

CENTRO UNIVERSITÁRIO DO CERRADO PATROCÍNIO - UNICERP
Graduação em Ciências Biológicas

BIOATIVIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL E EXTRATOS BRUTOS DA ESPÉCIE
***Chenopodium ambrosioides* L. SOBRE PRAGAS DE INTERESSE AGRÍCOLA**

Murilo Luiz dos Santos

PATROCÍNIO - MG
2018

MURILO LUIZ DOS SANTOS

**BIOATIVIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL E EXTRATOS BRUTOS DA ESPÉCIE
Chenopodium ambrosioides L SOBRE PRAGAS DE INTERESSE AGRÍCOLA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como exigência parcial para a obtenção do grau Bacharelado em Ciências Biológicas pelo Centro Universitário do Cerrado Patrocínio – UNICERP.

Orientador: Prof. Dr. Wagner Antônio Bernardes.

**PATROCÍNIO - MG
2018**



Centro Universitário do Cerrado Patrocínio
Curso de Graduação em Ciências Biológicas

Trabalho de conclusão de curso intitulado “**Bioatividade do óleo essencial e extratos brutos da espécie *Chenopodium ambrosioides* L sobre pragas de interesse agrícola**” de autoria do graduando Murilo Luiz dos Santos, aprovado pela banca examinadora constituída pelos seguintes professores:

Prof^a. Dra. Lilian Cristina Barbosa.
Instituição: UNICERP

Prof^a. Esp. Rosângela de Oliveira Araújo
Instituição: UNICERP

Prof. Dr. Wagner Antonio Bernardes
Instituição: UNICERP

Data de aprovação: 07/12/2018

Patrocínio, 07 de dezembro de 2018

AGRADECIMENTOS

Parafrazeando o filósofo grego Plutarco, “o que conquistamos em nosso interior, modifica nossa realidade exterior”.

E hoje, depois de tantas mudanças, me sinto um pouco mais preparado para os obstáculos que enfrentarei no futuro. Espero ainda poder aprender muito nessa jornada, assim como poder retribuir, ao menos, parte do que aprendi e deixar minhas pegadas aqui quando partir, não só nas areias do tempo, mas também nos corações que eu toquei.

Quero começar agradecendo a mãe natureza por sua fonte eterna de doação, presença imponente, fonte de beleza, força e renovação, mãe sagrada sem qual não existiríamos. Agradecer ao professor Wagner meu pai, amigo, conselheiro, aliado... Gratidão eterna por me mostrar que sempre posso ir além, por ser o melhor exemplo que eu poderia querer como PAI, obrigado por estar do meu lado em todos os momentos bons e ruins nos últimos anos.

Agradecer a professora Lilian, minha coorientadora, Madrinha, mãe, amiga... obrigado por acreditar em mim dès do começo, por ser também protagonista na minha história. agradecer a minha família do coração (Ana, Ariany, Geralda, Luisa) Ao grupo de pesquisa em produtos naturais do UNICERP Aos meus amigos do grupo de pesquisa Jessica Cardoso, Mateus Inácio, Gabriel Inácio. Aos meus colegas do Curso de Ciências Biológicas. Ao meu coordenador Bruno Diniz

Aos meus professores em especial a professora Rosangela Vulgo Tia Ró. Agradecer ao Centro Universitário do Cerrado Patrocínio. Muito obrigado a todos que fizeram parte dessa etapa na minha vida, e me fizeram acreditar que sou capaz.

RESUMO

Introdução: A agricultura orgânica e agricultura familiar buscar implementar produtos de forma natural e mais rentável para o controle de pragas e doenças. Estudar a bioatividade de uma planta como *Chenopodium ambrosioides* L. possibilita a adoção de métodos de utilização desta planta tão encontrada em terrenos baldios e na zona rural como planta daninha. **Objetivo:** Avaliar a possível atividade bactericida, bacteriostática, inseticida e alelopática dos extratos brutos e do óleo essencial da espécie vegetal *C. ambrosioides* em diferentes concentrações, sob condições de laboratório. **Material e Métodos:** Para a avaliação do efeito fumigante foram utilizadas câmaras de fumigação. Cada parcela foi constituída por 10g de feijão acondicionados no interior dos recipientes juntamente com cinco casais *Z. subfasciatus*. Para avaliação da repelência, o óleo essencial foi testado nas doses de 0,1 µL, 0,2 µL, 0,4 µL e 0,8 µL utilizando-se arena formada por cinco recipientes. No interior dos quatro recipientes laterais foram acondicionadas 10g de feijão. A atividade bactericida dos extratos brutos foi avaliada nas concentrações entre 25 e 1.000 µg mL⁻¹ utilizando o método de microdiluição em caldo Meio 523 em microplacas de 96 poços e bacteriostática, nas mesmas concentrações, em placas de Petri em Meio 523, segundo o Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), frente às fitobactérias: *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (UFUB13), *Clavibacter michiganensis* subesp. *michiganensis* (1132) e *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (Feij - 3161). Para avaliação da atividade alelopática foram utilizados cinco tratamentos nas concentrações de 0,25%, 0,5%, 0,75%, 1%, 2%, 3%, 4% e 5%. **Resultados:** Nas doses 2µL/L, 4µL/L, 6µL/L, 8µL/L e 10 µL/L o óleo essencial apresentou atividade inseticida de efeito fumigante estatisticamente significativa, todos os insetos morreram após 12 horas de avaliação, sendo 100% eficientes causando a morte de todos insetos. As doses de 0,1µL, 0,2µL, 0,4µL e 0,8 µL apresentaram respectivamente índices de repelência de (M±EP): 0,55±0,09; 0,57±0,08; 0,50±0,06; 0,57±0,08; 0,48±0,08, sendo o óleo essencial classificado como repelente aos *Z. subfasciatus* em todas as doses avaliadas. Utilizando como referência os parâmetros estabelecidos na literatura ($\leq 100 \mu\text{g mL}^{-1}$) para determinar a atividade antibacteriana de extratos brutos, os resultados deste estudo ($>1000 \mu\text{g mL}^{-1}$) demonstraram que os extratos avaliados não apresentaram atividade bactericida e bacteriostática frente às fitobactérias avaliadas em todas as concentrações testadas. O índice de velocidade de germinação (IVG) e comprimento médio da raiz primária (CRMP) sofreram redução estatisticamente significativa em relação a testemunha negativa. O efeito alelopática do óleo essencial ocorreu a partir da concentração de 0,50%, sugerindo uma dose dependência, pois os valores são crescentes, sendo que a partir da concentração de 2% atinge 100% de interrupção no processo de germinação das sementes. **Conclusões:** O óleo essencial apresentou relevante efeito fumigante sobre *Z. subfasciatus*. Os resultados sugerem que a elevação na dose do óleo essencial aumenta a eficiência no controle da população de carunchos; a sua atividade repelente foi verificada nas doses avaliadas; e o seu efeito alelopático foi comprovado, sugerindo a sua utilização como alternativa ao uso defensivos agrícolas no controle de plantas daninhas. Nas condições desse experimento os extratos brutos de *C. ambrosioides* L não foram eficientes no controle das fitobactérias testadas.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	11
2	OBJETIVOS.....	15
2.1	Objetivo Geral.....	15
2.2	Objetivo Específico.....	15
3.	DESENVOLVIMENTO.....	16
3.1	Artigo 1 MORTALIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE <i>Chenopodium ambrosioides</i> L. SOBRE ADULTOS DE <i>Zabrotes subfasciatus</i> EM SEMENTES DE FEIJOEIRO.....	16
3.2	Artigo 2 REPELÊNCIA DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Chenopodium ambrosioides</i> L. SOBRE ADULTOS DE <i>Zabrotes subfasciatus</i> EM SEMENTES DE FEIJOEIRO.....	24
3.3	Artigo 3 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DOS EXTRATOS BRUTOS DA ESPÉCIE <i>Chenopodium ambrosioides</i> L FRENTE À BACTÉRIAS FITOPATOGÊNICAS DE INTERESSE NA AGRICULTURA	33
3.4	Artigo 4 EFEITO ALELOPÁTICO DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Chenopodium ambrosioides</i> L. SOBRE A GERMINAÇÃO DE <i>Cucumis sativus</i> L.....	43
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	50
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	51
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52

LISTA DE TABELA

Tabela 1	Efeito fumigante do óleo essencial no 3º dia de observação sobre adultos de <i>Z.subfasciatus</i>	21
Tabela 1	Atratividade de adultos de <i>Z. subfasciatus</i> pelo óleo essencial da espécie vegetal <i>C. ambrosioides</i> L.....	30
Tabela 1	Resultado da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) submetidas as concentrações do extrato hexânico, diclorometânico e etanólico de <i>C.ambrosioides</i>	40
Tabela 1	Sementes germinadas de <i>Cucumis sativus</i> L. (média±EM) submetidas as diferentes concentrações do óleo essencial de <i>C.ambrosioides</i> L.....	47

LISTA DE QUADRO

Quadro 1	Composição do Meio 523 de Kado e Heskett.....	38
Quadro 2	Composição do caldo Meio 523 de Kado e Heskett.....	38
Quadro 3	Espécies de fitobactérias utilizadas no experimento.....	39

LISTA DE FIGURA

Figura 1	Ramos, folhas e flores de <i>C. ambrosioides</i> L.....	27
Figura 2	Arena utilizada nos bioensaios para avaliação da repelência/atratividade dos óleos essenciais das espécies vegetais em relação a <i>Z. subfasciatus</i>	29

LISTA DE SÍGLAS

G%	Germinação
IVG%	Índice de velocidade de germinação
CMRP	Comprimento médio da raiz primária
A%	Porcentagem de Alelopatia
μL	Microlitro
g	grama
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CIM	Concentração Mínima inibitória
CBM	Concentração Bactericida Mínima
B.O.D	Demanda bioquímica de oxigênio
mL	Mililitro
M	Média
EP	Erro padrão
IR	Índice de Repelência
ICLASS	Intervalo de Classe
DP	Desvio padrão
μg	Micrograma
UFC	Unidade formadora de colônia
DMSO	Dimetil sulfóxido
ha	Hectare

1 INTRODUÇÃO

No contexto atual de busca de tecnologias de produção menos agressivas ao homem e ao meio ambiente, o uso de produtos naturais tem assumido maior importância na área agrícola. O modelo de agricultura baseado no uso intensivo de insumos exige grande resiliência dos ecossistemas, pois, além da poluição química, tal modelo se apoia no aumento de produtividade baseado em plantações de uma única espécie, eliminando a biodiversidade local (ROMEIRO, 2005; NASCIMENTO *et al.*, 2006).

Nas regiões tropicais, a umidade relativa e as temperaturas elevadas são favoráveis para o crescimento e o desenvolvimento de patógenos e a reprodução e sobrevivência de insetos-praga fazendo com que espécies vegetais dessas regiões tornem-se vulneráveis ao ataque dos mesmos (NASCIMENTO *et al.*, 2006). As doenças de origem fúngica e bacteriana na agricultura são responsáveis por enormes prejuízos todos os anos no Brasil e no mundo. O surgimento de resistência e a efetividade dos produtos envolvidos também devem ser considerados, uma vez que, antibióticos antes efetivos podem tornar-se ineficazes pelo uso continuado dos mesmos grupos químicos e/ou com modo de ação semelhante. O baixo número de agrotóxicos registrados para as diferentes culturas também contribuí nesse processo (ROMEIRO, 2005). Por isso é muito importante que alternativas mais baratas e menos agressivas à saúde humana e animal sejam estudadas.

O controle de insetos-praga é realizado, tradicionalmente, através de inseticidas fumigantes como fosfeto de alumínio, fosfina de hidrogênio e tetracloreto de carbono. Essa prática, muitas vezes, oferece elevado risco ao aplicador e também ao consumidor, devido aos resíduos potencialmente tóxicos deixados sobre os grãos, uma vez que muitos produtos são aplicados próximos ao período de consumo (GOLOB e KILMINSTER, 1982; SCHOONHOVEN e DAN, 1982).

O manejo de pragas com inseticidas de origem vegetal tem despertado um grande interesse da sociedade, devido à sua segurança e seletividade (VIEGAS JÚNIOR 2003; RIBEIRO *et al.* 2003; BENHALIMA *et al.* 2004). Segundo Vendramim e Castiglioni (2000), os crescentes estudos com inseticidas botânicos devem-se à necessidade de se dispor de novos compostos para uso no controle de pragas, sem os problemas de contaminação ambiental, resíduos nos alimentos, efeitos prejudiciais aos demais organismos e a seleção de insetos resistentes, características estas, normalmente, presentes nos inseticidas sintéticos convencionais. Segundo os autores, a diminuição na diversidade de moléculas sintéticas com

atividade inseticida e o acréscimo nos custos de produção das mesmas, também têm estimulado os estudos com inseticidas vegetais.

Como em animais, as plantas estão continuamente expostas ao ataque de patógenos. Porém, tendo em vista a inexistência de resposta imune mediada por anticorpos, as plantas desenvolveram durante o processo de evolução, mecanismos diferenciados de defesa que, quando acionados percebem a agressão, traduzindo essa percepção em uma resposta apropriada e de forma adaptativa (PIETERSE *et al.*, 2005; SHEWRY e LUCAS, 1997; WIT, 2007). Dentre estas formas destaca-se a produção de metabólitos secundários, sintetizados pelas plantas em resposta a uma injúria, que podem ser isolados e usados no controle de fitopatógenos. Trabalhos desenvolvidos com extrato bruto e óleo essencial, obtidos a partir de plantas, têm indicado o potencial das mesmas no controle de fitopatógenos (CUNICO *et al.*, 2003).

Alelopatia é o efeito de inibição do desenvolvimento de uma planta a outra, causada por substâncias aleloquímicas, estas sendo produzidas de forma natural pelas plantas, evitando assim a competição entre elas por espaço, luz e nutrientes. Estas substâncias também são utilizadas para proteger as plantas contra patógenos, parasitas dentre outras enfermidades. Os óleos essenciais ou grande parte deles possuem efeitos aromáticos, despertando assim um grande interesse na obtenção deles trazendo estudos sobre formas de obtenção e também formas de cultivos das plantas que os possuem (VITTI e BRITO, 2003).

Segundo Lorenzi (2002), a espécie *C. ambrosioides* pertencente à família Chenopodiaceae, é popularmente conhecida como ambrisina, cambrósia, erva-de-santa-maria, mastruço, mastruz, mentrasto; é uma planta perene ou anual muito ramificada, com até 1m de altura. É originária da América Central e do Sul e espontânea no sul e sudeste do Brasil, onde é considerada planta daninha (LORREZI, 2002). Vários estudos relatam a atividade de *C. ambrosioides* sobre bactérias e insetos.

A utilização de agroquímicos como o principal método de controle de praga, o seu uso indiscriminado e incorreto, tem provocado o aumento no número de aplicações e diminuído sua eficiência, principalmente devido seleção de populações resistentes, acúmulo de resíduos nos alimentos e intoxicação de operadores. Podendo ainda provocar prejuízos irreparáveis ao solo, à fauna, à flora e aos recursos hídricos, comprometendo a sustentabilidade desse ecossistema e colocando muitas espécies animais e vegetais em risco de extinção.

Desta forma, medidas de controle que causem menor impacto ambiental são de primordial importância, o que vem estimulando o ressurgimento do uso de plantas como ferramenta promissora para controle de pragas na agricultura, justificando a necessidade de

estudos que visem o isolamento e a identificação de compostos bioativos. Diante do exposto, a proposta deste projeto é avaliar a bioatividade do óleo essencial, pó e extratos brutos das folhas da espécie vegetal *C. ambrosioides* L em diferentes concentrações sobre patógenos e o inseto-praga sob condições de laboratório.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivos Gerais

Avaliar a possível atividade bactericida, bacteriostática, inseticida e alepática dos extratos brutos e do óleo essencial da espécie vegetal *C. ambrosioides* em diferentes concentrações, sob condições de laboratório.

2.2 Objetivos específicos

- Preparar os extratos hexânico, diclometânico e hidroalcoólico das folhas de *C. ambrosioides* L.;
- Extrair por hidrodestilação o óleo essencial das folhas de *C. ambrosioides* L.;
- Determinar a atividade antibacteriana pela técnica da concentração inibitória mínima (CIM) dos extratos brutos hexânico, diclometânico e hidroalcoólico frente às fitobactérias de interesse na agricultura.
- Determinar a atividade bactericida dos extratos brutos hexânico, diclometânico e etanólico frente às fitobactérias de interesse na agricultura;
- Avaliar de efeito inseticida via fumigação do óleo essencial de *C. ambrosioides* L. em diferentes concentrações;
- Avaliar de repelência dos óleos essenciais de *C. ambrosioides* L.;
- Avaliar o efeito alelopático do óleo essencial de *C. ambrosioides* L. sobre a germinação da semente de *Cucumis sativus* L. (pepino caipira).

3 DESENVOLVIMENTO

3.1 Artigo 1

MORTALIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *Chenopodium ambrosioides* L. SOBRE ADULTOS DE *Zabrotes subfasciatus* EM SEMENTES DE FEIJOEIRO

Murilo Luiz dos Santos¹

Jessica Cardoso Ferreira²

Gabriel da Costa Inacio³

Wagner Antonio Bernardes⁴

RESUMO

Introdução: O controle de insetos-praga é realizado, tradicionalmente, através de inseticidas fumigantes como o fosfeto de alumínio. Essa prática, muitas vezes, oferece elevado risco ao aplicador e ao consumidor. O caruncho *Zabrotes subfasciatus* é apontado como uma das principais pragas do feijão armazenado. A espécie *C. ambrosioides* L. (erva-de-santa-maria), vem apresentando resultados relevantes em diversos estudos referentes a atividade inseticida. **Objetivo:** avaliar o efeito fumigante do óleo essencial de *C. ambrosioides* L. sobre *Z. subfasciatus*. **Metodologia:** Os insetos utilizados nos experimentos foram obtidos de uma criação estoque, em estufa B.O.D. com fotoperíodo e temperatura controlados. A extração do óleo essencial foi realizada através da técnica de hidrodestilação em aparelho de Clevenger. Para a avaliação do efeito fumigante foram utilizadas câmaras de fumigação. Cada parcela foi constituída por 10g de feijão acondicionados no interior dos recipientes juntamente com cinco casais *Z. subfasciatus*. Os tratamentos foram aplicados sobre discos de papel de filtro nas doses: 0,25µL/L (0,00002%); 0,5µL/L (0,00005%); 1µL/L (0,0001%); 2µL/L (0,0002%); 4µL/L (0,0004%); 6µL/L (0,0006%); 8µL/L (0,0008%) e 10µL/L (0,001%). Como testemunha negativa foram utilizadas parcelas sem óleo essencial. As avaliações de mortalidade foram realizadas 12, 24, 48, 72 e 96 horas após a aplicação do óleo essencial. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e, quando indicado, as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. **Resultados:** Nas doses 2µL/L, 4µL/L, 6µL/L, 8µL/L e 10 µL/L o óleo essencial apresentou atividade inseticida de efeito fumigante estatisticamente significante, todos os insetos morreram após 12 horas de avaliação, sendo 100% eficientes causando a morte de todos insetos. Entretanto, nas doses 0,25µL/L, 0,5µL/L e 1µL/L, o óleo essencial não apresentou atividade inseticida após 72 horas da aplicação. **Conclusão:** O óleo essencial apresentou relevante efeito fumigante sobre *Z. subfasciatus*. Os resultados sugerem que a elevação na dose do óleo essencial aumenta a eficiência no controle da população de carunchos.

Palavras-chave: CARUNCHO, *Chenopodium ambrosioides*; ATIVIDADE INSETICIDA.

¹ Graduando em Ciências Biológicas pelo Centro Universitário do Cerrado de Patrocínio (UNICERP), mr_silva02@hotmail.com .

² Agrônoma, pelo Centro Universitário do Cerrado de Patrocínio (UNICERP), Mestranda em Ciências pela Universidade de Franca (UNIFRAN).

³ Biólogo, pelo Centro Universitário do Cerrado de Patrocínio (UNICERP), Mestre em Ciências e Doutorando em Ciências pela Universidade de Franca (UNIFRAN).

⁴ Graduado em Ciências e Biologia pela Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Patrocínio (FAFI); Especialista em Biologia (FAFI); Especialista em Biologia Geral (UFLA); Mestre e Doutor em Ciências pela Universidade de Franca (UNIFRAN); Pós-doutor em Proteção de Plantas (UNESP)

MORTALITY OF THE ESSENTIAL OIL OF THE LEAVES OF *Chenopodium ambrosioides* L. ON ADULTS OF *Zabrotes subfasciatus* IN FEIJOEIRO SEEDS

ABSTRATC

Introduction: Pest control is traditionally carried out through fumigant insecticides such as aluminum phosphide. This practice often poses a high risk to the applicator and the consumer. The wildebeest *Zabrotes subfasciatus* is noted as one of the main pests of stored bean. The species *C. ambrosioides* L. (Santa-Maria herb) has been showing relevant results in several studies concerning insecticidal activity. **Objective:** to evaluate the fumigant effect of *C. ambrosioides* L. essential oil on *Z. subfasciatus*. **Methodology:** The insects used in the experiments were obtained from a stock breeding, B.O.D. with controlled photoperiod and temperature. The extraction of the essential oil was accomplished through the hydrodistillation technique in Clevenger apparatus. Fumigation chambers were used to evaluate the fumigant effect. Each plot consisted of 10g of bean packed inside the containers along with five couples *Z. subfasciatus*. The treatments were applied to filter paper discs at the following rates: 0.25µL / L (0.00002%); 0.5µL / L (0.00005%); 1µL / L (0.0001%); 2µL / L (0.0002%); 4µL / L (0.004%); 6µL / L (0.0006%); 8µL / L (0.0008%) and 10µL / L (0.001%). As negative control, plots without essential oil were used. Mortality evaluations were performed 12, 24, 48, 72 and 96 hours after the application of the essential oil. The data were submitted to analysis of variance (ANOVA) and, when indicated, the means compared by the Tukey test at the 5% probability level. **Results:** At the doses 2µL / L, 4µL / L, 6µL / L, 8µL / L and 10µL / L, the

essential oil showed statistically significant insecticidal effect of fumigant effect, all insects died after 12 hours of evaluation, being 100% efficient causing the death of all insects. However, at the doses 0.25µL / L, 0.5µL / L and 1µL / L, the essential oil showed no insecticidal activity after 72 hours of application. **Conclusion:** The essential oil showed a significant fumigant effect on *Z. subfasciatus*. The results suggest that the increase in the dose of the essential oil increases the efficiency in controlling the population of carunchos.

Key words: CARUNCHO, *Chenopodium ambrosioides*; INSECTICIDE ACTIVITY.

INTRODUÇÃO

Os inseticidas tradicionais utilizados ao longo dos anos apresentam moléculas eficientes com excelentes resultados no controle de pragas de grãos armazenados. O seu uso indiscriminado, ao longo de anos, levou a seleção de formas resistentes de pragas, provocando redução na sua eficiência, conseqüentemente provocando o aumento na dose aplicada, aumentando o custo de produção e o impacto ambiental (LIMA JUNIOR, 2012).

Os inseticidas fumigantes provocam a mortalidade dos insetos em todos os seus estágios de desenvolvimento, sendo considerado um eficiente método no controle de pragas. No Brasil a fosfina é um dos produtos mais utilizados para a fumigação em grãos. A fosfina é altamente tóxica, de baixo custo e de fácil acesso. Sua toxicidade resulta da liberação do gás fosfina quando exposto a umidade, o seu uso de forma inadequada resulta em altos índices de intoxicação e sérios danos ambientais. Devido à complexidade desta situação é importante a conscientização da população para o uso de substâncias alternativas para o controle de pragas.

Assim, o estudo de substâncias presentes nas plantas possibilita investigar novas substâncias com atividades inseticidas, que preencham os requisitos de eficácia, segurança e seletividade. Neste contexto, os óleos essenciais, destacam-se por possuírem compostos com potencial inseticida (PRATES; SANTOS, 2002)

O feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma importante fonte de proteína na dieta humana, especialmente na América Latina e África. O Brasil destaca-se na produção e no consumo, que é utilizado na alimentação humana em praticamente todos os estados do país. Para evitar a escassez na entre safra o produto precisa ser armazenado. O processo de armazenamento pode favorecer o ataque de pragas provocando a redução na qualidade dos grãos (LIMA JÚNIOR, 2012).

Os *Z. subfasciatus* e uma das principais pragas do feijão armazenado, na sua fase larval abre galerias nos cotilédones do feijão podendo destruir completamente o grão e a presença dos ovos e de orifícios de emergência dos adultos de insetos mortos e de excrementos afetam a qualidade do produto (BALDIN, et al., 2009; BALDIN, et. al, 2008; GALLO et al., 1988)

OBJETIVO

Avaliar a possível atividade fumigante do óleo essencial das folhas da espécie *C. ambrosioides* L. em diferentes concentrações, sob condições de laboratório.

MATERIAL E MÉTODOS

Material botânico

As folhas da espécie vegetal *Chenopodium ambrosioides* L foram coletadas no mês de junho de 2017, no município de Patrocínio, localizado na porção oeste do Estado de Minas Gerais, na zona fisiográfica do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba. A confirmação da identificação foi realizada com a colaboração da Prof^a Rosângela de Oliveira Araújo docente do Centro Universitário do Cerrado Patrocínio (UNICERP) e a exsicata foi depositada no Herbário do Centro Universitário do Cerrado Patrocínio.

Obtenção dos óleos essenciais

As folhas frescas da espécie vegetal foram submetidas à extração do óleo essencial através da técnica de hidrodestilação, pelo método de arraste a vapor (aparelho de Clevenger). Foram utilizadas 100 g de folhas frescas juntamente com 500 mL de água destilada. A mistura foi submetida a uma temperatura de extração de aproximadamente 100°C, durante um período de 90 minutos. A amostra do óleo foi seca com sulfato de sódio anidro e armazenada em frasco de vidro âmbar a temperatura de -4°C até a realização dos ensaios (SIMÕES et al., 2007).

Criação de *Zabrotes subfasciatus*

Para a realização dos ensaios foi mantida uma criação estoque de *Z. subfasciatus* em câmara climática tipo B.O.D. ($T = 27 \pm 2^\circ\text{C}$; $\text{UR} = 70\% \pm 10\%$ e fotofase = 12h). Foram utilizados frascos de vidro transparente (1 L), fechados na parte superior com tampa rosqueável, com abertura circular, protegida por uma tela (30 mesh) para permitir aeração interna. Em cada frasco foram colocados 300g de grãos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), variedade Carioca, sendo infestados com indivíduos adultos de *Z. subfasciatus* (VENDRAMIM *et al.*, 2000).

Bioensaios com óleos essenciais

Para avaliação do efeito fumigante do óleo proveniente da planta, foram utilizadas câmaras de fumigação, constituídas de recipientes plásticos (50 mL). Foram utilizados nove tratamentos: 0 $\mu\text{L/L}$ (0%); 0,25 $\mu\text{L/L}$ (0,00002%); 0,5 $\mu\text{L/L}$ (0,00005%); 1 $\mu\text{L/L}$ (0,0001%); 2 $\mu\text{L/L}$ (0,0002%); 4 $\mu\text{L/L}$ (0,0004%); 6 $\mu\text{L/L}$ (0,0006%); 8 $\mu\text{L/L}$ (0,0008%) e 10 $\mu\text{L/L}$ (0,001%) do óleo essencial da planta. Os tratamentos foram aplicados com auxílio de um micropipetador automático sobre discos de papel de filtro acoplados na parte interna da tampa dos recipientes.

No interior das câmaras foram acondicionadas 10g de feijão, juntamente com cinco casais *Z. subfasciatus* (24 h de idade) e um tratamento. As avaliações de mortalidade foram realizadas 12, 24, 48 e 72 horas após a aplicação dos óleos no interior dos frascos. Após as avaliações de efeito fumigante, os insetos vivos ou mortos foram retirados do interior das câmaras.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 8 repetições por tratamento (VENDRAMIM *et al.*, 2000; TAVARES, 2006; BALDIN *et al.*, 2008).

Análise Estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e, quando indicado, as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. As análises foram realizadas com o software Sisvar versão 5.3 (Build 7.5). Quando necessário, os dados foram transformados em $(x+0,5)^{1/2}$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas doses 2µL/L, 4µL/L, 6µL/L, 8µL/L e 10 µL/L o óleo essencial apresentou atividade inseticida de efeito fumigante estatisticamente significativa, todos os insetos morreram após 12 horas de avaliação, sendo 100% eficientes causando a morte de todos insetos (tabela 1). Entretanto, nas doses 0,25µL/L, 0,5µL/L e 1µL/L, o óleo essencial não apresentou atividade inseticida após 72 horas da aplicação (tabela 1). Estudos realizados por Bernardes, et al. (2018) demonstraram o efeito fumigante do óleo essencial de *C. ambrosioides* L a partir de dose 2,5 µL/L em 12 horas de observação, corroborando que este trabalho.

Tabela 1. Efeito fumigante do óleo essencial no 3º dia de observação sobre adultos de *Z. subfasciatus*.

Tratamentos (µL/L)	Concentração (%)	Mortalidade (Média±EP)
Testemunha negativa	0	0,3±0,15a
0,25	0,00002	1,0±0,32a
0,5	0,00005	1,4±0,98a
1	0,0001	1,8±0,66a
2	0,0002	10,0±0,00c
4	0,0004	10,0±0,00c
6	0,0006	10,0±0,00c
8	0,0008	10,0±0,00c
10	0,0001	10,0±0,00c
P		<0,05
CV (%)		20,49

Para análise estatística as médias de mortalidade foram transformadas em $(x + 0,5)^{1/2}$. Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem significativamente entre si pelo Teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

CONCLUSÃO

O óleo essencial apresentou relevante efeito fumigante sobre *Z. subfasciatus*. Os resultados sugerem que a elevação na dose do óleo essencial aumenta a eficiência no controle da população de carunchos.

REFERÊNCIAS

BALDIN, E. L. L.; PEREIRA, J. M.; DAL POGETTO, M. H. F. A.; CHRISTOVAM, R. S.; CAETANO, A. C. Efeitos de pós vegetais sobre *Zabrotes subfasciatus* Bohemann (Coleoptera: Bruchidae) em grãos de feijão armazenado. **Boletim de Sanidad Vegetal de Plagas**, v. 34, p. 177-185, 2008.

BALDIN, E.L. L.; PRADO, J.P.M.; CHRISTOVAM, R.S.; DAL POGETTO, M.H.F.A. Uso de Pós de Origem Vegetal no Controle de *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera: Bruchidae) em Grãos de Feijoeiro. **BioAssay**, v.4, n.2, p.1-8, 2009.

BERNARDES, W.A.; SILVA, E.O.; CROTTI, A.E.M.; BALDIN, E.L.L. Bioactivity of selected plant-derived essential oils against *Zabrotes subfasciatus* (Coleoptera: Bruchidae). **Journal of Stored Products Research**, v.77, p.16-19, 2018.

FLORÃO, A.1; FONSECA, R.V. 1; LOPES, M. 2,3; GABRIEL, M. M. FOSFINA: RISCOS Visão Acadêmica, Curitiba, v. 5, n. 2, p. 101-108, Jul.- Dez./2004 - ISSN: 1518-5192

GALLO, D.; NAKANO, O.; NETO, S.S.; CARVALHO, R.P.L.; BATISTA, G.C.; BERTI, E.F.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIN, J.D. **Manual de Entomologia Agrícola**. 2º ed. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres, 1988. 649p.

LIMA JÚNIOR, A.F.; OLIVEIRA, I.P.; ROSA, S.R.A.; SILVA, A.J.; MORAIS, M.M. Controle de Pragas de Grãos Armazenados: uso e aplicação de fosfetos. **Revista Faculdade Montes Belos**, v.5, n.4, p.180-194, 2012.

LIMA, A. L.; MAGALHÃES, S.A.; SANTOS, M. R. A. Levantamento Etnobotânico de Plantas Medicinais Utilizadas na Cidade de Vilhena, Rondônia. **Revista Pesquisa & Criação**, v.10, n.2, p. 165-179, 2011.

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

LORENZI, H. **Plantas Daninhas do Brasil** – terrestres, aquáticas, parasitas, tóxicas e medicinais. São Paulo: Ed. Nova Odessa, 1982. p. 38

MAZZONETTO, F. Efeito de genótipos de feijoeiro e de pós de origem vegetal sobre *Zabrotes subfasciatus* (Boh.) e *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Col.: Bruchidae). 2002. 134p. **Tese**

(Doutorado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

NOVO, R. J.; VIGLIANCO, A.; NASSETA, M. Actividad Repelente de Diferentes Extractos Vegetales sobre *Tribolium castaneum* (Herbst). **Agriscientia**. v.14, p.31-36, 1997.

PRATES, H.T.; SANTOS, J.P. Óleos essenciais no controle de pragas de grãos armazenados. Plant Physiology. In: LORENTI, I.; MIIKE, L.H.; SENSSEL, V.M.. Armazenagem de grãos. Campinas: Instituto Bio Geneziz, p.443-489.

SÁ, R.D.; SOARES, L.A.L.; RANDAU, K. P.; Óleo essencial de *Chenopodium ambrosioides* L.: estado da arte. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. v.36, n.2, p.267-276, 2015.

SILVEIRA, S. N. **Entomologia Agrícola**. Piracicaba/SP: Ed. FEALQ, 2002. 920p.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R.. 6ª ed. **Farmacognosia: da Planta ao Medicamento**. Florianópolis, SC: Editora Universidade/UFRGS, 2007.1102p.

TAVARES, M.A.G.C. Busca de compostos em *Chenopodium spp.* (Chenopodiaceae) com bioatividade em relação a pragas de grãos armazenados. 2006. 111p. **Tese** (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2006.

TAPONDJOU, L.A.; ADLER, C.; BOUDA, H.; FONTEM, D.A. Efficacy of powder and essential oil from *Chenopodium ambrosioides* leaves as post-harvest grain protectants against six-stored products beetles. **Journal of Stored Products Research**, v.38, n.4, p.395-402, 2002.

VENDRAMIM, J.D.; CASTIGLIONI, E. Aleloquímicos, Resistência e Plantas Inseticidas. In: GUEDES, J.C.; DRESTER DA COSTA, I.; CASTIGLIONI, E. **Bases e Técnicas do Manejo de Insetos**. Santa Maria, RS: UFSM/CCR/DFS, 2000. p.113-128

3.2. Artigo 2

REPELÊNCIA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Chenopodium ambrosioides* L. SOBRE ADULTOS DE *Zabrotes subfasciatus* EM SEMENTES DE FEIJOEIRO

Murilo Luiz dos Santos¹

Jessica Cardoso Ferreira²

Gabriel da Costa Inacio³

Wagner Antonio Bernardes⁴

RESUMO

Introdução: No contexto atual de busca de tecnologias de produção menos agressivas ao homem e ao meio ambiente. A espécie *Z. subfasciatus*, popularmente conhecida como caruncho, sendo considerada uma das principais pragas do feijão durante o armazenamento.

Objetivo: Avaliar a repelência do óleo essencial de *C. ambrosioides* L. sobre adultos de *Z. subfasciatus*.

Material e Métodos: O óleo essencial das folhas frescas de *C. ambrosioides* L. foi extraído pelo método de hidrodestilação. Para avaliação da repelência, o óleo essencial foi testado nas doses de 0,1 µL, 0,2 µL, 0,4 µL e 0,8 µL utilizando-se arena formada por cinco recipientes. No interior dos quatro recipientes laterais foram acondicionadas 10g de feijão. Em dois recipientes laterais foi aplicado o óleo essencial e os recipientes simetricamente opostos foram usados como testemunhas negativas. No recipiente central foram liberados 10 casais recém-emergidos de *Z. subfasciatus* (24 h de idade) e, após 24 h, foi contado o número de insetos por recipiente, foram efetuadas 8 repetições em delineamento inteiramente casualizado.

A análise dos dados foi realizada através do teste “t” Student, Índice de Repelência (IR), com base no IR e desvio padrão obtidos, determinou-se o Intervalo de Classificação (IClass.) para as médias dos tratamentos. **Resultados:** As doses de 0,1µL, 0,2µL, 0,4µL e 0,8 µL apresentaram respectivamente índices de repelência de (M±EP): 0,55±0,09; 0,57±0,08; 0,50±0,06; 0,57±0,08; 0,48±0,08, sendo o óleo essencial classificado como repelente aos *Z. subfasciatus* em todas as doses avaliadas. **Conclusão:** O óleo essencial da espécie *C. ambrosioides* L. apresenta atividade repelente nas doses avaliadas.

Palavras-chave: REPELÊNCIA; ÓLEO ESSENCIAL; *Chenopodium ambrosioides*

¹ Graduando em Ciências Biológicas pelo Centro Universitário do Cerrado de Patrocínio (UNICERP), mr_silva02@hotmail.com.

² Agrônoma, pelo Centro Universitário do Cerrado de Patrocínio (UNICERP), Mestranda em Ciências pela Universidade de Franca (UNIFRAN).

³ Biólogo, pelo Centro Universitário do Cerrado de Patrocínio (UNICERP), Mestre em Ciências e Doutorando em Ciências pela Universidade de Franca (UNIFRAN).

⁴ Graduado em Ciências e Biologia pela Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Patrocínio (FAFI); Especialista em Biologia (FAFI); Especialista em Biologia Geral (UFLA); Mestre e Doutor em Ciências pela Universidade de Franca (UNIFRAN); Pós-doutor em Proteção de Plantas (UNESP)

REPELLENCE OF ESSENTIAL OIL OF *Chenopodium ambrosioides* L. ON ADULTS OF *Zabrotes subfasciatus* IN BEAN SEEDS

ABSTRACT

Introduction: In the current context of research of production technologies less aggressive to man and the environment. The species *Z. subfasciatus*, was popularly known as woodworm, being one of the main pests of the beans during storage. **Objective:** To evaluate the repellency of the essential oil of *C. ambrosioides* L. on adults of *Z. subfasciatus*. **Material and Methods:** The essential oil of fresh leaves of *C. ambrosioides* L. was extracted by the hydrodistillation method. To evaluate the repellency, the essential oil was tested in the doses of 0.1 µL, 0.2 µL, 0.4 µL and 0.8 µL using sand formed by five containers. Inside the four lateral containers were 10g of beans. In two side containers the essential oil was applied and the symmetrically opposed containers were used as negative controls. Ten newly emerged couples of *Z. subfasciatus* (24 h old) were released into the central container and after 24 h the number of insects per container was counted, 8 replicates were made in a completely randomized design. Data analysis was performed using Student's t-test, Repellency Index (IR), based on IR and standard deviation obtained. The Classification Interval (IClass.) Was determined for the means of the treatments. **Results:** The doses of 0.1 µL, 0.2 µL, 0.4 µL and 0.8 µL presented respectively (M ± SD) repellency indexes: 0.55 ± 0.09; 0.57 ± 0.08; 0.50 ± 0.06; 0.57 ± 0.08; 0.48 ± 0.08, the essential oil being classified as repellent to *Z. subfasciatus* at all doses evaluated. **Conclusion:** The essential oil of the species *C. ambrosioides* L. presents repellent activity in the doses evaluated.

Keywords: REPELENCE; ESSENTIAL OIL; *Chenopodium ambrosioides*

INTRODUÇÃO

No contexto atual de busca de tecnologias de produção menos agressivas ao homem e ao meio ambiente, o uso de produtos naturais tem assumido maior importância na área agrícola. Os problemas relacionados a estocagem, como: déficit, condições de armazenamento, capacitação profissional, presença de fungos, bactérias e principalmente insetos-praga, comprometem a lucratividade da produção (LIMA et al. 2012).

A cultura do feijoeiro é susceptível ao ataque de inúmeras pragas, e dentre elas destacam-se a espécie *Zabrotes subfasciatus*, popularmente conhecida como caruncho, sendo considerada uma das principais pragas do feijão durante o armazenamento. Os danos causados por estes insetos são consideráveis, qualitativamente e quantitativamente, refletindo-se em redução no peso, na qualidade do produto e no poder germinativo das sementes (SILVEIRA, 2002). Esta praga causa deterioração da massa do grão, o que promove a contaminação fúngica e consequentemente a presença de micotoxinas dificultando a comercialização do produto (GALLO et al., 1988).

Os métodos mais comuns utilizados no controle de insetos-praga em grão armazenados são o expurgo e o tratamento com inseticidas organossintéticos. Muitos desses inseticidas nem sempre são eficientes para o controle, e seu uso de forma inadequada pode ainda selecionar formas resistentes dos insetos. Para o controle da resistência é uma prática comum a mistura de inseticidas para combater a infestação, esse procedimento aumenta o acúmulo de resíduos dos ingredientes ativos favorecendo a contaminação ambiental e consequentemente a contaminação de animais e seres humanos (LIMA, 2012; SÁ, 2015).

Os derivados botânicos, como alternativa de controle ao ataque dos insetos-praga, podem causar diversos efeitos sobre os insetos e dentre eles, destaca-se a atividade repelente, extensivamente descrita na literatura científica. Neste contexto, o uso de derivados botânicos apresenta diversas vantagens, destacando o baixo custo e a facilidade de manuseio.

A espécie *C. ambrosioides* L. é popularmente conhecida como erva-de-santa-maria, mastruz, mentrasto, pertencente à família Amaranthaceae (figura 1). No Brasil encontra-se distribuída em praticamente todo território nacional (LORENZI, 1982; LIMA et al. 2011). A atividade repelente de *C. ambrosioides* L. foi verificada no trabalho de Novo et al. (1997) que

concluiu que a planta possui princípios de repelência indicando ser uma possível alternativa no controle de pragas em grãos armazenados.



Figura 1. Ramos, folhas e flores de *C. ambrosioides* L.

OBJETIVO

Avaliar a possível atividade repelente do óleo essencial da espécie vegetal *C. ambrosioides* L. em diferentes concentrações, sob condições de laboratório.

MATERIAL E MÉTODOS

Material botânico

As folhas da espécie vegetal *Chenopodium ambrosioides* L foram coletadas no mês de junho de 2017, no município de Patrocínio, localizado na porção oeste do Estado de Minas Gerais, na zona fisiográfica do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba. A confirmação da identificação foi realizada com a colaboração da Prof^a Rosângela de Oliveira Araújo docente do Centro Universitário do Cerrado Patrocínio (UNICERP) e a exsicata será depositada no Herbário do Centro Universitário do Cerrado Patrocínio (UNICERP).

Obtenção dos óleos essenciais

As folhas frescas da espécie vegetal foram submetidas à extração do óleo essencial através da técnica de hidrodestilação, pelo método de arraste a vapor (aparelho de Clevenger). Foram utilizadas 100 g de folhas frescas juntamente com 500 mL de água destilada. A mistura foi submetida a uma temperatura de extração de aproximadamente 100°C, durante um período de 90 minutos. A amostra do óleo foi seco com sulfato de sódio anidro e armazenada em frasco de vidro âmbar a temperatura de -4°C até a realização dos ensaios (SIMÕES et al., 2007).

Criação de *Zabrotes subfasciatus*

Para a realização dos ensaios foi mantida uma criação estoque de *Z. subfasciatus* em câmara climática tipo B.O.D. ($T = 27 \pm 2^\circ\text{C}$; $\text{UR} = 70\% \pm 10\%$ e fotofase = 12h). Foram utilizados frascos de vidro transparente (1 L), fechados na parte superior com tampa rosqueável, com abertura circular, protegida por uma tela (30 mesh) para permitir aeração interna. Em cada frasco foram colocados 300g de grãos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), variedade Carioca, sendo infestados com indivíduos adultos de *Z. subfasciatus* (VENDRAMIM et al., 2000).

Avaliação da repelência sobre os adultos

Na avaliação da repelência, o óleo essencial foi testado isoladamente, utilizando-se uma arena formada por cinco recipientes de plástico, sendo a caixa central interligada simetricamente às demais por tubos plásticos, em diagonal (figura 2). No interior dos quatro recipientes laterais foram acondicionadas 10g de feijão. Em dois recipientes laterais foi aplicado o óleo essencial com auxílio de um micropipetador automático, sobre discos de papel de filtro acoplados na parte interna da tampa e os recipientes simetricamente opostos foram usados como testemunha. No recipiente central foram liberados 10 casais recém-emergidos de *Z. subfasciatus* (24 h de idade) e, após 24 h, foi contado o número de insetos por recipiente. Foram efetuadas dez repetições por tratamento, em delineamento inteiramente casualizado (VENDRAMIM et al., 2000; TAVARES, 2006; BALDIN et al., 2008).

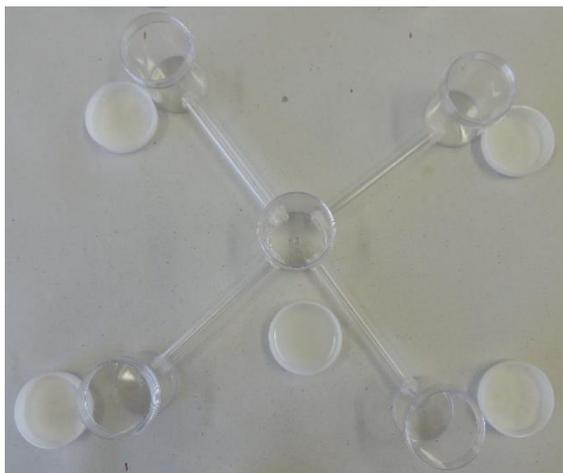


Figura 2. Arena utilizada nos bioensaios para avaliação da repelência/atratividade dos óleos essenciais das espécies vegetais em relação a *Z. subfasciatus*.

Nos bioensaios para avaliação da repelência, as análises foram realizadas através do teste “t” Student, Índice de Repelência (IR) (adptado de LIN *et al.*, 1990), calculado pela fórmula $IR = 2G / (G + P)$, G = % de insetos na planta teste e P = % de insetos na testemunha, a 5% de probabilidade de erro. Com base no IR e desvio padrão obtidos determinou-se o Intervalo de Classificação (IClass.) para as médias dos tratamentos, pela fórmula: $I.Class = 1 \pm t_{(n-1; \alpha=0,05)} \times DP / \sqrt{n}$; onde t = valor de “t” tabelado; DP = desvio padrão; n = número de repetições. O óleo essencial foi considerado neutro quando o valor do IR ficou compreendido dentro do IClass. avaliado; repelente quando o valor do IR foi inferior ao menor valor obtido para o IClass.; e atraente quando o IR foi superior ao maior IClass.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O efeito repelente é uma propriedade relevante a ser considerada na definição de um óleo essencial para o controle de pragas de grãos armazenados. A repelência interfere negativamente na infestação, resultando na redução ou supressão da postura e, consequentemente, do número de insetos emergidos.

Os resultados deste estudo são promissores e demonstram a relevância do uso de óleo essencial de *C. ambrosioides* L. no controle de pragas em grãos armazenado principalmente sobre *Z. subfasciatus*. As doses de 0,1µL, 0,2µL, 0,4µL e 0,8µL apresentaram respectivamente índices de repelência de (M±EP): 0,55±0,09; 0,57±0,08; 0,50±0,06; 0,57±0,08; 0,48±0,08;

0,46±0,10, sendo o óleo essencial classificado como repelente aos *Z. subfasciatus* em todas as doses avaliadas (tabela 1).

Tabela 1. Atratividade de adultos de *Z. subfasciatus* pelo óleo essencial da espécie vegetal *C. ambrosioides* L.

Tratamento	Dose (µL)	I.A. (%) ¹		I.R. ⁴ (M±EP)	I.Class. ⁵	C.I. ⁶
		Tr. ²	Te. ³			
<i>C. ambrosioides</i>	0,1	37	73	0,55±0,09	0,81; 1,19	R
	0,2	38	72	0,57±0,08	0,83; 1,17	R
	0,4	35	75	0,50±0,06	0,88; 1,12	R
	0,8	38	72	0,57±0,08	0,83; 1,17	R

¹ Porcentagem de insetos atraídos; ² Tratamentos; ³ Testemunha; ⁴ Índice de Repelência (Média±Erro Padrão da Média); ⁵ Índice de Classificação; ⁶ Classificação: R = repelente, N = neutro, A = atraente.

A atividade inseticida e de repelência da espécie *C. ambrosioides* L. em relação a pragas de grãos armazenados foi relatada nos trabalhos de Baldin et al. (2008); Baldin et al. (2009), corroborando com este estudo. A espécie *C. ambrosioides* L. é considerada promissoras para o controle de pragas, destaca-se por apresentar atividade repelente em diversas famílias de insetos como Anobiidae, Bostrichidae, Bruchidae e Curculionidae (MAZZONETTO, 2002). Neste estudo a atividade repelente sobre *Z. subfasciatus* ocorreu em doses baixas demonstrando a viabilidade e eficiência do óleo essencial para controlar pragas em grãos armazenados.

Mazzonetto (2002) analisou o efeito repelente e inseticida de 18 espécies vegetais sobre *Z. subfasciatus* observando a atividade repelente no pó da espécie *C. ambrosioides* L., resultado semelhante ao encontrado nesse estudo usando o óleo essencial. Tapondjou et al. (2002), trabalhando com folhas dessa mesma espécie, identificaram como principais constituintes do óleo essencial as substâncias α -terpineno (37,6%), *p*-Cimeno (50%), *cis*- β -farneseno (1,4%), ascaridol (3,5%) e carvacrol (3,3%). Os estudos sugerem que os compostos majoritários são responsáveis pela bioatividade do óleo essencial.

CONCLUSÃO

O óleo essencial da espécie *C. ambrosioides* L. apresenta atividade repelente nas doses avaliadas. Os resultados deste estudo são promissores, pois a atividade ocorreu de forma eficiente em baixas doses, o que viabiliza o uso do óleo essencial de *C. ambrosioides* L. como alternativa para o manejo de *Z. subfasciatus* no armazenamento do feijão.

REFERÊNCIAS

BALDIN, E. L. L.; PEREIRA, J. M.; DAL POGETTO, M. H. F. A.; CHRISTOVAM, R. S.; CAETANO, A. C. Efeitos de pós vegetais sobre *Zabrotes subfasciatus* Bohemann (Coleoptera: Bruchidae) em grãos de feijão armazenado. **Boletim de Sanidad Vegetal de Plagas**, v. 34, p. 177-185, 2008.

BALDIN, E.L. L.; PRADO, J.P.M.; CHRISTOVAM, R.S.; DAL POGETTO, M.H.F.A. Uso de Pós de Origem Vegetal no Controle de *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera: Bruchidae) em Grãos de Feijoeiro. **BioAssay**, v.4, n.2, p.1-8, 2009.

GALLO, D.; NAKANO, O.; NETO, S.S.; CARVALHO, R.P.L.; BATISTA, G.C.; BERTI, E.F.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIN, J.D. **Manual de Entomologia Agrícola**. 2º ed. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres, 1988. 649p.

LIMA JÚNIOR, A.F.; OLIVEIRA, I.P.; ROSA, S.R.A.; SILVA, A.J.; MORAIS, M.M. Controle de Pragas de Grãos Armazenados: uso e aplicação de fosfetos. **Revista Faculdade Montes Belos**, v.5, n.4, p.180-194, 2012.

LIMA, A. L.; MAGALHÃES, S.A.; SANTOS, M. R. A. Levantamento Etnobotânico de Plantas Medicinais Utilizadas na Cidade de Vilhena, Rondônia. **Revista Pesquisa & Criação**, v.10, n.2, p. 165-179, 2011.

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

LORENZI, H. **Plantas Daninhas do Brasil** – terrestres, aquáticas, parasitas, tóxicas e medicinais. São Paulo: Ed. Nova Odessa, 1982. p. 38

MAZZONETTO, F. Efeito de genótipos de feijoeiro e de pós de origem vegetal sobre *Zabrotes subfasciatus* (Boh.) e *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Col.: Bruchidae). 2002. 134p. **Tese** (Doutorado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

NOVO, R. J.; VIGLIANCO, A.; NASSETA, M. Actividad Repelente de Diferentes Extractos Vegetales sobre *Tribolium castaneum* (Herbst). **Agriscientia**. v.14, p.31-36, 1997.

SÁ, R.D.; SOARES, L.A.L.; RANDAU, K. P.; Óleo essencial de *Chenopodium ambrosioides* L.: estado da arte. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. v.36, n.2, p.267-276, 2015.

SILVEIRA, S. N. **Entomologia Agrícola**. Piracicaba/SP: Ed. FEALQ, 2002. 920p.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R.. 6ª ed. **Farmacognosia: da Planta ao Medicamento**. Florianópolis, SC: Editora Universidade/UFRGS, 2007.1102p.

TAPONDJOU, L.A.; ADLER, C.; BOUDA, H.; FONTEM, D.A. Efficacy of powder and essential oil from *Chenopodium ambrosioides* leaves as post-harvest grain protectants against six-stored products beetles. **Journal of Stored Products Research**, v.38, n.4, p.395-402, 2002.

VENDRAMIM, J.D.; CASTIGLIONI, E. Aleloquímicos, Resistência e Plantas Inseticidas. In: GUEDES, J.C.; DRESTER DA COSTA, I.; CASTIGLIONI, E. **Bases e Técnicas do Manejo de Insetos**. Santa Maria, RS: UFSM/CCR/DFS, 2000. p.113-128

TAVARES, M.A.G.C. Busca de compostos em *Chenopodium spp.* (Chenopodiaceae) com bioatividade em relação a pragas de grãos armazenados. 2006. 111p. **Tese** (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2006

3.3 Artigo 3

AValiação DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DOS EXTRATOS BRUTOS DA ESPÉCIE *Chenopodium ambrosioides* L FRENTE À BACTÉRIAS FITOPATOGÊNICAS DE INTERESSE NA AGRICULTURA

Murilo Luiz dos Santos¹

Jessica Cardoso Ferreira²

Gabriel da Costa Inacio³

Wagner Antonio Bernardes⁴

Introdução: As atitudes de usar com responsabilidade os recursos naturais, de preservar e conservar o ambiente são cada vez mais necessárias para a sociedade moderna acarretando na busca constante por sistemas de produção agropecuários apoiados em princípios ecológicos e naturais. Neste contexto o desenvolvimento de métodos alternativos de controle de doenças de plantas causadas por bactérias tem por finalidade oferecer alternativas para reduzir a dependência dos agrotóxicos e contribuir para se praticar uma agricultura mais segura e sustentável. A viabilidade do uso de compostos bioativos obtidos de plantas no controle de fitopatógenos tem sido demonstrada em diversas pesquisas, devido à sua eficiência, além do baixo custo, segurança para os aplicadores, consumidores e meio ambiente. **Objetivo:** Neste sentido, o presente estudo teve como propósito avaliar as atividades antibacteriana, *in vitro*, dos extratos brutos hexânico, diclorometânico e etanólico das folhas de *C. ambrosioides* L, frente às fitobactérias: *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (UFUB13), *Clavibacter michiganensis* subesp. *michiganensis* (1132) e *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (Feij - 3161). **Metodologia:** A espécie *C. ambrosioides* L foi coletada no mês de junho de 2017 no perímetro urbano do município de Patrocínio, localizado na porção oeste do estado de Minas Gerais. As folhas foram secas, pulverizadas e os pós resultantes foram submetidos a maceração química com os solventes etanol, diclorometano e hexano. A atividade bactericida dos extratos brutos foi avaliada nas concentrações entre 50 e 1.000 µg mL⁻¹ utilizando o método de microdiluição em caldo Meio 523 em microplacas de 96 poços e bacteriostática, nas mesmas concentrações, em placas de Petri em Meio 523, segundo o Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), frente às fitobactérias: *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (UFUB13), *Clavibacter michiganensis* subesp. *michiganensis* (1132) e *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* (Feij - 3161). **Resultados:** Utilizando como referência os parâmetros estabelecidos na literatura (≤100 µg mL⁻¹) para determinar a atividade antibacteriana de extratos brutos, os resultados deste estudo (>1000 µg mL⁻¹) demonstraram que os extratos avaliados não apresentaram atividade bactericida e bacteriostática frente às fitobactérias avaliadas em todas as concentrações testadas. **Conclusão:** Nas condições desse experimento os extratos brutos de *C. ambrosioides* L não foram eficientes no controle das fitobactérias testadas.

Palavras-chave: Fitobactérias; Extratos brutos; *Chenopodium ambrosioides*

¹ Graduando em Ciências Biológicas pelo Centro Universitário do Cerrado de Patrocínio (UNICERP), mr_silva02@hotmail.com.

²Agrônoma, pelo Centro Universitário do Cerrado de Patrocínio (UNICERP), Mestranda em Ciências pela Universidade de Franca (UNIFRAN).

³ Biólogo, pelo Centro Universitário do Cerrado de Patrocínio (UNICERP), Mestre em Ciências e Doutorando em Ciências pela Universidade de Franca (UNIFRAN).

⁴Graduado em Ciências e Biologia pela Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Patrocínio (FAFI); Especialista em Biologia (FAFI); Especialista em Biologia Geral (UFLA); Mestre e Doutor em Ciências pela Universidade de Franca (UNIFRAN); Pós-doutor em Proteção de Plantas (UNESP)

EVALUATION OF THE ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF GROSS EXTRACTS OF THE SPECIES *Chenopodium ambrosioides* L FOR THE PHYTOPATHOGENIC BACTERIA OF INTEREST IN AGRICULTURE

ABSTRACT

Introduction: Attitudes to use natural resources responsibly, to preserve and conserve the environment are increasingly necessary for modern society, resulting in a constant search for agricultural production systems based on ecological and natural principles. In this context, the development of alternative methods of controlling plant diseases caused by bacteria aims to offer alternatives to reduce dependence on pesticides and contribute to safer and more sustainable agriculture. The feasibility of the use of bioactive compounds obtained from plants in the control of phytopathogens has been demonstrated in several researches, due to their efficiency, besides the low cost, safety for the applicators, consumers and environment.

Objective: In this sense, the present study aimed to evaluate the in vitro antibacterial activities of hexanic, dichloromethane and ethanolic crude extracts of the leaves of *C. ambrosioides* L, against phytobacteria: *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (UFUB13), *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (1132) and *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *Flaccumfaciens* (Feij-3161). **Methodology:** The species *C. ambrosioides* L was collected in June 2017 in the urban perimeter of the municipality of Patrocínio, located in the western portion of the state of Minas Gerais. The sheets were dried, pulverized and the resulting powders were subjected to chemical maceration with the solvents ethanol, dichloromethane and hexane. The bactericidal activity of the crude extracts was evaluated in the concentrations between 50 and 1000 µg mL⁻¹ using the microdilution method in broth Medium 523 in 96-well microplates and bacteriostatic, in the same concentrations, in Petri dishes in Medium 523, according to the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) against phytobacteria: *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (UFUB13), *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (1132) and *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *Flaccumfaciens* (Feij-3161).

Results: The results of this study (> 1000 µg mL⁻¹) showed that the extracts evaluated did not present bactericidal and bacteriostatic activity compared to phytobacteria evaluated at all tested concentrations. **Conclusion:** Under the conditions of this experiment the crude extracts of *C. ambrosioides* L were not efficient in the control of the tested phytobacteria.

Keywords: Phytobacteria; Crude extracts; *Chenopodium ambrosioides*

INTRODUÇÃO

A doença causada por bactérias tem causado vários prejuízos na agricultura em todo o mundo, levando a redução da produção e ao aumento nos custos relacionados ao seu controle. E em muitos casos, essas fitobactérias se tornam resistentes aos defensivos utilizados, levando a uma elevação nos custos causado pelas super dosagens de produtos para seu controle (ROMERO, 2005; VALENTINI et al., 2010).

Algumas destas bactérias tais como *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* e *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, causam enormes prejuízos em lavouras de culturas anuais sendo elas, maracujá, tomate e feijão.

A *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* ou mais conhecida como mancha bacteriana e considerada uma das principais doenças do maracujazeiro ela provoca perdas expressivas reduzindo drasticamente a vida da planta de 3 a 4 anos para 1 ano e 6 meses, e a única forma de controle e a erradicação das plantas contaminadas (VIANA et al., 2003; ISHIDA e HALFELD-VIEIRA, 2009). A *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ou o cancro bacteriano relatado em quase todas as culturas de tomate espalhadas pelo mundo. A mesma é transmitida via semente entrando através de estômatos, invadindo o xilema danificando os tecidos das plantas adultas (EPPO., 2018). A *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* ou murcha de curtobacterium, bastante comum nas culturas de feijão e soja, disseminada principalmente através de sementes, podendo contaminar também outras leguminosas. Esta se instala no sistema da planta através do xilema obstruindo a passagem de seiva provocando o escurecimento vascular e posteriormente a morte da planta (MARINGONI et al., 2014).

As fitobactérias tem em comum, o difícil controle, que atualmente é realizado principalmente com produtos químicos a base de óxido cúprico ou através de ações preventivas, como a incorporação dos resíduos da lavoura no solo, erradicação de plantas contaminadas, rotação de cultura com cultivares não hospedeiras e sementes certificadas livres de patógenos (MARINGONI, et al., 2014; GUAZINA e THEODORO, 2017).

Segundo EPPO, 2018 a União Europeia determinou que toda e qualquer semente comercializada deve ser livre destes patógenos para a não instalação do mesmo, mas se a instalação ocorrer todas as lavouras a partir de dezembro de 2019 terão que passar por um

período de quarentena, demonstrando que não somente na União Europeia, mas em diversos países o controle dos fitopatógenos tem sido visto com mais rigor.

Com a escassez de controles químicos e físicos deste patógenos, a busca por um produto que seja eficaz, cresce cada vez mais, o interesse por produtos naturais a base de extratos de plantas, os mesmos são promissores e podem desempenhar um papel importante na produção agrícola sustentável, na saúde dos trabalhadores e consumidores e na preservação do meio ambiente.

MATERIAL E MÉTODOS

Material botânico

As folhas da espécie vegetal *Chenopodium ambrosioides* L foram coletadas no mês de junho de 2017, no município de Patrocínio, localizado na porção oeste do Estado de Minas Gerais, na zona fisiográfica do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba. A confirmação da identificação foi realizada com a colaboração da Prof^a Rosângela de Oliveira Araújo docente do Centro Universitário do Cerrado Patrocínio (UNICERP) e a exsicata será depositada no Herbário do Centro Universitário do Cerrado Patrocínio (UNICERP).

Obtenção dos extratos brutos

O material vegetal foi desidratado e em seguida processado em um moinho de facas. O pó da planta foi submetido à maceração química, primeiro pelo solvente hexano durante sete dias, após esse período a mistura foi filtrada e concentrada em evaporador rotativo sob pressão reduzida. O resíduo sólido da filtração e o solvente coletado foram novamente submetidos à maceração química por mais sete dias, sendo em seguida realizado a rotaevaporação pela segunda vez e ao final o extrato bruto seco de hexano foi pesado e armazenado em frascos de vidro âmbar a temperatura de -4°C até a realização dos ensaios. O mesmo processo de maceração química do pó da planta e as rotaevaporações foram realizados também com os solventes, diclorometano e etanol (SIMÕES *et al.*, 2007; MATOS, 1997).

Diluição dos extratos

Os extratos brutos hidroalcoólico, diclorometânico e hexânico foram diluídos em dimetilsulfóxido (DMSO).

Ensaio Biológico

O método utilizado para avaliação da atividade antibacteriana foi o da determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) por microdiluição seriada em placa, que consiste em definir a menor concentração do agente antimicrobiano capaz de inibir completamente o crescimento bacteriano (bacteriostática) ou provocar sua morte (bactericida), respectivamente. As técnicas da CIM e CBM foram realizadas segundo a metodologia preconizada pela Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), com adaptações.

Para o preparo do inóculo foi utilizado uma alça de inoculação esterilizada, foram transferidas culturas de 24 a 72 horas dos fitopatógenos indicadores (desenvolvidos em Meio 523 de Kado e Heskett) para tubos contendo solução salina 0,9%. As suspensões foram padronizadas em espectrofotômetro e transferiu-se 1mL para um outro tubo contendo 9mL de salina, em seguida foi adicionado 2mL desse inóculo para um tubo contendo 10mL de modo a fornecer uma concentração de 5×10^5 UFC/mL. Também foi utilizada a escala de 0,5 McFarland no processo de padronização do inóculo.

Para a padronização da densidade e obtenção do inóculo, as cepas armazenadas em freezer à 10°C negativos foram ressuspendidas em meio de cultura líquido caldo Meio 523 de Kado e Heskett. Em seguida todas as fitobactérias foram repicadas em meio de cultura sólido do Meio 523 de Kado e Heskett e incubados em temperatura de 28°C em estufa bacteriológica e em aerobiose, durante 24 a 72 horas para a confirmação da pureza das cepas. Após a confirmação, as cepas foram então utilizadas para os ensaios da determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM).

As amostras utilizadas para a técnica da microdiluição em caldo para determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM), foram diluídas em dimetilsulfóxido (DMSO). Foram avaliadas nas concentrações entre 25 e 1.000 $\mu\text{g mL}^{-1}$. As microplacas foram incubadas a 28°C por 24 a 72 horas.

Posteriormente, foram adicionados em cada orifício 30 µL de solução aquosa de resazurina (Sigma) a 0,02%, como revelador do crescimento microbiano, sendo então observada a alteração da cor azul (sem crescimento bacteriano) ou a cor rosa (com crescimento bacteriano).

O meio de cultura utilizado para determinação da atividade antibacteriana, pelo método de microdiluição em caldo, para determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração bactericida mínima (CBM) foi o descrito por Kado e Heskett (1970) e estão listados no quadro 1 e 2:

Quadro 1: composição do Meio 523 de Kado e Heskett [101]

Composição/reagentes	Quantidade
Sacarose	10,0 g
Extrato de Levedura	3,0 g
Caseína ácida hidrolisada	8,0 g
Fosfato de Potássio anidro (K ₂ HPO ₄)	2,0 g
Sulfato de Magnésio (MgSO ₄)	0,3 g
Ágar	20,0 g

Para sua preparação dissolveu-se os compostos em 1000 mL de água destilada, o qual foi homogeneizado e autoclavado por 15 minutos a 121°C.

Quadro 2: composição do caldo Meio 523 de Kado e Heskett [101], adaptado.

Composição/reagentes	Quantidade
Sacarose	10,0 g
Extrato de Levedura	3,0 g
Caseína ácida hidrolisada	8,0 g
Fosfato de Potássio anidro (K ₂ HPO ₄)	2,0 g
Sulfato de Magnésio (MgSO ₄)	0,3 g
Ágar	1,0 g

Para a preparação dissolveu-se os compostos em 1000 mL de água destilada, o qual foi homogeneizado e autoclavado por 15 minutos a 121°C.

Origem das cepas das fitobactérias

Para a determinação da atividade antibacteriana foram utilizadas as seguintes cepas (quadro 3):

Quadro 3: Espécies de fitobactérias utilizadas no experimento

Espécies	Código do laboratório	Coloração de Gram	Origem
<i>Xanthomonas axonopodis</i> <i>pv. Passiflorae</i>	UFUA45	Negativa	Folhas de Maracujá na cidade de Tupaciguara MG (2009)
<i>Clavibacter michiganensis subesp. Michiganensis</i>	1132	Positiva	Instituto biológico Campinas
<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i>	Feij - 3161	Positiva	Isolado de Feijão Carioca proveniente de cidade de Castro-PR

Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A CIM é definida como a menor concentração do agente antimicrobiano capaz de inibir completamente o crescimento microbiano. Foi utilizado o método de microdiluição em microplaca de 96 poços, segundo o Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), com modificações. Sendo depositado um total de 100 µL da mistura do caldo Meio 523, dos extratos brutos e das suspensões dos microrganismos nas microplacas.

A mistura do caldo Meio 523, as soluções das amostras e as suspensões dos microrganismos, os controles de esterilidade do meio de cultura, do solvente, das amostras e do controle positivo, controle de crescimento do inoculo e controle positivo (Kasumin®), foram depositadas em total de 100 µL cada e microplacas de 96 poços. As placas foram incubadas a 28 °C por 24 a 72 horas.

Posteriormente, foram adicionados em cada poço 30 µL de solução aquosa de resazurina a 0,02%, e os valores de CIM foram determinados pela leitura visual após revelação com resazurina, que é um indicador de óxido-redução que tem sido utilizado para avaliar a viabilidade de células microbianas. A resazurina (7-hidroxi-3H-fenoxazina-3-ona-10-óxido) de cor azul é oxidada na presença de células viáveis a resofurina, substância de coloração vermelha (PALOMINO, 2002). Os ensaios foram realizados em triplicata.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas condições desse experimento os extratos brutos de *C. ambrosioides* L apresentaram CIM e CBI com valores superiores a 1000 µg mL⁻¹ não sendo eficientes no controle das fitobactérias testadas (tabela 1). Segundo Rios e Récio, 1988 o valor padrão para estabelecer a viabilidade

de um extrato bruto é de até 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$, portanto os extratos testadas neste experimento não apresentaram atividade viável para o controle das fitobactérias avaliadas.

Tabela 1. Resultado da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) submetidas as concentrações do extrato hexânico, diclorometânico e etanólico de *C.ambrosioides*.

Extratos das folhas de <i>C. ambrosioides</i> L.	<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>passiflorae</i> UFUA45	<i>Clavibacter michiganensis</i> pv <i>michiganensis</i> 1132	<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> Feij 3161
CIM - $\mu\text{g mL}^{-1}$ e (CBM - $\mu\text{g mL}^{-1}$)			
Hexânico	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)
Diclorometânico	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)
Etanólico	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)	>1000 (>1000)
Controle positivo (Kasumin® 4%)	<5 (<5)	<5 (<5)	<5 (<5)

Knauth et al. (2018) no trabalho com Bioatividade in vitro de extratos metanólicos de *Anfipterygium adstringens* (Schltdl.) Schiede ex Standl., *Chenopodium ambrosioides* L., *Cirsium mexicanum* DC., *Eryngium carlinae* F. Delaroché e *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth. usados em medicina tradicional no México, onde sete dos oito extratos metanólicos de cinco plantas nativas do México foram inativos contra dez cepas bacterianas de interesse clínico. O extrato de frutos de *Chenopodium ambrosioides* L. inibiu a bactéria *Enterococcus faecalis* (CIM = 4375 $\mu\text{g mL}^{-1}$), *Escherichia coli* (MIC = 1094 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e *Salmonella typhimurium* (MIC = 137 $\mu\text{g mL}^{-1}$).

Avaliação da atividade antibacteriana de extratos etanólico e de ciclohexânico a partir das flores de camomila (*Matricaria chamomilla* L.) sobre às bactérias *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorovar *typhimurium* pelas técnicas de difusão em ágar e diluição em caldo. Pode-se concluir que o extrato etanólico bruto da camomila apresentou atividade antibacteriana frente a *P. aeruginosa*, porém não foi eficaz frente à *S. aureus*, *E. coli* e *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorovar *typhimurium*. Portanto, são necessários novos estudos com diferentes linhagens de microrganismos com o intuito de corroborar e assegurar os resultados apresentados, para definir o potencial antimicrobiano do extrato da camomila (CARVALHO, et al., 2014).

O trabalho de Costa et al. (2017) avaliou o efeito dos produtos químicos oxitetraciclina, fluazinam, mancozeb, oxicloreto de cobre e Acibenzolar-S-Metil (ASM), das formulações Fitoforce Cobre, Fitoforce Plus e dos extratos de folhas de *Artocarpus heterophyllus* e *Morinda citrifolia* sobre o crescimento *in vitro* de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* e sobre a severidade da mancha bacteriana do maracujazeiro em casa-de-vegetação.

Os produtos oxitetraciclina, fluazinam, mancozeb, oxicloreto de cobre, fitoforce cobre e fitoforce plus inibiram totalmente o crescimento *in vitro* da bactéria. Em casa de vegetação, todos os tratamentos reduziram significativamente a severidade da mancha bacteriana com reduções entre 54 e 62%, com exceção do Fitoforce Plus que apresentou porcentagem de controle abaixo de 50%. Os resultados desse trabalho demonstram a necessidade de pesquisas com o objetivo de encontrar produtos alternativos para o controle da murcha bacteriana.

CONCLUSÃO

Nas condições desse experimento os extratos brutos de *C. ambrosioides* L não foram eficientes no controle das fitobactérias testadas.

REFERÊNCIAS

DUTRA, F.S.G.C.; MOTTA, L.A.; VIANNA, O.V.; PEREIRA, S.M.F. Atividade antimicrobiana de extratos vegetais frente à bactérias de importância médica. **biol & saúde**, v.20, n.6, p.1-13, 2016.

KNAUTH, P.; ACEVEDO-HERNÁNDEZ, G.J.; CANO, M.E. GUTIÉRREZ-LOMELÍ, M.; LÓPEZ, Z. *In Vitro* Bioactivity of Methanolic Extracts from *Amphipterygium adstringens* (Schltdl.) Schiede ex Standl., *Chenopodium ambrosioides* L., *Cirsium mexicanum* DC., *Eryngium carlinae* F. Delaroché, and *Pithecellobium Dulce* (Roxb.) Benth. Used in Traditional Medicine in Mexico. **Hindawi**. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, Volume 2018.

ISHIDA, A.K.N.; HALFELD-VIEIRA, B.A. Mancha-Bacteriana do Maracujazeiro (*Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*): Etiologia e Estratégias de Controle. **Embrapa Amazônia Oriental** Belém, PA, 2009.

VIANA, F. M. P.; FREIRE, F. C. O.; CARDOSO, J. E.; VIDAL, J. C. Principais doenças do maracujazeiro na Região Nordeste e seu controle. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2003. 12 p. (**Embrapa Agroindústria Tropical**. Comunicado técnico, 86).

MARINGONI, A.C.; ISHISZUKA, M.S.; SILVA, A.P.; SOMAN, J.M.; MOURA, M.F.; SANTOS, R.L.; SILVA JÚNIOR, T.A.F.; CHIORATO, A.F.; CARBONELL, S.A.M.; FONSECA JÚNIOR, N.S. Reaction and colonization of common bean genotypes by *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.15, n.2, p.87-93, 2015.

VALENTINI, G. GUIDOLIN, A.F. BALDISSIRA, J.N.C.COIMBRA,J.L.M. *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*: etiologia, detecção e medidas de controle. **Biotemas**, v.23, n.4, p.1-8, 2010.

ROMERO, R. S. **Bactérias fitopatogênicas**. 2ªed. Viçosa/MG: Ed. UFV, 2005. 417pp

EPPO. Data sheets on quarantine pests. Disponível em: <https://www.ippc.int/QUARANTINE/data_sheets/bacteria/CORBMI_ds.pdf> Acesso em: 25 nov. 2018.

CARVALHO, A.F. SILVA, D.M. SILVA, T.R.C.SCARCELLI, E.MANHANI, M.R. Avaliação da atividade antibacteriana de extratos etanólico e de ciclohexano a partir das flores de camomila (*Matricaria chamomilla* L.) **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v.16, n.3, p.521-526, 2014.

GUAZINA,R.A.THEODORO,G.F. Ação *in vitro* de fontes de silício sobre isolados de *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *Flaccumfaciens*. *Summa Phytopathol.*, **Botucatu**, v. 43, n. 4, p. 310-315, 2017.

PALOMINO, J.C.; MARTIN, A.; CAMACHO, M.; GUERRA, H.; SWINGS, J.; PORTAELS, F. Resazurin microtiter assay plate: simple and inexpensive method for detection of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v.46, p.2720-2722, 2002.

RIOS, J.L.; RECIO, M.C.; VILLAR, A.; Screening methods for natural products with antimicrobial activity: a review of the literature. **Journal of Ethnopharmacology**, v.23, p.127, 1988.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R.. 6ª ed. **Farmacognosia: da Planta ao Medicamento**. Florianópolis, SC: Editora Universidade/UFRGS, 2007.1102p.

3.4. Artigo 4

EFEITO ALELOPÁTICO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Chenopodium ambrosioides* L. SOBRE A GERMINAÇÃO DE *Cucumis sativus* L.

Murilo Luiz dos Santos¹

Jessica Cardoso Ferreira²

Gabriel da Costa Inacio³

Wagner Antonio Bernardes⁴

Introdução: Alelopatia é o efeito de inibição do desenvolvimento de uma planta a outra, causada por substâncias aleloquímicas, estas sendo produzidas de forma natural pelas plantas, evitando assim a competição entre elas por espaço, luz e nutrientes. A atividade dos aleloquímicos tem sido usada como alternativa ao uso de defensivos agrícolas. A maioria destas substâncias possuem ação frente a microrganismos, vírus, insetos, e outros patógenos ou predadores. **Objetivo:** Avaliar o efeito alelopático do óleo essencial da planta *Chenopodium ambrosioides* L. sobre a germinação de sementes de *Cucumis sativus* L. (pepino caipira). **Material e Métodos:** O óleo essencial das folhas frescas de *C. ambrosioides* L. foi extraído pelo método de hidrodestilação com arraste de vapor d'água, em aparelho de Clevenger. A amostra do óleo foi coletada em frascos de vidro âmbar e armazenado a temperatura de -4°C. Para avaliação da atividade alelopática foram utilizados nove tratamentos nas concentrações de 0%, 0,25%, 0,50%, 0,75%, 1%, 2%, 3%, 4% e 5%. Como testemunha negativa foram utilizadas parcelas sem óleo essencial. Em cada parcela foram distribuídas 20 sementes de *C. sativus* L. em placa de Petri sobre papel germiteste®. O experimento foi conduzido em câmara climatizada a 25°C ± 2°C com fotoperíodo de 12/12 horas/luz. A avaliação da germinação ocorreu a partir da medição da radícula. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco repetições por tratamento. **Resultados:** Na avaliação de germinação os tratamentos 0 e 0,25% não apresentaram alteração no processo germinação das sementes, a partir da concentração 0,50% houve diferença estatisticamente significativa em relação a testemunha negativa, reduzindo a germinação das sementes. O índice de velocidade de geminação (IVG) e comprimento médio da raiz primária (CRMP) sofreram redução estatisticamente significativa em relação a testemunha negativa. O efeito alelopática do óleo essencial ocorreu a partir da concentração de 0,50%, sugerindo uma dose dependência, pois os valores são crescentes, sendo que a partir da concentração de 2% atinge 100% de interrupção no processo de germinação das sementes. **Conclusão:** Os resultados obtidos neste estudo são bastante promissores, o óleo essencial de *C. ambrosioides* L. possui efeito alelopático sobre a germinação das sementes de *C. sativus* L. em baixas concentrações. O óleo essencial de *C. ambrosioides* L. poderá ser utilizado com alternativa ao uso defensivo agrícolas no controle de plantas daninhas.

Palavras-chave: ALELOPATIA; ÓLEO ESSENCIAL; *Chenopodium ambrosioides*

INTRODUÇÃO:

Atualmente no mundo somos cerca de 7,6 bilhões de pessoas podendo em 2100 chegar a cerca de 11,2 bilhões segundo dados da ONU, com esse índice de crescimento populacional gerasse o aumento da produção de alimentos. A crescente produção provoca também o aumento na utilização de insumos agrícolas trazendo uma grande preocupação sobre a saúde da população e a degradação do meio ambiente (PORTO-GONÇALVES.,2006).

Os fatores que interferem na produção gerando a elevação na utilização de insumos são as pragas e doenças, devido a resistências, estresse hídrico, nutrição desequilibrada e plantas daninhas, estas sendo a principal causa do uso indiscriminado de herbicidas, que segundo a companhia nacional de abastecimento CONAB (2017), chega a ser cerca de 50% do total de insumos utilizados dentre eles bactericidas, fungicidas, acaricidas, nematocidas.

Atualmente as plantas daninhas são controladas com a utilização de herbicidas de qualidade e com vários grupos químicos para efetivar o seu controle, sendo prejudiciais aos trabalhadores e ao meio ambiente, as mesmas são responsáveis por grandes perdas econômicas na agricultura.

Planta daninha é aquela que coloniza uma sucessão vegetal de uma terra que é utilizada pelo homem (PITELLI,2015). A planta daninha pode também favorecer o microclima, aumentar o teor de matéria orgânica no solo, controlar a erosão dentre outros. Não possuem nenhuma exigência em sua germinação, se adaptam as práticas de manejo e tolera as variações climáticas.

Segundo Pitelli (2015) as plantas daninhas se adaptaram a meios contaminados o que dificulta ainda mais a formulação de substancias capazes de impedir que elas se desenvolvam sem prejudicar o meio ambiente, e em muitos casos são necessárias várias aplicações de herbicidas para controle das pragas. Atualmente são gastos em campos onde não se tem plantas daninhas resistentes em média de R\$ 62,57 ha-1 e em campos onde se há plantas daninhas resistentes este valor aumenta drasticamente para R\$ 285,98 ha-1 e o maior custo chegando a R\$ 343,37 ha-1.

O uso intensivo e descontrolado de herbicidas químicos, exige a busca por produtos alternativos para proteger os trabalhadores, consumidores e meio ambiente. A alelopatia pode ser uma alternativa para o controle de plantas daninhas e a redução da poluição ambiental (JEFFERSON e PENNACCHIO, 2003; CHRISTOFFOLETI, et al.,1994; DIAS, et al., 2017; ANNETT, et al., 2014). A Alelopatia é um fenômeno natural e ecológico que ocorre entre

plantas, fungos, vírus e microrganismos (FARROQ, et al., 2010; CHENG e CHENG, 2015). Envolve a síntese de muitos compostos químicos estes produzidos através dos metabólitos secundários, influenciando assim nos sistemas biológicos e agrícolas, tanto na forma de estimular como inibir o desenvolvimento (FARROQ et al., 2010 e RICE, 1984).

Segundo Lorenzi (2002), a espécie *C.ambrosioides* pertence à família Chenopodiaceae, é popularmente conhecida como erva-de-santa-maria é uma planta perene ou anual muito ramificada com crescimento espontânea no sul e sudeste do Brasil, onde é considerada planta daninha. Vários estudos relatam a atividade de *C. ambrosioides* sobre bactérias e fungos e o objetivo deste trabalho é testar seu efeito alelopático (FDILL et al .,2017).

MATERIAL E MÉTODOS

Material botânico

As folhas da espécie vegetal *C. ambrosioides* L foram coletadas no mês de junho de 2017, no município de Patrocínio, localizado na porção oeste do Estado de Minas Gerais, na zona fisiográfica do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba. A confirmação da identificação foi realizada com a colaboração da Prof^ª Rosângela de Oliveira Araújo docente do Centro Universitário do Cerrado Patrocínio (UNICERP) e a exsicata será depositada no Herbário do Centro Universitário do Cerrado Patrocínio (UNICERP).

Obtenção dos óleos essenciais

As folhas frescas das espécies vegetais serão submetidas a extração do óleo essencial através da técnica de hidrodestilação pelo método de arraste a vapor (aparelho de Clevenger). Foram utilizadas 100 g de folhas frescas juntamente com 500 ml de água destilada. A mistura foi submetida a uma temperatura de extração de aproximadamente 100°C, durante um período de 90 minutos. As amostras dos óleos foram secas com sulfato de sódio anidro e armazenadas em frascos de vidro âmbar a temperatura de -4°C até a realização dos ensaios.

Bioensaios

As sementes de *Cucumis sativus* L. (pepino caipira) foram obtidas em lojas especializadas (Topseed lote: 048160). O experimento foi conduzido com quatro tratamentos, cada parcela contendo 30 sementes, 8 repetições por parcela, totalizando 240 sementes por tratamento, seguindo delineamento inteiramente casualizado. Os tratamentos foram distribuídos nas seguintes concentrações de óleos essenciais: 0,25% v/v, 0,50% v/v, 0,75% v/v, 1% v/v, 2% v/v.; 3% v/v; 4% v/v e 5% v/v. As concentrações foram obtidas por meio de diluição dos óleos essenciais em solução de Tween 80 a 5% (SANTOS, 2012; SILVEIRA et al., 2012). Foram avaliados os seguintes parâmetros biológicos: germinação das sementes e desenvolvimento da radícula.

A semeadura foi realizada em placas de petri 100mm x 20 mm forradas com 1 discos de papel filtro e esterilizados em autoclave (FORMÁGIO et al., 2014). A semeadura ocorreu em câmara de fluxo laminar e as placas foram colocadas em B.O.D na temperatura de 25°C, fotoperíodo de 12 horas por doze dias (SANTOS, 2012; SILVEIRA et al., 2012).

As avaliações do número de sementes germinadas foram realizadas a cada 24 horas durante 12 dias. Para avaliação da germinação foram consideradas germinadas as sementes que iniciaram a protusão da radícula atingindo 2 mm de comprimento (SANTOS, 2012b; MIRANDA et al., 2015).

A medida do comprimento da raiz foi realizada, na transição da parte aérea até a extremidade da raiz, ao termino dos doze dias, com o auxílio de uma régua milimétrica (MIRANDA et al., 2015; SILVEIRA et al., 2012; SANTOS, 2012).

Análise do Efeito Alelopático

A avaliação do efeito alelopático foi realizado através da contagem do número de sementes germinadas diariamente, medição do comprimento da radícula, ao final dos sete dias da protrusão da radícula.

Índice de Germinação

Os bioensaios de pré-emergência foram realizados com todas as sementes. A avaliação do experimento ocorrerá no intervalo de 24h durante 7 dias da protrusão da radícula. As sementes que apresentarem falsa germinação por embebição não serão contabilizadas nos resultados. O cálculo do Índice de Germinação (IG%), conforme Labouriau *et al.*, (1976) será realizado por meio da equação:

$$IG = \frac{N}{A} * 100$$

Sendo:

IG%: índice de germinação;

N: número de sementes germinadas no último dia;

A: número Total de sementes.

Como critério para avaliação da germinação foi utilizada a protrusão e a curvatura geotrópica da radícula, sendo que estas deverão atingir 2mm de comprimentos, seguindo critérios estabelecidos nas Regras de Análises de Semente (BRASIL, 2009).

Avaliação biométrica

A avaliação biométrica foi realizada no sétimo dia da protrusão da radícula. O comprimento (cm) foi determinado com auxílio de um paquímetro de precisão. O comprimento da raiz primária foi determinado a partir do colo da plântula até o ápice meristemático do sistema radicular e o comprimento da parte aérea a partir do colo da plântula até o ápice. A partir dos dados coletados foram calculados o Comprimento Médio da Raiz Primária (CMRP).

Inibição da germinação ou % de Alelopatia

A inibição da germinação ou a % de alelopatia é dada pela subtração dos números de sementes germinadas do controle negativo e do número de sementes germinadas de cada tratamento, dividido pelo número de sementes germinadas do controle negativo de acordo com a fórmula a seguir:

$$IG \text{ ou } \% A = \frac{(G \text{ testemunha} - G \text{ tratamento})}{G \text{ testemunha}} \times 100$$

onde G significa germinação e os resultados são expressos em porcentagem(ATAK et al .,2016 e ALVES et al.,2014).

Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e, quando indicado, as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. As análises foram realizadas com o software Sisvar versão 5.3 (Build 7.5).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 1 estão apresentadas as médias e as porcentagens de germinação (G%), índice de velocidade de germinação (IVG%), comprimento médio da raiz primária (CRMP) e porcentagem de alelopatia (A%) para sementes tratadas com diferentes concentrações do óleo essencial. Na avaliação de germinação os tratamentos 0 e 0,25% não apresentaram diferença estatisticamente entre si, não ocorrendo alteração na germinação das sementes, entretanto a partir da concentração 0,50% houve diferença estatisticamente significativa em relação a testemunha negativa, comprovando a interferência do óleo essencial no processo de germinação da semente. A partir da concentração de 2% não ocorreu germinação de nenhuma semente comprovando o efeito alelopático do óleo essencial sobre as sementes do pepino caipira. O índice de velocidade de germinação (IVG) e comprimento médio da raiz primária (CRMP) sofreram redução estatisticamente significativa em relação a testemunha negativa. O efeito alelopático do óleo essencial ocorreu a partir da concentração de 0,50%, sugerindo uma dose dependência, pois os valores são crescentes, sendo que a partir da concentração de 2% atinge 100% de interrupção no processo de germinação das sementes.

Tabela 1. Sementes germinadas de *Cucumis sativus* L. (média±EM) submetidas as diferentes concentrações do óleo essencial de *C.ambrosioides* L.

Concentração %	Germinação (G%)± EM	Índice de velocidade de Germinação (IVG %)± EM	Comprimento médio da Raiz primária (CRMP)± EM	% de alelopatia % ± EM
0	100 ± 0 a	18,05± 1,21a	160 ±0,42a	0±0,0a
0,25	99 ± 0,20a	10,79±0,38 b	15±0,28 b	1±0,2a
0,50	72 ± 1,03b	5,04±0,37 c	17 ±0,35b	28±1,03b
0,75	27±0,81 c	2,85 ±0,28d	10± 0,91b	73±0,81c
1	15±0,55 d	1,60 ±0,42d	10± 0 b	85±0,55d
2	0± 0e	0± 0e	0±0 c	100±0,0e
3	0± 0e	0± 0e	0±0 c	100±0,0e
4	0± 0e	0± 0e	0±0 c	100±0,0e
5	0± 0e	0± 0e	0±0 c	100±0,0e
CV%	10,61	13,09	9,90	5,91

Segundo Carvalho e Carnellosi (2005) o extrato aquoso de *C.ambrosioides* L. apresentou efeito significativo sobre a germinação de *Lactuca sativa* , corroborando com os resultados do presente estudo. Em outro estudo onde se avaliou o extrato etanólico de *Chenopodium ambrosioides* L. o mesmo apresentou efeito potencial alelopático negativo sobre

as sementes de *Bidens pilosa* L., reduzindo a germinação final, e assim, sugere-se que esta espécie tenha um potencial como bioherbicida.

No trabalho de M'barek et al (2018) com o efeito alelopático de *Tetraclinis articulata* foi verificado em cevada, alface, rabanete e tomate ocorrendo redução significativa na germinação de todas as plantas testadas a partir de 30g do extrato aquoso orgânico.

Segundo JUAN et al (1996) o óleo essencial de *C. ambrosioides* L. na concentração de 0,552% inibiu a germinação de *Lactuca Sativa* L .

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo são bastante promissores, o óleo essencial de *C. ambrosioides* L. possui efeito alelopático sobre a germinação das sementes de *C. sativus* L. em baixas concentrações. O óleo essencial de *C. ambrosioides* L. poderá ser utilizado com alternativa ao uso defensivo agrícolas no controle de plantas daninhas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, M.C.S. MEDEIROS FILHO, S. MANOEL NETO, A. BRITO, R.C.ARAUJO, R.C. Allelopathic effect of essential oils of medicinal plants in *Bidens pilosa* L, **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, Campinas, v.16, n.3, supl. I, p.731-736, 2014.

ANNETT, R., HABIBI, H.R. AND HONTELA, A. Impact of glyphosate and glyphosate based herbicides on the freshwater environment. **Journal of Applied Toxicology** , n.34, p.458-479, 2014.

ATAK,M.MAVI,K.UREMIS,I. Bio-Herbicidal Effects of Oregano and Rosemary Essential Oils on Germination and Seedling Growth of Bread Wheat Cultivars and Weeds, **Romanian Biotechnological Letters**, v.21, n. 1, 2016.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E DA REFORMA AGRÁRIA. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília, DF: SNDA/DNDU/CLU, 2009. 399 p.

CARVALHO,L.M.CARNELOSSI,M.A.G. Efeitos alelopáticos do extrato aquoso de mastruz (*Chenopodium ambrosoides* L.) na germinação do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.) **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**,v.7, n.2, p. 92-95, 2005.

CHENG.F.CHENG.Z. Reserarch progress on the use of plant allelopathy in agriculture and the physiological and ecological mechanisms of allelopathy., **frontiers in plant Science**, 2015

CHRISTOFFOLETI, P.J. FILHO, U. SILVA, C.B. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas. **Planta Daninha**, v. 12, n. 1, 1994.

CONAB, **Acompanhamento da safra brasileira**.[htt.www.conab.com.br](http://www.conab.com.br) acesso dia 09/11/2017.

DIAS,P.M.NOZARI,R.M.SANTARÉM,E.R. Herbicidal activity of natural compounds from *Baccharis* spp. on the germination and seedlings growth of *Lactuca sativa* and *Bidens pilosa*. **Allelopathy Journal** , v.42, n.1, p.21-36, 2017.

FAROOQ,M, KHAWAR,J. ZAHID,A.C. WAHID,A. SIDDIQUEC, K.H.M., The role of allelopathy in agricultural pest management. **Pest Manag. Sci**, v.67, p.493,506, 2010.

FIDILL,R.DERHALI,S.MALIKI,S.E.FILALIANSARI,N.ZEFZOUFI,M.ABBOWJI,E.A.K YARI,S.E.SRADI,K.MOUZDAHIR,A. Comparative analysis, antibacterial and antiradical activities of essential oils in leaves and fruits of *Chenopodium ambrosioides* of Morocco. **Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences**, v.8, n.4, p.1038, 2017.

FORMAGIO, A. S. N. MASETTO, T. E. VIEIRA, M. C. ZÁRATE, N. A. H. DE MATOS, A. I. N. VOLOBUFF, C. R. F. Potencial Alelopático e Antioxidante de Extratos Vegetais. **BioscienceJournal**, v. 30, suplemento 2, p.629-628, 2014.

JEFFERSON, L.V. AND PENNACCHIO, M. Allelopathic effects of foliage extracts from four *Chenopodiaceae* species on seed germination. **Journal of Arid Environments**, v. 55, p.75-285, 2003.

JUAN, E M.V.Z.; JIMINEZ, O.; KUMAMOTO, J.; WASSER,C. Allelopathic Activity of *Chenopodium ambrosioides* L. **Biochemical Systemas and Ecology**, v. 24, n.3, p. 195-205, 1996.

LABOURIAU, L.G; VALADARES, M.B. On the germination of seeds of *Calotropis procera*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**. v.48, n.1, p.263-84, 1976.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. ;**Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas.**; São Paulo; Instituto Plantarum de Estudos da Flora.; 2002.

MIRANDA, C. A. S. F. CARDOSO, M. G. CARVALHO, M. L. M. MACHADO, S. M. F. GOMES, M. S. SANTIAGO, J. A. TEIXEIRA, M. L. Atividade alelopática de óleos essenciais de plantas medicinais na germinação e vigor de aquênios de alface. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 3, suplemento 1, p. 1783-1798, 2015.

M'BAREK. K.; ZRIBLI. H.A.; OUALA. R. Allelopathic effects of *Tetraclinis articulata* on barley, lettuce, radish and tomato. **Allelopathy Journal**, v.43, n.2, p.187-202, 2018.

PITELLI, R.A. **O termo planta daninha**. Viçosa- MG. 2015.

PORTO-GONÇALVES, Carlos Walter. **A globalização da natureza e a natureza da globalização**. Rio de Janeiro: Civilização Brasileira, 2006.

E.L. RICE, *Allelopathy*. Academic Press, Orlando, FL (1984).

SANTOS, M. A. F. Alelopatia em *Miconiaspp*.Ruis&Pavon(Melastomataceaejuss.) Sobre a geminação, desenvolvimento e mitose de *Lactuca sativa* L.2012. 116p. **Dissertação** (Mestrado em Bioprospeção Molecular) - Universidade Regional do Cariri – URCA, Crato-CE, 2012.

SILVEIRA, P. F.; MAIA, S. S. S.; COELHO, M. F. B. Potencial alelopático do extrato aquoso de cascas de jurema preta no desenvolvimento inicial de alface. **Revista Caatinga**, v.25, n.1, p. 20-27, 2012.

SANTOS(b), V. H. M. Potencial alelopático de extratos e frações de *Neea theifera* Oerst. (Nyctaginaceae) sobre sementes e plântulas de *Lactuca sativa*. 2012. 51p. **Dissertação** (Mestrado em Ciências Biológicas – Botânica) - Universidade Estadual Paulista - UNESP (Instituto de Biociências de Botucatu), Botucatu –SP, 2012.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O *Chenopodium ambrosioides* L é uma erva amplamente distribuída no Brasil e muito utilizada como anti-helmíntica e para tratamentos de gripe. Como os estudos farmacológicos demonstram suas propriedades terapêuticas e devido ao amplo e reconhecido uso popular, a espécie possui grande potencial para se tornar um fitoterápico. No controle de praga agrícola as publicações são pontuais relatando a atividade inseticida sobre algumas espécies, em especial as que provocam danos nos grãos armazenados. Neste contexto, o presente trabalho, verificou do uso da espécie, para um possível controle de pragas agrícolas visando a busca de produto alternativo para favorecer a agricultura sustentável.

No contexto atual, a utilização de agroquímicos como o principal método de controle de praga, o seu uso indiscriminado e incorreto, tem provocado prejuízos irreparáveis ao solo, à fauna, à flora e aos recursos hídricos, comprometendo a sustentabilidade, portanto a busca de tecnologias de produção menos agressivas ao homem e ao meio ambiente, o uso de produtos naturais tem assumido maior importância na área agrícola. Desta forma, o presente trabalho verificou o potencial do óleo essencial e dos extratos brutos das folhas da espécie vegetal *C. ambrosioides* L em diferentes concentrações sobre patógenos e insetos-praga, como uma alternativa aos produtos químicos no controle das pragas agrícolas.

O óleo essencial das folhas de *C. ambrosioides* L apresentou relevante atividade fumigante, repelente e alelopática, sugerindo novos estudos e o desenvolvimento de um produto natural para o uso na agricultura, em especial na agricultura sustentável e por pequenos produtores rurais.

5 CONCLUSÕES

O óleo essencial apresentou relevante efeito fumigante sobre *Z. subfasciatus*. Os resultados sugerem que a elevação na dose do óleo essencial aumenta a eficiência no controle da população de carunchos; a sua atividade repelente foi verificada nas doses avaliadas; e o seu efeito alelopático foi comprovado, sugerindo a sua utilização como alternativa ao uso defensivos agrícolas no controle de plantas daninhas.

Nas condições desse experimento os extratos brutos de *C. ambrosioides* L não foram eficientes no controle das fitobactérias testadas.

6 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

BALDIN, E. L. L.; PEREIRA, J. M.; DAL POGETTO, M. H. F. A.; CHRISTOVAM, R. S.; CAETANO, A. C. Efeitos de pós vegetais sobre *Zabrotes subfasciatus* Bohemann (Coleoptera: Bruchidae) em grãos de feijão armazenado. **Boletim de Sanidad Vegetal de Plagas**, v. 34, p. 177-185, 2008.

BENHALIMA, H.; CHAUDHRY, M.Q.; MILLS, K.A.; PRICE, N.R. Phosphine resistance in stored-product insects collected from various grain storage facilities in Marocco. **Journal of Stored Products Research**, v.40, n.3. p.241-249, 2004.

CUNICO MM, MIGUEL OG, MIGUEL MD, PEITZ C, AUER CG, GRICOLETTI A JR. Estudo da atividade antifúngica de *Ottonia martiana* Miq., Piperaceae: um teste in vivo. **Visão Acadêmica**, v.4, n.2, p.77-82, 2003.

FORMAGIO, A. S. N.; MASETTO, T. E.; VIEIRA, M. C.; ZÁRATE, N. A. H.; DE MATOS, A. I. N.; VOLOBUFF, C. R. F. Potencial alelopático e antioxidante de extratos vegetais. **Bioscience Journal**, v. 30, supl.2, p. 629-638, 2014.

GOLOB, P.; KILMINSTER, A. The biology and control of *Zabrotes subfasciatus* (Boheman) (Coleoptera: Bruchidae) infesting red kidney beans. **Journal of Stored Products Research**, v.18, n.3, p.95-101, 1982.

KADO, C.I.; HESKETT, M.G. Selective media for isolation of Agrobacterium, Corynebacterium, Erwinia, Pseudomonas and Xanthomonas. **Phytopathology**, v.60, p.969-976, 1970.

LIMA, J.O.G.; SILVA, F.A.P.; FARONI, L.R.A. Insetos de Grãos Armazenados. **Informe Agropecuário**, v.99, p.46-53, 1983.

LORENZLH; MATOS,F.J.A. **Plantas Medicinais no Brasil: Nativas e Exóticas Cultivas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. p.261-262.

LORENZO, D.; PAZ, D.; DELLACASSA, E.; DAVIES, P.; VILA, R.; CAÑIGUERAL, S. Essential oils of *Mentha pulegium* and *Mentha rotundifolia* from Uruguay. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.45, n.4, p.519-524, 2002.

MATOS,F.J.A. **Introdução a Fitoquímica Experimental**. 2ª ed. Fortaleza, CE: Edições UFC, 1997. 141p.

MIRANDA, C. A. S. F. CARDOSO, M. G. CARVALHO, M. L. M. MACHADO, S. M. F. GOMES, M. S. SANTIAGO, J. A. TEIXEIRA, M. L. Atividade alelopática de óleos essenciais de plantas medicinais na germinação e vigor de aquênios de alface. **Semina: Ciências Agrárias**, v.36, n.3, p.1783-1798, 2015.

NASCIMENTO, W.M.O; CRUZ, E.D; MORAES, M.H.D; MENTEN, J.O.M. Qualidade sanitária e germinação de sementes de *Pterogyne nitens* Tull. (Leguminosae Caesalpinioideae). **Revista Brasileira de Sementes**, v.28, n.1, p.149-153, 2006.

NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; ZUCCHI, R.A. **Entomologia Econômica**. São Paulo, SP: Livroceres, 1981. 314p.

PIETERSE, C. M. J.; VAN PELT, J. A.; VAN WEES, S. C. M.; TON, J.; VERHAGEN, B. W. M.; LEÓN-KLOOTERZIEL, K.; HASE, S.; DE VOS, M.; VAN OOSTEN, V.; POZO, M.; SPOEL, S.; VAN DER ENT, S.; KOORNNEEF, A.; CHALFUN-JÚNIOR, A.; RESENDE, M. L. V.; VAN LOON, L. C. Indução de resistência sistêmica por rizobactérias e comunicação na rota de sinalização para uma defesa refinada. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 13, n.2, p. 277-295, 2005.

RIBEIRO, B.M.; GUEDES, R.N.C.; OLIVEIRA, E.E.; SANTOS, J.P. Insecticide resistance and synergism in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Stored Products Research**, v.39, n.1, p.21-31, 2003.

RIOS, J.L.; RECIO, M.C. Medicinal plants and antimicrobial activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v.100, n.1-2, p.80-84, 2005.

ROMEIRO, R.S. **Bactérias fitopatogênicas**. Viçosa, MG: Imprensa Universitária da UFV, 2005. 283 p

SANTOS, M. A. F. Alelopátia em *Miconia spp.* Ruis & Pavon (Melastomataceae juss.) sobre a geminação, desenvolvimento e mitose de *Lactuca sativa L.* 2012. 116p. **Dissertação** (Mestrado em Bioprospecção Molecular) - Universidade Regional do Cariri – URCA, Crato-CE, 2012.

SANTOS, V. H. M. Potencial alelopático de extratos e frações de *Neea theifera* Oerst. (Nyctaginaceae) sobre sementes e plântulas de *Lactuca sativa*. 2012. 51p. **Dissertação** (Mestrado em Ciências Biológicas – Botânica) - Universidade Estadual Paulista - UNESP (Instituto de Biociências de Botucatu), Botucatu –SP, 2012.

SHEWRY, P. R.; LUCAS, J. A. Plant proteins that confer resistance to pests and pathogens Advances in Botanical Research Incorporating Advances in **Plant Pathology**, v. 26, n.1, p. 135-192, 1997.

SILVEIRA, P. F. MAIA, S. S. S. COELHO, M. F. B. Potencial alelopático do extrato aquoso de cascas de jurema preta no desenvolvimento inicial de alface. **Biociência Journal**, v.28, n.3, p.472-477, 2012.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R.. 6ª ed. **Farmacognosia: da Planta ao Medicamento**. Florianópolis, SC: Editora Universidade/UFRGS, 2007.1102p.

SCHOONHOVEN, A.V.; DAN, W.V. Control of *Zabrotes subfasciatus* (Boh.) (Coleoptera: Bruchidae) with seeds protectant fungicides. **Journal of Stored Products Research**, v.18, n.3, p.143-146, 1982.

TAVARES, M.A.G.C. Busca de compostos em *Chenopodium spp.* (Chenopodiaceae) com bioatividade em relação a pragas de grãos armazenados. 2006. 111p. **Tese** (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2006.

VENDRAMIM, J.D.; CASTIGLIONI, E. Aleloquímicos, Resistência e Plantas Inseticidas. In: GUEDES, J.C.; DRESTER DA COSTA, I.; CASTIGLIONI, E. **Bases e Técnicas do Manejo de Insetos**. Santa Maria, RS: UFSM/CCR/DFS, 2000. p.113-128

VIEGAS JÚNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, v.26, n.3, p.390-400, 2003.

VITTI, A. M. S. BRITO, J.O. **Óleo essencial de Eucalipto**. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ), Documentos Florestais N°17, 2003. p.26

WIT, P. J. G. M. Visions & reflections (minireview) - How plants recognize pathogens and defend themselves. **Cellular and MolecularLife Sciences**, v. 64, n,10, p. 2726-2732, 2007.