

### ACÇÃO FUMIGANTE DE TERPENOS SOBRE O CARUNCHO-DO-MILHO, *Sitophilus zeamais*.

Inseticidas sintéticos de acção por contacto, ingestão e por fumigação tem sido largamente utilizados no combate a insetos. Porém, alternativas para o combate de pragas de grãos armazenados através de novos produtos ecologicamente mais compatíveis têm sido procuradas ultimamente. Nesse sentido, os produtos naturais provenientes de plantas podem ser de potencial interesse no combate a insetos. A sua utilização no manejo de pragas poderia ser através de aplicação direta do próprio produto natural ou de produtos resultantes de modificações estruturais nas moléculas.

Substâncias químicas originadas de plantas foram avaliadas quanto ao efeito sobre pragas de milho e sorgo, em testes anteriores, nos quais se observou a acção por contacto e/ou ingestão. Neste trabalho, especificamente, avaliou-se a acção fumigante de monoterpenos e monoterpenóides sobre a praga *Sitophilus zeamais*. A acção fumigante depende essencialmente da pressão de vapor ou taxa de evaporação das substâncias. O teste consistiu na utilização de um frasco de vidro com capacidade de dois litros, vedado com folha de alumínio e com tampa rosqueável. No interior do frasco foi colocado um suporte de arame de aço, para sustentar um vidro de relógio com peso conhecido. Sobre esse vidro, foi colocada a substância previamente pesada (três gotas) e deixada para evaporação à temperatura ambiente, em atmosfera homogeneizada através de agitação com barra magnética/agitador magnético. Logo acima do vidro de relógio, foi suspensa uma gaiola de arame contendo 20 insetos adultos. Finalmente, após um período de 24 horas, o frasco foi aberto e avaliado o efeito "knock down" (KD), ou seja, o efeito de choque sobre os insetos, caracterizado pela incapacidade de andar e com evolução para morte. Pela análise de variância observou-se diferença significativa entre os tratamentos. Os resultados da acção fumigante de terpenos sobre o caruncho - do - milho, avaliada com base no efeito "knock down"- KD, são mostrados na Tabela 37. As médias dos produtos Mentol,  $\alpha$ -Terpineol e Citronelol em relação às demais substâncias foram significativamente menores, de acordo com o teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade.

O maior efeito fumigante observado para o 1,8 - Cineol e R - (+) - Limoneno reforça os resultados encontrados para estes produtos nos testes de acção por contacto e ingestão realizados com o *Rizopertha dominica* e *Sitophilus oryzae*. - Jamilton Pereira dos Santos, Hélio Teixeira Prates, José Magid Waquil, Alaíde Braga de Oliveira.

**TABELA 37.** Acção fumigante de terpenos sobre o caruncho-do-milho, *Sitophilus zeamais*, avaliada com base no efeito "knock down"-KD. CNPMS, Sete Lagoas, MG, 1994.

Substância (terpenos)	KD n° de insetos (média)	KD <sup>1</sup> (%)
1,8-Cineol	20,0	100,0a
R-(+)-Limoneno	20,0	100,0a
(+)- $\alpha$ -Pineno	19,7	98,3a
(-)- $\beta$ -Pineno	19,3	96,7a
Isopinocanfona	19,0	95,0a
(-)- $\alpha$ -Pineno	18,3	91,7a
Linalol	16,3	81,7a
Citronelal	14,7	73,3a
Mentol	1,3	6,7 b
$\alpha$ -Terpineol	0,3	1,7 b
Citronelol	0,0	0,0 b

<sup>1</sup>Knock down - KD ou seja incapacidade de andar e com evolução para morte.

### EFEITO DO 1,8-CINEOL E DO (R)-(+)-LIMONENO SOBRE *Rizopertha dominica* e *Sitophilus oryzae*.

A busca de substituição dos inseticidas sintéticos encontra nos produtos naturais provenientes de plantas uma alternativa ecologicamente mais compatível.

O efeito do monoterpenóide 1,8-Cineol e do monoterpeno R-(+)-Limoneno, que são substâncias químicas originárias de plantas, foi avaliado sobre as espécies *Rizopertha dominica* e *Sitophilus oryzae*. Inicialmente, foram realizados testes de acção por contato dos insetos sobre papel de filtro impregnado com as substâncias. Esse teste consiste em aplicar homogeneamente as substâncias puras e em diluições com acetona sobre papel de filtro, em três repetições de dez gotas. Foram testadas as concentrações em gotas (substância : acetona) de 10:0, 8:2, 6:4, 4:6, 2:8, 1:9, 0,5:9,5 e 0:10. Uma gota do Cineol e do Limoneno corresponde a 19,67 e 21,00 mg, respectivamente. Após um minuto para evaporação da acetona, foram confinados 20 insetos de cada espécie, em anel de vidro (5 x 2,5 cm altura) impregnado com talco na superfície interna, para forçar os insetos a permanecerem sobre o papel. A abertura superior do anel foi coberta com tela fina, para impedir que os insetos escapassem voando. Os insetos permaneceram em contato com o papel de filtro tratado por 24 horas, porém foram feitas observações a 1, 3 e 6 horas após iniciado o contato. Os insetos foram observados quanto ao efeito "knock down" (KD), isto é, efeito de choque caracterizado pela incapacidade de caminhar e com evolução para morte. Posteriormente, foram realizados testes de acção por ingestão e contato com grãos, com as mesmas pragas, utilizando-se as mesmas concentrações

de Cineol e Limoneno. Nesse caso, as pragas foram confinadas, juntamente com grãos de trigo impregnados com as substâncias concentradas e em diferentes diluições com acetona, em frasco de vidro com capacidade de 30 ml, coberto com tela fina. Anotações do efeito "knock down", como no ensaio anterior, foram realizados. Os resultados estão mostrados nas Tabelas 38 e 39.

A análise da toxicidade do Cineol revelou uma  $CL_{50}$  para *Rizopertha dominica* e *Sitophilus oryzae* de 60,292 mg e 64,696 mg, nos testes de papel de filtro, e de 17,148 mg e 27,825 mg, nos testes de grãos de trigo, respectivamente, mostrando que no segundo teste as espécies foram mais sensíveis ao Cineol e que a espécie *Rizopertha dominica* é aproximadamente 1,6 vez mais sensível que a *Sitophilus oryzae* (Tabela 38).

Com relação à análise da toxicidade do Limoneno, observou-se uma  $CL_{50}$  para *Rizopertha dominica* e *Sitophilus oryzae* de 164,287 mg e 124,815 mg, nos testes de papel de filtro, e de 33,273 mg e 51,724 mg no outro

teste, respectivamente, mostrando que no teste com os grãos as espécies foram também mais sensíveis ao Limoneno e que a *Rizopertha dominica* é aproximadamente 1,5 vez mais sensível que a *Sitophilus oryzae* (Tabela 39).

Através deste trabalho, pode-se concluir que o teste de ingestão e/ou contacto com o grão impregnado com a substância mostrou-se mais eficiente do que o teste de contacto com o papel de filtro. Os resultados evidenciaram também que a espécie *Rizopertha dominica* mostrou-se, de modo geral, mais sensível às substâncias químicas de origem vegetal do que a *Sitophilus oryzae*. Estes resultados concordam com os dados da literatura, que registram maior sensibilidade do *Rizopertha dominica* em relação ao *Sitophilus oryzae* quando expostos a inseticidas piretróides, que são produtos derivados do ácido crisantêmico encontrado em plantas denominadas piretro. - Jamilton Pereira dos Santos, Hélio Teixeira Prates, José Magid Waquil, Alaide Braga de Oliveira.

**TABELA 38.** Avaliação do efeito "knock down" - KD<sup>1</sup> em 20 indivíduos, através do tempo de exposição (em horas) do 1,8 - Cineol sobre *Rizopertha dominica* e *Sitophilus oryzae*, insetos-pragas de grãos armazenados. CNPMS, Sete Lagoas, MG, 1994.

Cineol <sup>2</sup>	<i>Rizopertha dominica</i>							
	Papel de filtro				Grãos de trigo			
	1:00	3:00	6:00	24:00	1:00	3:00	6:00	24:00
10/0	20,0	20,0	00,0	20,0	20,0	19,4	20,0	20,0
8/2	20,0	20,0	00,0	18,6	20,0	20,0	20,0	20,0
6/4	20,0	20,0	00,0	17,4	17,4	20,0	20,0	20,0
4/6	20,0	20,0	00,0	15,4	18,6	20,0	20,0	20,0
2/8	4,0	2,0	1,4	2,0	18,0	20,0	20,0	19,4
1/9	0,0	0,0	0,6	0,6	10,0	16,6	17,2	13,4
0,5/9,5	0,0	0,0	0,0	0,6	0,0	10,6	8,0	2,0
0/10	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,6	0,6	0,6
Testemunha	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,6

### Continuação da TABELA 38

Cineol <sup>2</sup>	<i>Sitophilus oryzae</i>							
	Papel de filtro				Grãos de trigo			
	1:00	3:00	6:00	24:00	1:00	3:00	6:00	24:00
10/0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0
8/2	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0
6/4	20,0	20,0	20,0	20,0	19,0	20,0	20,0	20,0
4/6	20,0	20,0	20,0	13,0	15,3	18,3	20,0	20,0
2/8	6,0	5,0	1,0	1,7	18,0	18,0	18,7	19,3
1/9	0,7	0,7	0,0	0,0	10,3	6,7	4,3	1,7
0,5/9,5	0,0	0,0	0,0	0,0	7,7	3,3	1,3	0,0
0/10	0,0	0,0	0,0	0,0	3,0	0,7	0,7	1,0
Testemunha	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

<sup>1</sup>"Knock down" - KD, ou seja, incapacidade de caminhar, com evolução para morte.

<sup>2</sup>A concentração de Cineol foi medida em gotas e diluída em acetona, perfazendo um total de dez gotas, que é a quantidade de solução recomendada para o teste. Uma gota de Cineol corresponde a 19,67 mg.

**TABELA 39.** Avaliação do efeito "knock down" - KD<sup>1</sup>, através do tempo de exposição (em horas) do R (+) - Limoneno sobre 20 indivíduos das espécies *Rhizopertha dominica* e *Sitophilus oryzae*, insetos pragas de grãos armazenados. CNPMS, Sete Lagoas, MG, 1994.

<i>Rhizopertha dominica</i>									
Cineol <sup>2</sup>	Papel de filtro				Grãos de trigo				
	1:00	3:00	6:00	24:00	1:00	3:00	6:00	24:00	
10/0	20,0	19,7	17,3	15,7	20,0	20,0	20,0	20,0	
8/2	13,0	18,3	15,0	12,0	19,7	20,0	20,0	20,0	
6/4	17,7	10,3	6,0	3,3	18,7	19,7	20,0	20,0	
4/6	17,3	4,7	1,3	1,3	17,3	18,7	19,7	19,7	
2/8	2,0	0,0	0,0	0,0	17,3	17,7	18,3	16,3	
1/9	0,0	0,0	0,7	0,3	13,3	6,3	8,0	2,3	
0,5/9,5	0,0	0,0	0,3	0,3	11,0	6,3	4,7	1,0	
0/10	0,0	0,0	0,0	0,0	13,0	5,3	3,7	1,3	
Testemunha	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,3	0,3	1,0	

### Continuação da TABELA 39

<i>Sitophilus oryzae</i>									
Cineol <sup>2</sup>	Papel de filtro				Grãos de trigo				
	1:00	3:00	6:00	24:00	1:00	3:00	6:00	24:00	
10/0	17,3	17,3	5,3	13,0	19,3	18,7	19,3	19,3	
8/2	16,7	4,7	3,0	11,0	19,7	19,7	20,0	20,0	
6/4	17,0	5,0	2,7	12,0	19,7	19,3	19,0	19,7	
4/6	13,0	4,7	2,3	9,7	13,0	15,0	13,3	14,7	
2/8	2,7	1,0	1,0	2,0	10,0	6,7	3,7	7,3	
1/9	0,3	0,3	0,3	0,0	3,7	0,0	0,0	0,3	
0,5/9,5	0,3	0,3	0,3	0,7	1,0	0,3	0,3	0,7	
0/10	0,3	1,0	1,0	2,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
Testemunha	0,0	0,3	0,3	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	

<sup>1</sup>"Knock down"-KD, ou seja, incapacidade de caminhar, com evolução para morte.

<sup>2</sup>A concentração de Limoneno foi medida em gotas e diluída em acetona, perfazendo um total de dez gotas, que é a quantidade de solução recomendada para o teste. Uma gota de Limoneno corresponde a 21,00 mg.

## BIOTECNOLOGIA

### CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR E BIOQUÍMICA DE POPULAÇÕES INDÍGENAS DE MILHO QUE APRESENTAM GRÃOS OPACOS

A dureza dos grãos de milho é um importante parâmetro correlacionado diretamente com várias características agrônômicas desejáveis e, normalmente, de maneira inversa à qualidade protéica. Vários mutantes com a estrutura do endosperma alterada têm sido caracterizados em milho, o que, além de ajudar a desvendar os mecanismos envolvidos na determinação da estrutura do endosperma, torna a síntese das zeínas um modelo interessante para o estudo da expressão gênica em organismos superiores.

Neste trabalho, foram caracterizadas onze populações indígenas de milho, comparando-as com genótipos normais, opaco-2 e QPM. Os parâmetros analisados foram: densidade dos grãos, qualidade protéica, concentração e padrão eletroforético das zeínas e não-zeínas, teor de açúcares solúveis no endosperma e padrão de restrição do gene da gama-zeína de 27 kD.

As populações indígenas de milho apresentaram grãos opacos e de baixa densidade, semelhantes aos dos mutantes opaco-2, e baixa qualidade protéica, como os genótipos normais (Tabela 40). A porcentagem de zeínas, não-zeínas e o teor de açúcares solúveis no endosperma das populações indígenas forem semelhantes aos dos genótipos normais (Tabela 40). Com relação à quantidade relativa da gama-zeína de 27 kD, as populações indígenas foram divididas em dois grupos distintos, um grupo apresentando níveis reduzidos e o outro, com níveis de proteína equivalentes aos dos materiais normais (Figura 25). O gene que codifica a gama-zeína de 27 kD nos milhos indígenas apresentou um polimorfismo de restrição, além da detecção de uma nova banda de aproximadamente 10 kb, em comparação com os demais genótipos (Figura 26).

Dos resultados obtidos, concluiu-se que as populações indígenas não estão incluídas em nenhuma classe de mutantes até então descrita, podendo ser classificadas como um novo grupo de mutantes para a textura do endosperma, apresentando, portanto, grande potencial para a elucidação dos mecanismos bioquímicos e moleculares envolvidos na determinação da textura do endosperma do milho. - Cláudia Teixeira Guimarães, Maria José Villaça Vasconcelos, Everaldo Gonçalves Barros, Edilson Paiva.