insetos. A manutenção do local onde o inseto foi crescendo foi fundamental e, dessa maneira, a troca do milho foi feita de forma constante, assim como a assepsia do reservatório contendo os insetos.

O óleo essencial foi extraído através do método de hidrodestilação, utilizando o aparelho de Clevenger (SILVA; LIMA; COSTA, 2010) no laboratório de Química orgânica da UFAM, sendo posteriormente armazenado em frasco âmbar sob refrigeração. Foram realizadas quatro etapas de extração, devido à quantidade de óleo obtida em cada uma delas ter sido bem pequena, levando em conta as necessidades do experimento. Realizou-se, ainda, uma extração com etanol, a fim de identificar em diversas metodologias o potencial inseticida do Mastruz.

A cromatografia foi realizada tanto para o óleo quanto para os extratos das folhas do vegetal, utilizando-se de placas com sílica de tamanho 5cm x 10cm, com esse tamanho de placa foram realizadas várias eluições contendo sistemas diferentes. Primeiramente, foram pesadas as amostras extraídas da planta, total de 0,010g, e essas foram diluídas em 10mL de água destilada, sendo preparada a cuba e as placas cromatográficas de 5cm x 10cm, contendo na cuba uma proporção de fase móvel de 8mL de água e 2mL de Metanol (1:1), e se aguardou cerca de 15 a 20 minutos após ter sido colocada a placa dentro da cuba, então se retirou a placa e esperou-se secar para posterior visualização, o observado foi ineficiente, de forma que se aumentou a força do solvente, uma proporção de 1:1 de água e metanol foi colocada em outra cuba, e procedimento foi repetido, não obtendo separação de substâncias, sendo repetido o que havia sido feito, sendo mudada a concentração para 1:1 de Água e acetonitrila, não obtendo nenhum novo resultado. Finalmente, testando a concentração de 1:1 de

Hexano e Acetato de etila se obteve uma separação das bandas. A cromatografia do óleo teve resultado usando o sistema 7:3 de acetonitrila e água, respectivamente (PANDEY, 2016).

Foram realizados dois ensaios com objetivo de testar a eficiência de dois extratos de Mastruz, o óleo essencial e o extrato etanólico das folhas, a utilização do produto foi feita por: aplicação (pulverização) para exposição via de contato.

Foram colocados 7 gorgulhos adultos, com idade de 10 a 15 dias, para cada placa de Petri, com auxílio de pinças entomológicas. Após foi aplicado cerca de 180µL de óleo do vegetal, nas concentrações de 15 µL, 20 µL e 25 µL, totalizando três concentrações, em cada concentração foi feito um tratamento com três repetições cada uma. O experimento foi observado, diariamente, por 120 horas ou cinco dias.

Para o experimento com os extratos vegetais foram colocados 7 gorgulhos adultos, com idade de 10 a 15 dias, para cada placa de Petri, com auxílio de pinças entomológicas. Após foi aplicado cerca de 2 mL dos extratos botânicos nas proporções de 1:0; 1:1½; 1:1; 1:1½² 1:2, totalizando 5 concentrações, portanto, foram utilizados cinco tratamentos com três repetições, mais a testemunha, totalizando 18 parcelas para cada vegetal. As observações foram realizadas diariamente, totalizando 120 horas ou cinco dias consecutivos de visualização do experimento. A testemunha foi pulverizada com água destilada.

3 Resultados e Discussão

O Bioensaio com os gorgulhos (*S. zeamais* Mots.) mostrou eficácia comprovada pela análise estatística, realizada pelo teste ANOVA, a visualização da taxa de mortalidade foi realizada a cada 24h horas durante 5 dias (120 horas). Os valores referentes à mortalidade dos insetos, nas concentrações de 15µL, 20 µL e 25 µL do extrato das folhas Mastruz, no intervalo de tempo de 120 horas, encontra-se no Quadro 1.

Quadro 1- Mortalidade dos gorgulhos (*S. zeamais*) nas diferentes concentrações do óleo essencial do Mastruz, no intervalo de 120 horas do bioensaio.

Concentrações	Mortalidade Mínima 24h	Mortalidade Máxima 120h
15µL	14	21
20µL	10	18
25µL	10	20
Testemunha	0	0

Fonte: Dados da pesquisa.

As médias dos tratamentos são importantes para avaliar o efeito da amostra sobre o organismo teste e serve, também, para a análise estatística ANOVA, que neste caso foi feita por meio de uma tabela com as médias dos quatro dias com maior significância de resultado, demonstradas no Quadro 2.

Quadro 2 - Mortalidade dos gorgulhos (*S. zeamais*) nas diferentes concentrações de óleo essencial do Mastruz, pelo teste de Tukey.

Concentrações	Médias		
	1º dia	4º dia	5º dia
15µL	4.6 aAB	2.3 Ab	7.0 aA
20µL	3.3 aA	1.3 Aa	1.0 bA
25µL	3.3 aAB	2.0 Ab	5.3 aA
Testemunha	0.0 bA	0.0 Aa	0.0 bA

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Fonte: Dados da pesquisa.

Tanto as taxas de mortalidades quanto as médias obtidas, através do teste Tukey, demonstram que a concentração de 15 e 20 µL do óleo essencial do Mastruz foram as que obtiveram uma maior taxa de mortalidade dos gorgulhos. Na concentração de 15µL, após 96h horas dos testes 100% dos gorgulhos estavam mortos, e na concentração de 20µL, a taxa de mortalidade chegou a 75,8% em 96h da aplicação do bioensaio. Na concentração de 25 µL, a taxa de 100% de mortalidade dos gorgulhos foi alcançada após 120 horas do início dos testes, tendo em vista que nas 120 horas de bioensaio restaram vivos, nessas concentrações, o total de 4 insetos. Neste experimento, as placas que foram usadas como as testemunhas não tiveram uma taxa de mortalidade dos gorgulhos, após as 120 horas do bioensaio.

O resultado obtido na análise estatística mostrou eficácia para o tratamento com os gorgulhos, tendo os valores de F (20.3; 6.5) maiores que os do $F_{critico}$ (4.7; 5.6), tendo como prova desta significância o valor de P (<0.0001; 0.0056) que para este tratamento o valor é menor que o estipulado pela análise, isso mostra que a amostra é eficaz contra os gorgulhos, em termos estatísticos.

Os resultados obtidos foram positivos para a letalidade dos gorgulhos em contato com o óleo essencial de Mastruz, utilizados no experimento de bioensaio, tendo concentrações de 15µL, 20 µL e 25 µL, mostrando letalidade em todas as concentrações do óleo, os resultados são de relevância. Trabalhos relacionados ao gorgulho, utilizando o óleo essencial da pimenta longa (*Piper hispidinervum* C. DC), mostram que os resultados obtidos estão dentro dos padrões de mortalidade do inseto, visando recuperação de boa parte do produto atacado por estes insetos.

Os extratos etanólicos das folhas do Mastruz tiveram resultados positivos para o efeito inseticida, observados através do experimento nas concentrações de 1:0; 1:1½; 1:1; 1:1½² 1:2, diluídas em água destilada e metanol na proporção de 7:3 (7mL de água e 3mL de metanol), com isso se alcançaram resultados bons e de qualidade.

A análise química dos extratos feitos em etanol das folhas mostrou a diversidade de substâncias presentes na planta, como observado na cromatografia em papel, cuja fase estacionária utilizada foi a sílica e como fase móvel foram testados vários

sistemas diferentes, e o mais eficiente foi determinado como 1:1 de hexano e acetato de etila (10mL).

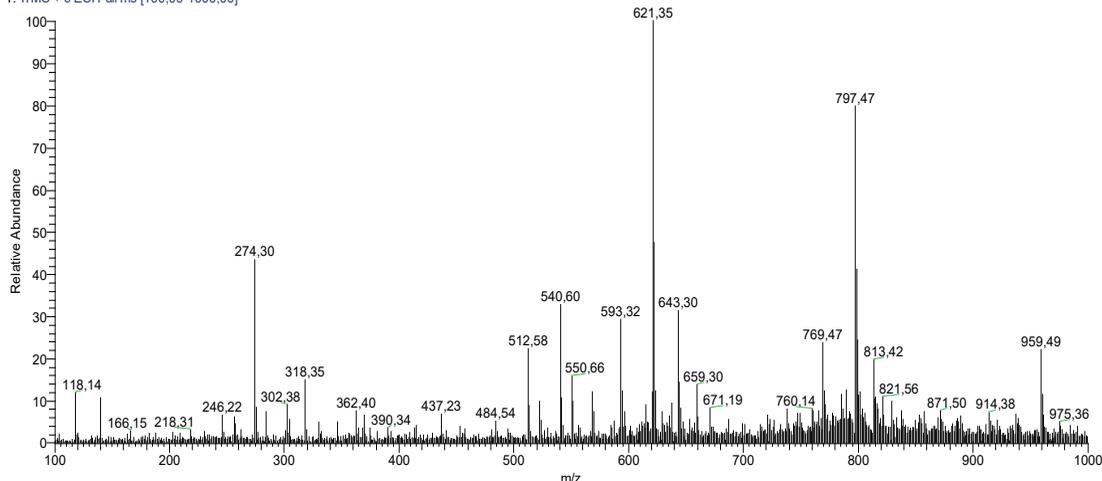
A pesquisa com plantas medicinais tem sido de grande importância para o desenvolvimento de novas drogas (MESQUITA et al., 2005), apesar de ainda ser muito incipiente. Estima-se que até o início da década de 1980, menos de 1% das espécies da flora brasileira eram conhecidas em seu aspecto químico e farmacológico, mesmo tendo um aumento

deste número nas últimas décadas, esse conhecimento é ainda muito insignificante frente à enorme biodiversidade apresentada pelo país (FAZOLIN et al., 2007).

O espectro de Massas foi realizado somente com os extratos etanólicos das folhas do Mastruz, sendo utilizado 10mg do material diluída em 1mL de Metanol (CLAE), retirando dessa solução 10µL e pipetados em 1mL de Metanol - CLAE. Obteve-se o seguinte padrão:

Figura 1 - Espectro de Massas das Folhas de Mastruz extraídas em metanol

EFm#68-71 RT: 1,80-1,84 AV: 4 NL: 3,87E3
T: ITMS + c ESI Full ms [100,00-1000,00]



Fonte: Dados da pesquisa.

O perfil do extrato bruto foi avaliado por espectrometria de massas. Os extratos foram devidamente solubilizados em metanol de grau CLAE. O programa Xcalibur 2,0 foi utilizado para aquisição e processamento de dados. Os espectros de massa foram adquiridos, em modo negativo, com varredura entre m/z 100 a m/z 1000.

O espectro de massas mostra a variedade de substâncias presentes na amostra dos extratos etanólicos da folha de Mastruz, a identificação dessas substâncias só pode ser realizada caso seja feita uma separação das mesmas para análises separadas, então se teria a identidade de cada composto presente nessa amostra, esse procedimento de identificação das substâncias ainda está sendo avaliado.

4 Conclusão

O experimento mostrou atividade do óleo essencial, em todas as concentrações, provando a eficiência dessa substância contra o gorgulho do milho. Na concentração mínima de 15µL, é suficiente para o efeito inseticida com o gorgulho. Já os extratos das Folhas de Mastruz não apresentaram morte significativa para se considerar uma concentração mínima para a mortalidade dos gorgulhos.

O extrato e óleo essencial do Mastruz (*C. ambrosioides*) foram eficientes no controle dos gorgulhos, em condições de laboratório, podendo ser uma alternativa de inseticida para o controle destes insetos. A toxicidade de uma substância química em insetos não a qualifica, necessariamente, como

um inseticida. Diversas propriedades devem estar associadas à atividade, tais como: eficácia mesmo em baixas concentrações, ausência de fitotoxicidade, fácil obtenção, manipulação e aplicação, viabilidade econômica e não ser cumulativa no tecido adiposo humano e de animais domésticos. Sendo assim, a simplicidade do preparo dos extratos e seu baixo custo permitem com que os mesmos sejam produzidos pelo próprio agricultor, quando necessário, reduzindo os custos de produção. No entanto, novos testes precisam ser realizados para demonstrar a eficácia do produto.

Referencias

- ALONSO, J. *Tratado de fitofármacos y nutracéuticos*. Rosario: Corpus Libros, 2004.
- ARAÚJO, E.L.; ZUCCHI, R. A. Moscas-das-frutas (Diptera: Tephritidae) em goiaba (*Psidium guajava* L.), em Mossoró, RN. *Arq. Instituto Biol.*, v.70, n.1, p.73-77, 2003.
- CARVALHO, G.A. Eficiência do óleo de nim (*Azadirachta indica* A. Juss) no controle de *Brevicoryne brassicae* (Linnaeus, 1758) e *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) (Hemiptera: Aphididae) em couve-manteiga *Brassica oleracea* Linnaeus var. *acephala*. *Arq. Instituto Biol.*, v.75, n.2, p.181-186, 2008.
- FAZOLIN, M. et al. Propriedade inseticida dos óleos essenciais de *Piper hispidinervum* C. DC.; *Piper aduncum* L. e *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. & K. Shum sobre *Tenebrio molitor* L., 1758. *Ciênc. Agrotecnol.*, v.31, n.1, p.113-120, 2007.
- JARDIM, C. M. *Composição de extratos de Chenopodium ambrosioides* L. Viçosa: UFV, 2008.
- MESQUITA, J.M.O. et al. Estudo comparativo dos óleos voláteis

de algumas espécies de Piperaceae. *Rev. Bras. Farmacognosia*, v.15, n.1, p.6-12, 2005.

ROSSI, D. et al. Chemical fingerprinting and bioactivity of Amazonian Ecuador Croton lechleri Müll. Arg. (Euphorbiaceae) stem bark essential oil: a new functional food ingredient. *Food Chemistry*, v.126, n.4, p.1593-1598, 2011.

PANDEY, M.K. et al. Scientific standardization of leaves of *Chenopodium album* L. *J. Pharm. Phytochemistry*, v.5, n.5, p.1-6, 2016.

PEREIRA, P.R.V.S.; PINTO JUNIOR, A.R.; FURIATTI, R.S.

Eficiência de inseticidas no controle de *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) e *Rhyzopertha dominica* (Fab.) (Coleoptera: Bostrichidae) em cevada armazenada. *Rev. Acad. Ciênc. Agrárias Amb.*, v.1, n.3, p.65-71, 2003.

SILVA C.A.; LIMA, C.A.; COSTA D.S. Caracterização química do óleo essencial da casca de *Citrus sinensis* obtido por hidrodestilação em aparelho clevenger. Belém-PA, 2010.

VIEGAS, C.J. 2003. Terpenos com atividade inseticida activity: an alternative to chemical control of insects. *Quím. Nova*, v.26, p.390-400, 2003.