



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA DA RENORBIO

ANA PAULA OLIVEIRA DA SILVA

**Prospecção de produtos naturais para o manejo integrado de *Lasioderma serricorne*  
(Fabricius, 1792) (Coleoptera: Anobiidae)**

Maceió

2017

ANA PAULA OLIVEIRA DA SILVA

**Prospecção de produtos naturais para o manejo integrado de *Lasioderma serricorne*  
(Fabricius, 1792) (Coleoptera: Anobiidae)**

Tese de Doutorado apresentadas ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da RENORBIO da Universidade Federal de Alagoas como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart Santana

Maceió

2017

**Catálogo na fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**

Bibliotecária Responsável: Helena Cristina Pimentel do Vale

- S586p Silva, Ana Paula Oliveira da.  
Prospecção de produtos naturais para o manejo integrado de *Lasioderma serricorne* (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Anobiidae) / Ana Paula Oliveira da Silva. – 2017.  
154 f. : il.
- Orientador: Antônio Euzébio Goulart Santana.  
Tese (doutorado na Rede Nordeste de Biotecnologia) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. RENORBIO. Maceió, 2017.
- Inclui bibliografia.  
Apêndices: f. 149-154.
1. Soja. 2. *Glycine Max*. 3. Pragas agrícolas – Controle biológico. 4. *Lasioderma serricorne*. 5. Semioquímicos. 6. Manejo integrado de pragas. I. Título.

CDU: 632.9: 633.34

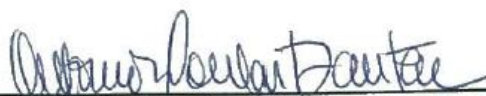
ANA PAULA OLIVEIRA DA SILVA

**Identificação de grãos de soja armazenados (*Glycine max*) para *Lasioderma serricorne* (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Anobiidae)**

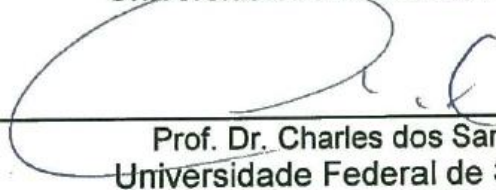
Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia – RENORBIO, Ponto Focal Alagoas, Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial para a obtenção do Título de Doutora em Biotecnologia, Área de Concentração: Biotecnologia em Recursos Naturais.

Aprovada em: 15/12/2017.

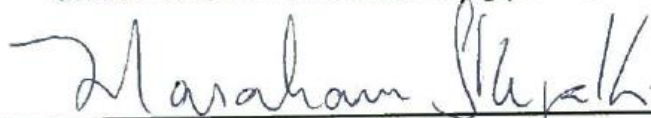
**BANCA EXAMINADORA**



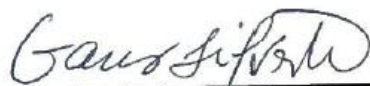
Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart Santana  
Universidade Federal de Alagoas - UFAL



Prof. Dr. Charles dos Santos Estevam  
Universidade Federal de Sergipe – UFS



Prof. Dr. Prof. Dr. Masaharu Ikegaki  
Universidade Federal de Alfenas – UNIFAL-MG



Prof. Dr. Gaus Silvestre de Andrade Lima  
Universidade Federal de Alagoas - UFAL



Prof.ª Dr.ª Ruth Rufino do Nascimento  
Universidade Federal de Alagoas - UFAL

Ao meu querido filho Matheus, meu esposo Joeferson,  
e aos meus pais, Adão e Maria das Graças.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, de onde vem força e sustento para as horas boas e também para as mais difíceis.

À minha família pelo apoio e pela paciência: vocês tem sido minha maior motivação.

Agradeço especialmente ao meu esposo Joeferson Reis Martins, pelo incentivo e companhia durante esse período.

Ao Prof. Dr. Antônio Euzébio Goulart Santana, por ser um excepcional orientador e chefe, sempre disponível e disposto a ensinar.

Ao Prof. Dr. Henrique Fonseca Goulart, pela ajuda no processo de identificação de compostos.

Ao Dr. Chrystian Iezid Maia e Almeida Feres, pelo apoio nas análises estatísticas.

A todos demais integrantes do Laboratório de Pesquisa em Recursos Naturais – LPqRN, bolsistas de iniciação científica, alunos de pós-graduação, pós-doutorandos e pesquisadores, por terem me acolhido e me ensinado importantes lições.

Aos meus colegas técnicos de laboratório, especialmente Aldy dos Santos, pelo apoio durante a fase experimental e contribuição inestimável no trabalho com a pimenta rosa.

Aos meus colegas técnicos administrativos do Instituto de Química e Biotecnologia – IQB, por se disponibilizarem a assumir minhas funções durante meu afastamento.

Agradeço à MSc. Rosângela P. Lyra-Lemos, do IMA-AL, pela identificação botânica de *S. terebinthifolius* e outros materiais vegetais, e ao Dr Sinval Silveira Neto, da ESALQ/USP, pela confirmação da identificação taxonômica dos insetos.

Ao Dr. Samuel Roggia, pesquisador da EMBRAPA Soja pelo fornecimento de grãos de soja utilizados nesse trabalho.

Ao Dr. Irineu Lorini, pesquisador da EMBRAPA Soja pelas imagens cedidas para a revisão de literatura sobre *L. serricorne* e ao Dr. Alessandro Riffel, da EMBRAPA Tabuleiros Costeiros, pelo empenho nesse sentido.

A todos demais que de alguma forma estão me apoiando durante esse curso, diretamente ou através de orações e pensamentos positivos, pois certamente sem vocês a caminhada seria mais árida e difícil.

*“... Será que vocês não sabem? Nunca ouviram falar disso? O Senhor é o Deus Eterno, Ele criou o mundo inteiro...*

*...Desde que Deus criou o mundo, as suas qualidades invisíveis, isto é, o seu poder eterno e a sua natureza divina, têm sido vistas claramente. Os seres humanos podem ver tudo isso nas coisas criadas...”*

Isaías 40:28a; Romanos 1:20a,b.

(Bíblia, NTLH/NVI)

## RESUMO

*Lasioderma serricorne* (F.) (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Anobiidae) é uma praga cosmopolita conhecida popularmente como besourinho do tabaco que ataca uma grande variedade de produtos agrícolas armazenados, dentre eles a soja, escavando galerias nos grãos enquanto se alimentam e conseqüentemente gerando prejuízos aos produtores pela perda da qualidade e valor das sementes. Devido aos riscos de intoxicação e de contaminação do meio ambiente com resíduos químicos, assim como o surgimento de indivíduos resistentes, outras abordagens para o controle de *L. serricorne* tem sido buscadas. Os cairomônios das plantas hospedeiras são moléculas com potencial para aplicação como atraentes alimentares em armadilhas para monitoramento e captura de insetos. Por outro lado, a avaliação de óleos essenciais (OE) de plantas nativas cultivadas localmente, pode contribuir para a descoberta de compostos úteis como repelentes ou bioinseticidas naturais, gerando também ferramentas úteis manejo integrado de pragas (MIP). O objetivo desse estudo foi investigar e identificar os compostos orgânicos voláteis liberados pelos grãos de soja armazenados de três variedades cultivadas no Brasil com atratividade para adultos de *L. serricorne* (soja comercializada em grandes cadeias de supermercados em Maceió-AL e duas variedades EMBRAPA BRS284 e BRS360RR) e testar a atividade do OE dos frutos maduros de *Schinus terebinthifolius*, a fim de promover a prospecção de compostos naturais com potencial para aplicação no manejo integrado dessa praga em ambientes de armazenamento. A atratividade dos grãos e de extratos preparados por coleta dinâmica do *headspace* dos grãos foi avaliada em bioensaios comportamentais em olfatômetro de 4 braços, enquanto o isolamento e identificação dos compostos bioativos foram realizados pelas técnicas de cromatografia gasosa acoplada à eletroantenografia (CG-EAG) e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM). Cinco compostos EAG-ativos foram identificados nos extratos dos grãos de soja: 1-octen-3-ol, 3-octanol, 1-nonanol, linalol e limoneno. A resposta comportamental de *L. serricorne* em bioensaios em olfatômetro de 4 braços aos compostos sintéticos foi estatisticamente significativa para 1-octen-3-ol, 3-octanol, 1-nonanol e linalol, enquanto a atração pela mistura dos 4 compostos sintéticos foi comparável à verificada para os grãos de soja. A atividade do OE extraído por arraste a vapor dos frutos maduros de *S. terebinthifolius* (3 repetições) colhidos de matrizes localizadas no campus A. C. Simões da UFAL, Maceió-AL, sobre adultos de *L. serricorne* foi testada em bioensaios em olfatômetro de 4 braços, em duas concentrações (1 e 10 µL), enquanto a composição do OE foi analisada por CG-FID e CG-EM. Foi verificada repelência do OE na dose de 10 µL. Foram identificados 14 compostos no OE de *S. terebinthifolius*, sendo os componentes principais: β-pineno (49,8 %), α-pineno (33,49 %), 3-careno (5,85 %), germancreno-D (2,08 %) e bornileno (1,21 %). Os compostos atrativos identificados a partir dos grãos de soja atuam como cairomônios para *L. serricorne*, enquanto o OE de *S. terebinthifolius* possui atividade repelente contra essa praga, portanto os resultados aqui obtidos podem ser aplicados no desenvolvimento de bioprodutos para o manejo integrado de *L. serricorne* dentro e ao redor de ambientes de armazenamento, favorecendo a utilização racional de inseticidas.

**Palavras-chave:** *Lasioderma serricorne*, besourinho do tabaco, soja, *Glicine max*, *Schinus terebinthifolius*, semioquímicos, cairomônios, manejo integrado de pragas, óleo essencial, produtos armazenados.



## ABSTRACT

*Lasioderma serricorne* (F.) (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Anobiidae) is a cosmopolitan plague popularly known as a tobacco beetle that attacks a wide variety of stored agricultural products, like soybeans, excavating galleries in the grains while feeding and consequently generating losses to the producers by the loss of quality and value of the seeds. Due to the risks of intoxication and environment contamination with chemical residues, as well as the emergence of resistant individuals, other approaches to the control of *L. serricorne* have been sought. The host plant kairomones are molecules with potential for application as food attractants in traps for monitoring and capture insects. On the other hand, the evaluation of essential oils (EO) of native plants cultivated locally, can contribute to the discovery of useful compounds as natural repellents or bio-insecticides, also generating tools useful in integrated pest management (IPM). The objective of this study was to investigate and identify the volatile organic compounds released by stored soybeans from 3 varieties cultivated in Brazil with attractiveness to adults *L. serricorne* (soybean marketed in large supermarket chains in Maceió-AL and two varieties EMBRAPA BRS284 and BRS360RR) and to test the EO activity of the mature fruits of *Schinus terebinthifolius*, in order to promote the prospection of natural compounds with potential for application in the integrated management of this pest in storage environments. The attractiveness of grains and extracts prepared by dynamic headspace collection was evaluated in 4-arm olfactometer behavioral bioassays, while the isolation and identification of the bioactive compounds were carried out using gas chromatography coupled to electroantennography (GC-EAG) and gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS). Five EAG-active compounds were identified in the extracts of soybeans: 1-octen-3-ol, 3-octanol, 1-nonanol, linalool and limonene. The behavioral response of *L. serricorne* in 4-arm olfactometer bioassays to synthetic compounds was statistically significant for 1-octen-3-ol, 3-octanol, 1-nonanol and linalool, while the attraction for the 4 synthetic blend was comparable to that verified for soybeans. The activity of the EO extracted by steam-drag of the mature fruits of *S. terebinthifolius* (3 replicates) harvested from matrices located on the A. C. Simões Campus of UFAL, Maceió-AL, on *L. serricorne* adults was tested in 4-arm olfactometer bioassays, in two concentrations (1 and 10  $\mu$ L), while the EO composition was analyzed by GC-FID and GC-MS. EO repellency was checked at a dose of 10  $\mu$ L. A total of 14 compounds were identified in *S. terebinthifolius* EO, with the main components being  $\beta$ -pinene (49.8%),  $\alpha$ -pinene (33.49%), 3-carene (5.85%), germacrene-D (2.08%) and bornylene (1.21%). The attractive compounds identified from the soybean grains act as kairomones for *L. serricorne*, while the *S. terebinthifolius* EO has repellent activity against this pest, so the results obtained here can be applied in the development of bioproducts for the integrated management of *L. serricorne* in and around storage environments, favoring the rational use of insecticides.

**Keywords:** *Lasioderma serricorne*, tobacco beetle, soybean, *Glicine max*, *Schinus terebinthifolius*, semiochemicals, kairomones, integrated pest management, essential oil, stored products.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Larva de <i>L. serricorne</i> em grão de soja: (1) pedaços de grãos de soja, (2) larva, (3) fragmento de casulo pupal .....	18
Figura 2 -	<i>Lasioderma serricorne</i> (A) larva, (B) vista dorsal do adulto, (C) vista lateral do adulto.....	19
Figura 3 -	Pupas de <i>Lasioderma serricorne</i> : (♀) = fêmea e (♂) = macho.....	20
Figura 4 -	Nomenclatura aplicada aos aleloquímicos, com base nos efeitos ecológicos de benefício/prejuízo que desencadeiam no emissor e no receptor do sinal químico.....	32
Figura 5 -	Esquema de extração de voláteis do <i>headspace</i> dinâmico.....	35
Figura 6 -	Esquema de um cromatógrafo a gás.....	36
Figura 7 -	Esquema de um cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massas.....	37
Figura 8 -	O estímulo olfatório em uma antena nos insetos.....	38
Figura 9 -	Esquema de um cromatógrafo a gás acoplado a um detector eletroantenoográfico (CG-EAG).....	40
Figura 10 -	Câmara de voo utilizada para avaliar a iniciação de voo por <i>L. serricorne</i> .....	42
Figura 11 -	Olfatômetro de múltipla escolha (8 braços).....	44
Figura 12 -	Olfatômetro de 4 braços.....	45

### CAPÍTULO I

Figure 1 -	Dorsal view of a <i>Lasioderma serricorne</i> adult (Irineu Lorini, EMBRAPA Soja).....	89
Figure 2 -	Eggs (A) and larvae (B) of <i>L. serricorne</i> in stored soybeans.....	89
Figure 3 -	The observation of the terminal abdominal segments of <i>L. serricorne</i> during the pupal stage allows discriminating females (A) and males (B).....	90
Figure 4 -	Fumigation with phosphine is the most used method against <i>L. serricorne</i> in stored products such as soybeans (A). The seal is essential for effective treatment (B) (Irineu Lorini, EMBRAPA Soja).....	90

### CAPÍTULO II

Figure 1 -	Behavioural responses of <i>Lasioderma serricorne</i> adults to electrophysiologically active synthetic compounds (10 µL on filter paper) and a four-component blend of attractive synthetic compounds in a four-arm olfactometer. Concentrations: 1-octen-3-ol (5 µg mL <sup>-1</sup> ), 1-nonanol (5 µg mL <sup>-1</sup> ), linalool (2 µg mL <sup>-1</sup> ), limonene (6 µg mL <sup>-1</sup> ) and 3-octanol (0.2 µg mL <sup>-1</sup> ). n = 12 in all bioassays. <i>P</i> < 0.05 = *, <i>P</i> < 0.01 = **, <i>P</i> < 0.001 = ***. ■ =	113
------------	--	-----

treatment, □ = control, presented as a mean of the three control arms. Bars = standard errors of the means.....

### CAPÍTULO III

Figura 1 -	<i>Schinus terebinthifolius</i> , (A) ramo com frutos; (B) preparação e seleção dos frutos maduros.....	118
Figura 2 -	Cromatograma CG-FID do óleo essencial dos frutos maduros de <i>S. terebinthifolius</i> Raddi., com compostos principais em destaque: $\alpha$ -pineno (1), $\beta$ -pineno (2), 3-careno (3), bornileno (4) e germancreno-D (5).....	122

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Componentes do feromônio sexual de <i>Lasioderma serricorne</i> .....	21
Tabela 2 -	Óleos essenciais com atividade tóxica e/ou repelente contra <i>L. serricorne</i>	28
Tabela 3 -	Plantas com atividade tóxica e/ou repelente contra <i>L. serricorne</i> .....	30

### CAPÍTULO I

Table 1 -	Constituents of the <i>L. serricorne</i> sex pheromone.....	83
Table 2 -	Plants with toxicity against <i>L. serricorne</i> .....	84
Table 3 -	Plants with repellent activity against <i>L. serricorne</i> .....	86

### CAPÍTULO II

Table 1 -	Mean time spent (min±SD) by <i>Lasioderma serricorne</i> adults (males and females) in response to soybeans ( <i>Glycine max</i> ) (50g) in a four-arm olfactometer.....	110
Table 2 -	Mean time spent (min±SD) by <i>Lasioderma serricorne</i> adults (males and females) in response to soybeans ( <i>Glycine max</i> ) air entrainment volatiles (10 µL on filter paper) in a four arm olfactometer.....	111
Table 3 -	Electrophysiologically active compounds identified in soybeans ( <i>Glycine max</i> ) air entrainment extracts.....	112

### CAPÍTULO III

Tabela 1 -	Composição química do óleo essencial dos frutos maduros de <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi.....	121
Tabela 2 -	Compostos principais descritos no OE dos frutos de <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi. coletados em diferentes partes do mundo.....	123
Tabela 3 -	Tempo médio de permanência em cada braço do olfatômetro por adultos de <i>Lasioderma serricorne</i> em resposta ao óleo essencial de <i>Schinus teribinthifolius</i> Raddi.....	124
Tabela 4 -	Número médio de entradas em cada braço do olfatômetro por adultos de <i>Lasioderma serricorne</i> em resposta ao óleo essencial de <i>Schinus teribinthifolius</i> Raddi.....	125

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>14</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>17</b>
<b>2.1</b>	<b>Considerações gerais sobre <i>Lasioderma serricorne</i>.....</b>	<b>17</b>
<b>2.2</b>	<b>Biologia de <i>L. serricorne</i>.....</b>	<b>18</b>
<b>2.3</b>	<b>Métodos empregados no controle de <i>L. serricorne</i>.....</b>	<b>22</b>
2.3.1	Controle químico.....	22
2.3.2	Controle por temperatura e radiações ionizantes.....	24
2.3.3	Controle biológico.....	25
2.3.4	Produtos naturais: óleos essenciais.....	26
<b>2.4</b>	<b>Os semioquímicos.....</b>	<b>32</b>
<b>2.5</b>	<b>Métodos empregados na extração e identificação de semioquímicos.....</b>	<b>33</b>
2.5.1	Extração de voláteis: coleta dinâmica do <i>headspace</i> .....	34
2.5.2	Separação e identificação de compostos voláteis por Cromatografia Gasosa e técnicas acopladas.....	35
<b>2.6</b>	<b>Bioensaios comportamentais com <i>L. serricorne</i>.....</b>	<b>40</b>
<b>CAPÍTULO I. <i>Lasioderma serricorne</i>: A CURRENT REVIEW OF AN OLD PROBLEM IN STORED PRODUCTS.....</b>		<b>47</b>
	<b>Submission confirmation.....</b>	<b>48</b>
	<b>Title and authors.....</b>	<b>50</b>
	<b>Abstract.....</b>	<b>50</b>
<b>1.</b>	<b>Introduction.....</b>	<b>51</b>
<b>2.</b>	<b><i>L. serricorne</i>'s impact on stored products.....</b>	<b>53</b>
<b>3.</b>	<b>Biology.....</b>	<b>54</b>
<b>3.1</b>	<b>Life cycle.....</b>	<b>54</b>
<b>3.2</b>	<b>Nutrition.....</b>	<b>55</b>
<b>3.3</b>	<b>Reproductive biology.....</b>	<b>56</b>
<b>3.4</b>	<b>Sensory organs related to volatile detection.....</b>	<b>56</b>
<b>3.5</b>	<b>Responses to host volatiles.....</b>	<b>57</b>
<b>4.</b>	<b>Control methods.....</b>	<b>58</b>
<b>4.1</b>	<b>Phosphine fumigation.....</b>	<b>58</b>
<b>4.2</b>	<b>Treatment with carbon dioxide (CO<sub>2</sub>).....</b>	<b>59</b>
<b>4.3</b>	<b>Temperature treatments.....</b>	<b>61</b>
<b>4.4</b>	<b>Radiation.....</b>	<b>62</b>

4.5	Biological control and biopesticides.....	62
4.6	The use of semiochemicals.....	64
5.	Research perspectives for <i>L. serricornis</i> management.....	65
5.1	Rapid monitoring.....	65
5.2	Integrated pest management.....	66
6.	Acknowledgments.....	67
7.	References.....	67
	Tables and figures.....	83

<b>CAPÍTULO II. IDENTIFICATION OF KAIROMONES IN STORED SOYBEANS (<i>Glycine max</i>) FOR <i>Lasioderma serricornis</i> (FABRICIUS, 1792) (COLEOPTERA: ANOBIIDAE).....</b>		<b>91</b>
	Submission confirmation.....	92
	Title and authors.....	94
	Abstract.....	95
1	INTRODUCTION.....	95
2	MATERIALS AND METHODS.....	96
2.1	Insects.....	96
2.2	Plant material.....	97
2.3	Collection of volatile compounds from soybeans.....	97
2.4	Olfactometer bioassays.....	97
2.5	Analysis by coupled Gas Chromatography - Electroantennography (GC-EAG).....	98
2.6	Analysis by coupled Gas-Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)....	99
2.7	Synthetic Compounds.....	99
2.8	Statistical analysis.....	99
3	RESULTS.....	100
3.1	Behavioural responses by <i>L. serricornis</i> for soybeans and their extracts.....	100
3.2	Identification of electrophysiologically active compounds in air entrainment extracts.....	100
3.3	Behavioural responses of <i>L. serricornis</i> to synthetic compounds.....	100
4	DISCUSSION.....	101
5	CONCLUSION.....	104
	ACKNOWLEDGEMENTS.....	104
6	REFERENCES.....	104
	Tables and figures.....	110

Graphical abstract.....	114
<b>CAPÍTULO III. ATIVIDADE REPELENTE DO ÓLEO ESSENCIAL DOS FRUTOS DE <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi (ANACARDIACEAE) CONTRA <i>Lasioderma serricorne</i> (FABRICIUS, 1792) (COLEOPTERA: ANOBIIDAE).....</b>	<b>115</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>115</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>115</b>
1. <b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>115</b>
2. <b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>117</b>
2.1 <b>Material vegetal e extração do óleo essencial.....</b>	<b>117</b>
2.2 <b>Análise do óleo essencial por cromatografia gasosa e cromatografia gasosa (CG-FID) acoplada a espectrometria de massas (CG-MS).....</b>	<b>118</b>
2.3 <b>Insetos.....</b>	<b>119</b>
2.4 <b>Bioensaios em olfatômetro.....</b>	<b>119</b>
2.5 <b>Análise estatística.....</b>	<b>120</b>
3. <b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>120</b>
3.1 <b>Constituintes químicos do óleo essencial de <i>S. terebinthifolius</i>.....</b>	<b>120</b>
3.2 <b>Resposta comportamental de <i>L. serricorne</i>.....</b>	<b>123</b>
4. <b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>126</b>
<b>AGRADECIMENTOS.....</b>	<b>127</b>
5. <b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>127</b>
<b>CONCLUSÃO GERAL .....</b>	<b>132</b>
<b>PERSPECTIVAS .....</b>	<b>133</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>134</b>
<b>APÊNDICE – A: FIGURAS COM RESULTADOS DO CG-EAG, DESTACANDO OS COMPOSTOS EAG ATIVOS IDENTIFICADOS POR CG-EM EXTRAÍDOS DO HEADSPACE DE GRÃOS DE SOJA ARMAZENADOS.....</b>	<b>149</b>
<b>APÊNDICE – B: FIGURAS RELATIVAS À PARTE EXPERIMENTAL DO CAPÍTULO II.....</b>	<b>149</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A biodeterioração pelo ataque de insetos é uma das principais causas de perdas de alimentos no pós-colheita nos países menos desenvolvidos (Hodges et al., 2001), onde as pragas de produtos armazenados podem comprometer mais de 50% da produção de determinados grãos (BAOUA et al., 2015). Os países em desenvolvimento das regiões tropicais precisam enfrentar infestações de pestes nativas e cosmopolitas que se adaptam facilmente à estabilidade das condições ambientais dos sistemas de armazenamento. Há projeções de um aumento nas infestações de pragas em decorrência das mudanças climáticas, que certamente impactarão a produção de alimentos ao redor do mundo nos próximos anos (FAO, 2017).

O armazenamento é uma etapa crucial na cadeia produtiva de alimentos, e o ataque por pragas é um dos maiores problemas enfrentados por produtores e comerciantes, pois gera prejuízos imediatos no produto final armazenado. Além dos danos diretos causados pelos insetos em grãos armazenados, que se reflete em perda de peso, ainda há as consequências indiretas, como o aumento da vulnerabilidade ao ataque por fungos, efeitos deletérios na germinabilidade de sementes e perda da qualidade e valor de mercado. A todos esses fatores soma-se o impacto econômico e ambiental da aplicação de pesticidas, que move um mercado bilionário no mundo.

*Lasioderma serricorne* (F.) (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Anobiidae) é um pequeno besouro cosmopolita conhecido popularmente como besourinho do tabaco, por ser a principal praga dessa commodity (ASHWORTH, 1993), e que tem sido descrita atacando uma grande variedade de produtos agrícolas armazenados, incluindo grãos, ervas desidratadas, farinhas e rações para animais, além de causar danos em coleções de herbários e acervos de livros. Um aspecto interessante sobre *L. serricorne* é que tem se mostrado como uma das espécies mais resistentes a uma série de medidas de controle e, por isso, tem sido reportada em uma vasta literatura, refletindo a busca, em diversos países, por novos produtos e abordagens capazes de mitigar infestações.

O manejo integrado de pragas tem sido adotado como alternativa mais sustentável em uma conjuntura de mercados cada vez mais exigentes e regulamentados, já que enfatiza o crescimento de culturas saudáveis com a menor perturbação possível dos agroecossistemas e encoraja mecanismos naturais de controle de pragas (UE, 2009). Essa abordagem contribui para o uso racional de pesticidas, tanto pelo fato do processo de tomada de decisão ser orientado por sistemas eficazes de monitoramento de pragas, quanto pelo efeito sinérgico



de ferramentas não-químicas ou produtos biológicos menos prejudiciais ao meio ambiente e à saúde de humanos e animais (BARZMAN et al., 2015)

Considerando o amplo espectro de produtos atacados por *L. serricornis* e a importância dos mesmos para as economias locais onde são produzidos, especialmente nos países em desenvolvimento, fica clara a necessidade de buscar novos produtos naturais aplicáveis em estratégias de manejo integrado (monitoramento, captura, proteção de locais de armazenamento e embalagens, entre outras).

Portanto, estudos sobre a atratividade de voláteis de *comodities* atacadas por *L. serricornis* contribuem para melhor compreensão da ecologia química dessa espécie no contexto de armazenamento, na elucidação dos mecanismos de busca de alimento e disseminação da praga, assim como são relevantes na prospecção de moléculas bioativas aplicáveis como atraentes alimentares em formulações para armadilhas de monitoramento e coleta massal. Com o mesmo foco de proteção dos produtos armazenados do ataque dessa praga e outros insetos fitófagos, mas com modo de ação oposto, a avaliação de óleos essenciais de plantas nativas cultivadas localmente, pode contribuir para a descoberta de compostos úteis como repelentes ou bioinseticidas naturais.

Os objetivos do presente trabalho foram investigar e identificar os compostos orgânicos voláteis liberados pelos grãos de soja armazenados de diferentes variedades cultivadas no Brasil com atratividade para adultos de *L. serricornis* e testar a atividade do óleo essencial dos frutos maduros de *Schinus terebinthifolius*, a fim de promover a prospecção de compostos naturais com potencial para aplicação no manejo integrado dessa praga em ambientes de armazenamento.

Esta tese está composta de três capítulos redigidos sob o formato de artigos científicos:

- O primeiro capítulo é um artigo de revisão sobre *L. serricornis*, sua biologia, importância no contexto de produtos armazenados, métodos de controle e perspectivas no manejo dessa praga, o qual foi submetido à Revista *Agronomy for Sustainable Development* (ISSN: 1774-0746).
- O segundo capítulo é um artigo de pesquisa original que trata da investigação, isolamento e identificação de cairomônios de grãos de soja de 3 variedades cultivadas no Brasil para *L. serricornis*, que foi submetido à Revista *Pest Management Science* (ISSN: 1526-4998).
- O terceiro e último capítulo também é um artigo de pesquisa original sobre a avaliação da atividade do óleo essencial de frutos maduros de *S. terebinthifolius* sobre adultos de *L. serricornis*, o qual não foi submetido a nenhum periódico até o momento.

Os capítulos estão precedidos de uma revisão de literatura sobre os temas abordados durante a pesquisa, conforme instruções normativas do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia. A bibliografia citada na introdução está compilada em conjunto com as referências bibliográficas da revisão de literatura a seguir.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Considerações gerais sobre *Lasioderma serricorne*

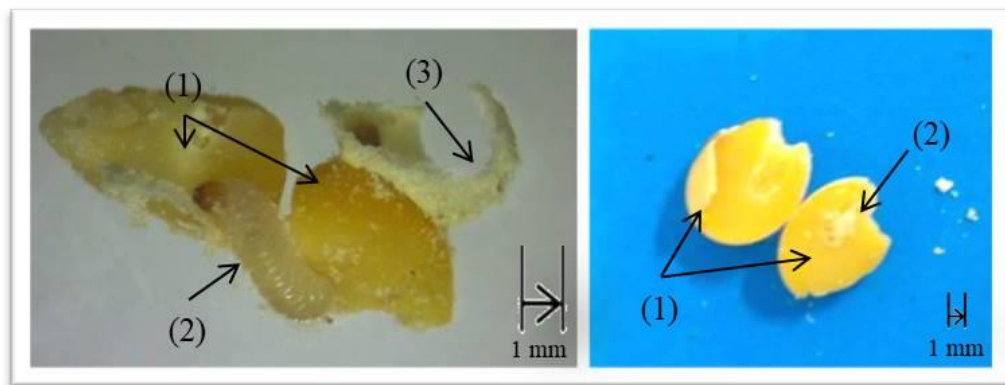
*Lasioderma serricorne* (Fabricius, 1792) é um coleóptero cosmopolita da família Anobiidae (do grego *ana*: para cima, de novo; *bio*: vivo, revivo). O nome Anobiidae deriva de *Anobium*, nome do principal gênero dessa família proposto no século XVIII por Fabricius, baseado do comportamento de tanatose observado em várias espécies desse grupo, ou seja, ao menor sinal de perigo, os insetos adultos permanecem imóveis durante algum tempo, em letargia, parecendo ressuscitar quando despertam (COSTA LIMA, 1952). *L. serricorne* e *Stegobium panicetum* (Linnaeus, 1765) são as duas espécies da família Anobiidae que estão associadas a produtos armazenados e que figuram entre as pragas mais importantes desse tipo de material. (BOUSQUET, 1990; COSTA LIMA, 1952).

*L. serricorne* é a principal praga de produtos derivados do tabaco, desde o seu armazenamento, manufatura, até os produtos finais, como charutos e cigarros, e por isso é também chamado de besourinho do tabaco, besourinho do fumo ou besouro do charuto. A espécie foi descrita por Fabricius em 1792, na América do Norte. Uma revisão minuciosa sobre a biologia de *L. serricorne* feita por Ashworth (1993) cita que em 1931, foi descrita a presença de indivíduos dessa espécie em resinas desidratadas na tumba do faraó egípcio Tutancámon (1332-1322 a.C.) e que, em 1982, exemplares desses insetos foram encontrados junto à múmia de Hamsés II (1279-1213 a.C.). Tais achados revelam não só a presença dessa espécie no mundo antigo, há mais de 3 mil anos, mas também sua associação com a atividade humana, especialmente a comercial, favorecendo sua distribuição cosmopolita na atualidade (PEREIRA; ALMEIDA, 2001).

Além do tabaco, *L. serricorne* pode alimentar-se de uma grande variedade de produtos agrícolas armazenados em geral como cereais, sementes de cacau, amêndoas, feijão, farinhas, pimentas e condimentos (LÜ; MA, 2015), além de produtos farmacêuticos e até coleções de insetos e exsiccatas de plantas em herbários (BOUSQUET, 1990). No Brasil, *L. serricorne* já foi descrita atacando frutos armazenados, ração para animais e produtos desidratados como pólen de abelha e ervas aromáticas (MACHADO et al., 2008; PODEROSO et al., 2013; SILVA; OLIVEIRA, 1985; ZANUNCIO et al., 2014). Porém, é com relação aos grãos de soja armazenados que a espécie tem despertado séria atenção de pesquisadores e produtores brasileiros tendo em vista o grande potencial biótico apresentado pelos insetos nesse substrato, justificando medidas de controle (FRANÇA-NETO et al., 2012; LORINI, 2012).

De acordo com Lorini (2012), *L. serricorne* pode ser considerada a maior ameaça ao armazenamento de grãos de soja no Brasil, uma vez que as larvas se alimentam dos grãos, escavando galerias e conseqüentemente gerando prejuízos aos produtores pela perda da qualidade e valor das sementes (Figura 1). Moreira (2008) avaliou os danos causados por *L. serricorne* em grãos de soja armazenados e verificou, após 150 dias de infestação, que o aumento da população de insetos levou a uma elevação do nível de infestação interna dos grãos, perda de peso e redução da germinação, bem como redução da qualidade comercial dos mesmos. Outro fator relevante observado foi o aumento da contaminação das sementes por fungos, especialmente dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*.

**Figura 1 – Larva de *L. serricorne* em grão de soja: (1) pedaços de grãos de soja, (2) larva, (3) fragmento de casulo pupal.**



Fonte: autora da tese, 2015.

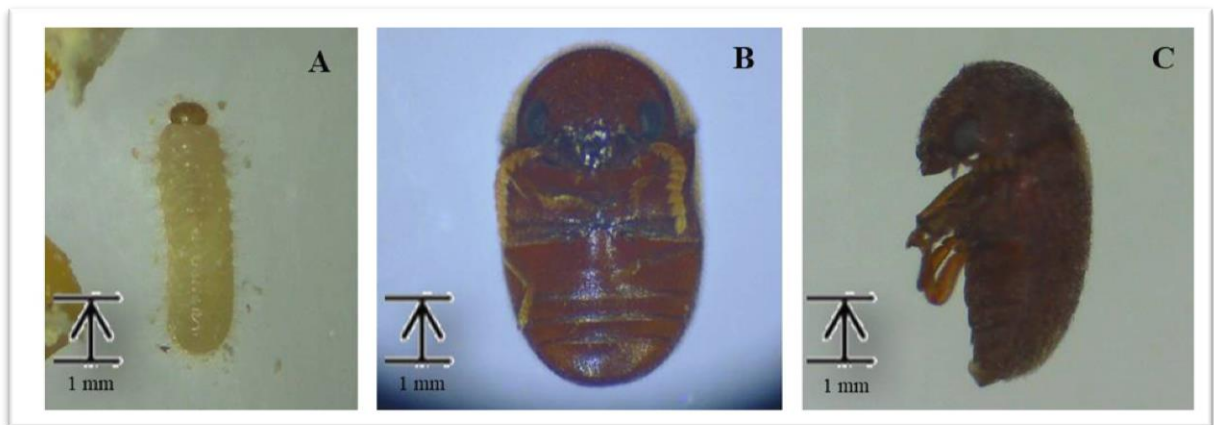
## 2.2 Biologia de *L. serricorne*

Os ovos de *L. serricorne* possuem forma oval e podem medir de 0,3 a 0,4 mm de comprimento e 0,1 a 0,2 mm de diâmetro, sendo mais delgados nas extremidades arredondadas (GAUTAM et al., 2014). Na porção anterior dos ovos encontra-se a região micropilar, com 7-10 micrópilas, enquanto aerópilas são encontradas em toda a superfície dos ovos (GAUTAM et al., 2014). A duração dos ovos pode variar de 6 a 8 dias e sua casca é ingerida pela larva ao emergir (YU et al., 2010; ASHWORTH, 1993). As fêmeas de *L. serricorne* colocam em média 105 ovos durante seu período de vida, com média diária de 12 ovos (YU et al., 2010).

As larvas de *L. serricorne* (Figura 2) possuem coloração branco leitosa e são recobertas de pelos finos. Apresentam quatro discretos estágios larvais: os primeiros três

ínstares duram em média 4-5 dias, enquanto o quarto ínstar dura aproximadamente 12 dias. A larva de primeiro ínstar mede menos que 1,0 mm e chega a atingir até 4,5mm no último ínstar, antes da pupação (YU et al., 2011; ASHWORTH, 1993). As larvas evitam a luz e são extremamente ativas, penetrando em embalagens de produtos desidratados e perfurando galerias em grãos e outros produtos armazenados (ASHWORTH, 1993).

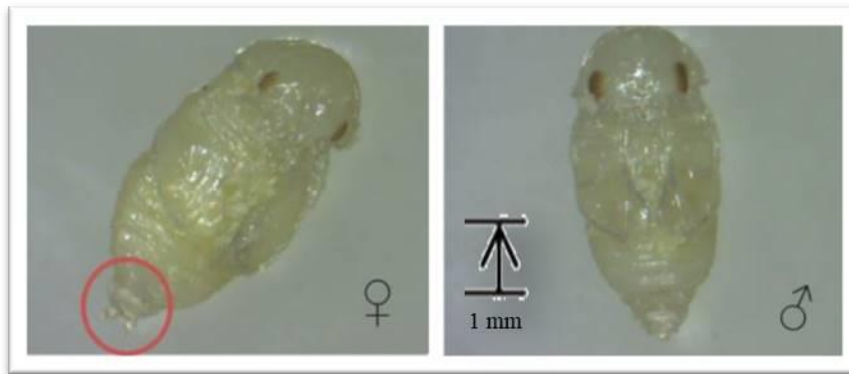
**Figura 2 – *Lasioderma serricorne* (A) larva, (B) vista ventral do adulto, (C) vista lateral do adulto.**



Fonte: autora da tese, 2015.

Antes de entrar no estágio de pupa, a larva produz uma espécie de casulo que consiste numa fina película de partículas de alimento cimentadas com secreção produzida pelo trato digestivo (HOWE, 1957). Yu et al. (2011) relataram uma duração média do período pupal de *L. serricorne* de 4,6 dias. Nesse período pode ser realizada a sexagem dos indivíduos pela observação das papilas genitais que nos machos são globulares e não protuberantes, enquanto nas fêmeas são protuberantes, trissegmentadas e distintamente divergentes (HALSTEAD, 1963) (Figura 3). O adulto permanece alguns dias no interior do casulo pupal antes de emergir, quando ocorre o endurecimento do exoesqueleto e maturação sexual (HOWE, 1957).

**Figura 3 – Pupas de *Lasioderma serricorne*: (♀) = fêmea e (♂) = macho.**



Fonte: autora da tese, 2015.

Os adultos de *L. serricorne* (Figura 2) são pequenos besouros de corpo ovalado com aproximadamente 2,0-3,5mm e coloração que vai do castanho avermelhado claro ao escuro, possuem antenas distintamente serreadas e élitros cobertos com pubescência (ASHWORTH, 1993; BOUSQUET, 1990). Não há dimorfismo sexual aparente, apesar das fêmeas apresentarem tendência de atingir um tamanho maior que o dos machos (JONES, 1913; PHOONAN; DEOWANISH; CHAVASIRI, 2014). A cabeça é encoberta pelo pronoto, dificilmente visível em vista dorsal e geralmente fica abaixada, dando ao inseto um aspecto convexo (PEREIRA; ALMEIDA, 2001). Possuem a capacidade de voar a distâncias consideráveis, o que pode contribuir muito para a dispersão de infestações (ASHWORTH, 1993). A longevidade do adulto varia de 2 a 7 semanas (HOWE, 1957; FERRI et al., 2014).

Diversos trabalhos apontam que o desenvolvimento de *L. serricorne* pode ser afetado pelas condições ambientais, especialmente temperatura e umidade, e também pelo tipo de dieta a que estão submetidos, encontrando condições ótimas de crescimento sob temperaturas na faixa dos 30-35°C e umidade relativa de 60-75% (BUCHELOS, 1981; HOWE, 1965; MAHROOF; PHILLIPS, 2008).

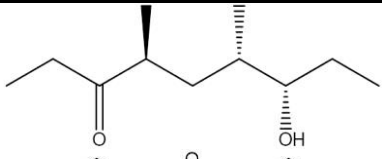
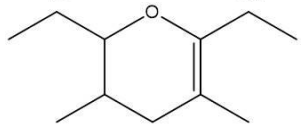
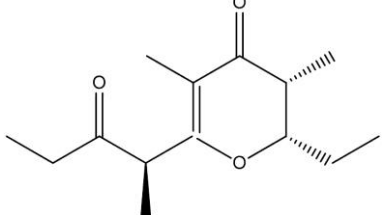
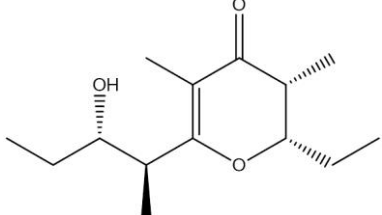
A maturação sexual de *L. serricorne* se dá durante o estágio de pupa, e o acasalamento ocorre entre o segundo e terceiro dia após a emergência do inseto adulto (ASHWORTH, 1993). A sequência do comportamento de acasalamento inicia-se pela atração dos machos por feromônio sexual liberado pelas fêmeas. Os principais componentes do feromônio sexual de *L. serricorne* são a serricornina e a anidroserricornina (Tabela 1), que apresentam forte atratividade sobre os machos e elicitam resposta de estimulação sexual como voo para a fonte de estímulo, movimento de antenas e pernas, movimentos rápidos de zigue-zague e tentativas de cópulas com outros machos (CHUMAN et al, 1979; 1985; LEVINSON LEVINSON,

1981). Outros dois compostos também foram descritos como integrantes minoritários do feromônio sexual de *L. serricornis*: serricorona e serricorola, mas com menor atratividade em relação à serricornina (CHUMAN et al, 1983; 1985).

O estereoisômero sintético 4*S*,6*S*,7*R* – serricornina possui atividade antagônica à 4*S*,6*S*,7*S* – serricornina, suprimindo o comportamento sexual dos machos de *L. serricornis* desencadeado pelo feromônio natural (LEVINSON; LEVINSON, 1987; OKADA et al, 1992).

Segundo Imai et al. (1990), a serricorona possui também atividade deterrente da oviposição, ou seja, as fêmeas de *L. serricone* marcam os locais onde deixaram seus ovos com este composto de forma que outras fêmeas podem reconhecer e evitar tais sítios, entretanto os autores descreveram que este composto não inibe completamente a oviposição. Essa adaptação natural contribui para a dispersão dos indivíduos e, conseqüentemente para a disponibilidade de alimento para as larvas ao eclodirem (HOWLADER; AMBADKAR, 1995).

**Tabela 1** Componentes do feromônio sexual de *Lasioderma serricornis*.

Componente	Estrutura Química	Nome do Composto
Serricornina		(4 <i>S</i> ,6 <i>S</i> ,7 <i>S</i> )-7-hidroxi-4,6-dimetil-3-nonano
Anidroserricornina		6-dietyl-3,5-dimetil-3,4-diidro-2H-pirano
Serricorona		(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> ,1' <i>R</i> )-2,3-diidro-2-etil-3,5-dimetil-6-(1'-metil-2-oxobutil)-4H-piran-4-ona
Serricorola		(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> ,1' <i>S</i> ,2' <i>S</i> )-2,3-diidro-2-etil-3,5-dimetil-6-(1'-metil-2'-hidroxibutil)-4H-piran-4-ona

No comportamento pré-copulatório de corte, os machos tocam a superfície dorsal da fêmea com as antenas e também a friccionam com as pernas e com seu órgão sexual projetado

(aedeagus), montando na fêmea pela parte traseira e prendendo seus élitros. Nessa etapa, as fêmeas escolhem seu parceiro e determinam se a cópula ocorre ou não: elas respondem aos machos selecionados copulando após um período de corte menor ou apenas afastam-se como sinal de rejeição. Logo em seguida, o macho insere seu órgão reprodutor na abertura genital da fêmea e quando as genitálias estão unidas, o macho desce da fêmea, mas os insetos permanecem pareados em posição oposta por cerca de 50 a 60 minutos. Nesse período ocorre a transferência de esperma (OMAE et al., 2012). Em geral, ocorrem múltiplas cópulas intercaladas por períodos de oviposição. Em estudo de Coffelt (1975), num período de 10 dias, pelo menos 90% das fêmeas acasalaram no mínimo duas vezes e 90% dos machos, 6 vezes, sem ter sido observada nenhuma queda da fertilidade dos insetos nem do número da progênie.

Okada e colaboradores (2013) avaliaram a seleção sexual pré-copulatória em *L. serricorne* e verificaram uma relação positiva entre a atratividade dos machos, mensurada de acordo com o tempo de corte para cópula, e a longevidade das fêmeas e sucesso da prole, chegando à conclusão de que o acasalamento com os machos mais atraentes trouxe benefícios diretos e indiretos para as fêmeas. Apesar desse trabalho não ter identificado exatamente quais caracteres ou comportamentos dos machos os tornam mais atraentes, ficou claro que suas parceiras apresentaram maior longevidade e progênie mais numerosa e com os machos descendentes também mais bem sucedidos sexualmente que os provenientes de cópulas com machos menos preferidos.

### **2.3 Métodos empregados no controle de *L. serricorne***

Tendo em vista a grande variedade de produtos armazenados atacados por *L. serricorne*, diversas estratégias e produtos têm sido desenvolvidos e aplicados no controle dessa praga, como o controle químico com inseticidas, resfriamento ou calor, uso de radiação, controle biológico, controle com produtos naturais, armadilhas elétricas e uso de semioquímicos.

#### **2.3.1 Controle químico**

A fumigação ou expurgo com fosfina ( $\text{PH}_3$ , gás proveniente da reação de fosfetos metálicos - de alumínio ou de magnésio – com o vapor de água da atmosfera) é o método mais utilizado para desinfestação de grãos e produtos armazenados, pois esse composto é eficaz contra um amplo espectro de insetos praga, não deixa resíduos no material tratado e



pode ser obtido convenientemente a partir de formulações sólidas ou em cilindros. Esse método consiste na saturação da atmosfera do local a ser desinfestado com fosfina que é altamente tóxica e mortal para os insetos em todas as fases de desenvolvimento (ovo, larva, pupa e adulto). Produtos agrícolas, alimentos processados, tabaco e produtos destinados à alimentação animal, como rações e seus ingredientes, podem ser submetidos à fumigação com fosfina, assim como locais que irão abrigar ou transportar esses produtos como silos, elevadores de grãos, galpões, armazéns, vagões de trem, navios graneleiros e *containers* (LORINI et al. 2013) .

A fumigação com fosfina pode contribuir para a seleção de insetos resistentes de várias espécies de pragas de produtos armazenados se não for realizada adequadamente. A fumigação realizada em baixas temperaturas pode não ser eficaz contra *L. serricorne*, pois nessas condições ocorre uma queda da taxa respiratória dos insetos, reduzindo a assimilação da fosfina durante a fumigação, de forma que os indivíduos mais resistentes podem sobreviver ao processo de expurgo (CHAUDHRY et al. 2004). Populações de *L. serricorne* associadas ao tabaco armazenado nos EUA tem se mostrado resistentes à fosfina, especialmente em indivíduos provenientes de locais de armazenamento onde o tratamento por fumigação é mais frequente, atuando como uma pressão seletiva, de forma que mesmo após o tratamento recomendado para populações resistentes (600ppm, a 25°C durante 4 dias) o nível de infestação permaneceu em nível inaceitável para o controle da praga, em escala laboratorial (SAGLAM et al., 2015). Esse aspecto somado aos riscos de intoxicação e contaminação do meio ambiente e dos produtos armazenados com resíduos químicos têm levado à busca de métodos de controle mais sustentáveis.

O dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) pode ser utilizado no combate a insetos praga de produtos armazenados por meio da modificação da atmosfera do ambiente de armazenamento ou utilizando atmosferas controladas sob pressão atmosférica normal ou alterada (NAVARRO, 2012). A fumigação com CO<sub>2</sub> é uma alternativa à fumigação tradicional com fosfina e oferece menos riscos durante a aplicação, não deixa resíduos químicos nos produtos nem é um processo em que os insetos possam desenvolver resistência, podendo ser utilizada para controlar infestações em produtos alimentícios não perecíveis em geral, especialmente produtos orgânicos, que só podem ser submetidos a esse tipo de fumigação (NAVARRO, 2012).

O efeito da fumigação com CO<sub>2</sub> em *L. serricorne* já foi avaliado em escala laboratorial e verificou-se que os estágios imaturos de desenvolvimento são mais resistentes que os insetos adultos, os quais são mais suscetíveis a tratamentos com mudanças na concentração do

gás que em concentrações constantes. Nas condições avaliadas, o tratamento com 70% CO<sub>2</sub> durante 48h proporcionou mortalidade de 100% dos insetos, enquanto menores concentrações de CO<sub>2</sub> exigiram um tempo maior de exposição para matar todos os insetos (GUNASEKARAN; RAJENDRAN, 2005).

As atmosferas modificadas enriquecidas com CO<sub>2</sub> foram testadas em embalagens de produtos alimentícios para o controle de diversas pragas de produtos armazenados, dentre elas *L. serricorne*, ocasionando a mortalidade de larvas e mostrando-se uma boa estratégia para controlar a infestação e preservar os produtos no final da cadeia produtiva (RIUDAVETS et al. 2009).

Os adultos de *L. serricorne* são mais suscetíveis ao CO<sub>2</sub>, seguidos pelas larvas e pupas. Os ovos são descritos como o estágio de desenvolvimento mais resistente (ULRICHS; REICHMUTH, 1997; RIUDAVETS et al., 2010). Estudo com outras importantes pragas de produtos armazenados revelou a resistência de *L. serricorne* à aplicação de CO<sub>2</sub> a 15 bar, especialmente os ovos, exigindo maior tempo de exposição ao tratamento que as demais espécies (RIUDAVETS et al., 2010). Essa tolerância de *L. serricorne* a atmosferas enriquecidas com CO<sub>2</sub> pode resultar de exposição prolongada a concentrações sub-letais desse gás e estar relacionada a mudanças adaptativas na atividade de carboxilesterases, enzimas ligadas a processos de detoxificação e resistência a inseticidas organofosforados, carbamatos e piretróides em diversas espécies de insetos praga e ácaros (LI et al., 2009).

### 2.3.2 Controle por temperatura e radiações ionizantes

Baixas temperaturas desencadeiam a redução da taxa metabólica dos insetos e por isso são utilizadas para reduzir a densidade de pragas em ambientes de armazenamento. O resfriamento pode interromper o ciclo reprodutivo de *L. serricorne*, pois os ovos, que são a fase de desenvolvimento mais suscetível a baixas temperaturas, morrem quando expostos a temperaturas abaixo de 18°C, enquanto a faixa letal para os demais estágios de vida encontra-se entre -20°C a -5°C (IMAI; HARADA, 2006).

O resfriamento artificial em silos e elevadores de grãos é feito pela insuflação lenta de grandes volumes de ar a baixa temperatura, cerca de 12°C, através da massa de grãos. Esse processo contribui para o retardo dos processos fisiológicos de envelhecimento e conseqüentemente pela manutenção da qualidade dos grãos e sementes, mas também constitui uma ferramenta de controle físico de pragas, especialmente em regiões de clima quente (LAZZARI et al., 2006). Para o tabaco armazenado, o armazenamento sob baixa temperatura

é uma alternativa à fumigação química, uma vez que temperaturas abaixo de  $-10^{\circ}\text{C}$  provocam a desinfestação desse produto tão rapidamente quanto à fumigação (IMAI; HARADA, 2006). Portanto, o resfriamento é um método de controle de *L. serricorne* que pode ser útil em produtos especiais, como os orgânicos, ou destinados a mercados exigentes. Mas, especialmente em regiões tropicais, é necessário considerar o aspecto econômico desse tratamento.

Pelo lado oposto, altas temperaturas também podem ser utilizadas no controle de *L. serricorne*, uma vez que tratamentos pelo calor comumente aplicados para o controle de pragas em produtos alimentícios processados ( $50-60^{\circ}\text{C}$  por 24-36h) são eficazes contra essa espécie. Os ovos de *L. serricorne*, ao contrário do que acontece em baixas temperaturas, são o estágio de desenvolvimento mais tolerante ao calor e, por esse motivo, podem ser usados em bioensaios de avaliação da eficácia de tratamentos com altas temperaturas contra essa praga (YU et al., 2011).

As radiações ionizantes emitidas pelo Cobalto-60 ( $^{60}\text{Co}$ ) são aplicadas na indústria de alimentos e no controle de insetos pragas em tratamentos quarentenários. A radiação gama de  $^{60}\text{Co}$  é eficiente para desinfestação de *L. serricorne* tanto por controlar as larvas, quanto por esterilizar e não permitir a emergência de adultos (LORENZO, 1990; HARWALKAR et al., 1995; HU-TSAN et al., 2002). No Brasil, a radiação gama já se mostrou eficaz no controle de *L. serricorne* em plantas medicinais, aromáticas e condimentares desidratadas inibindo a emergência de adultos com dose de 2,0 kGy, sem provocar modificações no material vegetal tratado (ALVES, 2007). Porém é necessário considerar os custos, equipamentos e infraestrutura necessários para adequada utilização de tecnologias envolvendo materiais radioativos.

### 2.3.3 Controle biológico

Algumas espécies de insetos inimigos naturais de *L. serricorne* estão descritos na literatura, parasitando ou alimentando-se desse inseto, especialmente durante o estágio larval e pupal (ASHWORTH, 1993). No entanto, estudos sobre o potencial dessas espécies ou sua aplicação efetiva em estratégias de controle biológico em produtos armazenados ainda são escassos. O ácaro *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank.) não ataca os ovos *L. serricorne*, mas preda adultos e larvas, ocasionando até 78% de mortalidade entre as larvas, porém sua aplicação para o controle biológico é limitada devido ao risco que representa para a saúde humana (CANEVARI et al., 2012).

Outra ferramenta de controle de *L. serricorne* são bioinseticidas a base de *Bacillus thuringiensis* (Bt), uma bactéria Gram-positiva que ocorre naturalmente no solo, mas também está associado à microflora de ambientes de armazenamento de tabaco, de onde já foram isoladas cepas com toxicidade contra *L. serricorne* (KAELIN et al., 1994). Suspensões de esporos e cristais provenientes dessas cepas de Bt incorporadas à dieta de larvas de *L. serricorne* ocasionaram mortalidade superior a 80% após 7 dias de tratamento, por ação de  $\delta$ -endotoxina codificada pelo gene *cryIII A* (Bt Cry3A) (KAELIN et al., 1999). A Bt Cry3A é particularmente tóxica contra coleópteros, levando os insetos à morte pelo rompimento das células do trato digestivo após se ligarem a receptores de membrana específicos, pelos quais possui alta afinidade (GROOT AND DICKE, 2002). Por essa característica, gene *cryIII A* tem sido introduzido em diversas culturas como tabaco, batata e arroz, aumentando a resistência ao ataque de pragas (REN et al., 2015; MI et al., 2015; LEE et al., 2013).

Um produto a base de cristais proteicos de Bt subsp. *tenebrionis* pulverizado sobre folhas de tabaco curadas apresentou uma boa estabilidade e potencial para uso no controle de *L. serricorne*, tendo sido observada apenas uma suave degradação após 16 meses de armazenamento, a 23°C e 60% R.H. em escuro (BLANC et al., 2002).

Uma cepa do nematoide entomopatogênico *Steinernema carpocapsae* Weiser (Nematoda: Steinernematidae) provocou mortalidade de quase 60% em adultos de *L. serricorne*, após 8 dias de exposição em dose de 20 mil juvenis infectantes por mL, demonstrando potencial para o desenvolvimento de formulações para uso em estratégias de manejo integrado em produtos armazenados, inclusive orgânicos (RUMBOS AND ATHANASSIOU, 2012).

#### 2.3.4 Produtos naturais: óleos essenciais

Os óleos essenciais são misturas complexas extraídas de plantas aromáticas que podem conter dezenas de compostos orgânicos pertencentes a diversas classes químicas, porém a maioria dos constituintes são terpenoides e fenilpropanoides, metabólitos secundários derivados da rota do ácido mevalônico e da rota do ácido chiquímico (REGNAULT-ROGER et al., 2012). Os óleos essenciais são sintetizados e armazenados pelas plantas em estruturas secretoras complexas como os tricomas glandulares e cavidades secretoras e, de acordo com a espécie, esses compostos podem estar armazenados em diferentes órgãos como, por exemplo, folhas, casca do caule, flores, frutos, sementes, raízes e até mesmo rizomas (MARTINS et al., 2009; REGNAULT-ROGER et al., 2012).

Diversas plantas têm sido reportadas como portadoras de compostos com atividade tóxica e/ou repelente contra *L. serricorne* (Tabela 2), especialmente óleos essenciais, aos quais é atribuída, entre outras, a função ecológica de proteção contra herbivoria (KIM et al., 2012; YOU et al., 2014; LÜ; MA, 2015).

Outras espécies de plantas também demonstraram atividade repelente ou tóxica contra *L. serricorne*, como *Acorus calamus* var. *angustatus* (Araceae), *Elsholtzia stauntonii* (KIM et al., 2003), conforme mostra a Tabela 3. Em geral, esses produtos naturais de origem vegetal possuem potencial considerável para aplicação e comercialização como repelentes naturais tanto no ambiente de armazenamento quanto para aplicação em materiais de embalagens (ISMAN, 2006; LICCIARDELLO et al., 2013). Além disso, os compostos com toxicidade podem ser utilizados no desenvolvimento de biopesticidas (ISMAN, 2006; KOUL et al., 2008).

**Tabela 2** - Óleos essenciais com atividade tóxica e/ou repelente contra *L. serricorne*

<b>Planta</b>	<b>Família</b>	<b>Parte da planta</b>	<b>Compostos ativos</b>	<b>País de origem</b>	<b>Toxicidez/repelência</b>	<b>Referência</b>
<i>Alpinia kwangsiensis</i>	Zingiberaceae	rizoma	Cânfor, eucaliptol, $\alpha$ e $\beta$ -pineno	China	Contato e fumigante	Wu et al. (2015)a
<i>Alpinia officinarum</i>	Zingiberaceae	rizoma		China	Contato e repelente	Lü e Ma (2015)
<i>Atalantia guillauminii</i>	Rutaceae	folha		China	Contato, fumigante e repelente	Yang et al. (2015)a
<i>Brassica juncea</i>	Cruciferae			Coréia do Sul	Contato e fumigante	Kim et al. (2003)
<i>Cinnamomum cassia</i>	Lauraceae	casca do caule	Cinamaldeído	Coréia do Sul; Japão; China	Contato, fumigante e repelente	Kim et al. (2003); Hori (2003); Weizheng et al. (2014)
<i>Clausena anisum-olens</i>	Rutaceae	folha	Miristicina e p-cimen-8-ol	China	Contato e repelente	You et al. (2015)
<i>Cochleria aroracia</i>	Cruciferae			Coréia do Sul	Contato e fumigante	Kim et al. (2003)
<i>Dictamnus dasycarpus</i>	Rutaceae	raiz		China	Contato e repelente	Yang et al. (2015)b
<i>Liriope muscari</i>	Liliaceae	partes aéreas		China	Contato e repelente	Wu et al. (2015)b
<i>Litsea cubeba</i>	Lauraceae	fruto	Citral, D-limoneno e	Japão e China	Contato, fumigante e repelente	Hori (2003); Yang et al. (2014)

Linalol						
<i>Mentha haplocalyx</i>	Labiatae	partes aéreas	Mentol, mentil acetato e limoneno	China	Contato e repelente	Zhang et al. (2015)
<i>Mentha piperita</i>	Labiatae	folhas	(2)-Mentol	Japão	repelente	Hori (2003)
<i>Myristica fragrans</i>	Myristicaceae	semente	Elemicina, eugenol, metil-eugenol, elemicina e miristicina	China	Contato e repelente	Du et al. (2014)
<i>Perilla frutescens</i>	Labiatae	Folhas e partes aéreas	Carvona, perillaldeído e 2-furil-metil-cetona	Japão e China	Contato, fumigante e repelente	Hori (2003); You et al. (2014)
<i>Satureja hortensis</i>	Labiatae	espinho	Carvacrol	Japão	repelente	Hori (2003)
<i>Thymus vulgaris</i>	Labiatae	Folhas, flores e caule	Timol	Japão	repelente	Hori (2003)
<i>Zanthoxylum dissitum</i>	Rutaceae	folha e raiz		China	Contato e fumigante	Wang et al. 2015a
<i>Zingiber purpureum</i>	Zingiberaceae	rizoma	Terpinen-4-ol	China	Contato, fumigante e repelente	Wang et al. 2015b

---

Tabela 3 - Plantas com atividade tóxica e/ou repelente contra *L. serricorne*

Planta	Família	Parte usada	Tipo de Extrato	País de origem	Tipo de ação	Referência
<i>Acalypha hispida</i>	Euphorbiaceae	Folhas	Material fresco e seco	Índia	Repelente	Ambadkar e Khan (1994)
<i>Acorus calamus</i> var. <i>angustatus</i> Besser	Araceae	Rizoma	Metanólico	Coréia do Sul	Contato	Kim et al. (2003)
<i>Agastache rugosa</i>	Lamiaceae	Planta inteira	Metanólico	Coréia do Sul	Contato	Kim et al. (2003)
<i>Elsholtzia stauntonii</i>	Lamiaceae	Planta inteira (floração)	Extrato por Soxhlet	China	Fumigante	Lü et al. (2012)
<i>Foeniculum vulgare</i>	Apiaceae	Fruto	Metanólico	Coréia do Sul	Contato e fumigante	Kim et al. (2003)
<i>Illicium verum</i>	Magnoliaceae	Fruto	Metanólico	Coréia do Sul	Contato	Kim et al. (2003)
<i>Coleus barbatus</i>	Lamiaceae	Folhas	Material fresco e seco, extrato bruto	Índia	Repelente	Ambadkar e Khan (1989); Ambadkar e Khan (1994)
<i>Datura matel</i>	Solanaceae	Folhas	Extrato bruto	Índia	Repelente	Ambadkar e Khan (1989)
<i>Euphorbia neriifolia</i>	Euphorbiaceae	Folhas	Material fresco e seco	Índia	Repelente	Ambadkar e Khan (1994)
<i>Rauwolfia canescens</i>	Apocynaceae	Folhas	Material fresco e seco	Índia	Repelente	Ambadkar e Khan (1994)



<i>Syringa oblata</i>	Oleaceae	Botão	Pó	China	Repelente	Weizheng et al. (2014)
<i>Tamarindus indica</i>	Fabaceae	Folhas	Material fresco e seco	Índia	Repelente	Ambadkar e Khan (1994)
<i>Tecoma stans</i>	Bignoniaceae	Folhas	Extrato bruto	Índia	Repelente	Ambadkar e Khan (1989)
<i>Vinca rósea</i>	Apocynaceae	Folhas	Material fresco e seco; extrato bruto	Índia	Repelente	Ambadkar e Khan (1989); Ambadkar e Khan (1994)
<i>Vitex negundo</i>	Lamiaceae	Folhas	Extrato bruto	Índia	Repelente	Ambadkar e Khan (1989)

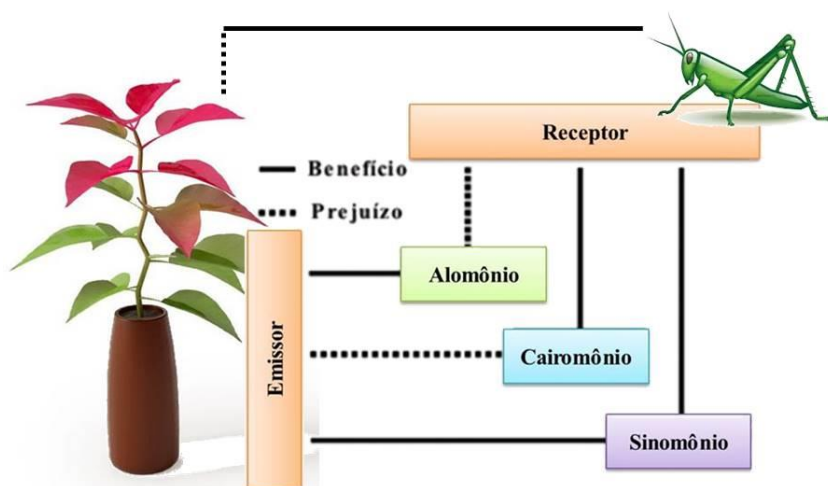
---

## 2.4 Os semioquímicos

Os semioquímicos são compostos químicos que medeiam a interação entre organismos (LAW; REGNIER, 1971) e que influenciam fortemente o comportamento dos insetos, pois eles usam esses sinais químicos (= semioquímicos, do grego *semio* = sinal) nos processos mais importantes de sua vida: para encontrar alimento, parceiros para reprodução, locais de oviposição, detectar a presença de inimigos (COX; COLLINS, 2002).

Os feromônios são semioquímicos que disseminam informações entre indivíduos da mesma espécie e, de acordo com o tipo de resposta que desencadeiam nos indivíduos receptores, podem ser classificados em sexual, de trilha, de alarme ou de agregação (ZARBIN et al. 2009; MORI 2013). Já o termo aleloquímico se refere ao semioquímico que medeia a comunicação entre indivíduos de espécies diferentes. Um aleloquímico é classificado de acordo com o ganho ou prejuízo ecológico que gera para o emissor e também para o receptor, podendo ser considerado um alomônio, cairomônio ou sinomônio (Zarbin et al. 2009; Mori 2013), conforme ilustrado na Figura 4.

**Figura 4 - Nomenclatura aplicada aos aleloquímicos, com base nos efeitos ecológicos de benefício/prejuízo que desencadeiam no emissor e no receptor do sinal químico.**



Adaptado de ZARBIN et al. (2009).

A capacidade que os semioquímicos possuem de desencadear respostas de mudança de comportamento, especialmente nos insetos, faz com que esses compostos sejam considerados uma ferramenta promissora para o controle de pragas de produtos armazenados em estratégias de manejo integrado (TREMATERRA, 2012).

O feromônio sexual de *L. serricornis* produzido sinteticamente tem sido amplamente utilizado em diferentes tipos de armadilhas para o monitoramento e captura massal dessa praga em ambientes de armazenamento (PAPADOPOULOS; BUCHELOS, 2002; SAEED et al. 2007). O feromônio sintético de *L. serricornis* também já foi testado em estratégia de confusão sexual em ambiente de armazenamento nos EUA. Nesse método, a atmosfera da área infestada é saturada com o feromônio e confunde os machos na busca pelas fêmeas para o acasalamento. Foram verificados decréscimos graduais na captura de machos nas armadilhas adesivas durante o tratamento, sinalizando um possível declínio da população de insetos pela interferência no comportamento reprodutivo (MAHROOF; PHILIPS, 2014).

Os compostos orgânicos voláteis provenientes de plantas são utilizados pelos insetos fitófagos como caimônios, e podem constituir atraentes alimentares eficientes para monitoramento e captura de insetos praga de produtos armazenados. Esses compostos liberados pelas plantas podem atrair insetos adultos de ambos sexos e aumentar sinergicamente a eficiência de armadilhas de feromônio (COX, 2004).

Diversos estudos apontam para o potencial de aplicação dos caimônios no manejo de pragas de produtos armazenados, destacando-se voláteis de grãos e cereais capazes de atrair várias espécies de coleópteros que infestam esses materiais. Dowd e Barteli (1991) descreveram a atratividade de voláteis de plantas hospedeiras sobre *Carpophilus hemipterus* (L.) (Coleoptera: Nitidulidae), principalmente ácidos carboxílicos primários, álcoois e ésteres. Em trabalho de monitoramento e captura de besouros das espécies *Sitophilus zeamais* e *Sitophilus oryzae* em celeiros no Quênia, na África, armadilhas contendo feromônios e grãos moídos de trigo capturaram mais insetos que armadilhas com apenas um desses atraentes, apontando para a sinergia da mistura de feromônios e caimônios (LIKHAYO; HODGES, 2000).

Para *Lasioderma serricornis*, a utilização de caimônios de origem vegetal em associação ao feromônio sintético serricornina já demonstrou ser mais eficiente para atração dos insetos adultos em laboratório e também para captura em armadilhas em ambientes de armazenamento (PHOONAN; DEOWANISH; CHAVASIRI, 2014; MAHROOF; PHILIPS, 2008b).

## **2.5 Métodos empregados na extração e identificação de semioquímicos**

No processo de identificação de semioquímicos, a etapa de preparação da amostra é crucial para obtenção de informações representativas do perfil volátil característico de uma

matriz, seja ela animal ou vegetal, evitando a formação de artefatos, já que qualquer modificação causada na composição dos voláteis da amostra nesta etapa inicial não mais poderá ser corrigida nas etapas subsequentes.

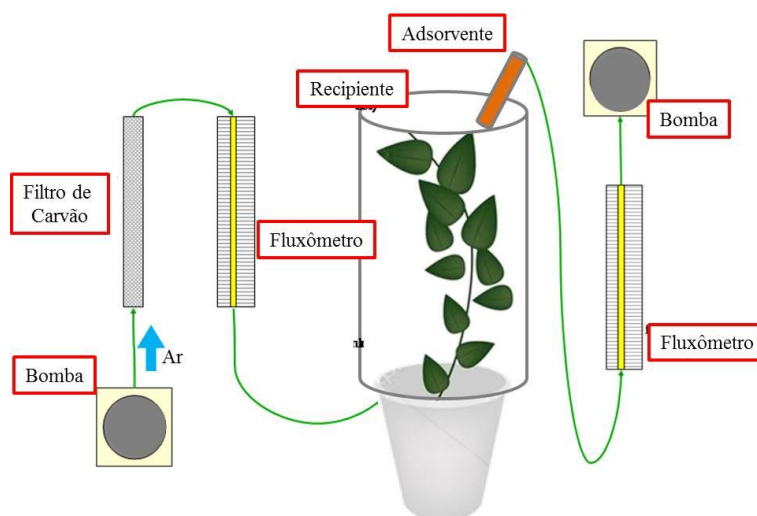
A análise de compostos voláteis requer métodos analíticos e tecnologias capazes de não somente avaliar a composição de um extrato, mas também de examinar pequenas variações e detectar compostos presentes em concentrações traço (BICCHI et al., 2011). Por muitos anos, a técnica mais empregada para esse propósito foi a extração por Soxhlet, mas nas últimas décadas, a extração por fluído supercrítico tem se tornado a alternativa mais sustentável, por não utilizar solventes orgânicos. A extração por essa técnica requer o CO<sub>2</sub> em condições suaves (baixas temperatura e pressão) o que permite a obtenção de compostos termolábeis (IBAÑEZ et al., 1999), porém devido aos efeitos na matriz, não permite uma extração quantitativa de todos os compostos (CLIFFORD, 1999).

Para esse propósito, as técnicas de *headspace* tem se mostrado excelentes métodos de preparação de amostras sem a utilização de solventes (BINIECKA; CAROLI, 2011), reduzindo custos e impactos ambientais. Nos últimos anos, a extração convencional de *headspace* estático, *headspace* dinâmico e microextração em fase sólida têm sido largamente utilizadas para determinar os compostos voláteis liberados por diferentes matrizes (RUBIOLO et al., 2010; REBOREDO-RODRIGUEZ et al., 2012; SILVA; CÂMARA, 2013).

### 2.5.1 Extração de voláteis: coleta dinâmica do *headspace*

A coleta dinâmica do *headspace* (*purge and trap*) é um método de captura de voláteis, produzidos por plantas, insetos ou outros animais em concentrações similares às encontradas na natureza, uma vez que a fonte pode ser mantida viva durante o processo de extração, especialmente quando as condições experimentais são mantidas o mais próximo do natural possível. Trata-se de uma técnica de extração muito sensível e seletiva (de acordo com o adsorvente escolhido), em que somente os compostos voláteis produzidos pela matriz são coletados (AGELOPOULOS et al., 1999; OMAR et al., 2016). A Figura 5 ilustra o processo de obtenção de amostras pela coleta dinâmica do *headspace*.

**Figura 5 - Esquema de extração de voláteis do *headspace* dinâmico.**



Na análise do *headspace* dinâmico, a matriz é confinada em um recipiente fechado e um gás (geralmente ar purificado) é bombeado (*purge*) de forma contínua através da amostra. Os voláteis liberados pela amostra são então carregados pelo gás e uma armadilha contendo material adsorvente (*trap*) coleta e concentra os compostos voláteis. A diminuição de analitos no *headspace* favorece uma maior dispersão de voláteis pela matriz e impede o estabelecimento de um estado de equilíbrio, de forma que ao final do processo, tanto a matriz, quanto o *headspace*, apresentam uma depleção dos analitos, os quais foram exaustivamente transferidos para a fase adsorvente (KREMSER et al., 2016).

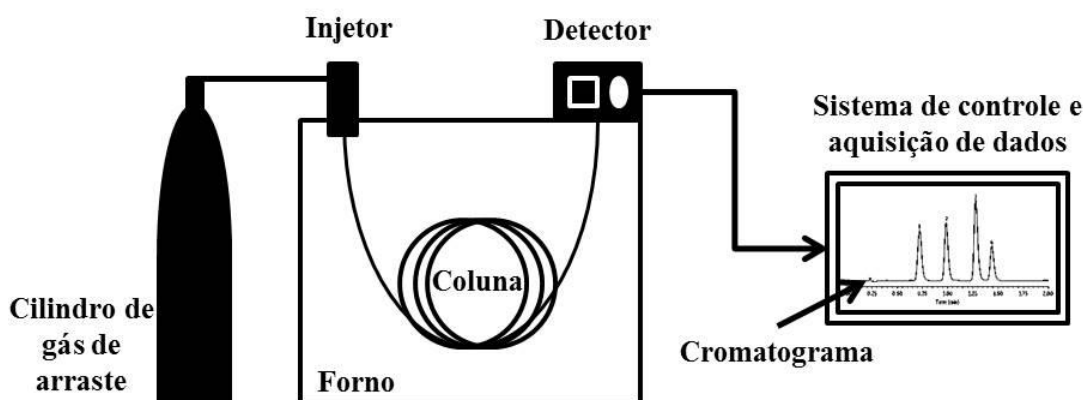
Uma vez concluída esta etapa, os analitos são recuperados por dessorção química, pela eluição com solvente, ou térmica, realizada pelo aquecimento do injetor do cromatógrafo a gás, permitindo a análise direta do extrato pelas técnicas de cromatografia gasosa e espectrometria de massas (BICCHI et al., 2004; KREMSER et al., 2016).

### 2.5.2 Separação e identificação de compostos voláteis por Cromatografia Gasosa e técnicas acopladas

Atualmente, uma das técnicas mais utilizadas para a separação dos compostos químicos voláteis e/ou volatilizáveis de uma amostra é a cromatografia gasosa (CG). Na cromatografia, o processo de separação ocorre através da distribuição dos componentes da amostra entre duas fases: uma fase fixa de grande área superficial chamada de fase estacionária (líquida ou sólida), que é percolada por um fluido (fase móvel) em uma direção definida. Na CG, a fase móvel é um gás inerte (PENTEADO et al., 2008).

Os principais componentes de um cromatógrafo a gás estão esquematizados na Figura 6. De acordo com Penteado et al. (2008), a análise por CG inicia-se com a introdução da amostra no injetor aquecido (com o auxílio de uma microsseringa), onde é vaporizada e transferida pelo gás de arraste para a coluna cromatográfica colocada dentro de um forno pré-aquecido. Seguindo uma programação de velocidade de aquecimento previamente ajustada no equipamento, os componentes da amostra são eluídos e conduzidos para o detector conectado na saída da coluna, o qual emite um sinal elétrico que é registrado graficamente sob a forma de picos, gerando o cromatograma. Cada componente é separado pela diferença nas suas propriedades termodinâmicas (pontos de ebulição) e também pela distribuição diferenciada na fase estacionária e móvel (gás carreador) por diferenças de polaridade, por exemplo (XUE et al., 2015).

**Figura 6 - Esquema de um cromatógrafo a gás**



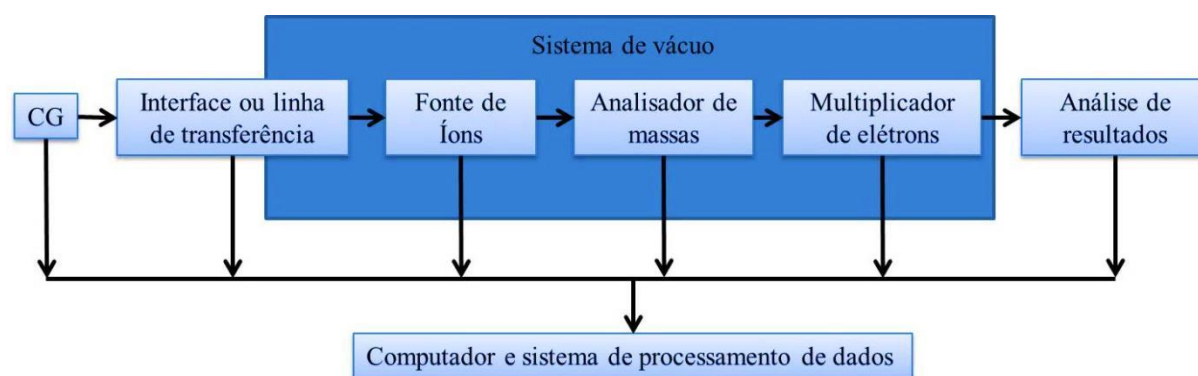
Apesar de envolver um aparato instrumental de custo considerável, a CG apresenta diversas vantagens como: rapidez, alto poder de resolução mesmo em matrizes complexas (FOCANT et al., 2004), grande sensibilidade e elevada detectabilidade, além de ser aplicável a diversos tipos de amostras (gasosas, líquidas ou sólidas), desde que os analitos sejam voláteis ou possam ser volatilizados sem decomposição térmica (PENTEADO et al., 2008). Além disso, a CG pode ser utilizada de forma integrada – acoplada ou “hifenada” - com outras técnicas analíticas de identificação de compostos.

Nos estudos de ecologia química de insetos, o isolamento e a identificação de semioquímicos têm sido realizados principalmente pela utilização de CG acoplada a técnicas de espectrometria de massas (EM) e eletroantenografia (EAG), contribuindo para significantes progressos nas áreas de agricultura e manejo de pragas, assim como de

entomologia forense e estudos com insetos vetores (COSSÉ et al., 1995; NIASEMBE et al., 2012; BALA; SHARMA, 2016; YANG et al., 2016).

A técnica de CG-EM separa misturas químicas em componentes individuais (CG) e identifica esses componentes a nível molecular (EM), sendo considerada uma das ferramentas mais acuradas e eficientes para analisar amostras orgânicas voláteis. Quando os analitos vaporizados emergem separadamente da coluna cromatográfica, eles são transportados através de uma interface ou linha de transferência pelo gás carreador aquecido (hélio, por exemplo) (Figura 7).

**Figura 7 - Esquema de um cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massas (CG-EM)**



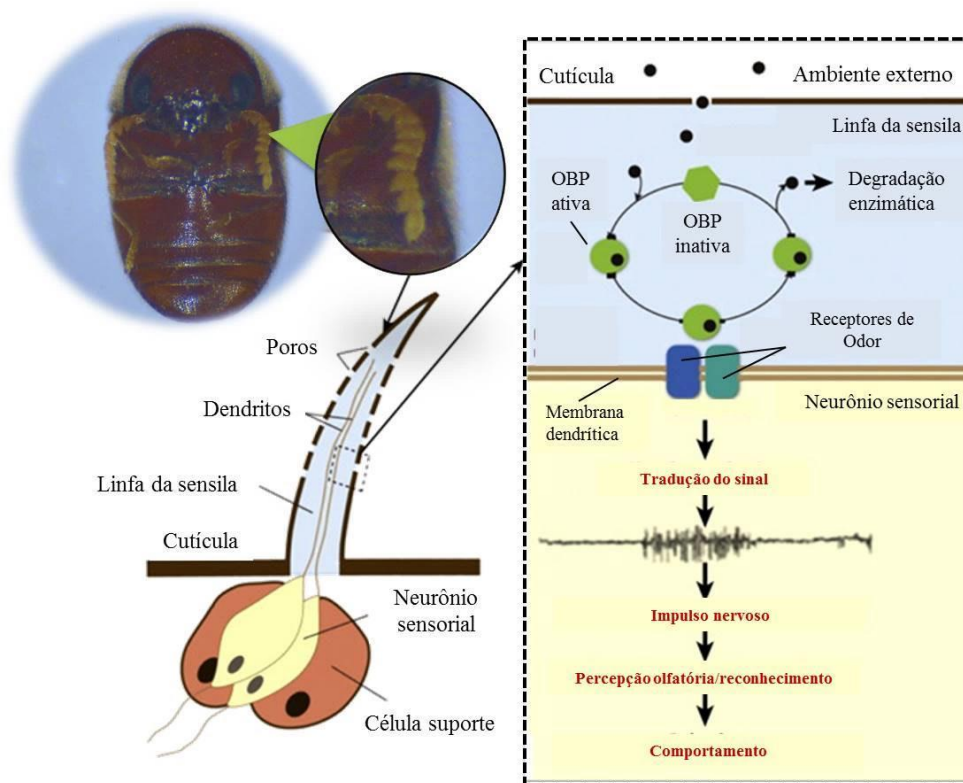
Adaptado de: Guo e Lankmayr (2012).

Em seguida, ocorrem os processos ionização do analito, análise de massas e detecção das razões massa-carga dos íons gerados no sistema de vácuo do EM. Dependendo do modo de ionização aplicado, a interface de ionização pode, além de ionizar o analito, o quebrar em fragmentos ionizados, que serão detectados junto com os íons moleculares. Todos os íons detectados (íons moleculares ou fragmentos de íons) formam um espectro de massas único e característico do analito, o qual pode ser comparado, pelo sistema de processamento de dados, com espectros de centenas de compostos armazenados na memória do computador em bibliotecas de dados – *library* (GUO; LANKMAYR, 2012). Dessa forma, a CG-EM fornece mais informação sobre a composição e estrutura de uma substância a partir de pequenas quantidades de amostra que as demais técnicas analíticas. Apesar disso, em alguns casos, informações adicionais obtidas por espectroscopia no infravermelho e por ressonância magnética nuclear ainda podem ser necessárias para identificação precisa dos compostos alvo (MCLAFFERTY; SENKO, 1994).

Já o acoplamento da CG a um sistema de detecção eletrofisiológico – EAG ou EAD, do inglês *electroantennographic detector* – foi descrito pela primeira vez em 1969, por Moorhouse e colegas. Para os insetos, a principal estrutura de detecção de pistas químicas voláteis é a antena e, tendo em vista que os potenciais elétricos são a maneira de transmissão de informação no sistema nervoso, a eletrofisiologia torna-se uma metodologia altamente eficiente e sensível para investigações de semioquímicos (OLSON; HANSSON, 2013).

De acordo com Zarbin (2001), o sistema de EAG consiste na utilização de uma antena isolada, posicionada entre dois microeletrodos capilares, conectados a um amplificador e um registrador, de modo que a antena funciona como um elemento sensível, ou mais precisamente, como um detector biológico. O eletroantenograma é o registro das mudanças no potencial elétrico entre as partes distal e proximal da antena, causado pelo estímulo olfatório. Este, por sua vez, é detectado por neurônios sensoriais olfatórios localizados em estruturas cuticulares da antena chamadas sensilas (OLSON; HANSSON, 2013), desencadeando uma série de reações fisiológicas que podem culminar em um comportamento de resposta pelo inseto, conforme esquematizado na Figura 8.

**Figura 8 - O estímulo olfatório em uma antena nos insetos.**



OBP = *odorant binding protein* (proteína ligante a odor)

Adaptado de: MASIGA et al. (2014)



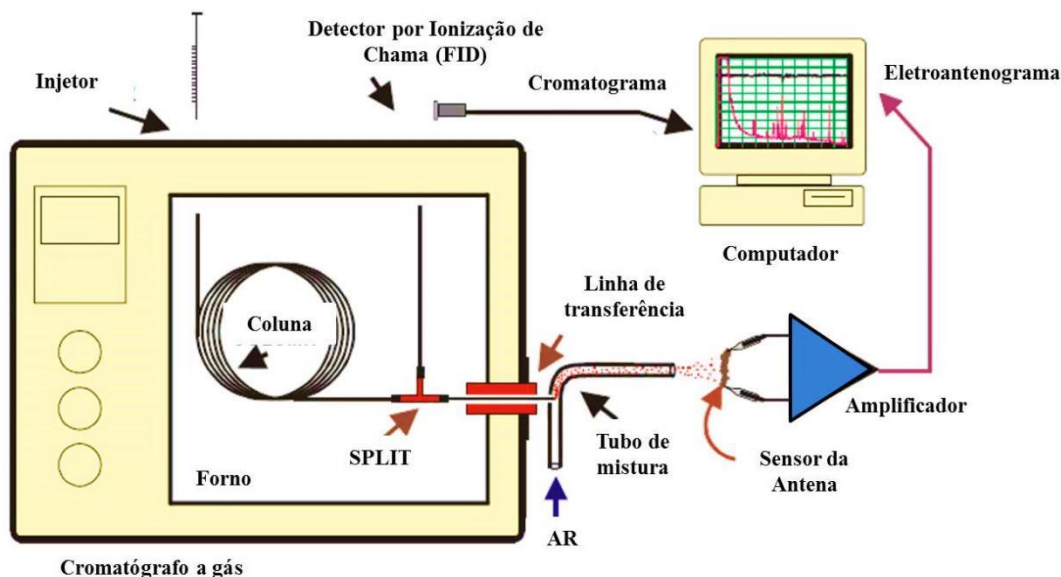
Tendo em vista que o tempo de vida de uma antena excisada é limitado e também outros fatores limitantes como o tamanho do inseto, as análises por EAG também podem ser realizadas utilizando-se preparações com a cabeça ou até mesmo o corpo inteiro do inseto vivo (SYNTECH, 2015). Além disso, também é possível verificar a resposta eletrofisiológica de apenas uma sensila (*single sensillum recording*) e de seus neurônios sensoriais, através de um eletrodo colocado em contato com a região da linfa extracelular receptora, sendo esta técnica útil no mapeamento de proteínas receptoras olfatórias dos neurônios (OLSON; HANSSON, 2013).

A técnica de EAG foi aplicada nos trabalhos de identificação do feromônio sexual de *L. serricorne* (LEVINSON et al., 1981; CHUMAN et al., 1985; OKADA et al., 1992) e, em associação com estudos de microscopia eletrônica, permitiu determinar que as sensilas responsáveis pela detecção do feromônio sexual (SSS-serricornina) nas antenas dos machos de *L. serricorne*, são as do tipo basicônica, as quais são três vezes mais abundantes nas antenas dos machos que nas das fêmeas; essas sensilas abrigam dois neurônios sensoriais, possuem paredes finas e numerosos poros com cerca de 30 nm de diâmetro (OKADA et al., 1993).

Na técnica de CG-EAG, após a amostra percorrer toda a coluna cromatográfica, o efluente é dividido (*split*) de forma que uma parte de cada composto vai para o FID, gerando o cromatograma da amostra, enquanto a outra é lançada sobre a antena preparada no EAG por meio de uma linha de transferência aquecida, com um suave fluxo de ar sintético umidificado e as respostas amplificadas e registradas geram o eletroantenograma (Figura 9). As duas detecções ocorrem simultaneamente, possibilitando identificar qual composto da amostra é ativo (ZARBIN, 2001).

Diversos trabalhos relatam a identificação de cairomônios para insetos praga por meio do emprego da técnica de CG-EAG (WEBSTER et al., 2008; MENDESIL et al., 2009; BENDERA et al., 2015), mostrando sua importância na elucidação dos semioquímicos envolvidos no processo de localização do hospedeiro por essas espécies, que gera conhecimento aplicável no desenvolvimento de ferramentas de manejo integrado de pragas.

**Figura 9 - Esquema de um cromatógrafo a gás acoplado a um detector eletroantenográfico (CG-EAG)**



Adaptado de: SYNTECH (2015).

## 2.6 Bioensaios comportamentais com *L. serricornis*

Bioensaios com insetos são conduzidos com o objetivo de verificar sua resposta comportamental ao perfil volátil de plantas, de outros insetos, extratos ou padrões sintéticos. Esses testes são imprescindíveis para a determinação da completa identidade de um semioquímico, ou seja, sua função ecológica e mecanismos comportamentais dos insetos mediante a apresentação do estímulo (EIRAS; MAFRA-NETO, 2001).

Os bioensaios comportamentais são uma etapa laboriosa na investigação da atividade biológica dos semioquímicos e requer muito tempo experimental. Em geral, utilizam-se aparatos que se adequam ao tamanho e características biológicas da espécie de interesse. Os mais comuns são olfatômetros ou arenas, para insetos caminhadores, e túneis de vento, para insetos voadores, para onde os voláteis são carregados por uma corrente de ar, formando uma pluma de odor (MORAES et al., 2003).

De acordo com Eiras e Mafra-Neto (2001), insetos caminhadores como os coleópteros são guiados por quimiotaxia, orientação em resposta a mudanças na concentração do odor, e anemotaxia, orientação guiada pela direção do vento, para localizar parceiros para o acasalamento e recursos.

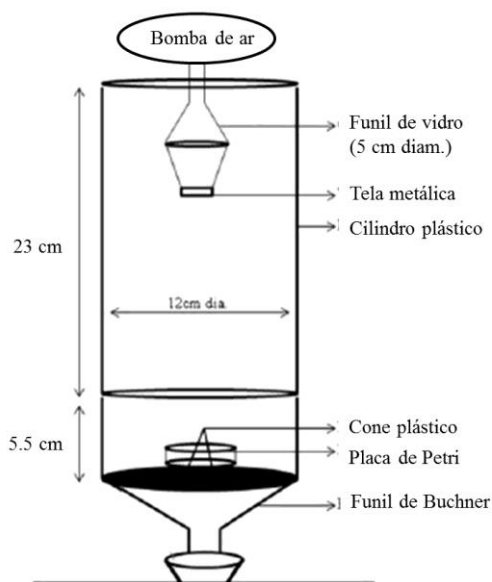
*L. serricorne* é um coleóptero caminhador, mas possui uma capacidade de vôo considerável em relação ao seu pequeno tamanho (ASHWORTH, 1993). Por isso, estudos comportamentais anteriores com essa espécie incluíram bioensaios em olfatômetros de múltipla escolha, arenas com aberturas-armadilha no substrato, câmaras de voo e testes de repelência de área conduzidos em placas de Petri (DU et al., 2014; FARDISI; MASON, 2013a; HORI, 2003; HORI; MIWA; IIZAWA, 2011; LEVINSON et al., 1981; MAHROOF; PHILLIPS, 2007; WANG et al., 2015b).

Levinson e colaboradores (1981) utilizaram câmaras de voo para testar a atividade dos componentes do feromônio sexual de *L. serricorne*, serricornina e anidrosserricornina. As câmaras consistiam em recipientes de vidro onde o estímulo era aplicado em tiras de papel de filtro (12 x 3 cm), suspensas na face interior da tampa dos recipientes. Em cada bioensaio foram utilizados 50 insetos, sexados previamente na fase pupal. Os parâmetros observados durante 30 minutos foram número e duração das visitas à região onde o estímulo foi aplicado, assim como registro das mudanças comportamentais durante essas visitas, como tentativas de cópula e padrão de caminhamento. Este tipo de bioensaio requer um número elevado de indivíduos, só permite a avaliação de 1 estímulo por vez e exige a presença de mais de um observador ou registro em vídeo, para uma avaliação satisfatória.

Outro tipo de câmara de voo foi utilizado para avaliar a influência de diversos fatores físicos, químicos e biológicos na iniciação do voo em *L. serricorne*, no estudo de Fardisi e Mason (2013a), que fizeram adaptações no modelo originalmente desenvolvido por Cox e Dolder (1995) para avaliar a atividade de voo em pequenos coleópteros de grãos armazenados. A Figura 10 mostra um esquema do aparato, que consistia em um cilindro plástico, fechado na parte inferior por um funil de Buchner forrado com papel de filtro, e na parte superior por uma tampa com uma abertura contendo um funil de vidro invertido conectado a um recipiente plástico com fundo de tela metálica onde eram acrescentados os estímulos químicos. Uma bomba de ar foi conectada à região do tubo do funil de vidro para promover a circulação de ar e dispersão do estímulo no interior da câmara. Os insetos eram inicialmente colocados no interior da câmara em placas de Petri posicionadas sobre o funil de Buchner. As tampas dessas placas possuíam uma abertura circular pela qual passava a ponta

de um cone/funil invertido que servia como uma plataforma de decolagem dos insetos, já que estes só poderiam deixar a placa voando após escalarem esse cone.

**Figura 10 - Câmara de voo utilizada para avaliar a iniciação de voo por *L. serricorne***



Adaptado de: FARDISI; MASON (2013a).

Para avaliar a atividade de voo e impedir o retorno dos insetos à placa, toda a superfície da câmara era recoberta com cola entomológica, enquanto as superfícies externas da placa de Petri, bem como um anel plástico posicionado ao redor da abertura da sua tampa eram revestidas com resina fluoropolimérica. A resina impedia o caminhar dos insetos porque deixa superfícies lisas como plástico, metal ou vidro, muito escorregadias. A superfície exterior do cilindro plástico era revestida com papel alumínio, de forma que a luz só entrava pela tampa.

Esse tipo de bioensaio é utilizado para analisar a atividade de voo, precisa ser realizado em ambiente com condições controladas (temperatura, iluminação e fotoperíodo). Em análises com avaliação da influência do gênero, utilizam-se aparatos diferentes para cada um dos sexos e os bioensaios são feitos em ambientes separados. Em trabalhos sobre a iniciação de voo em *L. serricorne*, o tempo de avaliação do bioensaio foi de 24h e somente foram utilizados insetos que nunca voaram, exigindo um controle minucioso dos indivíduos (FARDISI; MASON, 2013a; 2013b).

A literatura aponta três tipos de bioensaios utilizados em estudos para avaliação de atratividade ou repelência de materiais vegetais sobre *L. serricorne*: arenas com aberturas-armadilha, testes de repelência em placas de Petri e olfatômetros de múltipla escolha.

Mahroof e Phillips (2007) avaliaram a resposta de *L. serricorne* a voláteis liberados por diversos materiais vegetais (grãos, pimentas em pó, óleos, entre outros) utilizando arenas preparadas para simular condições de armazenamento, montadas em latas de metal com 2 aberturas-armadilha no fundo cobertas com uma tela metálica que permitia a passagem dos insetos. Na parte inferior externa das latas, eram posicionadas junto a cada uma das aberturas, placas de Petri para coletar os insetos, uma contendo o estímulo e a outra servindo como controle. As paredes internas das placas de Petri eram revestidas com Teflon líquido para impedir o retorno dos insetos após a escolha. Os insetos eram inseridos no centro da arena e as latas eram tampadas em seguida. Após um intervalo de tempo, a leitura do bioensaio era feita pela contagem dos insetos em cada uma das placas (tratamento e controle) e cálculo do Índice de Resposta (IR), através da seguinte fórmula:

$$IR = [(T-C)/Total] \times 100,$$

onde “T” representava o número de insetos na placa tratamento, “C” o número de insetos na placa controle e “Total” o número do total de insetos introduzidos no centro da arena. Valores positivos de IR indicavam atração pelo material testado, enquanto um IR negativo indicava repelência.

Este tipo de teste foi utilizado em trabalhos de triagem entre diversos materiais vegetais e o aparato já foi modificado para uma escala menor, em que a arena era uma placa de Petri e os insetos eram coletados em vials contendo os estímulos (MAHROOF; PHILLIPS, 2007; PHOONAN; DEOWANISH; CHAVASIRI, 2014). Ele deve ser conduzido em ambiente com temperatura controlada e requer um grande número de insetos, já que o ideal é que todos os tratamentos e todas suas repetições sejam testados simultaneamente.

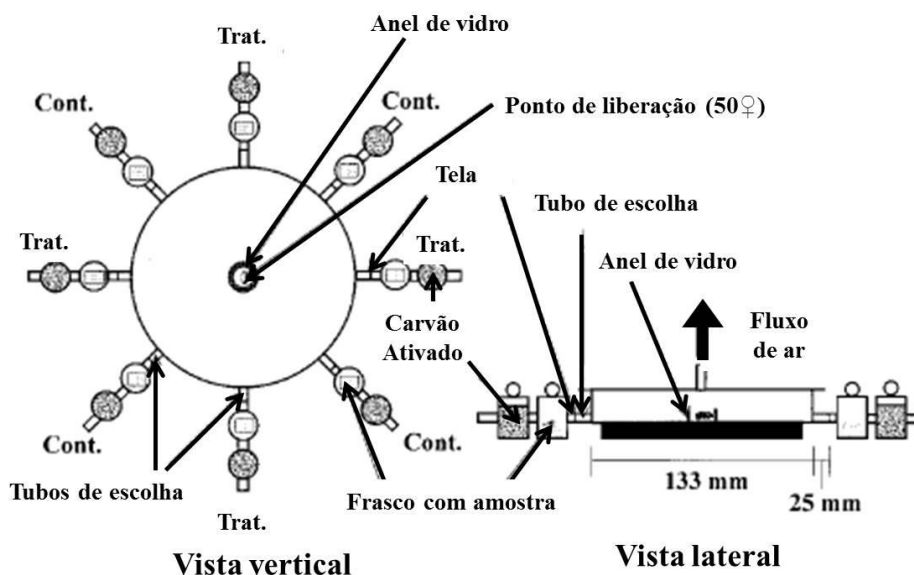
Já os testes de repelência em placas de Petri baseiam-se na criação de duas regiões na placa: uma contendo o tratamento aplicado em meio círculo de papel de filtro, ocupando metade da área da placa, e outra região controle, com a outra metade do círculo de papel de filtro. Essas duas metades são unidas por fita adesiva, que é considerada o meio neutro da arena e o círculo é então tratado com cola sólida. Os insetos são liberados no centro da arena e a placa é tampada. Após um intervalo de tempo, é feita contagem dos insetos em cada região da placa e calculada a Porcentagem de Repelência (PR) do material, por meio da fórmula:

$$PR (\%) = [(N_c - N_t) / (N_c + N_t)] \times 100,$$

onde  $N_c$  equivale ao número de insetos na área controle e  $N_t$  ao número de insetos na área com o tratamento. Estudos recentes têm utilizado este tipo de bioensaio para avaliar a repelência de óleos essenciais contra *L. serricorne*, especialmente na China (WANG et al., 2015; WU et al., 2015; YANG et al., 2015a; 2015b).

Trabalhos desenvolvidos no Japão, avaliaram a resposta de *L. serricorne* a voláteis de plantas pelo emprego de olfatômetro de 8 braços (Figura 11), tanto para avaliar atratividade quanto repelência (HORI, 2003; HORI; MIWA; IIZAWA, 2011). O aparato utilizado era de vidro, com 8 saídas ligadas a tubos de vidro conectados a dois frascos, um contendo carvão ativado, para purificação do ar, e um contendo a amostra (tratamento ou controle). Um suave fluxo de ar era então bombeado na direção da câmara do olfatômetro, carregando os voláteis liberados pelas amostras. Um número determinado de insetos era liberado na região central do olfatômetro e após 3h, era feita uma leitura do experimento.

**Figura 11 - Olfatômetro de múltipla escolha (8 braços).**



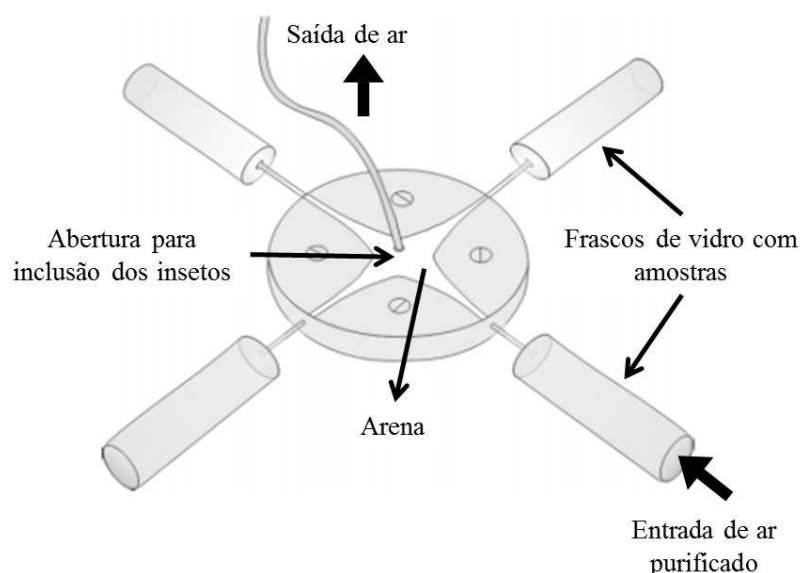
Adaptado de: HORI (2003).

Neste tipo de bioensaio, a resposta dos insetos é avaliada com base na diferença entre o número de insetos encontrados nos tubos de escolha (controle ou tratamento). Estes dados podem ser analisados para definir se os insetos estão sendo atraídos ou repelidos pela amostra,

utilizando cálculos específicos (HORI, 2003; HORI; MIWA; IIZAWA, 2011). Essa metodologia exige um grande número de insetos, mas devido à relativa facilidade e também por não necessitar da presença de um observador ou de gravação do comportamento do inseto durante todo o tempo do bioensaio, o olfatômetro de múltipla escolha é muito utilizado na pesquisa de semioquímicos (EIRAS; MAFRA-NETO, 2001).

Em 1970, Jan Pettersson, da Universidade Sueca de Ciências Agrárias, criou o olfatômetro de 4 braços para investigar a presença de feromônio sexual em afídeos da espécie *Schizaphis borealis* (PETTERSSON, 1970). O olfatômetro de quatro braços geralmente é construído de acrílico ou acrilato, com dimensões pequenas, sendo composto por 3 camadas sobrepostas que formam uma câmara de exposição em formato de estrela de quatro pontas (Figura 12).

**Figura 12. Olfatômetro de 4 braços.**



Adaptado de: UKEH et al. (2009).

O estímulo pode ser apresentado aos insetos em tubos de vidros conectados a aberturas localizadas nas pontas de cada um dos braços. O ar é sugado por uma abertura central na parte superior da arena, enquanto é bombeado para dentro do olfatômetro pelos braços, após ser purificado em carvão ativado e passar pela amostra. O fluxo deve ser igualmente distribuído entre os braços. O estímulo é liberado por um dos braços e os demais servem como controle (EIRAS; MAFRA-NETO, 2001).

De acordo com Vet et al. (1983), os olfatômetros de duas entradas em “Y” ou em “T” não criam campos de odor claramente distinguíveis em que os possam insetos caminhadores

possam entrar, sair e entrar novamente, caso queiram; além disso, há uma região de turbulência na junção dos dois braços que resulta numa mistura dos odores testados que pode interferir na resposta dos insetos, especialmente os pequenos. Já o olfatômetro de 4 braços fornece uma zona central neutra, circundada por 4 regiões bem específicas de odor, nas quais os insetos podem entrar, experimentar o odor e então decidir se permanece ou se vai para outra área do aparato.

Os insetos podem ser testados individualmente ou em grupo e as respostas comportamentais podem ser monitoradas diretamente pelo observador ou por câmeras de vídeo, com auxílio, inclusive de softwares específicos de registro de posição. Parâmetros que podem ser avaliados incluem o número de entradas e tempo de permanência em cada braço, a primeira e última escolha do inseto. O olfatômetro de 4 braços tem sido muito utilizado para verificar a resposta de insetos pequenos, como himenópteros parasitoides, afídeos e coleópteros a uma vasta gama de odores (CEBALLOS et al., 2015; MENDESIL et al., 2009; POPE et al., 2012; UKEH et al., 2010).



**CAPÍTULO I. *Lasioderma serricorne*: A CURRENT REVIEW OF AN OLD PROBLEM IN STORED PRODUCTS**

Artigo de revisão submetido à revista *Agronomy for Sustainable Development*, ISSN: 1774-0746, Qualis B1 na área Biotecnologia.

**Agronomy for Sustainable Development**  
**Lasioderma serricorne: a current review of an old problem in stored products**  
 --Manuscript Draft--

<b>Manuscript Number:</b>		
<b>Full Title:</b>	Lasioderma serricorne: a current review of an old problem in stored products	
<b>Article Type:</b>	Review Article	
<b>Keywords:</b>	Lasioderma serricorne, cigarette beetle, stored products, insect	
<b>Corresponding Author:</b>	Ana Paula Oliveira da Silva, Ph.D. Student Universidade Federal de Alagoas Maceió, Alagoas BRAZIL	
<b>Corresponding Author Secondary Information:</b>		
<b>Corresponding Author's Institution:</b>	Universidade Federal de Alagoas	
<b>Corresponding Author's Secondary Institution:</b>		
<b>First Author:</b>	Ana Paula Oliveira da Silva, Ph.D. Student	
<b>First Author Secondary Information:</b>		
<b>Order of Authors:</b>	Ana Paula Oliveira da Silva, Ph.D. Student	
	Joeferson Reis Martins	
	Henrique Fonseca Goulart	
	Alessandro Riffel	
	Janeilda Costa Vaz	
	Antônio Euzébio Goulart Santana	
<b>Order of Authors Secondary Information:</b>		
<b>Funding Information:</b>	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (573761/2008-6)	Prof Antônio Euzébio Goulart Santana
	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (23038.009770/2012-48)	Prof Antônio Euzébio Goulart Santana
<b>Abstract:</b>	<p>Lasioderma serricorne (F.) (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Anobiidae), commonly known as the cigarette beetle, is a cosmopolitan pest that attacks a wide variety of stored agricultural products. The method most commonly used to control L. serricorne infestations is fumigation with phosphine; however, the systematic use of this pesticide has resulted in resistant individuals. Additionally, the risk of contaminating the environment and products with chemical residues as well as the restrictions on the use of pesticides by some markets require the adoption of more sustainable control methodologies.</p> <p>Here, we review the biology and ecology of L. serricorne, as well as the various currently available control tools, to direct the improvement of management techniques. The main points raised are as follows: (1) there is limited information on L. serricorne ecology in the field and its behavior towards control treatments on a large scale; (2) it is necessary to develop simpler techniques to accurately evaluate the population dynamics and densities of insects in stored products, taking into consideration the variety of commodities and storage structures; (3) genetic studies may elucidate the pesticide resistance mechanisms in L. serricorne and the population dynamics of these insects in commercial chains; and (4) alternative methods and strategies can contribute to the more efficient control of L. serricorne, along with the disciplined use of pesticides. These alternatives include the development and improvement of fast and efficient monitoring devices, advances in integrated management tools involving push-pull strategies and mating disruption, and innovative techniques incorporating</p>	

	<p>symbiotic microorganisms and plant breeding.</p>
<b>Suggested Reviewers:</b>	<p>Alvim M Simmons          USDA Agricultural Research Service          Alvin.Simmons@ars.usda.gov          This researcher works on pest integrated management and crop protection and is developing relevant studies in this field.</p>
	<p>Rui C Pereira          Food and Agriculture Organization of the United Nations          R.Cardoso-Pereira@iaea.org          This researcher is an Entomologist that works on Integrated Management of fruit flies.</p>
	<p>Michael Birkett          Rothamsted Research          mike.birkett@rothamsted.ac.uk          This researcher works on insects chemical ecology and pest integrated management and he is developing relevant studies in this field.</p>
	<p>José M. S. Bento          Universidade de Sao Paulo Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz          jmsbento@usp.br          This researcher works on insects chemical ecology and pest integrated management and he is developing relevant studies in this field.</p>
	<p>Wittko Francke          Universitat Hamburg          francke@chemie.uni-hamburg.de          This researcher works on insects chemical ecology and he is developing relevant studies in this field.</p>
	<p>Rizana M. Mahroof          South Carolina State University          rmahroof@scsu.edu          This researcher works on Lasioderma serricorne management and she is developing relevant studies in this field.</p>
	<p><b>Author Comments:</b></p> <p>The loss of products during post-harvest periods due to pests is considered a main threat to food security in developing countries. Insects cause damage and a mass loss to stored products and increase the products vulnerability to secondary pests and fungal growth. Lasioderma serricorne attacks a variety of general stored agricultural products, such as cereals, cocoa seeds, almonds, beans, flour, fruits, dehydrated herbs, peppers, and spices.</p> <p>This review addresses the biology and ecology of L. serricorne, as well as available control tools, focusing on the improvement of management techniques and various factors that influence the development of L. serricorne and additional topics that require more research. The potential of current control tools in integrated management strategies is also addressed. To conclude, future perspectives on combatting this pest in a more sustainable and efficient manner are presented.</p>

1 *Lasioderma serricorne*: a current review of an old problem in stored products

2

3 Ana Paula Oliveira da Silva<sup>1\*</sup>, Joeferson Reis Martins<sup>2</sup>, Henrique Fonseca Goulart<sup>1</sup>, Alessandro  
4 Riffel<sup>1,3</sup>, Janeílda Costa Vaz<sup>1,4</sup>, Antônio Euzébio Goulart Santana<sup>1\*</sup>

5

6 \*Corresponding authors:

7 Ana Paula Oliveira da Silva: [anapaulaoliveira@iqb.ufal.br](mailto:anapaulaoliveira@iqb.ufal.br)

8 Antônio Euzébio Goulart Santana: [aegsal@gmail.com](mailto:aegsal@gmail.com)

9

10 <sup>1</sup>Laboratory of Natural Products Research, Center of Agricultural Sciences, Federal University of  
11 Alagoas, Lourival Melo Mota Avenue, s/n, Cidade Universitária, Tabuleiro dos Martins, 57072-970,  
12 Maceió, Alagoas, Brazil

13 <sup>2</sup>Federal Institute of Education, Science and Technology of Alagoas, Campus of Murici, BR-104, 111,  
14 57820-000, Murici, Alagoas, Brazil

15 <sup>3</sup>EMBRAPA Tabuleiros Costeiros, BR 104, s/n, 57100-000, Rio Largo, Alagoas, Brazil

16 <sup>4</sup>Federal Institute of Education, Science and Techology of Pernambuco, Campus of Barreiros, Fazenda  
17 Sapé, s/n, Zona Rural, Barreiros, Pernambuco, Brazil

18

## 19 **Abstract**

20 *Lasioderma serricorne* (F.) (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Anobiidae), commonly known as the  
21 cigarette beetle, is a cosmopolitan pest that attacks a wide variety of stored agricultural products. The  
22 method most commonly used to control *L. serricorne* infestations is fumigation with phosphine;  
23 however, the systematic use of this pesticide has resulted in resistant individuals. Additionally, the risk  
24 of contaminating the environment and products with chemical residues as well as the restrictions on  
25 the use of pesticides by some markets require the adoption of more sustainable control methodologies.  
26 Here, we review the biology and ecology of *L. serricorne*, as well as the various currently available  
27 control tools, to direct the improvement of management techniques. The main points raised are as  
28 follows: (1) there is limited information on *L. serricorne* ecology in the field and its behavior towards  
29 control treatments on a large scale; (2) it is necessary to develop simpler techniques to accurately  
30 evaluate the population dynamics and densities of insects in stored products, taking into consideration  
31 the variety of commodities and storage structures; (3) genetic studies may elucidate the pesticide  
32 resistance mechanisms in *L. serricorne* and the population dynamics of these insects in commercial  
33 chains; and (4) alternative methods and strategies can contribute to the more efficient control of *L.*  
34 *serricorne*, along with the disciplined use of pesticides. These alternatives include the development  
35 and improvement of fast and efficient monitoring devices, advances in integrated management tools

36 involving push–pull strategies and mating disruption, and innovative techniques incorporating  
37 symbiotic microorganisms and plant breeding.

38

39 **Keywords:** *Lasioderma serricorne*, cigarette beetle, stored products, insect

40

41 **Content:**

42 **1. Introduction**

43 **2. *L. serricorne*'s impact on stored products**

44 **3. Biology**

45 **3.1 Life cycle**

46 **3.2 Nutrition**

47 **3.3 Reproductive biology**

48 **3.4 Sensory organs related to volatile detection**

49 **3.5 Responses to host volatiles**

50

51 **4. Control methods**

52 **4.1 Phosphine fumigation**

53 **4.2 Treatment with carbon dioxide (CO<sub>2</sub>)**

54 **4.3 Temperature treatments**

55 **4.4 Radiation**

56 **4.5 Biological control and biopesticides**

57 **4.6 The use of semiochemicals**

58

59 **5. Research perspectives for *L. serricorne* management**

60 **5.1 Rapid monitoring**

61 **5.2 Integrated pest management**

62

63 **6. Acknowledgments**

64 **7. References**

65

66

67 **1. Introduction**

68

69 There are ~300 different pests that are associated with stored products, mostly from two  
70 different orders: Lepidoptera (butterflies and moths) and Coleoptera (beetles) (Boyer et al. 2012;  
71 Sallam 2008). Coleopterans are some of the main pests of stored products (Stejskal et al. 2015),  
72 feeding on the product throughout both larval and adult stages, which results in great economic losses.

73 The biodeterioration caused by these insects is a serious problem in developing countries  
74 because it increases food losses during post-harvest periods (Hodges et al. 2001). Tropical regions face  
75 constant challenges, as these pests easily adapt to the environmental conditions found in the storage  
76 systems (Haines 2000). For example, in Niger, in Sub-Saharan Africa, after 7 months of storage, there  
77 is an estimated seed loss of ~7% in corn, 60% in Bambara groundnut, and 80% in Hibiscus seeds due  
78 to storage pests (Baoua et al. 2015).

79 The loss of product during post-harvest periods due to pests is considered a main threat to food  
80 security in developing countries. Insects cause damage and mass losses to the stored products and  
81 increase the product's vulnerability to secondary pests and fungal growth (Sallam 2008). Other  
82 problems related to the pests of stored products include the negative economic impact caused by the  
83 decreased value of the infested products (Cox 2004) and the necessary expenses to control  
84 infestations, including pesticide acquisition and application, which is a billion dollar market annually  
85 worldwide (Zhang et al. 2011). In addition, insect dispersal in stored grain can accelerate  
86 physiological processes, such as grain aging, and also decrease the germination potential, making them  
87 unviable for trade and planting (Cruz et al. 2016; Guenha, et al. 2014; Martin et al. 2015). Pests can  
88 also cause health issues, since fecal contamination, molt, and body fragments post death have  
89 allergenic potentials in genetically predisposed individuals (Jeong et al. 2007).

90 *Lasioderma serricorne* (F.) (Fabricius, 1972) (Coleoptera: Anobiidae) is a small cosmopolitan  
91 beetle commonly known as the tobacco beetle because it is the main pest of this commodity  
92 (Ashworth 1993) (Fig. 1). It attacks a wide range of stored agricultural products with a considerable  
93 growth potential to develop in certain materials and, consequently, causes economic losses (Hori et al.  
94 2011; Lorini 2012; Machado et al. 2008; Poderoso et al. 2013; Silva and Oliveira 1985; Zanuncio et al.  
95 2014). Considering the diversity of products attacked by *L. serricorne* and their importance in local  
96 economies, especially in developing countries, the necessity to develop integrated strategies based on  
97 current research, insect biology, and current control methods is crucial in reducing the negative impact  
98 of its presence in food product storage systems.

99

100 **Fig. 1** Dorsal view of a *Lasioderma serricorne* adult (Irineu Lorini, EMBRAPA Soja).

101

102 Therefore, a literature review on the biology and various factors that influence the development  
103 of *L. serricornis* is performed here to ascertain the topics that require more research. The various tools  
104 currently available for control purposes are also included to address their potential in integrated pest  
105 management strategies. To conclude, future perspectives on combating this pest are presented.

106

## 107 **2. *L. serricornis*'s impact on stored products**

108 *L. serricornis* is the main pest of tobacco-derived products, from the storage and manufacturing  
109 of cured leaves to the stocking of the final products, such as cigars and cigarettes, which is why this pest  
110 is commonly called the tobacco or cigarette beetle. *L. serricornis* larvae are responsible for causing  
111 large amounts of damage by feeding vigorously on dehydrated and stored tobacco leaves, while the  
112 adults cause damage by perforating packaging to exit or to drill more deeply into the product  
113 (Papadopoulou 2006).

114 This species attacks several stored agricultural products, such as cereals, cocoa seeds, almonds,  
115 beans, flour, fruits, dehydrated herbs, peppers, and spices (Lü and Ma 2015; Sallam 2008). In Brazil,  
116 *L. serricornis* also attacks stored fruits, animal food, and dehydrated products, such as pollen grains,  
117 spices and herbs used for tea production (Machado et al. 2008; Poderoso et al. 2013; Silva and  
118 Oliveira 1985; Zanuncio et al. 2014).

119 Furthermore, this species has become of great interest to researchers and Brazilian producers  
120 because it shows a relevant growth potential in stored soybeans (Fig. 2), justifying the need for new  
121 control measures (França-Neto et al. 2012; Lorini 2012). Moreira (2008) evaluated the damage caused  
122 by *L. serricornis* in stored soybeans after 150 days of infestation and verified that a population increase  
123 resulted in an increased internal infestation of grains, which had lower weights, reduced germination  
124 rates, and were of lower commercial quality. An additional observation was the increase of seed  
125 contamination by fungi, particularly of the genera *Aspergillus*, *Penicillium*, and *Fusarium*. *L.*  
126 *serricornis* is now considered a major threat during soybean storage in Brazil (Lorini 2012), which is  
127 the main Brazilian agricultural export product, exceeding 50 million tons in 2015 (MAPA 2016).

128

129 **Fig. 2** Eggs (A) and larvae (B) of *L. serricornis* in stored soybeans.

130

131 The economic losses that pests, such as *L. serricornis*, cause in stored products result from  
132 product deterioration and costs related to the acquisition and application of pesticides throughout the  
133 different production steps and the commercial food chain.

134 In addition to the economic factor, the ingestion of food infected by *L. serricorne* poses a risk to  
135 human health. The first case of canthariasis caused by *L. serricorne* was recently reported in Kuala  
136 Lumpur, Malaysia, where a 1-year-old child presented gastrointestinal infection, fever, and the  
137 defecation of larvae, probably due to the ingestion of products contaminated with eggs or larvae  
138 (Mokhtar et al. 2016).

139

### 140 **3. Biology**

141 Fabricius first described *L. serricorne* in 1975, in North America. A previous literature review  
142 on the biology of *L. serricorne* carried out by Ashworth (1993) mentioned individual descriptions of  
143 this species in archaeological finds dated over 3,000 years ago. Findings like these revealed the early  
144 association between these insects and human activities, and trade relations between the ancient  
145 civilizations certainly contributed to the current cosmopolitan distribution of this pest (Pereira and  
146 Almeida, 2001).

147

#### 148 **3.1 Life cycle**

149

150 Adult *L. serricorne* (Fig. 1) are small beetles with oval-shaped bodies ~2–3.5 mm in length.  
151 They have a light red-brownish to dark color, serrated antennae, and elytra covered in pubescence.  
152 Sexual dimorphism is not apparent (Bousquet 1990; Ashworth 1993). The head is covered by a  
153 pronotum, making it hard to visualize from the dorsal view. Because the head is lowered, the insect  
154 has a convex aspect (Ashworth 1993; Pereira and Almeida 2001). They are able to fly considerable  
155 distances, and their flight activity is highly influenced by temperature, sex, age, and reproductive state  
156 (Fardisi and Mason 2013), making them difficult to monitor with traps. The longevity of adults varies  
157 between 2 to 3 weeks (Moreira 2008; Omae et al. 2012; Shinoda and Fujisaki 2001).

158 The *L. serricorne* eggs have an oval shape (Fig. 2A), which is 0.3 to 0.4 mm in length and 0.1 to  
159 0.2 mm in diameter; the surface of the anterior section of the egg has a tubular structure where is  
160 situated the micropylar region, including 7–10 micropylar, while aeropylars are found on the entire  
161 surface of the eggs (Gautam et al. 2014). The eggs hatch in ~6–8 days, and the newly emerged larvae  
162 ingest the eggshell (Pant 1972; Retief and Nicholas 1988; Yu et al. 2010). Female *L. serricorne* are  
163 able to lay ~105 eggs during their lifetime, with an average of 12 eggs per day (Yu et al. 2010).

164 *L. serricorne* larvae present as a light milk-like color and are fully covered with thin hairs; they  
165 can reach up to 4.5 mm during the last instar stage before pupating (Ashworth, 1993) (Fig. 2B). There



166 are four larval instars: the three first instars last ~4–5 days, while the last instar lasts up to 12 days  
167 (Moreira 2008; Yu et al. 2010). *L. serricorne* larvae prefer dark environments and are extremely  
168 active, penetrating easily through the packaging of dehydrated products, and drilling passages through  
169 grains and other stored products (Ashworth, 1993).

170 Before pupating, the larvae produce a kind of cocoon that consists of a thin film made of food  
171 particles luted with secretions produced by the digestive tract (Howe 1957). The average pupation  
172 period can last from 4.6 to 12 days (Samuel et al. 1984; Moreira 2008; Yu et al. 2010). During this  
173 period, it is possible to determine the sex of *L. serricorne* by observing the last abdominal segment  
174 (Halstead 1963) (Fig. 3). The adult insect remains inside the cocoon before fully emerging, which is  
175 when the hardening of the exoskeleton and sexual maturity occur (Howe 1957).

176

177 **Fig. 3** The observation of the terminal abdominal segments of *L. serricorne* during the pupal stage allows  
178 discriminating females (A) and males (B).

179

180 Various studies have noted that the development of *L. serricorne* is affected by environmental  
181 factors, including nutrition and, particularly, temperature, and humidity (Mahroof and Phillips 2008a;  
182 Shinoda and Fujisaki 2001). The optimal conditions for development are temperatures near 30°C and  
183 relative humidity of ~60–75% (Howe 1965; Buchelos 1981).

184

### 185 **3.2 Nutrition**

186 *L. serricorne* is able to feed on several materials, such as food products and stored  
187 pharmaceuticals (Bousquet 1990). Different diets can influence *L. serricorne* development, including  
188 fertility, viability of eggs, survival rate, time of development, and adult insect weight (Mahroof and  
189 Phillips 2008a).

190 Although it has better growth indices when feeding on rich diets, *L. serricorne* is able to fully  
191 develop when feeding on nutrient-poor foods and toxic vegetables. *L. serricorne* adults are especially  
192 attracted to materials derived from the *Capsicum* plants and tobacco (Mahroof and Philips 2008b),  
193 which are rich in alkaloids usually associated with plant defense against herbivory.

194 *L. serricorne* can survive on a poor or toxin-rich diet because the symbiotic microorganisms  
195 present in its digestive tract use these materials as carbon sources for the synthesis of amino acids,  
196 vitamins, and steroids (Pant and Fraenkel 1950; Shen and Dowd 1991). The symbionts are transmitted

197 from one generation to another upon oviposition, when a secretion containing the yeasts is released  
198 over the eggs by females. Upon emergence, the larvae ingest most of the eggshell, thus acquiring the  
199 symbionts (Noda and Kodama 1996; Pant 1972). The symbiotic yeast *S. kochii* Jurzitza ex. W. Gams  
200 and v. Arx has the ability to metabolize a wide range of substances, including plant allelochemicals,  
201 mycotoxins, herbicides, and insecticides in culture media through the action of esterases (Shen and  
202 Dowd 1991). This activity accounts for the resistance of *L. serricornis* to xenobiotics.

203

### 204 **3.3 Reproductive biology**

205 *L. serricornis*'s sexual maturity occurs during the pupal stage, and mating occurs between the  
206 second and third days post-emergence (Howe 1957). Females release a sex pheromone that attracts  
207 males and induces mating behavior. The main constituents of the *L. serricornis* sex pheromone are  
208 serricornin and anhydroserricornin (Table 1), which attract males and elicit sexual stimulators,  
209 including flight, movement of the antennae, movement of the legs, rapid zig-zag movements, and  
210 mating attempts with other males (Chuman et al. 1979; 1985; Levinson and Levinson 1981). Two  
211 other compounds have been identified as minor components of the sex pheromone, serricorone and  
212 serricorole, but they are less attractive than serricornin (Chuman et al. 1983; 1985).

213

214 **Table 1** Constituents of the *L. serricornis* sex pheromone.

215

216 The serricorone also possesses a deterrent oviposition activity, hence, *L. serricornis* females  
217 release this compound on the oviposition sites so that other females avoid ovipositing in the same  
218 place (Imai et al. 1990). This natural adaptation contributes to the dispersal of insects and  
219 consequently increases food availability for larvae when emerging (Howlader and Ambadkar 1995).

220 There is evidence of pre-copulatory sexual selection by *L. serricornis* females through  
221 behavioral and biological characteristics of the males, but these cues have not yet been elucidated.  
222 More attractive males produce more attractive offspring, leading to a greater reproductive success,  
223 indicating roles of hereditary factors (Okada et al. 2013). Copulation occurs after the male courts the  
224 female (Omae et al. 2012); however, several copulations generally occur in which at least 90% of the  
225 females mate at least twice and 90% of the males mate about six times (Coffelt 1975).

226

### 227 **3.4 Sensory organs related to volatile detection**

228 Antennae are the main receptors of olfactory stimuli. Other parts of the insect's body, including  
229 the maxillary palps and labia, can also possess olfactory receptors, but in smaller quantities. In *L.*  
230 *serricornis*, the antennal configuration is identical between males and females, being ~750 µm in  
231 length, divided into a rounded scape, a small pedicel and nine flagellar segments, with a triangular  
232 shape giving the antennae a "saw-like" structure, as indicated by its scientific name "*serricornis*"  
233 (Okada et al. 1992b). On the scape and pedicel are the sensilla, which are probably involved in  
234 mechanical stimuli. On the remaining segments of the antennae, there are different types of sensilla,  
235 including sensillum capitulum, sensillum styloconicum, and sensillum basiconicum. Basiconic sensilla  
236 are three times more abundant on male antennae than female, characteristic of a structural sexual  
237 dimorphism based on a minimum of two nerve cells, one that senses the pheromone 4*S*, 6*S*, 7*S*-  
238 serricornin produced by females and the other senses 4*S*, 6*S*, 7*R*-serricornin, the synthetic stereoisomer  
239 that has the ability to inhibit sexual behavior in males (Okada et al. 1992a; 1993; Levinson and  
240 Levinson 1987).

241

### 242 **3.5 Response to host volatiles**

243 Phytophagous insects utilize plant volatiles as olfactory cues to locate resources for their diverse  
244 requirements, including host plants for feeding and oviposition (Pickett et al. 1998). The host choice is  
245 a complex process that integrates the responses of numerous neurons bound to the central nervous  
246 system of the insect that are linked to olfactory or gustatory semiochemicals, in addition to physical  
247 and visual cues, such as texture, color, and plant shape (Bruce et al. 2005). Because of the wide variety  
248 of stored products infested by *L. serricornis*, several studies have been conducted to evaluate their  
249 responses to volatile organic compounds emitted by these materials.

250 The sex and reproductive state can influence the response of *L. serricornis* to volatile organic  
251 compounds emitted by stored natural products. The females are strongly attracted by roasted tobacco  
252 leaves, while males are not (Khono et al. 1983). Adults of both sexes are attracted to extracts from  
253 plants of the *Capsicum* genus; however, mated females are significantly more attracted than males and  
254 unmated females, reinforcing the concept that these chemical compounds are used as olfactory cues  
255 when searching for a favorable oviposition site, having high food availability (Mahroof and Philips  
256 2007).

257 Other previously reported products that are attacked by *L. serricornis* in Thailand have been  
258 tested, including pepper, tobacco products, teas, and cereal grains, and the majority attracted females  
259 after mating. Of these products, mulberry tea leaves elicited the strongest attraction. The compound β-  
260 ionone was the most attractive to *L. serricornis*, suggesting that it could be a potential attractant for the  
261 integrated management of this pest (Phoonan et al. 2014). β-Ionone is a volatile C13-apocarotenoid

262 present in the floral bouquets of certain plant species and is involved in the attraction of pollinators  
263 (Pereira et al. 2014; Simkin et al. 2004). It is a member of a group of chemicals that are released by  
264 genetically modified *Arabidopsis* in response to herbivory (Cáceres et al. 2016; Wei et al. 2011).

265 Because *L. serricornis* is associated with storage environments, studies involving this insect are  
266 generally carried out in laboratory or storage systems. There is, therefore, a need for information on  
267 product contamination in the field by this pest (Carvalho et al. 2000) and on its natural ecology.  
268 Understanding how this insect finds food sources and invades storage systems are crucial factors for  
269 establishing control strategies in these environments.

270

#### 271 **4. Control methods**

272 Several technologies and products have been developed and applied to *L. serricornis* control.  
273 The following pest control methods will be discussed: phosphine or carbon dioxide (CO<sub>2</sub>), temperature  
274 treatments, biological control, radiation, electrical traps, and the use of semiochemicals.

275

##### 276 **4.1 Phosphine fumigation**

277 Fumigation with phosphine (a gas arising from the reaction between metallic phosphates—  
278 aluminum or magnesium—and the atmospheric water vapor) is the most commonly used pest control  
279 method in grains and stored products (Fig. 4). This method is effective against a broad spectrum of  
280 pests, does not leave residues, and it is easily acquired from solid cylinder formulations. This method  
281 douses the atmosphere of the storage sites with phosphine, which is highly toxic, and lethal for insects  
282 at all life stages (egg, larvae, pupae, and adult) (Lorini et al. 2013). Agricultural products, processed  
283 foods, tobacco, and animal feed, are subjected to phosphine fumigation, as are storage sites,  
284 transportation bins, grain lifts, warehouses, department stores, wagons, bulk carriers, and containers.

285 Certain precautions are essential to obtain a successful practice, such as sealing the location  
286 (Fig. 4B), and monitoring the temperature and humidity of the environment (Lorini et al. 2013).

287

288 **Fig. 4** Fumigation with phosphine is the most used method against *L. serricornis* in stored products such  
289 as soybeans (A). The seal is essential for effective treatment (B) (Irineu Lorini, EMBRAPA Soja).

290

291 Phosphine fumigation can contribute to pesticide resistance in various pests of stored products if  
292 not conducted properly. Fumigation at low temperatures is not efficient against *L. serricornis* because  
293 the low temperature reduces the insect's respiratory rate, thus lessening phosphine ingestion and  
294 allowing resistant insects to survive the purge (Chaudhry et al. 2004). Thus, fumigation is more  
295 efficient in tropical regions, while in temperate countries the procedure needs to be longer and  
296 performed at controlled temperatures of more than 5°C.

297 *L. serricornis* populations associated with stored tobacco in the United States have shown  
298 resistance to phosphine, especially in insects present in storage locations where fumigation is frequent,  
299 resulting in a level of infestation that, even after using the recommended treatment against resistance  
300 populations (600 ppm, at 25°C for 4 days), remained unacceptable (Sağlam et al. 2015).

301 In addition to resistance, there is an increased concern regarding the toxic effects that pesticides  
302 can cause to the environment, and the health of humans and animals. Trained professionals should  
303 conduct fumigations, with the appropriate individual protection equipment, such as gloves and masks,  
304 to avoid exposure, particularly when opening treated locations, which is when the largest amount of  
305 phosphine is released (Lorini et al. 2013).

306 Because of these control aspects, the use integrated pest management strategies, including those  
307 using fumigation and reducing the cost of product storage, have become of great interest as monitoring  
308 methods for *L. serricornis* and other rapidly increasing pests. The suspension of phosphine fumigation  
309 has been proposed in favor of the use of alternative methods that are more environmentally friendly to  
310 control and manage resistant *L. serricornis* populations (Sağlam et al. 2015).

311

## 312 **4.2 Treatment with CO<sub>2</sub>**

313 CO<sub>2</sub> can be used against different pests of stored products by modifying the storage environment  
314 or by controlled atmospheres under different pressures. The term “modified atmosphere storage”  
315 includes situations in which the ratio or pressure of atmospheric gases are altered in the enclosed  
316 storage area to favor pest control (Navarro 2012). Fumigation using CO<sub>2</sub> as an alternative to the  
317 traditional phosphine fumigation, is safer to apply. Additionally, unlike phosphine fumigation, CO<sub>2</sub>  
318 does not lead to insect resistance. It can also be used to control infestations of non-perishable foods  
319 and especially organic products, which can only be subjected to CO<sub>2</sub> fumigation. The success rate of  
320 this method depends on the sealing of the treated environment to maintain an ideal CO<sub>2</sub> concentration  
321 during the procedure.

322 The effect of CO<sub>2</sub> on *L. serricornis* has been assessed on the laboratory scale, and it was found  
323 that the immature development stages of the insects are more resistant than the adults, which are more

324 susceptible to concentration changes rather than constant concentrations. Treatments with 70% CO<sub>2</sub>  
325 for 48 h resulted in a 100% mortality of insects, while smaller CO<sub>2</sub> concentrations required a longer  
326 exposure period to kill all of the insects (Gunasekaran and Rajendran 2005).

327 Modified atmospheres enriched with CO<sub>2</sub> have been tested for food product storage to control a  
328 variety of pests, including *L. serricorne*, which, together with *Tribolium confusum* and *Sitophilus*  
329 *oryzae*, were more tolerant than the other assessed species. This treatment causes larval mortality,  
330 which suggests that it is an appropriate strategy to control infestations during the final packaging, thus  
331 preserving the end products (Riudavets et al. 2009).

332 The use of CO<sub>2</sub> has also been demonstrated to be an efficient control tool against *L. serricorne*  
333 during the storage of dehydrated herbs in large packages made of polypropylene fabric coated with an  
334 inner plastic liner or containers. Plastic packaging seals better than containers, allowing only a small  
335 reduction in the CO<sub>2</sub> concentration (from 89% to 82%). Even though the CO<sub>2</sub> concentrations decreased  
336 from 70% to 15% inside the containers after 18 days of exposure, the treatment was sufficient to  
337 control all of the insects in each sample (Pons et al. 2010).

338 Another pest control method based on modified atmospheres and the toxic properties of CO<sub>2</sub> is  
339 the airtight storage. The respiratory processes of insects and other aerobic organisms present in airtight  
340 storage conditions create a modified environment that is poor in O<sub>2</sub> and rich in CO<sub>2</sub>, which prevents  
341 the proliferation of insects, mites, and aerobic fungi responsible for the deterioration and depreciation  
342 of products. This approach has been applied through the development of various materials, products,  
343 and structures that allow the airtight storage of both small and large quantities of grains (Navarro  
344 2012).

345 A controlled atmosphere consists of an artificial gas mixture that is generally synthetically  
346 produced with the aim of obtaining conditions lethal to pests, including low oxygen availability and  
347 elevated N<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub> levels that are usually provided by pressurized cylinders (Navarro 2012). CO<sub>2</sub>  
348 possesses has a toxic activity against insects and fungi, which in turn preserves the quality of the  
349 stored products.

350 The use of controlled atmospheric conditions with high CO<sub>2</sub> concentrations at a high pressure  
351 (10–40 bar), is a technique used in metal chambers and is considered rapid and effective in controlling  
352 infestation by various insects and mites in stored products, especially in food products, with long  
353 lasting durability (Navarro 2012; Riudavets et al. 2009).

354 Treatments of CO<sub>2</sub> under high pressure have been tested on a variety of raw foods, such as  
355 cereal grains and chestnuts, and semi-processed foods, such as fruits and dried herbs. It has great  
356 advantages because it does not require time between treatment applications and consumption nor does

357 it leave any chemical residues (Riudavets et al. 2010). However, due to the high costs of installing the  
358 required equipment, this technique is currently more cost-beneficial for products of high commercial  
359 value, such as medicinal herbs and chestnuts (Navarro, 2012).

360 The efficiency of a control method depends on the temperature, pressure, and period of  
361 exposure to CO<sub>2</sub>. Low temperatures and CO<sub>2</sub> pressures require longer treatment periods to efficiently  
362 control against *L. serricornis* (Ulrichs and Reichmuth 1997).

363 The *L. serricornis* adults are more susceptible to CO<sub>2</sub>, followed by the larvae and pupae. The  
364 larval stage is the most resistant (Riudavets et al. 2010; Ulrichs and Reichmuth 1997). *L. serricornis* is  
365 more resistant to CO<sub>2</sub> application at 15 bars, especially the eggs, thus requiring a longer exposure to  
366 the treatment than other stored product pests (Riudavets et al. 2010). This tolerance of *L. serricornis* to  
367 CO<sub>2</sub>-enriched atmospheres could be a result of prolonged exposures to sub-lethal concentrations and  
368 be related to adaptive changes in the activity levels of carboxyl esterases, enzymes linked to  
369 detoxification processes and insecticide resistance to organophosphates, carbamates, and pyrethroids  
370 in several species of insect and mite pests (Li et al. 2009).

371

#### 372 **4.3 Temperature treatments**

373 Low temperatures trigger a metabolic reduction in insects; therefore, they are used to reduce the  
374 density of pests in storage environments. Cooling can be used to interrupt the life cycle of *L.*  
375 *serricornis* because the eggs die when exposed to temperatures below 18°C, while the lethal range for  
376 the other developmental stages are between -20°C and -5°C (Imai and Harada 2006).

377 *L. serricornis*'s mortality rate depends on the final cooling range. It is, therefore, important to  
378 prolong the exposure given the possible acclimation to low temperatures, especially at the larval stage  
379 (Imai and Harada 2006). The artificial cooling of grain bins and lifts is carried out by the slow  
380 infiltration of large volumes of air at low temperatures, ~12°C, through the grains (Lazzari et al.  
381 2006). Storage at low temperatures provides a good alternative for tobacco packaging, as temperatures  
382 below 10°C result in the disinfestation of products as efficiently as fumigation (Imai and Harada  
383 2006). Cooling, therefore, can be used to control *L. serricornis* in special products, such as organic  
384 foods or those who are destined for demanding markets.

385 An increased temperature can also be used as a control method against *L. serricornis* because  
386 these insects are susceptible to heat treatments commonly applied against other pests in processed  
387 foods (50–60°C for 24–36 h). *L. serricornis* eggs are more tolerant to increased temperatures and can,  
388 therefore, be used as a parameter when evaluating the efficacy of heat treatments (Yu et al. 2011).

389

#### 390 **4.4 Radiation**

391 Ionizing radiation has the ability to transform atoms and molecules in highly reactive ions  
392 through the removal of electrons. The ionizing radiation sources used in the food industry are  
393 radioactive isotopes that emit gamma radiation, such as cobalt-60 ( $^{60}\text{Co}$ ) and cesium-137 ( $^{137}\text{Cs}$ ), in  
394 agreement with specific international control regulations. Gamma rays have been applied as  
395 phytosanitary treatments against pests in many countries, including quarantine conditions (Hallman  
396 and Blackburn 2016).

397 The gamma radiation of  $^{60}\text{Co}$  is considered efficient for the disinfestation of *L. serricornae*  
398 larvae, and to sterilize and prevent the emergence of adults (Harwalkar et al. 1995; Hu et al. 2002;  
399 Lorenzo 1990). Adult *L. serricornae* undergo a reduction in movement capability after radiation at 1.0  
400 kGy of  $^{60}\text{Co}$ , which makes them infertile due to the rapid rupture of DNA strands (Kameya et al.  
401 2012).

402 In Brazil, an irradiation dose of 2.0 kGy was effective in controlling the emergence of adult *L.*  
403 *serricornae* in medicinal, aromatic, and dehydrated culinary products, without causing any quality  
404 changes in the treated plant material (Alves 2007). However, it is necessary to take into consideration  
405 the costs, equipment, and necessary infrastructure for the adequate use of technologies involving  
406 radioactive materials.

407

#### 408 **4.5 Biological control and biopesticides**

409 Certain insect species are natural enemies of *L. serricornae* and are described in the literature as  
410 parasitic or feeding on the insects, especially during the larval and pupal stages (Ashworth 1993;  
411 Papadopoulou and Athanassiou 2004). However, studies on the potential of these species and their  
412 application as biological control agents of stored products are still limited.

413 The *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank) mite is a predator of *L. serricornae* adults and larvae,  
414 causing 78% larval mortality. But, the applicability of *T. putrescentiae* as a control agent of *L.*  
415 *serricornae* is limited by the human health risks such as enteritis, diarrhea, urinary tract damage, and  
416 allergic reactions related to the inhalation and the ingestion of products containing mites (Canevari et  
417 al. 2012).

418 A nematode strain from the entomopathogenic *Steinernema carpocapsae* Weiser (Nematoda:  
419 Steinernematidae) caused the ~60% mortality of *L. serricornae* adults after 8 days of exposure to a dose



420 of 20,000 infective juveniles per mL, indicating the potential for its use in integrated pest management  
421 strategies for stored products (Rumbos and Athanassiou, 2012).

422 Most studies involving the biological control of *L. serricorne* through parasitoids or predators  
423 have been conducted under laboratory conditions. It is, therefore, necessary to conduct large-scale  
424 studies to determine the efficacy of these agents in storage environments. Considering the risks  
425 involved in using biological control agents and their potential to become a contaminant of the stored  
426 product, these organisms would not be applied directly on the stored products but in or around the  
427 storage area, together with additional control strategies.

428 Other control tools against *L. serricorne* are bioinsecticides based on *Bacillus thuringiensis*  
429 (Bt), a gram-positive bacterium that produces protein crystals during sporulation that are toxic to *L.*  
430 *serricorne* (Kaelin et al. 1994). Spore suspensions and crystals from toxin producing Bt strains have  
431 been incorporated into the larval diet of *L. serricorne*, resulting in a mortality rate greater than 80%  
432 after 7 days of treatment (Kaelin et al. 1999). The active toxin was the  $\delta$ -endotoxin (Bt Cry3A)  
433 encoded by the *cryIII A* gene. Bt Cry3A is particularly toxic against coleopteran, causing death by  
434 binding to specific membrane receptors, causing the rupture of the digestive tract cells (Groot and  
435 Dicke, 2002). Because of this characteristic, the *cryIII A* gene has been introduced into a variety of  
436 crops, such as tobacco, potato, and rice, increasing their resistance to pests (Lee et al. 2013; Mi et al.  
437 2015; Ren et al. 2015).

438 An additional product based on Bt subsp. *tenebrionis* protein crystals, has been pulverized on  
439 cured tobacco leaves, and showed good stability and potential as a control method against *L.*  
440 *serricorne*. Only a small amount of degradation was observed after 16 months of storage at 23°C and  
441 60% relative humidity in the dark (Blanc et al. 2002).

442 A study of over 2,000 Bt isolates conducted in Japan, found 28 strains with strong *L. serricorne*-  
443 associated larvicidal and growth-inhibition effects, and the evidence indicated a  $\beta$ -exotoxine (Bt)-  
444 associated activity (Tsuchiya et al. 2002).  $\beta$ -Exotoxin delays development and reduces *L. serricorne*  
445 populations (Keever 1994). However, the World Health Organization has not approved its use in pest  
446 control because of its effects on beneficial insects and other organisms, including humans. It interferes  
447 with energy transport in cells, and its use is prohibited in various European countries and the United  
448 States (WHO 1999; Rijk et al. 2013).

449 *L. serricorne* is also susceptible to biopesticides derived from the fermentation of  
450 *Saccharopolyspora spinosa* Mertz & Yao, an actinomycete that naturally occurs in the soil. *S.*  
451 *spinosa*'s active compounds are tetracyclic macrolides that act on the post-synaptic nicotinic receptors  
452 of the nervous system, causing insect death by paralysis and the loss of bodily fluids (Blanc et al.  
453 2004). The same biopesticide has been applied to cured tobacco leaves previously infested with eggs

454 and newly emerged *L. serricornis* and *Ephestia elutella* (Hubner) larvae. It completely inhibited the  
455 emergence of adults of both species, with 100% control, in addition to maintaining its stability and  
456 efficacy during a storage period of 18 months (Blanc et al. 2004). This product could be useful in the  
457 resistance management and control of *L. serricornis* in storage environments, because it loses its  
458 activity after one week when applied in the field because of light-related degradation (Saunders and  
459 Bret 1997).

460 The search for, and evaluation of, new strains of microorganisms with activities against *L.*  
461 *serricornis* is continuous, revealing new molecules for the production of biopesticides and molecular  
462 materials with applicability in plant breeding. Certain plant species having a toxic activity against *L.*  
463 *serricornis* are listed in Table 2. These represent sources of potential compounds that could be tools in  
464 alternative management strategies.

465

466 **Table 2** Plants with toxicity against *L. serricornis*.

467

#### 468 **4.6 The use of semiochemicals**

469 Semiochemicals are chemical compounds that mediate interactions between organisms (Law  
470 and Regnier 1971). Pheromones are semiochemicals that transmit information between individuals of  
471 the same species, while allelochemicals are used for communication between individuals of different  
472 species (Mori 2013). Semiochemicals strongly influence insect behavior because they provide  
473 chemical cues for important processes, including locating food sources, mates, and oviposition sites,  
474 as well as determining the presence of natural enemies (Cox and Collins 2002).

475 Because of their great specificity, pheromones are promising control tools for the integrated  
476 management against pests of stored products (Trematerra 2012). The synthetically produced sex  
477 pheromones of *L. serricornis* have been used extensively in different trapping methods, for monitoring  
478 and catching purposes, usually simultaneously with plant volatiles that attract adult insects (Mahroof  
479 and Philips 2008b; Papadopoulos and Buchelos 2002; Saeed et al. 2007). A field study conducted in  
480 Greece caught more than 500,000 male *L. serricornis* over a period of 15 months in a tobacco store  
481 using sticky traps baited with synthetic anhydroserricornin (Buchelos and Levinson 1993).

482 The *L. serricornis* pheromone has also been tested in the United States in a strategy of mating  
483 disruption in storage environments through the release of synthetic serricornin from plastic septas. In  
484 this technique, the infested area is saturated with the pheromone to confuse male insects searching for  
485 females. Gradual reductions in male catches were observed during the treatment, suggesting a

486 reduction in the insect population due to the interference in the reproductive behavior (Mahroof and  
487 Philips 2014). There are still no studies that have evaluated the efficacy of 4*S*, 6*S*, 7*R*-serricornin, as  
488 an inhibitor of *L. serricornis*'s sexual behavior, in control strategies.

489 Chemical compounds that have the ability to inhibit certain insect behaviors, such as feeding  
490 and oviposition, are called behavioral deterrents, and they are potential control tools against pests.  
491 Plants produce these compounds as defense responses against herbivores and insects and as  
492 instruments of resource competition. Serricornone, in addition to serving as a minor component of the  
493 sex pheromone produced by *L. serricornis*, also possesses a deterrent-related activity for oviposition.  
494 Thus, this molecule could be used in stored products to prevent females from ovipositing (Cox 2004;  
495 Imai et al. 1990).

496 Several plants have been described as repellents against *L. serricornis* (Table 3). The repellence  
497 is related to essential oils, compounds associated with secondary metabolites, and protection against  
498 herbivores. Isolated chemical compounds, such as cinnamaldehyde and hinokitiol, have also  
499 demonstrated repellence against *L. serricornis* (Hori 2003; Hori 2004; Weizheng et al. 2014). In  
500 general, these natural products possess considerable potential for application and commercialization as  
501 repellents in both storage environments and packaging. However, because they are highly volatile, it is  
502 necessary to combine them with a fixative material that prolongs their protective effect.

503

504 **Table 3** Plants with repellent activity against *L. serricornis*.

505

## 506 **5. Research perspectives for *L. serricornis* management**

### 507 **5.1 Rapid monitoring**

508 The development of rapid and accurate detection techniques for *L. serricornis* in stored products  
509 is crucial to drive the decision-making process for management and control strategies, avoiding  
510 economic losses and promoting the efficient use of pesticides. These techniques would also be  
511 applicable in the commercial production chain to detect contaminated lots during quarantine periods,  
512 for example.

513 The development of sensory devices based on semiochemicals directly associated with insects,  
514 such as pheromones, are worth highlighting. They could accurately identify insect species in a  
515 determined lot, as well as volatile standards, related to infestations by other insects or fungi. Studies  
516 have demonstrated that this sort of technology is widely used in the food industry to evaluate the

517 olfactory qualities of products, and it can be useful for indicating fungal contamination and insect  
518 infestations in different stored products (Magan and Evans 2000; Hossain et al. 2012).

519 In addition, studies on the volatile profile emitted by infested products could contribute for the  
520 identification of highly sensitive and reproducible biomarkers applicable in the development of new  
521 monitoring technologies. Recent advances in the production of biosensors, based on insect antennae  
522 and odorant-binding proteins, represent a promising path towards the efficient detection of infestations  
523 (Martinez et al. 2014; Mitsuno et al. 2015).

524 Recently, bioacoustics has been used as a tool for the detection of adult *L. serricornae*  
525 populations in lots of wheat grain and corn in small containers with a piezoelectric sensor and a  
526 portable acoustic amplifier connected to a computer (Eliopoulos et al. 2015; 2016). Acoustic  
527 emissions from beetles allowed the accurate detection of one and two insects per kilo of wheat grain,  
528 with 98% and 100% success rates, respectively (Eliopoulos et al. 2015), while computational  
529 recordings using sensors provided the level of infestation based on the number of pulses per min,  
530 generally with successful prediction rates of *L. serricornae* density of higher than 70% (Eliopoulos et  
531 al. 2016). These data suggest that technologies based on bioacoustics could be used as monitoring  
532 tools in the integrated management of *L. serricornae* and other stored product pests.

533

## 534 **5.2 Integrated pest management**

535 Over recent years, the global trend in the pest control on crop production has been to adopt  
536 environmentally and economically sustainable strategies over the entire production chain. Studies on  
537 active biomolecules against *L. serricornae* revealed natural compounds with potential uses in push-pull  
538 strategies in storage environments. The development of more resistant packaging coated with natural  
539 repellents, and food and oviposition deterrents could improve protection against *L. serricornae*  
540 throughout the product's storage, while volatiles from attractive host plants could act synergistically  
541 with pheromones, improving the efficiency of monitoring traps and mass captures (Hori 2004;  
542 Mahroof and Phillips 2008).

543 The use of pheromone for mating disruption in storage environments in the United States led to  
544 *L. serricornae* population reductions. It also indicated the necessity of large-scale studies, and the  
545 development of simple and accurate techniques to assess the dynamics and densities of insect  
546 populations in commodities, based on the characteristics of each product and different storage  
547 structures (Mahroof and Philips 2014).

548 Other biological aspects of *L. serricorne* that should be further explored include symbiotic  
549 microorganisms that could influence the nutritional behavior, and the resistance to pesticides and plant  
550 toxins observed in these insects.

551 Genetic studies could also provide important information for *L. serricorne* management. The  
552 amplified fragment length polymorphism (AFLP) technique was applied for genetic variability studies  
553 in 16 different *L. serricorne* populations distributed across 5 continents. AFLP showed potential for  
554 distinguishing populations and providing information on the structures and movements of these  
555 populations, as well as the origin of infestations and pesticide resistance (Blanc et al. 2006). The  
556 genetic grounds for phosphine resistance observed in certain *L. serricorne* populations still have not  
557 been clarified nor have the characteristic variations between populations of different geographic  
558 origins and products (Sağlam et al. 2015).

559 The development of resistant transgenic plants capable of expressing plant-incorporated  
560 protectants is also a promising tool for protection against *L. serricorne*. Hybrid tobacco plants, able to  
561 express high levels of molecules related to plant defense against herbivory, suffered significantly less  
562 *L. serricorne* and *Helicoverpa zea* larval attacks, and caused higher insect mortality rates in  
563 comparison with the wild types (Dowd et al. 2006).

564 In conclusion, it is necessary to highlight that both increased knowledge of, and innovative  
565 technological advances against, *L. serricorne* are necessary and need to be disseminated and  
566 popularized, allowing small producers and traders access to new information and tools that reduce the  
567 use of pesticides, and increase control efficiencies against this pest and others in developing countries.

568

## 569 **6. Acknowledgements**

570 We express our thanks to “Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico  
571 (CNPq)” and “Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)” for financial  
572 support.

573

## 574 **7. References**

575

576 Alves JN (2007) Utilization of the gamma radiation of Cobalto-60 as quarantine treatment of the  
577 medicinal, aromatic and seasoning plants dehydrated infested by *Lasioderma serricorne* (Fabricius,

- 578 1972) (Coleoptera, Anobiidae) e *Plodia interpunctella* (Hubner, 1813) (Lepidoptera, Pyralidae).  
579 Dissertation, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares  
580
- 581 Ambadkar PM, Khan DH (1989) Observations on the influence of crude leaf extracts of some plants  
582 on adult and larval forms of the cigarette beetle, *Lasioderma serricorne* F. (Coleoptera: Anobiidae). *J*  
583 *Anim Morphol Physiol* 36: 99–114  
584
- 585 Ambadkar PM, Khan DH (1994) Screening of responses of adult cigarette beetle, *Lasioderma*  
586 *serricorne* F. (Coleoptera: Anobiidae) to fresh and dried leaves of 51 plant species for possible  
587 repellent action. *Indian J Ent* 56: 169–175  
588
- 589 Ashworth JR (1993) The biology of *Lasioderma serricorne*. *J Stored Prod Res* 29:291–303  
590
- 591 Baoua IB, Amadou L, Abdourahmane M, Bakoye O, Baributsa D, Murdock LL (2015) Grain storage  
592 and insect pests of stored grain in rural Niger. *J Stored Prod Res* 64:8–12. doi:  
593 10.1016/j.jspr.2015.04.007  
594
- 595 Blanc M, Kaelin P, Gadani F (2002) *Bacillus thuringiensis* (Bt) for the control of insect pests in stored  
596 tobacco: a review. *Beiträge zur Tabakforschung International / Contributions to Tobacco Research*  
597 20:15–22. doi: 10.2478/cttr-2013-0727  
598
- 599 Blanc MP, Panighini C, Gadani F, Rossi L (2004) Activity of spinosad on stored-tobacco insects and  
600 persistence on cured tobacco strips. *Pest Manag Sci* 60:1091–1098. doi: 10.1002/ps.930  
601
- 602 Blanc MP, Lugon-Moulin N, Panighini C, Pijnenburg H, Rossi L (2006) Structure of worldwide  
603 populations of *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Anobiidae) as revealed by amplified fragment  
604 length polymorphism profiles. *Bull Entomol Res* 96:111–116. doi: 10.1079/BER2005405  
605
- 606 Bousquet Y (1990) Beetles associated with stored products in Canada: an identification guide  
607 Agriculture and Agri-Food Canada. Canadian Government Publishing Centre, Ottawa  
608
- 609 Boyer S, Zhang H, Lempérière G (2012) A review of control methods and resistance mechanisms in  
610 stored-product insects. *Bull Entomol Res* 102:213–229. doi: 10.1017/S0007485311000654  
611

- 612 Bruce TJA, Wadhams LJ, Wookcock CM (2005) Insect host location: a volatile situation. Trends Plant  
613 Sci. 10:269–274. doi: 10.1016/j.tplants.2005.04.003  
614
- 615 Buchelos CT (1981) Coleoptera populations at flour mills and related áreas. Anns Inst Phytopath  
616 Benaki 13:6–29.  
617
- 618 Buchelos CT, Levinson AR (1993) Efficacy of multisurface traps and Lasio-traps with and without  
619 pheromone addition, for monitoring and mass-trapping of *Lasioderma serricorne* in insecticide-free  
620 tobacco stores. J Appl Entomol 116:440–448. doi: 10.1111/j.1439-0418.1993.tb01220.x  
621
- 622 Cáceres LA, Lakshminarayan S, Yeung KK-C, McGarvey BD, Hannoufa A, Sumarah MW, Bnitez X,  
623 Scott IM (2016) Repellent and attractive effects of  $\alpha$ -,  $\beta$ -, and dihydro- $\beta$ -ionone to generalista and  
624 specialist herbivores. J Chem Ecol 42:107–117. doi: 10.1007/s10886-016-0669-z  
625
- 626 Canevari GC, Rezende F, Silva RB, Faroni LRA, Zanuncio JC, Papadopoulou S, Serrão JE (2012)  
627 Potential of *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank.) (Astigmata: Acaridae) for the biological control of  
628 *Lasioderma serricorne* (F.) (Coleoptera: Anobiidae). Braz Arch Biol Techn 55:299–303. doi:  
629 10.1590/S1516-89132012000200017  
630
- 631 Carvalho MO, Pereira AP, Mexia A (2000) Occurrence of *Lasioderma serricorne* F. and *Ephestia*  
632 *elutella* (Hb.) in tobacco Virginia fields and curing barns. Integrated Protection of Stored Products,  
633 IOBC Bulletin 23, 91–101  
634
- 635 Chaudhry MQ, Bell HÁ, Savvidou N, Macnicoll AD (2004) Effect of low temperatures on the rate of  
636 respiration and uptake of phosphine in different life stages of the cigarette beetle *Lasioderma*  
637 *serricorne*. J Stored Prod Res 40:125–134. doi: 10.1016/S0022-474X(02)00093-0  
638
- 639 Chuman T, Kohno M, Kato K, Noguchi M (1979) 4.6-dimethyl-7-hydroxy-nonan-3-one, a sex  
640 pheromone of the cigarette beetle (*Lasioderma serricorne* F.). Tetrahedron Lett 20:2361–2364.  
641 doi:10.1016/S0040-4039(01)93974-7  
642
- 643 Chuman T, Mochizuki K, Kato K, Ono M, Ōkubo A (1983) Serricorone and serricorole, new sex  
644 pheromone of cigarette beetle. Agric Biol Chem 47:1413–1415. doi: 10.1271/bbb1961.47.1413  
645

- 646 Chuman T, Mochizuki K, Mori M, Kohno M, Kato K, Noguchi M (1985) *Lasioderma* chemistry. Sex  
647 pheromone of cigarette beetle (*Lasioderma serricorne* F.). *J Chem Ecol* 11:417–434. doi:  
648 10.1007/BF00989553  
649
- 650 Coffelt JA (1975) Multiple mating by *Lasioderma serricorne* (F.) Effects on fertility and fecundity.  
651 *Proc. 1st Int Working Conf Stored Prod Ent, Savannah, GA*, pp 549–553  
652
- 653 Cox PD, Collins LE (2002) Factors affecting the behaviour of beetle pests in stored grain, with  
654 particular reference to the development of lures. *J Stored Prod Res* 38:95–115. doi: 10.1016/S0022-  
655 474X(01)00010-8  
656
- 657 Cox PD (2004) Potential for using semiochemicals to protect stored products from insect infestation. *J*  
658 *Stored Prod Res* 40:1–25. doi: 10.1016/S0022-474X(02)00078-4  
659
- 660 Cruz LP, Sá LFR, Santos LA, Gravina GA, Carvalho AO, Fernandes KVS, Filho FRF, Gomes VM,  
661 Oliveira AEA (2016) Evaluation of resistance in different cowpea cultivars to *Callosobruchus*  
662 *maculatus* infestation. *J Pest Sci* 89:117–128. doi: 10.1007/s10340-015-0657-z  
663
- 664 Dowd PF, Holmes RA, Pinkerton TS, Johnson ET, Lagrimini M, Boston RS (2006) Relative activity  
665 of a tobacco hybrid expressing high levels of a tobacco anionic peroxidase and maize ribosome-  
666 inactivating protein against *Helicoverpa zea* and *Lasioderma serricorne*. *J Agric Food Chem* 54:2629–  
667 2634. doi: 10.1021/jf058180p  
668
- 669 Du SS, Yang K, Wang CF, You CX, Geng ZF, Guo SS, Deng ZW, Liu ZL (2014) Chemical  
670 constituents and activities of the essential oil from *Myristica fragrans* against cigarette beetle  
671 *Lasioderma serricorne*. *Chem Biodivers* 11:1449–1456. doi: 10.1002/cbdv.201400137  
672
- 673 Eliopoulos PA, Potamitis I, Kontodimas DCh, Givropoulou EG (2015) Detection of adult beetles  
674 inside the stored wheat mass based on their acoustic emissions. *J Econ Entomol* 108:2808–2814. doi:  
675 10.1093/jee/fov231  
676
- 677 Eliopoulos PA, Potamitis I, Kontodimas DCh (2016) Estimation of population density of stored grain  
678 pests via bioacoustic detection. *Crop Prot* 85:71–78. doi: 10.1016/j.cropro.2016.04.001  
679



- 680 Fardisi M, Mason LI (2013) Influence of temperature, gender, age, and mating status on cigarette  
681 beetle (*Lasioderma serricorne* (F.)) (Coleoptera: Anobiidae) flight initiation. *J Stored Prod Res* 52:93–  
682 99. doi: 10.1016/j.jspr.2012.12.006  
683
- 684 França-Neto JB, Lorini I, Krzyzanowski FC, Henning AA, Mallmann CA (2012) Ocorrência de  
685 contaminantes em grãos e sementes de soja armazenados em diversas regiões brasileiras. In:  
686 Proceedings of the Congresso Brasileiro de Soja, Cuiabá, MT, Brazil, 11–14 June 2012. p 231  
687
- 688 Gautam SG, Opit GP, Margosan D, Tebbets JS, Walse S (2014) Egg morphology of key stored-  
689 product insect pests of the United States. *Ann Entomol Soc Am* 107:1–10. doi: 10.1603/AN13103  
690
- 691 Groot AT, Dicke M (2002) Insect-resistant transgenic plants in a multi-trophic context. *Plant J*  
692 31:387–406. doi: 10.1046/j.1365-313X.2002.01366.x  
693
- 694 Guenha R, Salvador BV, Rickman J, Goulaoc LF, Muochaa IM, Carvalho MO (2014) Hermetic  
695 storage with plastic sealing to reduce insect infestation and secure paddy seed quality: a powerful  
696 strategy for rice farmers in Mozambique. *J Stored Prod Res* 59:275–281. doi:  
697 10.1016/j.jspr.2014.06.007  
698
- 699 Gunasekaran N, Rajendran S (2005) Toxicity of carbon dioxide to drugstore beetle *Stegobium*  
700 *paniceum* and cigarette beetle *Lasioderma serricorne*. *J Stored Prod Res* 41:283–294. doi:  
701 10.1016/j.jspr.2004.04.001  
702
- 703 Haines CP (2000) IPM for food storage in developing countries: 20th century aspirations for the 21st  
704 century. *Crop Prot* 19:825–830. doi: 10.1016/S0261-2194(00)00110-1  
705
- 706 Hallman GJ, Blackburn CM (2016) Phytosanitary Irradiation. *Foods* 5:1–10. doi:  
707 10.3390/foods5010008  
708
- 709 Halstead DGH (1963) External sex differences in stored-product Coleoptera. *Bull Ent Res* 54:119–134.  
710 doi: 10.1017/S0007485300048665  
711
- 712 Harwalkar MR, Dongre TK, Padwal-Desai, SR (1995) Radiation desinfestation of spice and spice  
713 products I. Radiation sensitivity of developmental stages of *Lasioderma serricorne* and *Stegobium*  
714 *paniceum*. *J Food Sci Technol (Mysore)* 32:249–251  
715

- 716 Hodges RJ, Buzby JC, Bennett B (2001) Foresight Project on global food and farming futures –  
717 Postharvest losses and waste in developed and less developed countries: opportunities to improve  
718 resource use. *J Agric Sci* 149:37–45. doi: 10.1017/S0021859610000936  
719
- 720 Hori M (2003) Repellency of essential oils against the cigarette beetle, *Lasioderma serricornae*  
721 (Fabricius) (Coleoptera: Anobiidae). *Appl Entomol Zool* 38:467–473. doi: 10.1303/aez.2003.467  
722
- 723 Hori M (2004) Repellency of hinokitiol against the cigarette beetle, *Lasioderma serricornae* (Fabricius)  
724 (Coleoptera: Anobiidae). *Appl Entomol Zool* 39:521–526. doi: 10.1303/aez.2004.521  
725
- 726 Hori M, Miwa M, Iizawa H (2011) Host suitability of various stored food products for the cigarette  
727 beetle, *Lasioderma serricornae* (Coleoptera: Anobiidae). *Appl Entomol Zool* 46:463–469. doi:  
728 10.1007/s13355-011-0062-x  
729
- 730 Hossain MdE, Rahman GMA, Freund MS, Jayas DS, White NDG, Shafai C, Thomson DJ (2012)  
731 Fabrication and optimization of a conducting polymer sensor array using stored grain model volatiles.  
732 *Agric Food Chem* 60:2863–2873. doi: dx.doi.org/10.1021/jf204631q  
733
- 734 Howe RW (1957) A laboratory study of the cigarette beetle, *Lasioderma serricornae* (F.) (Col.,  
735 Anobiidae) with a critical review of the literature on its biology. *Bull Ent Res* 48:9–56. doi:  
736 <http://dx.doi.org/10.1017/S0007485300054079>  
737
- 738 Howe RWA (1965) A summary of estimates of optimal and minimal conditions for population  
739 increase of some stored product insects. *J Stored Prod Res* 1:177–184. doi: 10.1016/0022-  
740 474X(65)90018-4  
741
- 742 Howlader AJ, Ambadkar PM (1995) Oviposition deterring influence off emale body wash in tobacco  
743 beetle, *Lasioderma serricornae* (F.) (Coleoptera: Anobiidae). *J Stored Prod Res* 31:91–95. doi:  
744 10.1016/0022-474X(94)00029-S  
745
- 746 Hu T, Chen C-C, Peng W-K (2002) The letal effect of gamma radiation on *Lasioderma serricornae*  
747 (Fabricius). *Form Entomol* 22:157–162  
748
- 749 Imai T, Harada H (2006) Low-temperature as an alternative to fumigation to desinfest stored tobacco  
750 of the cigarette beetle, *Lasioderma serricornae* (F.) (Coleoptera: Anobiidae). *Appl Entomol Zool*  
751 41:87–91. doi: <http://odokon.ac.affrc.go.jp/>

752

753 Imai T, Kodama H, Chuman T, Masahiro KJ (1990) Oviposition deterrents of the cigarette beetle,  
754 *Lasioderma serricorne* (F.) (Coleoptera: Anobiidae). J Chem Ecol 16:1237–1247. doi:  
755 10.1007/BF01021022

756

757 Jeong KY, Hong CS, Yong TS (2007) Domestic arthropods and their allergens. Protein Pept Lett  
758 14:934–942

759

760 Kaelin P, Morel P, Gadani F (1994) Isolation of *Bacillus thuringiensis* from stored tobacco and  
761 *Lasioderma serricorne* (F.). Appl Environ Microb 60:19–25

762

763 Kaelin P, Zaugg L, Albertini AM, Gadani F (1999) Activity of *Bacillus thuringiensis* isolates on  
764 *Lasioderma serricorne* (F.) (Coleoptera: Anobiidae). J Stored Prod Res 35:145–158. doi:  
765 10.1016/S0022-474X(98)00040-X

766

767 Kameya H, Miyanoshita A, Imamura T, Todoriki S (2012) Assessment of gamma ray-induced DNA  
768 damage in *Lasioderma serricorne* using the comet assay. Radiat Phys Chem 81:316–321.  
769 doi:10.1016/j.radphyschem.2011.10.022

770

771 Keever DW (1994) Reduced adult emergence of the maize weevil, lesser grainborer, and tobacco moth  
772 due to *B. thuringiensis*. J Entomol Sci 29:183–185.

773

774 Khono M, Chuman T, Kato K, Noguchi M (1983) The olfactory response of the cigarette beetle,  
775 *Lasioderma serricorne* Fabricius, to various host foods and cured tobacco extracts. Appl Entomol  
776 Zool 18:401–406. URL: <http://ci.nii.ac.jp/naid/110001125018/en#cit>

777

778 Kim S-I, Park C, Ohh M-H, Cho H-C, Ahn Y-J (2003) Contact and fumigant activities of aromatic  
779 plant extracts and essential oils against *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Anobiidae). J Stored Prod  
780 Res 39:11–19. doi:10.1016/S0022-474X(02)00013-9

781

782 Law JH, Regnier FE (1971) Pheromones. Ann Rev Biochem 40:533–548.  
783 doi:10.1146/annurev.bi.40.070171.002533

784

785 Lazzari SMN, Karkle AF, Lazzari FA (2006) Resfriamento artificial para o controle de Coleoptera em  
786 arroz armazenado em silo metálico. Rev Bras Entomol 50:293–296. doi:

787 <http://dx.doi.org/10.1590/S0085-56262006000200012>

788

789 Lee J-H, Shin K-S, Suh S-C, Rhim S-L, Lee Y-H, Lim M-H, Woo H-J, Qin Y, Cho H-S (2013)  
790 CryIIIa toxin gene expression in transgenic rice confers resistance to rice water weevil. *Plant Cell*  
791 *Tiss Organ Cult* 115:243–252. doi: 10.1007/s11240-013-0356-5

792

793 Levinson, HZ, Levinson AR (1981) The pheromone activity of anhydroserricornin and serricornin for  
794 male cigarette beetles (*Lasioderma serricornne* F.). *Naturwissenschaften* 68: 148–149. doi:  
795 10.1007/BF01047262

796

797 Levinson HZ, Levinson AR (1987) Pheromone biology of the tobacco beetle (*Lasioderma serricornne*  
798 F., Anobiidae) with notes on the pheromone antagonism between 4S, 6S, 7S- and 4S, 6S, 7R-  
799 serricornin. *J Appl Entomol* 103:217–240. doi: 10.1111/j.1439-0418.1987.tb00981.x

800

801 Li C, Li, ZZ, Cao Y, Zhou B, Zheng X (2009) Partial characterization of stress-induced  
802 carboxylesterase from adults of *Stegobium paniceum* and *Lasioderma serricornne* (Coleoptera:  
803 Anobiidae) subjected to CO<sub>2</sub>-enriched atmosphere. *J Pest Sci* 82:7–11. doi: 10.1007/s10340-008-  
804 0221-1

805

806 Lorenzo P (1990) Application of <sup>60</sup>Co gamma radiation to control insects in stored rice. Part IV.  
807 *Lasioderma serricornne* (Anobiidae: Coleoptera), *Alphitobius diaperinus* and *Tenebrionido* sp  
808 (Tenebrionidae: Coleoptera). *Ciencia y técnica em la Agricultura - Arroz* 13:67–72

809

810 Lorini I (2012) Insetos que atacam grãos de soja armazenados. In: Hoffmann-Campo CB, Corrêa-  
811 Ferreira BS, Morcardi F (eds) *Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga*.  
812 EMBRAPA Informação Tecnológica, Brasília, Brazil, pp 421–444

813

814 Lorini I, Krzyzanowski FC, França-Neto JB, Henning AA (2013) Expurgo da semente de soja com  
815 fosfina e seu efeito na qualidade fisiológica – Série Sementes (CT 97). Embrapa Soja, Londrina,  
816 Brazil, pp 1–12

817

818 Lü J, Ma D (2015) Repellent and contact toxicity of *Alpinia officinarum* rhizome extract against  
819 *Lasioderma serricornne* adults. *PLoS ONE* 10 (8): e0135631. doi: 10.1371/journal.pone.0135631

820

821 Lü JH, Su XH, Zhong JJ (2012) Fumigant activity of *Elsholtzia stauntonii* extract against *Lasioderma*  
822 *serricornne*. *S Afr J Sci* 108(7/8), Art. #556, 3 p. doi: 10.4102/sajs. v108i7/8.556

823

824 Machado EHL, Alves LC, Faustino MAG, Machado ECL (2008) Ocorrência de coleópteros em  
825 alimentos industrializados para cães, comercializados na região metropolitana de Recife, PE. *Neot*  
826 *Entomol* 37:602–605. doi: 10.1590/S1519-566X2008000500017

827

828 Magan N, Evans P (2000) Volatiles as an indicator of fungal activity and differentiation between  
829 species, and the potential use of electronic nose technology for early detection of grain spoilage. *J*  
830 *Stored Prod Res* 36:319–340. doi: 10.1016/S0022-474X(99)00057-0

831

832 Mahroof RM, Phillips TW (2007) Orientation of the cigarette beetle, *Lasioderma serricorne* (F.)  
833 (Coleoptera: Anobiidae) to plant-derived volatiles. *J Insect Beh* 20:99–115. doi: 10.1007/s10905-006-  
834 9067-7

835

836 Mahroof RM, Phillips TW (2008a) Life history parameters of *Lasioderma serricorne* (F.) as influenced  
837 by food sources. *J Stored Prod Res* 44:219–226. doi: 10.1016/j.jspr.2007.12.001

838

839 Mahroof RM, Phillips TW (2008b) Responses of stored-products Anobiidae to pheromone lures and  
840 plant-derived volatiles. *J Appl Entomol* 132:161–167. doi: 10.1111/j.1439-0418.2007.01251.x

841

842 Mahroof RM, Phillips TW (2014) Mating disruption of *Lasioderma serricorne* (Coleoptera:  
843 Anobiidae) in stored product habitats using the synthetic pheromone serricornin. *J Appl Entomol*  
844 138:378–386. doi: 10.1111/jen.12097

845

846 MAPA (2016) Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Brazil, Federal Government.  
847 <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/estatisticas>. Accessed 13 Jul 2016

848

849 Martin DT, Baributsa D, Huesing JE, Williams SB, Murdock LL (2015) PICS bags protect wheat  
850 grain, *Triticum aestivum* (L.), against rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *J*  
851 *Stored Prod Res* 63:22–30. doi: 10.1016/j.jspr.2015.05.001

852

853 Martinez D, Arhidi L, Demondion E, Masson JB, Lucas P (2014) Using insect electroantennogram  
854 sensors on autonomous robots for olfactory searches. *J Vis Exp* 90:e51704. doi:10.3791/51704

855

856 Mi X, Ji X, Yang J, Liang L, Si H, Wu J, Zhang N, Wang D (2015) Transgenic potato plants  
857 expressing cry3A gene confer resistance to Colorado potato beetle. *C R Biol* 338:443–50. doi:  
858 10.1016/j.crv.2015.04.005

- 859  
860 Mitsuno H, Sakurai T, Namiki S, Mitsuhashi H, Kanzaki R (2015) Novel cell-based odorant sensor  
861 elements based on insect odorant receptors. *Biosens Bioelectron* 65:287–294. doi:  
862 <http://dx.doi.org/10.1016/j.bios.2014.10.026>  
863
- 864 Mokhtar AS, Sridhar GS, Mahmud R, Jeffery J, Lau YL, Wilson JJ, Abdul-Aziz NM (2016) First case  
865 report of canthariasis in an infant caused by the larvae of *Lasioderma serricorne* (Coleoptera:  
866 Anobiidae). *J Med Entomol* 2016:1–4. doi: 10.1093/jme/tjw071  
867
- 868 Moreira LL (2008) Desenvolvimento e danos de *Lasioderma serricorne* (Fabricius, 1792) (Coleoptera:  
869 Anobiidae). Dissertation, Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, MT, Brazil  
870
- 871 Mori K (2013) Chemical Ecology. Reference Module in Chemistry. Molecular Sciences and Chemical  
872 Engineering. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.05335-X>  
873
- 874 Navarro S, Timlick B, Demianyk CJ, White N (2012) Controlled or Modified Atmospheres. In:  
875 Hagstrum DW, Phillips TW, Cuperus G (eds) *Stored Product Protection*, 1st edn. Kansas State  
876 University, Manhattan, pp 191–202  
877
- 878 Noda H, Kodama K (1996) Phylogenetic position of yeastlike endosymbionts of Anobiid beetles. *Appl*  
879 *Environ Microbiol* 62:162–167.  
880
- 881 Okada K, Watanabe A, Mori M, Shimazaki K, Chuman T, Mochizuki F, Shibuya T (1992a) Olfactory  
882 responses to the sex pheromone component and its behavioural inhibitor in the male cigarette beetle,  
883 *Lasioderma serricorne*. *J Insect Physiol* 38:705–709. doi: 10.1016/0022-1910(92)90053-G  
884
- 885 Okada K, Mori M, Shimazaki K, Chuman T (1992b) Morphological studies on the antennal sensilla of  
886 the cigarette beetle, *Lasioderma serricorne* (F.) (Coleoptera: Anobiidae). *Appl Entomol Zool* 27:269–  
887 276. doi: <http://doi.org/10.1303/aez.27.269>  
888
- 889 Okada K, Watanabe A, Mori M, Shimazaki K, Nishi Y, Sato S (1993) Fine structure of antennal sex-  
890 pheromone-sensitive sensilla of the male cigarette beetle *Lasioderma serricorne* (Coleoptera:  
891 Anobiidae). *Appl Entomol Zool* 28:283–289. URL: <http://ci.nii.ac.jp/naid/110001105380/en/>  
892
- 893 Okada K, Fuchikawa T; Omae Y, Katsuki M (2013) Pre-copulatory sexual selection in the cigarette  
894 beetle *Lasioderma serricorne*. *Behav Ecol Sociobiol* 67:53–59. doi: 10.1007/s00265-012-1424-2

895

896 Omae Y, Fuchikawa T, Nakayama S, [Okada K](#), [Miyatake T](#), [Sasaki R](#), [Shinoda K](#) (2012) Life history  
897 and mating behavior of a black-bodied strain of the cigarette beetle *Lasioderma serricorne*  
898 (Coleoptera: Anobiidae). Appl Entomol Zool 47:157–163. doi: 10.1007/s13355-012-0103-0

899

900 Pant NC (1972) Physiology of symbiotes in insects. In: Pant NC, Ghais S (eds) Insect Physiology and  
901 Anatomy. Commonwealth Inst Entomol, London

902

903 Pant NC, Fraenkel G (1950) The function of the symbiotic yeasts of two insect species, *Lasioderma*  
904 *serricorne* F. and *Stegobium* (Sitodrepa) *paniceum* L. Science 112:498–500. doi:  
905 10.1126/science.112.2913.498

906

907 Papadopoulou SmCh (2006) Observations on the matting behavior of *Lasioderma serricorne* (F.)  
908 adults and experiments on their nutritional requirements in dried tobacco. The Coleopterists Bulletin,  
909 v. 6. N. 4, p. 291–296. URL: <http://www.jstor.org/stable/4009937>

910

911 Papadopoulou SmCh, Athanassiou CG (2004) *Lariophagus distinguendus* (F.) (Hyme., Chalcidoidea,  
912 Pteromalidae), an ectoparasitoid of *Lasioderma serricorne* (F.) (Col., Anobiidae), found for the first  
913 time in tobacco stores in Greece. J Pest Sci 77:183–184. doi: 10.1007/s10340-004-0052-7

914

915 Papadopoulou SmCh, Buchelos CTh (2002) Comparison of trapping efficacy for *Lasioderma*  
916 *serricorne* (F.) adults with electric, pheromone, food attractant and control-adhesive traps. J Stored  
917 Prod Res 38:375–383. doi: 10.1016/S0022-474X(01)00039-X

918

919 Pereira PRVS, Almeida LM (2001) Chaves para identificação dos principais Coleoptera (Insecta)  
920 associados com produtos armazenados. Rev Bras Zool 18:271–283. doi:  
921 <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-81752001000100031>

922

923 Pereira J, Schlindwein C, Antonini Y, Maia ACD, Dötterl S, Martins C, Navarro DMDAF, Oliveira R  
924 (2014) *Philodendron adamantinum* (Araceae) lures its single cyclocephaline scarab pollinator with  
925 specific dominant floral scent volatiles. Biol J Linn Soc 111:679–691. doi: 10.1111/bij.12232

926

927 Phoonan W, Deowanish S, Chavasiri W (2014) Food attractant from mulberry leaf tea and its main  
928 volatile compounds for the biocontrol of *Lasioderma serricorne* F. (Coleoptera: Anobiidae). J Stored  
929 Prod Res 59:299–305. doi: 10.1016/j.jspr.2014.09.004

930

- 931 Pickett JA, Wadhams LJ, Woodcock CM (1998) Insect supersense: mate and host location by insects  
932 as model systems for exploiting olfactory interactions. *The Biochemist* 20:8–13.  
933
- 934 Poderoso JCM, Correia-Oliveira ME, Vieira JM, Ribeiro GT, Ribeiro RC, Zanuncio JC (2013)  
935 *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Anobiidae): first record in dehydrated bee pollen in Sergipe State,  
936 Brazil. *Fla Entomol* 96:682–685. doi: 10.1653/024.096.0247  
937
- 938 Pons MJ, Cámara AG, Guri S, Riudavets J (2010) The use of carbon dioxide in big bags and  
939 containers for the control of pest in food products. *Julius-Kühn-Archiv* 425:414–418. doi:  
940 <http://dx.doi.org/10.5073/jka.2010.425.142>  
941
- 942 Ren YC, Dong Y, Zhang J, Qiu T, Yang MS (2015) Genetic transformation and expression detection  
943 of tobacco by using a multi-gene plant transformation vector. *J Anim Plant Sci (Special Issue)* 25:13–  
944 21. URL: <http://www.thejaps.org.pk/docs/v-25-03-special/03.pdf>  
945
- 946 Retief E, Nicholas A (1988) The cigarette beetle *Lasioderma serricorne* (F.) (Coleoptera: Anobiidae):  
947 a serious herbarium pest. *Bothalia* 18(1):97–99. doi: 10.4102/abc.v18i1.989  
948
- 949 Rijk TC, Dam RCJ, Zomer P, Boers EAM, Waard P, Mol HGJ (2013) Development and validation of  
950 a confirmative LC-MS/MS method for the determination of  $\beta$ -exotoxin thuringiensin in plant  
951 protection products and selected greenhouse crops. *Anal Bioanal Chem* 405:1631–1639. doi:  
952 10.1007/s00216-012-6591-5  
953
- 954 Riudavets J, Castañé C, Alomar O, Pons MJ, Gabarra R (2009) Modified atmosphere packaging  
955 (MAP) as na alternative measure for controlling ten pests that attack processed food products. *J Stored*  
956 *Prod Res* 45:91–96. doi: 10.1016/j.jspr.2008.10.001  
957
- 958 Riudavets J, Castañé C, Alomar O, Pons MJ, Gabarra R (2010) The use of carbon dioxide at highg  
959 pressure to control nine stored-product pests. *J Stored Prod Res* 46:228–233. doi:  
960 10.1016/j.jspr.2010.05.005  
961
- 962 Rumbos CI, Athanassiou CG (2012) Insecticidal effect of six entomopathogenic nematode strains  
963 against *Lasioderma serricorne* (F.) (Coleoptera: Anobiidae) and *Tribolium confusum* Jacquelin du Val  
964 (Coleoptera: Tenebrionidae). *J Stored Prod Res* 50:21–26. doi:10.1016/j.jspr.2012.02.003  
965



- 966 Saeed M, Khan SM, Shaid M (2007) Effective monitoring of cigarette beetle *Lasioderma serricorne*  
967 (F.) Coleoptera: Anobiidae in tobacco warehouses of NWFP Pakistan. *Sarhad J Agric* 23:123–128  
968
- 969 Sağlam Ö, Edde PA, Phillips TW (2015) Resistance of *Lasioderma serricorne* (Coleoptera:  
970 Anobiidae) to fumigation with phosphine. *J Econ Entomol* 108:2489–2495. URL:  
971 <http://www.bioone.org/doi/full/10.1093/jee/tov193>  
972
- 973 Sallam MN (2008) Insect damage: Post-harvest operations. AGSI/Food and Agricultural Organization  
974 of the United Nations: INPhO. [www.fao.org/3/a-av013e.pdf](http://www.fao.org/3/a-av013e.pdf). Accessed 25 May 2016  
975
- 976 Samuel R, Prabhu VKK, Narayanan CS (1984) Influence of spice essential oil on the life history of  
977 *Lasioderma serricorne* (F.). *Entomon* 9:209–215  
978
- 979 Saunders DG, Bret BL (1997) Fate of spinosad in the environment. *Down to Earth* 52:14–20.  
980
- 981 Shen SK, Dowd PF (1991) Detoxification spectrum of the cigarette beetle symbiont *Symbiotaphrina*  
982 *kochii* in culture. *Entomol Exp Appl* 60:51–59. doi: 10.1111/j.1570-7458.1991.tb01522.x  
983
- 984 Shinoda K, Fujisaki (2001) Effect of adult feeding on longevity and fecundity of the cigarette beetle,  
985 *Lasioderma serricorne* F. (Coleoptera: Anobiidae). *Appl Entomol Zool* 36:219–223. doi:  
986 10.1303/aez.2001.219  
987
- 988 Silva PHS, Oliveira JRP (1985) Ocorrência de *Lasioderma serricorne* em babaçu no Estado do Piauí.  
989 EMBRAPA (Comunicado Técnico) 32:1–2  
990
- 991 Simkin AJ, Underwood BA, Auldridge M, Loucas HM, Shibuya K, Schmelz E, Clark DG, Klee HJ  
992 (2004). Circadian regulation of the PhCCD1 carotenoid cleavage dioxygenase controls emission of  $\beta$ -  
993 ionone, a fragrance volatile of petunia flowers. *Plant Physiol* 136:3504–3514. doi:  
994 <http://dx.doi.org/10.1104/pp.104.049718>  
995
- 996 Stejskal V, Hubert J, Aulicky R, Kucerova Z (2015) Overview of present and past and pest-  
997 associated risks in stored food and feed products: European perspective. *J Stored Prod Res* 64:122–  
998 132. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jspr.2014.12.006>  
999
- 1000 Trematerra P (2012) Advances in the use of pheromones for stored-product protection. *J Pest Sci*  
1001 84:285–299. doi: 10.1007/s10340-011-0407-9

1002

1003 Tsuchiya S, Kasaishi Y, Harada H, Ichimatsu T, Saitoh H, Mizuki E, Ohba M (2002) Assessment of  
1004 the efficacy of Japanese *Bacillus thuringiensis* isolates against the cigarette beetle, *Lasioderma*  
1005 *serricornis* (Coleoptera: Anobiidae). J Invertebr Pathol 81:122–126. doi: 10.1016/S0022-  
1006 2011(02)00148-9

1007

1008 Ulrichs VC, Reichmuth C (1997) Einfluß physikalischer parameter auf die bekämpfung des  
1009 tabakiiifers *Lasioderma serricornis* Fab. (Col". Anobiidae) mit kohlenstoffdioxid unter hochdruck.  
1010 Anzeiger für Schädlingskunde 70:81–86

1011

1012 Wang CF, Yang K, You CX, Zhang WJ, Guo SS, Geng ZF, Du SS, Wang YY (2015) Chemical  
1013 composition and insecticidal activity of essential oils from *Zanthoxylum dissitum* leaves and roots  
1014 against three species of storage pests. Molecules 20:7990–9. doi: 10.3390/molecules20057990

1015

1016 Wang Y, You CX, Yang K, Wu Y, Chen R, Zhang WJ, Liu ZL, Du SS, Deng ZW, Geng ZF, Han J  
1017 (2015) Bioactivity of essential oil of *Zingiber purpureum* rhizomes and its main compounds against  
1018 two stored product insects. J Econ Entomol 108:925–932. doi:10.1093/jee/tov030

1019

1020 Wei S, Hannoufa A, Soroka J, Xu N, Li X, Zebarjadi A, Gruber M (2011) Enhanced  $\beta$ -ionone  
1021 emission in *Arabidopsis* over-expressing AtCCD1 reduces feeding damage in vivo by the crucifer flea  
1022 beetle. Environ Entomol 40:1622–1630. doi: <http://dx.doi.org/10.1603/EN11088>

1023

1024 Weizheng L, Yinyin F, Jingjing A, Qiong W, Xianru G, Meihao L, Guohui Y (2014) Screening of  
1025 plant-derived repellents against tobacco beetle, *Lasioderma serricornis* (Fabricius). Acta Tabacaria  
1026 Sinica 20:93–97. URL: <http://ycxb.tobacco.org.cn/EN/>

1027

1028 World Health Organization, Environmental Health Criteria Series 217 (1999) Microbial pest control  
1029 agent *Bacillus thuringiensis*. World Health Organization, Geneva. URL:  
1030 [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/42242/1/WHO\\_EHC\\_217.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/42242/1/WHO_EHC_217.pdf) Accessed 05 June 2016

1031

1032 Wu Y, Zhang WJ, Huang DY, Wang Y, Wei JY, Li ZH, Sun JS, Bai JF, Tian ZF, Du SS (2015a)  
1033 Chemical compositions and insecticidal activities of *Alpinia kwangsiensis* essential oil against  
1034 *Lasioderma serricornis*. Molecules 20:21939–21945. doi:10.3390/molecules201219818

1035

- 1036 Wu Y, Zhang WJ, Wang PJ, Yang K, Huang DY, Wei JY, Tian ZF, Bai JF, Du SS (2015b) Contact  
1037 toxicity and repellency of the essential oil of *Liriope muscari* (DECN.) Bailey against three insect  
1038 tobacco storage pests. *Molecules* 20:1676–1685. doi:10.3390/molecules20011676  
1039
- 1040 Yang K, Wang CF, You CX, Geng ZF, Sun RQ, Guo SS, Du SS, Liu ZL, Deng ZW (2014)  
1041 Bioactivity of essential oil of *Litsea cubeba* from China and its main compounds against two stored  
1042 product insects. *J Asia Pac Entomol* 17:459–466. doi:10.1016/j.aspen.2014.03.011  
1043
- 1044 Yang K, Guo SS, Geng ZF, Du SS, Wang CF, Deng ZW (2015a) Chemical composition and  
1045 bioactivity of essential oil of *Atalantia guillauminii* against three species stored product insects. *J Oleo*  
1046 *Sci* 64:1101–9. doi: 10.5650/jos.ess15135  
1047
- 1048 Yang K, Guo SS, Geng ZF, Du SS, Wang CF, Deng ZW (2015b) Contact toxicity and repellency of  
1049 the essential oil of *Dictamnus dasycarpus* Roots from China against two stored-product insects. *Chem*  
1050 *Biodivers* 12:980–6. doi: 10.1002/cbdv.201400262.  
1051
- 1052 You C, Wang Y, Zhang W, Yang K, Wu Y, Geng, ZF, Chen HP, Jiang HY, Du SS, Deng ZW, Liu ZL  
1053 (2014) Chemical constituents and biological activities of the Purple Perilla essential oil against  
1054 *Lasioderma serricorne*. *Ind Crops Prod* 61:331–337. doi: 10.1016/j.indcrop.2014.07.021  
1055
- 1056 You CX, Jiang HY, Zhang WJ, Guo SS, Yang K, Lei N, Ma P, Geng ZF, Du SS (2015) Contact  
1057 toxicity and repellency of the main components from the essential oil of  
1058 *Clausena anisum-olens* against two stored product insects. *J Insect Sci.* 15(1):87. doi:  
1059 10.1093/jisesa/iev071  
1060
- 1061 Yu C, Subramanyam B, Hou X, Flinn PW, Gwirtz JA (2010) Ground, pelleted poultry feed: an  
1062 optimal diet for the cigarette beetle, *Lasioderma serricorne* (F.) (Coleoptera: Anobiidae). *Research*  
1063 *Kernels – Center for Grain and Animal Health Research*. URL:  
1064 <https://www.ars.usda.gov/SP2UserFiles/Place/30200000/RK05-2010.pdf> Accessed 25 May 2016.  
1065
- 1066 Yu C, Subramanyam B, Flinn PW, Gwirtz JA (2011) Susceptibility of *Lasioderma serricorne*  
1067 (Coleoptera: Anobiidae) life stages to elevated temperatures used during structural heat treatments. *J*  
1068 *Econ Entomol* 104:317–324. doi: 10.1603/EC10067  
1069

- 1070 Zanoncio JC, Tavares WS, D'Antonio-Faroni LR, Wilcken CF, Serrão JE (2014) *Lasioderma*  
1071 *serricorne* (Coleoptera: Anobiidae) in stored *Matricaria recutita* (Asteraceae) in Brazil. Fla Entomol  
1072 97:807–808. URL: <http://journals.fcla.edu/flaent/article/view/83233/80100>  
1073
- 1074 Zhang WJ, Jiang FB, Ou JF (2011) Global pesticide consumption and pollution: with China as a focus.  
1075 In: Proceedings of the International Academy of Ecology and Environmental Sciences 1:125–144.  
1076 URL: [http://www.iaees.org/publications/journals/piaees/articles/2011-1\(2\)/Global-pesticide-](http://www.iaees.org/publications/journals/piaees/articles/2011-1(2)/Global-pesticide-consumption-pollution.pdf)  
1077 [consumption-pollution.pdf](http://www.iaees.org/publications/journals/piaees/articles/2011-1(2)/Global-pesticide-consumption-pollution.pdf)  
1078
- 1079 Zhang WJ, Yang K, You CX, Wang CF, Geng ZF, Su Y, Wang Y, Du SS, Deng ZW (2015) Contact  
1080 toxicity and repellency of the essential oil from *Mentha haplocalyx* Briq. against *Lasioderma*  
1081 *serricorne*. Chem Biodivers 12:832–839. doi: 10.1002/cbdv.20140024

**Table 1** Constituents of the *L. serricornis* sex pheromone.

Constituent	Chemical structure	Compound name
Serricornin		(4 <i>S</i> ,6 <i>S</i> ,7 <i>S</i> )-4,6-dimethyl-7-hydroxynonan-3-one
Anhydroserricornin		2,6-diethyl-3,5-dimethyl-3,4-dihydro-2H-pyran
Serricorone		(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )-2,3-dihydro-3,5-dimethyl-2-ethyl-6-(1-methyl-2-oxobutyl)-4H-pyran-4-one
Serricorole		(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> )-2,3-dihydro-3,5-dimethyl-2-ethyl-6-(1-methyl-2-hydroxybutyl)-4H-pyran-4-one

**Table 2** Plants with toxicity against *L. serricorne*

Plant	Family	Part used	Extract type	Active compounds	Country of origin	Toxicity	Reference
<i>Acorus calamus</i> var. <i>angustatus</i> Besser	Araceae	Rhizome	Methanolic		South Korea	Contact	Kim et al. 2003
<i>Agastache rugosa</i> O. Kuntze	Lamiaceae	Whole plant	Methanolic		South Korea	Contact	Kim et al. 2003
<i>Alpinia kwangsiensis</i>	Zingiberaceae	Rhizome	Essential oil	Camphor, eucalyptol, $\alpha$ -pinene and $\beta$ -pinene	China	Contact and fumigant	Wu et al. 2015a
<i>Alpinia officinarum</i>	Zingiberaceae	Rhizome	Essential oil		China	Contact	Lü and Ma 2015
<i>Atalantia guillauminii</i>	Rutaceae	Leaves	Essential oil		China	Contact and fumigant	Yang et al. 2015a
<i>Brassica juncea</i> (L.) Czern et Cosson	Cruciferae		Essential oil		South Korea	Contact and fumigant	Kim et al. 2003
<i>Cinnamomum cassia</i> Presl	Lauraceae		Essential oil		South Korea	Contact and fumigant	Kim et al. 2003
<i>Clausena anisum-olens</i> (Blanco) Merr.	Rutaceae	Leaves	Essential oil	Myristicin and p-cymene-8-ol	China	Contact	You et al. 2015
<i>Cochleria aroracia</i> Linne	Cruciferae		Essential oil		South Korea	Contact and fumigant	Kim et al. 2003
<i>Dictamnus dasycarpus</i>	Rutaceae	Roots	Essential oil		China	Contact	Yang et al. 2015b

<i>Elsholtzia stauntonii</i> Benth	Lamiaceae	Hole flowering plant	Soxhlet extract		China	Fumigant	Lü et al. 2012
<i>Foeniculum vulgare</i> Miller	Apiaceae	Fruit	Methanolic		South Korea	Contact and fumigant	Kim et al. 2003
<i>Illicium verum</i> Hooker	Magnoliaceae	Fruit	Methanolic		South Korea	Contact	Kim et al. 2003
<i>Liriope muscari</i>	Liliaceae	Aerial parts	Essential oil		China	Contact	Wu et al. 2015b
<i>Litsea cubeba</i> (Lour.) Pers.	Lauraceae	Fruits	Essential oil	Citral and linalool	China	Contact and fumigant	Yang et al. 2014
<i>Mentha haplocalyx</i> Briq	Labiatae	Aerial parts	Essential oil	Menthol, menthyl acetate, and limonene	China	Contact	Zhang et al. 2015
<i>Myristica fragrans</i>	Myristicaceae	Seeds	Essential oil	Elemicin	China	Contact	Du et al. 2014
<i>Perilla frutescens</i> (L.) Britt.	Labiatae	Aerial parts	Essential oil	Carvone, perilla aldehyde, and 2-furyl methyl ketone	China	Contact and fumigant	You et al. 2014
<i>Zanthoxylum dissitum</i>	Rutaceae	Leaves and roots	Essential oil		China	Contact and fumigant	Wang et al. 2015a
<i>Zingiber purpureum</i> Roscoe	Zingiberaceae	Rhizomes	Essential oil	Terpinen-4-ol	China	Contact and fumigant	Wang et al. 2015b

---

**Table 3** Plants with repellent activity against *L. serricorne*.

Repellent plant	Family	Part Used	Extract Type	Active compound	Country of origin	Reference
<i>Acalypha hispida</i>	Euphorbiaceae	Leaves	Fresh and dried material		India	Ambadkar and Khan 1994
<i>Alpinia officinarum</i>	Zingiberaceae	Rhizome	Essential oil		China	Lü and Ma 2015
<i>Atalantia guillauminii</i>	Rutaceae	Leaves	Essential oil		China	Yang et al. 2015a
<i>Cinnamomum casia</i>	Lauraceae	Casca	Essential oil; peel powder	Cinnamaldehyde	Japan; China	Hori 2003; Weizheng et al. 2014
<i>Clausena anisum-olens</i> (Blanco) Merr.	Rutaceae	Leaves	Essential oil	Myristicin and p-cymene-8-ol	China	You et al. 2015
<i>Coleus barbatus</i>	Lamiaceae	Leaves	Fresh and dried material; crude extract		India	Ambadkar and Khan 1989; Ambadkar and Khan 1994
<i>Datura matel</i>	Solanaceae	Leaves	Crude extract		India	Ambadkar and Khan 1989
<i>Dictamnus dasycarpus</i>	Rutaceae	Roots	Essential oil		China	Yang et al. 2015b
<i>Euphorbia neriifolia</i>	Euphorbiaceae	Leaves	Fresh and dried material		India	Ambadkar and Khan 1994
<i>Liriope muscari</i>	Liliaceae	Aerial parts	Essential oil		China	Wu et al. 2015b
<i>Litsea cubeba</i>	Lauraceae	Fruit	Essential oil	Citral, D-limonene and linalool	Japan and China	Hori 2003; Yang et al. 2014



<i>Mentha haplocalyx</i>	Labiatae	Aerial parts	Essential oil	Menthol, menthyl acetate and limonene	China	Zhang et al. 2015
<i>Mentha piperita</i>	Labiatae	Leaves	Essential oil	(2)-Menthol	Japan	Hori 2003
<i>Myristica fragrans</i>	Myristicaceae	Seeds	Essential oil	Eugenol, methyleugenol, elemicin and myristicin	China	Du et al. 2014
<i>Perilla frutescens</i>	Labiatae	Leaves and aerial parts	Essential oil	Carvone, perilla aldehyde, and 2-furyl methyl ketone	Japan	Hori 2003; You et al. 2014
<i>Rauwolfia canescens</i>	Apocynaceae	Leaves	Fresh and dried material		India	Ambadkar and Khan 1994
<i>Satureja hortensis</i>	Labiatae	Spike	Essential oil	Carvacrol	Japan	Hori 2003
<i>Syringa oblata</i>	Oleaceae	Bud	Powder		China	Weizheng et al. 2014
<i>Tamarindus indica</i>	Fabaceae	Leaves	Fresh and dried material		India	Ambadkar and Khan 1994
<i>Tecoma stans</i>	Bignoniaceae	Leaves	Crude extract		India	Ambadkar and Khan 1989
<i>Thymus vulagris</i>	Labiatae	Leaves, stalk, flowers,	Essential oil	Thymol	Japan	Hori 2003
<i>Vinca rósea</i>	Apocynaceae	Leaves	Fresh and dried material; crude		India	Ambadkar and Khan 1989; Ambadkar and Khan 1994

			extract			
<i>Vitex negundo</i>	Lamiaceae	Leaves	Crude extract		India	Ambadkar and Khan 1989
<i>Zingiber purpureum</i> Roscoe	Zingiberaceae	Rhizomes	Essential oil	Terpinen-4-ol	China	Wang et al. 2015b

---





**CAPÍTULO II. IDENTIFICATION OF KAIROMONES IN STORED SOYBEANS  
(*Glycine max*) FOR *Lasioderma serricorne* (FABRICIUS, 1792) (COLEOPTERA:  
ANOBIIDAE)**

Artigo de pesquisa original submetido à revista *Pest Management Science*, ISSN: 1526-4998,  
Qualis B1 na área Biotecnologia.

09/11/2017

ScholarOne Manuscripts

 Pest Management Science

 Home

 Author

 Review

## Submission Confirmation

 Print

---

Thank you for your submission

---

**Submitted to**  
Pest Management Science

**Manuscript ID**  
PM-17-0779

**Title**  
Identification of kairomones from stored soybeans, *Glycine max*, for the cigarette beetle, *Lasioderma serricorne* (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Anobiidae)

**Authors**  
Silva, Ana Paula  
Goulart, Henrique  
Martins, Joeferson  
Silveira, Talita  
Ferez, Chrystian  
Vaz, Janeilda  
Santos, Larissa  
Sant'Ana, Antonio Euzebio

**Date Submitted**  
09-Nov-2017

---

---

Author Dashboard



**Identification of kairomones from stored soybeans, *Glycine max*, for the cigarette beetle, *Lasioderma serricorne* (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Anobiidae)**

Journal:	<i>Pest Management Science</i>
Manuscript ID	Draft
Wiley - Manuscript type:	Research Article
Date Submitted by the Author:	n/a
Complete List of Authors:	Silva, Ana Paula; Universidade Federal de Alagoas, Instituto de Química e Biotecnologia Goulart, Henrique; Universidade Federal de Alagoas, Centro de Ciências Agrárias Martins, Joeferson; Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia, IFAL-Sede Silveira, Talita; Universidade Federal de Alagoas, Instituto de Química e Biotecnologia Ferez, Chrystian; Universidade Federal de Alagoas, Centro de Ciências Agrárias Vaz, Janeilda; Universidade Federal de Alagoas, Instituto de Química e Biotecnologia Santos, Larissa; Universidade Federal de Alagoas, Instituto de Química e Biotecnologia Sant'Ana, Antonio Euzebio; Universidade Federal de Alagoas, Centro de Ciências Agrárias
Key Words:	semiochemicals, Coleoptera, Anobiidae, soybean, pest monitoring, integrated pest management (IPM)

SCHOLARONE™  
Manuscripts

**Identification of kairomones from stored soybeans, *Glycine max*, for the cigarette beetle, *Lasioderma serricorne* (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Anobiidae)**

**Soybeans seeds kairomones for the cigarette beetle, *L. serricorne***

**Ana PO da Silva,<sup>a,\*</sup> Henrique F Goulart,<sup>b</sup> Joeferson R Martins,<sup>c</sup> Talita A da Silveira,<sup>a</sup> Chrystian IMA Ferez,<sup>b</sup> Janeilda C Vaz,<sup>a</sup> Larissa C dos Santos<sup>a</sup> and Antônio EG Santana<sup>b</sup>**

\* Correspondence to: Ana PO Silva, Federal University of Alagoas (UFAL), Chemistry and Biotechnology Institute, Av. Lourival Melo Mota, s/n, postcode 57072-900, Maceió, Alagoas State, Brazil. E-mail: anapaulaoliveira@iqb.ufal.br

a Federal University of Alagoas, Chemistry and Biotechnology Institute, Maceió - AL, Brazil.

b Federal University of Alagoas, Agricultural Sciences Center, Rio Largo - AL, Brazil.

c Federal Institute of Education, Science and Technology of Alagoas, Maceió – AL, Brazil.

E-mail addresses:

Henrique F Goulart: fonsecagoulart@gmail.com

Joeferson R Martins: joefersonreis@yahoo.com.br

Talita A Silveira: talitaasilveira@gmail.com

Chrystian IMA Ferez: c.iezid@gmail.com

Janeilda C Vaz: janeilda@hotmail.com

Larissa C dos Santos: larissacavalcante.s@hotmail.com

Antonio EG Santana: aegs@qui.ufal.br



## Abstract

**BACKGROUND:** *Lasioderma serricorne* is a serious cosmopolitan pest of stored products. The purpose of this research was to prospect attractive semiochemicals from stored soybeans seeds used in the host location by this pest.

**RESULTS:** Seeds of three different soybeans cultivated in Brazil were attractive in 4-arm olfactometer bioassays. Five volatile compounds from the soybeans seeds headspace were electrophysiologically active with the *L. serricorne* antennae: 1-octen-3-ol, 1-nonanol, linalool, limonene and 3-octanol. Synthetic compounds were tested in 4-arm olfactometer bioassays, and *L. serricorne* showed a significant response to 1-octen-3-ol, 1-nonanol, linalool and 3-octanol and a synthetic blend of these four compounds. Attraction to the synthetic blend was comparable to that for the stored soybean samples.

**CONCLUSION:** The semiochemicals identified were shown to be applicable as food attractants in monitoring tools, within IPM strategies against *L. serricorne* in and around storage environments.

**Keywords:** semiochemicals; Coleoptera; Anobiidae; soybean; pest monitoring; integrated pest management (IPM).

## 1 INTRODUCTION

*Lasioderma serricorne* (F.) (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Anobiidae) is a cosmopolitan insect commonly known as the tobacco beetle, being considered the most significant pest affecting tobacco and its derived products such as cigarettes and cigars.<sup>1</sup> However, this species has been reported as attacking a wide range of stored agricultural products.<sup>1,2</sup> In Brazil, *L. serricorne* has already been reported as attacking stored fruit, animal feed, and dehydrated natural products.<sup>3-6</sup> However, it is the major potential for the development of *L. serricorne* in stored soybeans that has aroused concern on the part of Brazilian researchers and producers.<sup>7,8</sup>

The control of infestations by this and other pests affecting stored grain in Brazil has been done mainly through using insecticides, and especially by fumigation with the use of phosphine and carbon dioxide. However, the fact is that some strains of *L. serricorne* have

developed resistance to fumigation with phosphine, which could be linked to the constant exposure to the pesticide, as also the inadequate use of this technique<sup>9,10</sup> For the sensible use of insecticides, and hence for the reduction of the impact of such insecticides on nature and on human health, it is essential to make use of quick and efficient monitoring techniques, as also the integrated use of physical and biological methods for pest control, thereby ensuring the maintenance of the integrity and the quality of the products stored.

Several papers report on the use of traps with the sexual pheromone of *L. serricorne* to monitor this pest in different stored products.<sup>11-13</sup> In adult specimens of *L. serricorne*, like in most Coleoptera (beetles), the female is responsible for releasing the sexual pheromones, which attract and encourage coupling and mating behaviour in males.<sup>14,15</sup>

In nature, the volatile organic compounds of host plants are chemical cues about where to find food, shelter, and sites for laying of eggs by the pest insects, thus attracting specimens from both sexes.<sup>16,17</sup> In integrated pest management (IPM), the application of these VOCs associated with pheromones in traps could have a synergic action, thereby improving the ability to attract and capture insects.<sup>18-20</sup> Some attractive foods have been described for the case of *L. serricorne*, such as plant-derived volatiles present in *Capsicum* spp, mulberry leaf tea and its main attractant volatile,  $\beta$ -ionone, cured tobacco leaves and toasted coffee meal.<sup>21-24</sup>

The objective of this study was to identify volatile organic compounds released by soybeans seeds cultivated in Brazil that show attractiveness for adult *L. serricorne* beetles, in order to promote the prospection of natural compounds with the potential for application as food attractants in the integrated management of this pest.

## 2 MATERIALS AND METHODS

### 2.1 Insects

*Lasioderma serricorne* was obtained from a culture at the Natural Resources Research Laboratory at the Federal University of Alagoas, Brazil. The insects were kept in crushed soybeans or in a mixture of wheat flour and soy flour, in a BOD-type chamber at a temperature of  $30 \pm 2^\circ\text{C}$ , relative humidity of  $60 \pm 10\%$  and photoperiod of 12:12 (L:D). For bioassays, adult insects aged up to 10 days were used, and these were kept unfed for 24 hours in the run-up to the tests. The insects were sexed after the bioassays through observation, with the use of a stereomicroscope, of a V-shaped apodeme around the females' genitalia.<sup>25</sup> The identification of the insects was confirmed at the Department of Entomology and Acarology

of the 'Luiz de Queiroz' Agricultural College (ESALQ), part of the University of São Paulo (USP).

## **2.2 Plant material**

Brazilian conventional organic soybeans seeds (SB1) were purchased at commercial outlets in the city of Maceió, Alagoas State, Brazil. Soybeans seeds of the EMBRAPA BRS284 conventional cultivar (SB2) and BRS360RR transgenic cultivar (SB3) were supplied by the Brazilian Agricultural Research Corporation (EMBRAPA); both these cultivars are from the 2014 crop and the result of traditional cultivation. The seeds were cleaned manually, and then cooled at -20 °C for 3 hours.<sup>26</sup> The material was kept in hermetically sealed plastic jars under refrigeration, until the moment of use.

## **2.3 Collection of volatile compounds from soybeans**

The volatile organic compounds were obtained through the dynamic collection of the headspace of crushed soybeans, making use of Porapak Q<sup>®</sup> adsorbent (80/100 mesh, 50 mg, Supelco). Three repeats of 80 g of soybeans of each type were then crushed, after which they were placed in 100 mL glass jars with two openings for circulation of air. The dynamic collection of the headspace fraction<sup>27</sup> was made during 7 days, using the injection of air filtered with activated charcoal at a flow rate of 1000 mL min<sup>-1</sup>, which was pumped out of the system under this same flow, after passing through the Porapak Q tube.<sup>28</sup> After this period, the volatile organic compounds retained in the Porapak Q tubes were desorbed using bidistilled HPLC hexane (0.5 mL). Each of these solutions was then stored in 2 mL glass vials cooled to a temperature of -20 °C, until used.

## **2.4 Olfactometer bioassays**

The behavioural response of *L. serricornis* to the volatile elements of soybeans was appraised through bioassays using a four-arm olfactometer<sup>29</sup>, under diffuse yet uniform lighting and at a temperature of 24 °C. Each olfactometer consisted of 3 superimposed layers, making an exposure chamber in the shape of a four-pointed star, at the base of which a layer of filter paper was added, to make the insect's movement easier. Each point had an opening where a glass tube, containing a stimulus or a control, was connected. The stimulus was introduced to the chamber in one arm only, with the other three arms acting as controls,<sup>30,31</sup> namely: 50 g of soybeans (control: empty jars); 10 µL of headspace samples collected from soy seeds applied

to a filter paper strip (control: 10  $\mu\text{L}$  of bidistilled HPLC hexane on filter paper), 10  $\mu\text{L}$  of the synthetic standards, in a solution prepared at a concentration close to that found on the headspace samples, applied to filter paper (control: 10  $\mu\text{L}$  of bidistilled HPLC hexane on filter paper).

The air placed in the olfactometer was first filtered with activated charcoal, and then pumped into the system at a flow rate of approximately  $100 \text{ mL min}^{-1}$  on each arm, at the same time being pumped out of the olfactometer through the central opening at the upper face of the chamber, at a flow rate of  $400 \text{ mL min}^{-1}$ .

The specimens used were 12 males and 12 females of *L. serricorne*, aged up to 10 days old. After each bioassay, a new insect was used, as well as a new source of stimulus and a new olfactometer. The insect was introduced through a high opening in the centre of the olfactometer, and a period of 2 minutes was allowed so that the insect could get used to the environment. Next, the position of the insect was registered for 16 minutes. The insects that did not make at least 3 entries in the first 2 minutes of the bioassay were considered inactive and then replaced. Every 4 minutes, the apparatus was turned clockwise by  $90^\circ$ , to eliminate any directional bias. After each bioassay, all parts of the olfactometer was washed with an aqueous solution of neutral detergent, rinsed with ethanol and distilled water, then air dried. The glass ware was washed with an aqueous solution of neutral detergent, rinsed with ethanol and distilled water, then dried in an oven at  $150^\circ\text{C}$  for at least 2 h. The time spent and the number of entries made by the insect in each arm of the olfactometer were recorded, using the Olfa software (Udine, Italy).

## **2.5 Analysis by coupled Gas Chromatography - Electroantennography (GC-EAG)**

For the analyses using GC-EAG, heads of adult specimens of *L. serricorne* were excised using a scalpel and with the aid of a stereomicroscope which magnifies 40x. The base of the head was connected to a glass capillary tube containing saline solution, which was connected to a microcapillary and neutral Ag-AgCl electrode, while the distal tip of one of the antennae was connected, under the same conditions, to the registering electrode, with the aid of Syntech micromanipulators and stereomicroscope. Next, this material was positioned close to a constant purified and humidified airstream ( $10 \text{ mL s}^{-1}$ ), into which there was the addition of stimuli arising from the GC effluent. The separation of the compounds of the samples took place in a Shimadzu 2010 GC unit, equipped with a Flame Ionization Detector (FID) and a Restek RTX-5 capillary column (30 m x 0.25 mm i.d. x 0.25  $\mu\text{m}$  film thickness), operated in

splitless mode (250 °C) according to the following temperature program: initial temperature of 50 °C for 5 min, with an increase of 8 °C min<sup>-1</sup> until a temperature of 220 °C is reached. This temperature must be maintained for 5 minutes. The hydrogen was the carrier gas with a flow of 1.31 mL s<sup>-1</sup>. The amplified responses of the antenna were recorded simultaneously to the FID signals, by specialised software (GcEAD, Syntech, The Netherlands). The only peaks to be taken as electrophysiologically active were the FID peaks that brought a response from the antenna with 3 or more repetitions. A homologous series of n-alkanes (Sigma-Aldrich C7-C30) was injected (1 µL) under the same chromatographic conditions as applied to the extracts, to calculate the Linear Retention Index (LRI) of the sample compounds, including active FID-EAG peaks. The amounts of FID-EAG active compounds was determined by the internal standard method (with eicosane as internal standard) in GC-FID, under the same conditions as described above.

## **2.6 Analysis by coupled Gas-Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)**

The electrophysiologically active FID peaks released by the soybeans were identified by GC-MS in a GCMS-QP2010 Ultra Shimadzu equipment. The separation of the compounds occurred in a NST-05 capillary column (30 m x 0.25 mm i.d. x 0.25 µm of film thickness, Nano Separation Technology<sup>®</sup>). The starting oven temperature was 30 °C, left during 5 minutes, and then subjected to a heating ramp to 250 °C at 5 °C min<sup>-1</sup>, held for 5 minutes. A portion with 1 µL of the extracts was injected, in splitless mode. The mass spectrometer operated with ionization through electron impact, at 70 eV, trap temperature of 250 °C and mass scanning from 35 to 400 m/z. The identification of active FID-EAG peaks was made by comparison of their mass spectra with the NIST08 database and also by comparing with synthetic standards injected under the same conditions as the analyses made above.

## **2.7 Synthetic Compounds**

The standard compounds 1-octen-3-ol (98% pure), 1-nonanol (98%) and 3-octanol (97%) were acquired from Sigma-Aldrich, while linalool (97%) and limonene (97%) were acquired from Acrós Organics.

## **2.8 Statistical analysis**

For behaviour-based bioassays, the experimental design was fully casual, with an experimental arrangement in a factorial scheme of the 2 x 2 type, in which the factors were

the sources of volatiles (treatment extract vs control solvent) and genders (male and female). Data on the time during which the insect has remained in each arm of the olfactometer, in minutes, were tabulated and then subjected to analysis of variance (ANOVA), after confirmation of the normal distribution thereof, using the Anderson-Darling test. The means were compared by Scott Knott test, with a confidence interval of 95% (ActionStat<sup>®</sup> statistical software).

### 3 RESULTS

#### 3.1 Behavioural responses by *L. serricorne* for soybeans and their extracts

In preliminary tests, no significant differences were observed in the time spent by adults *L. serricorne* in the four arms of the olfactometer when hexane was the control treatment (Table 1). On the other hand, *L. serricorne* adults spent significantly more time in the olfactometer arm containing the soybeans (Table 1), without any differences having been detected between the responses for the two genders.

In response to the soybeans headspace volatiles, the adult *L. serricorne* also spent more time in the region of the treated arms (Table 2). However, the difference between the time spent in the treated and control arms was not statistically significant in the case of the SB1 headspace extract.

#### 3.2 Identification of electrophysiologically active compounds in air entrainment extracts

Analyses conducted by GC-EAG have shown 5 different active compounds in the samples of headspace of soybeans. Based on the analysis of mass spectra obtained on GC-MS, the Linear Retention Indices (LRI) and also through the comparison with synthetic standards, the active FID-EAG peaks were identified as: 1-octen-3-ol, 3-octanol, linalool, 1-nonanol and limonene (Table 3).

#### 3.3 Behavioural responses of *L. serricorne* to synthetic compounds

In olfactometer bioassays, the synthetic compounds were tested at concentrations close to those found in the extracts obtained by extraction of soybeans, and some of them elicited different responses between males and females, when tested alone (Figure 1). Indeed, 1-octen-3-ol at 5  $\mu\text{g mL}^{-1}$  was significantly attractive to males ( $P = 0.016$ ), while females were indifferent to this compound. Females showed significant responses to 1-nonanol at 5  $\mu\text{g mL}^{-1}$  ( $P = 0.042$ ), and also to linalool at 2  $\mu\text{g mL}^{-1}$  ( $P = 0.029$ ). In contrast, 3-octanol at 0.2  $\mu\text{g mL}^{-1}$

attracted both males and females ( $P = 0.001$ ), which was not the case with regard to limonene at  $6 \mu\text{g mL}^{-1}$  ( $P = 0.120$ ).

When the attractive synthetic compounds (1-octen-3-ol, 1-nonanol, linalool and 3-octanol) were combined in a blend with the same concentrations at which they were tested alone, males and females spent significantly more time in the treated arm of the olfactometer ( $P < 0.001$ ) (Figure 1).

#### 4 DISCUSSION

The results obtained in the bioassays show that the volatiles released by the soybeans were significantly attractive to *L. serricornis*. The behavioural response of *L. serricornis* adults to these extracts did not depend on gender, showing that, just like other phytophagous insects, the studied species makes use of plant volatiles in the search for food and for oviposition sites.<sup>32-34</sup> The VOCs present in the headspace of soybeans also show themselves to be strongly attractive to mated females of *Callosobruchus maculatus*, especially 2-ethylhexanol.<sup>35</sup> Other Coleoptera pests attacking stored products, of the genus *Sitophilus*, also use the cereal volatiles for the host location, normally being more attracted by mixtures of these VOCs rather than by single compounds.<sup>28,36</sup>

The analyses of the air entrainment extracts by GC-FID and GC-MS have shown some differences between the profiles of those volatiles released by the three types of soybeans studied here. The chemical composition of the soybeans may differ between conventional and transgenic varieties, as also between batches arising from different systems of cultivation: traditional or organic.<sup>37</sup> The stage of maturity of the soybeans is another factor that could have an effect on the release of volatile compounds, both qualitatively and quantitatively.<sup>38</sup>

The emission of VOCs by seeds is related to lipid peroxidation reactions, as also to alcoholic fermentation and Maillard reactions which take place during the maturation of the soybeans, where there is a degradation of the reserves stored in the cells of the seeds, such as carbohydrates and polyunsaturated fatty acids.<sup>39</sup> The initial products obtained from the peroxidation of linoleic acid and other polyunsaturated lipids through the catalytic action of lipoxygenase, released during the crushing of the beans when preparing the samples, may be later degraded through the action of hydroperoxide liases in several C-6 and C-9 products, such as aldehydes, ketones and alcohols<sup>38</sup>. Studies show that seeds of different species have their own profile of volatile emissions, and that the concentration of the compounds increases according to the storage time<sup>39</sup>. This set of volatiles shows the physiological changes of the

seeds themselves, but also has an influence on complex ecological interactions between plants and animals, within the environment.<sup>40,41</sup>

The analysis of the electroantennographic responses of *L. serricorne* to the aeration extracts of the soybeans of the types of soy here appraised has shown that most of the active EAG compounds are alcohols: 1-octen-3-ol, found in the extracts of the three types of soybeans; 1-nonanol, found in SB2 and SB3 soybeans, linalool in SB3 soybeans, and 3-octanol in SB1 soybeans. As for 1-octen-3-ol, it was found in the headspace of soybeans, and has already been described as an indicator of the maturity of these seeds, and may be enzymatically formed also during the processes of soaking and grinding of the beans.<sup>38,42</sup> In this study, we see that 1-octen-3-ol only attracted the males of *L. serricorne*, while the females showed indifference. A dose of 1 µL of 1-octen-3-ol could repel the females of *L. serricorne*,<sup>43</sup> while a dose of 27.7 µL L<sub>(air)</sub><sup>-1</sup> was the LD<sub>50</sub> of this alcohol, for adults of *Sitophilus zeamais*.<sup>44</sup> However, previous studies have suggested 1-octen-3-ol as a potential attractant for use in the management of important stored products pests, such as the coleopterans *Oryzaephilus mercator*, *Cryptolestes ferrugineus* and *C. pusillus*, also being described as an aggregation pheromone for *Ahasverus advena*.<sup>45,46</sup>

The females of *L. serricorne* were significantly attracted by 1-nonanol, which has already been used as an attractant in semiochemical formulations for beetles of the species *Macrodactylus subspinosus* (Coleoptera: Scarabaeidae), a pest that attacks ornamental plants and fruits in the field.<sup>47</sup> Linalool has also proved attractive to females of *L. serricorne*. This monoterpenic alcohol, which is an important component of the floral bouquet of several species, is biosynthesised from the precursor geranyl diphosphate, which comes from the pyruvate route.<sup>48</sup> However, linalool can be produced in non-floral tissues of plants, and has also been described as part of the composition of the essential oil of seeds of *Zanthoxylum alatum* Roxb., Rutaceae.<sup>48</sup> Soy plants release linalool when attacked by the soy aphid, *Aphis glycines* M. (Hemiptera: Aphididae), as a defense response to herbivory.<sup>49</sup> Linalool, like limonene, has already been used in attractive floral mixtures in traps for the management of *Bruchus rufimanus* B. (Coleoptera: Chrysomelidae), an economically important pest that attacks beans in the field, in countries of Europe, Asia, North America and Africa.<sup>19</sup>

Males and females of *L. serricorne* were attracted by 3-octanol identified among the volatiles released by SB1 seeds, even with the compound having been tested at a lower concentration in this work, in agreement with a previous study with *L. serricorne*.<sup>43</sup> A similar pattern of behaviour was observed among females of *C. maculatus*, who were attracted by the



3-octanol emitted by the seeds of *Lathyrus sativus* L.<sup>50</sup> The females of *Aulacophora foveicollis* (Coleoptera: Chrysomelidae) also use the 3-octanol released by the leaves of *Momordica cochinchinensis* (Cucurbitaceae) as a chemical cue in host location. The fact is that 3-octanol has already been identified in the headspace of soybeans in previous studies.<sup>38,51</sup> Several authors have established a link between an increase in emissions of 3-octanol, as also of 1-octen-3-ol, by grains of cereals and other plants, and fungal contamination, especially those of the genera *Aspergillus* and *Penicillium*.<sup>44,52,53</sup> For this reason, 3-octanol have being described as a fungal semiochemical which attracts the coleopterans *O. surinamensis*, *O. mercator*, *C.ferrugineus* and *A. advena*, within the scope of stored products.<sup>54</sup> (R)-3-octanol has also been described as the sexual pheromone of *Myrmica scabrinodis* ants, while its enantiomer (S)-3-octanol acts as an alarm pheromone for ants of the *Crematogaster castanea* and *C. liengmei* species.<sup>55</sup>

Limonene has already been found in the headspace for soybeans<sup>51</sup> and, despite the recording of the electroantennographic response for this terpene in the SB1 aeration extract, there has been no significant attraction of adults *L. serricornis* to the synthetic compound in the olfactometer bioassay, as also observed in a previous study.<sup>43</sup> We may therefore conclude that this compound is not in fact crucial for the response observed, for the soybeans. Other compounds have been found in extracts of soybeans in this study, but have not elicited the electrophysiological response in *L. serricornis* antennae; these include 1-hexanol, 2-hexanol, 1-heptanol,  $\gamma$ -hexalactone, 2-hexanone, 3-hexanone, 2-heptanone, 3-octanone, 3-octen-2-one, 3,5 octadien-2-one, nonanal, ethylbenzene, naphthalene and toluene, which have been described in previous study papers.<sup>38,49,51,56</sup>

The behavioural response of *L. serricornis* to the 4-component synthetic blend, that comprised only the attractive identified compounds 1-octen-3-ol, 1-nonanol, linalool and 3-octanol, at concentrations similar to those found in the samples, was considerably stronger than that observed for the same compounds, when presented in isolation. Several studies have reached the conclusion that the insects used more than one semiochemical in their search for resources.<sup>19,28,31,33</sup> The strategy observed in *L. serricornis* for the host location is random search carried out by a pioneer individual, which attracts conspecifics through the release of pheromones.<sup>57</sup> Our results show that *L. serricornis* adults make use of several different VOCs as chemical cues in this search for food and for oviposition sites, like stored soybeans. Such compounds can be used to improve *L. serricornis* integrated management tools like

pheromone-baited traps, and also in association with other attraction factors described for this pest, such as ultraviolet and blue light-emitting diodes (LEDs).<sup>21,46,54,58</sup>

## 5 CONCLUSION

The identification of the VOCs released by stored soybeans which act as kairomones for *L. serricornis* adults helps towards the understanding of the chemical ecology of this species, and may be used in monitoring, mass-trapping, attracticide and mating-disruption methods in IPM strategies. It was also verified the potential of 1-octen-3-ol, 1-nonanol, linalool and 3-octanol, as also the blend of these 4 compounds, for the development of eco-friendly capture tools applicable in the management of *L. serricornis* in and around storage environments.

## ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) and by the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES). The authors would like to thank Dr Samuel Roggia (EMBRAPA) for the supply of the soybean seeds used in this work and Dr Sinval Silveira Neto for taxonomic identification of insects. We also thank Dr. Irineu Lorini (EMBRAPA) for kindly providing *L. serricornis* images for the graphical abstract.

## 6 REFERENCES

1. Ashworth R. The biology of *Lasioderma serricornis*. *J Stored Prod Res* **29**:291–303 (1993).
2. Horii M, Miwa M, Iizawa H. Host suitability of various stored food products for the cigarette beetle, *Lasioderma serricornis* (Coleoptera: Anobiidae). *Appl Entomol Zool* **46**:463–469 (2011).
3. Poderoso J, Correia-Oliveira M, Mendes J, Ribeiro G, Ribeiro R, Zanuncio J. *Lasioderma serricornis* (Coleoptera: Anobiidae): first record in dehydrated bee pollen in Sergipe State, Brazil. *Florida Entomol* **96**:682–685 (2013).
4. Machado EHL, Alves LC, Faustino MA da, Machado E de CL. Ocorrência de coleópteros em alimentos industrializados para cães, comercializados na região metropolitana de Recife, PE. *Neotrop Entomol* **37**:602–605 (2008).
5. Zanuncio JC, Tavares W de S, Faroni LRDA, Wilcken CF, Serrão JE. *Lasioderma serricornis* (Coleoptera: Anobiidae) in stored *Matricaria recutita* (Asteraceae) in

- Brazil. *Florida Entomol* **97**:807–808 (2014).
6. Silva PHS da, Oliveira JRP. Ocorrência de *Lasioderma serricorne* em babaçu no Estado do Piauí. *Comun Técnico EMBRAPA* **32**:1–2 (1985).
  7. Lorini I, Krzyzanowski FC, França-Neto JDB, Henning AA. Principais pragas e métodos de controle em sementes durante o armazenamento. *Inf ABRATES* **19**:21–28 (2009).
  8. Lorini I. Insetos que atacam grãos de soja armazenados, in *Soja: Manejo Integrado de Insetos e Outros Artrópodes-Praga*, ed. by Hoffmann-Campo CB, Corrêa-Ferreira BS and Moscardi F, Embrapa, Brasília, pp. 421–444 (2012).
  9. Boyer S, Zhang H, Lempérière G. A review of control methods and resistance mechanisms in stored-product insects. *Bull Entomol Res* **102**:213–229 (2012).
  10. Sağlam Ö, Edde PA, Phillips TW. Resistance of *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Anobiidae) to fumigation with phosphine. *J Econ Entomol* **108**:2489–2495 (2015).
  11. Papadopoulou SC, Buchelos CT. Comparison of trapping efficacy for *Lasioderma serricorne* (F.) adults with electric, pheromone, food attractant and control-adhesive traps. *J Stored Prod Res* **38**:375–383 (2002).
  12. Buchelos CT, Levinson AR. Efficacy of multisurface traps and lasiotraps with and without pheromone addition, for monitoring and mass-trapping of *Lasioderma serricorne* F (Col, Anobiidae) in insecticide-free tobacco stores. *J Appl Entomol Fur Angew Entomol* **116**:440–448 (1993).
  13. Saeed M, Khan SM, Shahid M. Effective monitoring of cigarette beetle *Lasioderma serricorne* (F.) Coleoptera : Anobiidae in tobacco warehouses of Nwfp Pakistan. *Sarhad J Agric* **23**:123–128(2007).
  14. Chuman T, Kohno M, Kato K, Noguchi M. 4,6-Dimethyl-7-hydroxy-nonan-3-one, a sex pheromone of the cigarette beetle (*Lasioderma serricorne* F.). *Tetrahedron Lett* **98**:2361–2364 (1979).
  15. Levinson HZ, Levinson AR, Francke W, Mackenroth W, Heemann V. The pheromone activity of anhydroserricornin and serricornin for male cigarette beetles (*Lasioderma serricorne* F.). *Naturwissenschaften* **68**:148–149 (1981).
  16. Bruce TJA, Wadhams LJ, Woodcock CM. Insect host location: A volatile situation. *Trends Plant Sci* **10**:269–274 (2005).
  17. Bruce TJA, Pickett JA. Perception of plant volatile blends by herbivorous insects - Finding the right mix. *Phytochemistry* **72**:1605–1611 (2011).

18. Trematerra P. Advances in the use of pheromones for stored-product protection. *J Pest Sci* **85**:285–299 (2012).
19. Bruce TJA, Martin JL, Smart LE, Pickett JA. Development of semiochemical attractants for monitoring bean seed beetle , *Bruchus rufimanus*. *Pest Manag Sci* **67**:1303–1308 (2011).
20. Fountain M, Liblikas I, Sigsgaard L. Combining 1 , 4-dimethoxybenzene , the major flower volatile of wild strawberry *Fragaria vesca*, with the aggregation pheromone of the strawberry blossom weevil *Anthonomus rubi* improves attraction. *Crop Prot* **64**:122–128 (2014).
21. Mahroof RM, Phillips TW. Responses of stored-product Anobiidae to pheromone lures and plant-derived volatiles. *J Appl Entomol* **132**:161–167 (2008).
22. Phoonan W, Deowanish S, Chavasiri W. Food attractant from mulberry leaf tea and its main volatile compounds for the biocontrol of *Lasioderma serricornis* F. (Coleoptera: Anobiidae). *J Stored Prod Res* **59**:299–305 (2014).
23. Kohno M, Chuman T, Kato K, Noguchi M. The olfactory response of the cigarette beetle, *Lasioderma serricornis* Fabricius, to various host foods and cured tobacco extracts. *Appl Entomol Zool* **18**:401–406 (1992).
24. Mahroof RM, Phillips TW. Orientation of the cigarette beetle, *Lasioderma serricornis* (F.) (Coleoptera: Anobiidae) to plant-derived volatiles. *J Insect Behav* **20**:99–115 (2007).
25. Papadopoulou SC, Buchelos CT. Identification of female adult *Lasioderma serricornis* (F.) by simple external observation of the abdomen. *J Stored Prod Res* **38**:315–318 (2002).
26. MAPA. Manual de análise sanitária de sementes / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, MAPA/ACS Secretaria de Defesa Agropecuária, Brasília, 200p (2009).
27. Webster B, Bruce T, Dufour S, Birkemeyer C, Birkett M, Hardie J. Identification of volatile compounds used in host location by the black bean aphid , *Aphis fabae*. *J Chem Ecol* **34**:1153–1161 (2008).
28. Ukeh DA, Woodcock CM, Pickett JA, Birkett MA. Identification of host kairomones from maize, *Zea mays*, for the maize weevil, *Sitophilus zeamais*. *J Chem Ecol* **38**:1402–1409 (2012).
29. Pettersson J. An aphid sex attractant. *Entomol Scand* **1**:63–73 (1970).
30. Vuts J, Woodcock CM, Sumner ME, Caulfield JC, Reed K, Inward DJ, et al.

- Responses of the two-spotted oak buprestid, *Agrilus biguttatus* (Coleoptera: Buprestidae), to host tree volatiles. *Pest Manag Sci* **72**:845–851 (2016).
31. Mendesil E, Bruce TJA, Woodcock CM, Caulfield JC, Seyoum E, Pickett JA. Semiochemicals used in host location by the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*. *J Chem Ecol* **35**:944–950 (2009).
  32. Wang Y, Li P, Chi D. Electrophysiological and behavioral responses of *Tenebrio molitor* L. to fourteen kinds of plant volatiles. *J Asia Pac Entomol* **19**:261–7 (2016).
  33. Liu L, Zhou Q. Olfactory response of female *Bactrocera minax* to chemical components of the preference host citrus volatile oils. *J Asia Pac Entomol* **19**:637–642 (2016).
  34. Magalhães ST V, Guedes RNC, Lima ER, Demuner AJ. Coffee leaf volatiles and egg laying by the coffee leaf miner *Leucoptera coffeella*. *Crop Prot* **27**:1038–1041(2008).
  35. Ajayi OE, Balusu R, Morawo TO, Zebelo S, Fadamiro H. Semiochemical modulation of host preference of *Callosobruchus maculatus* on legume seeds. *J Stored Prod Res* **63**:31–37 (2015).
  36. Piesik D, Wenda-Piesik A. *Sitophilus granarius* responses to blends of five groups of cereal kernels and one group of plant volatiles. *J Stored Prod Res* **63**:63–66 (2015).
  37. Bøhn T, Cuhra M, Traavik T, Sanden M, Fagan J, Primicerio R. Compositional differences in soybeans on the market : Glyphosate accumulates in Roundup Ready GM soybeans. *Food Chem* **153**:207–215 (2014).
  38. Boué SM, Shih BY, Carter-Wienjes CH, Cleveland TE. Identification of volatile compounds in soybean at various developmental stages using solid phase microextraction. *J Agric Food Chem* **51**:4873–4876 (2001).
  39. Colville L, Bradley EL, Loyd AS, Pritchard HW, Castle L, Kranner I. Volatile fingerprints of seeds of four species indicate the involvement of alcoholic fermentation, lipid peroxidation, and Maillard reactions in seed deterioration during ageing and desiccation stress. *J Exp Bot* **63**:6519–6530 (2012).
  40. Youngsteadt E, Bustios PG, Schal C. Divergent chemical cues elicit seed collecting by ants in an obligate multi-species mutualism in Lowland Amazonia. *PLoS One* **5**:e15822 (2010).
  41. Govender K, Shuttleworth A, Downs CT, Johnson SD. The role of volatiles in the dispersal of fig seeds (Moraceae) by frugivorous bats in southern Africa. *South African J Bot* **103**:315 (2016).

42. Badenhop AF., Wilkens WF. The formation of 1-octen-3-ol in soybeans during soaking. *J Am Oil Chem Soc* **46**:179 (1969).
43. Hori M. Repellency of essential oils against the cigarette beetle, *Lasioderma serricorne* (Fabricius) (Coleoptera : Anobiidae). *Appl Entomol Zool* **38**:467–473 (2003).
44. Herrera JM, Pizzolitto RP, Zunino MP, Dambolena JS, Zygadlo JA. Effect of fungal volatile organic compounds on a fungus and an insect that damage stored maize. *J Stored Prod Res* **62**:74–80 (2015).
45. Mushobozy DK, Pierce HD, Borden JH. Evaluation of 1-octen-3-ol and nonanal as adjuvants for aggregation pheromones for three species of cucujid beetles ( Coleoptera : Cucujidae ). *J Econ Entomol* **86**:1835–1845 (1993).
46. Pierce AM, Pierce Jr. HD, Oehlschlager AC, Borden JH. 1-octen-3-ol, attractive semiochemical for foreign grain beetle, *Ahasverus advena*. *J Chem Ecol* **17**:567–580 (1990).
47. Williams RN, Fickle DS, McGovern TP, Klein MG. Development of an attractant for the scarab pest *Macrodactylus subspinosus* (Coleoptera: Scarabaeidae). *J Econ Entomol* **93**:1480–1484 (2000).
48. Aprotosoai AC, Costache I. Linalool : a review on a key odorant molecule with valuable biological properties. *Flavour Fragr J* **29**:193–219 (2014).
49. Cai L, Koziel JA, O’Neal ME. Studying plant – insect interactions with solid phase microextraction: screening for airborne volatile emissions response of soybeans to the soybean aphid, *Aphis glycines* Matsumura (Hemiptera: Aphididae). *Chromatography* **2**:265–276 (2015).
50. Adhikary P, Mukherjee A, Barik A. Attraction of *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) to four varieties of *Lathyrus sativus* L. seed volatiles. *Bull Entomol Res* **105**:187–201(2015).
51. Rosario R, Lumen B De, Habu T, Flath RA, Mon TR, Teranishi R. Comparison of headspace volatiles from winged beans and soybeans. *J Agric Food Chem* **32**:1011–1015 (1984).
52. Magan N, Evans P. Volatiles as an indicator of fungal activity and differentiation between species, and the potential use of electronic nose technology for early detection of grain spoilage. *J Stored Prod Res* **36**:319–340 (2000).
53. Tabata J, de Moraes CM, Mescher MC. Olfactory cues from plants infected by powdery mildew guide foraging by a mycophagous ladybird beetle. *PLoS One* **6**:

- e23799 (2011).
54. Pierce AM, Pierce HD, Borden JH, Oehlschlager AC. Fungal volatiles: semiochemicals for stored-product beetles (Coleoptera: Cucujidae). *J Chem Ecol* **17**:581–597 (1991).
  55. Cho BT, Kim DJ. Efficient synthesis of (R)- and (S)-3-octanol, (R)-2-dodecanol, (R)-2-methyl-4-heptanol and (R)-2-methyl-4-octanol: the pheromones of *Myrmica scabrinodis*, *Crematogaster castanea*, *C. liengmei*, *C. auberti* and *Metamasius hemipterus*. *Tetrahedron* **59**:2457–2462 (2003).
  56. Ha EYW, Morr C V, Seo A. Isoflavone aglucones and volatile organic compounds soybeans: effects of soaking treatments. *J Food Sci* **57**:414–7 (1992).
  57. Levinson HZ, Levinson AR. Pheromone biology of the tobacco beetle (*Lasioderma serricorne* F., Anobiidae) with notes on the pheromone antagonism between 4S, 6S, 7S- and 4S, 6S, 7R-serricorin. *J Appl Entomol* **103**:217–240 (1987).
  58. Katsuki M, Arikawa K, Wakakuwa M, Omae Y, Okada K, Sasaki R, et al. Which wavelength does the cigarette beetle, *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Anobiidae), prefer? Electrophysiological and behavioral studies using light-emitting diodes (LEDs). *Appl Entomol Zool* **48**:547–51 (2013).

## TABLES

<b>Table 1.</b> Mean time spent (min±SD) by <i>Lasioderma serricorne</i> adults (males and females) in response to soybeans ( <i>Glycine max</i> ) (50g) in a four-arm olfactometer.	
Treatments	Mean time spent (min) (±SE)
Control 1	3.31 ± 0.31
Control 2	2.66 ± 0.33
Control 3	2.62 ± 0.38
Control 4	2.31 ± 0.38
<b>SB1 soybeans</b>	5.25 ± 0.64 **
Control 1	2.17 ± 0.48
Control 2	1.70 ± 0.29
Control 3	1.54 ± 0.29
<b>SB2 soybeans</b>	5.20 ± 0.89 **
Control 1	2.00 ± 0.29
Control 2	1.95 ± 0.28
Control 3	1.71 ± 0.26
<b>SB3 soybeans</b>	5.82 ± 0.78 **
Control 1	2.47 ± 0.45
Control 2	1.76 ± 0.25
Control 3	1.44 ± 0.24

\*\* =  $P < 0.001$



**Table 2.** Mean time spent (min $\pm$ SD) by *Lasioderma serricorne* adults (males and females) in response to soybeans (*Glycine max*) air entrainment volatiles (10  $\mu$ L on filter paper) in a four arm olfactometer.

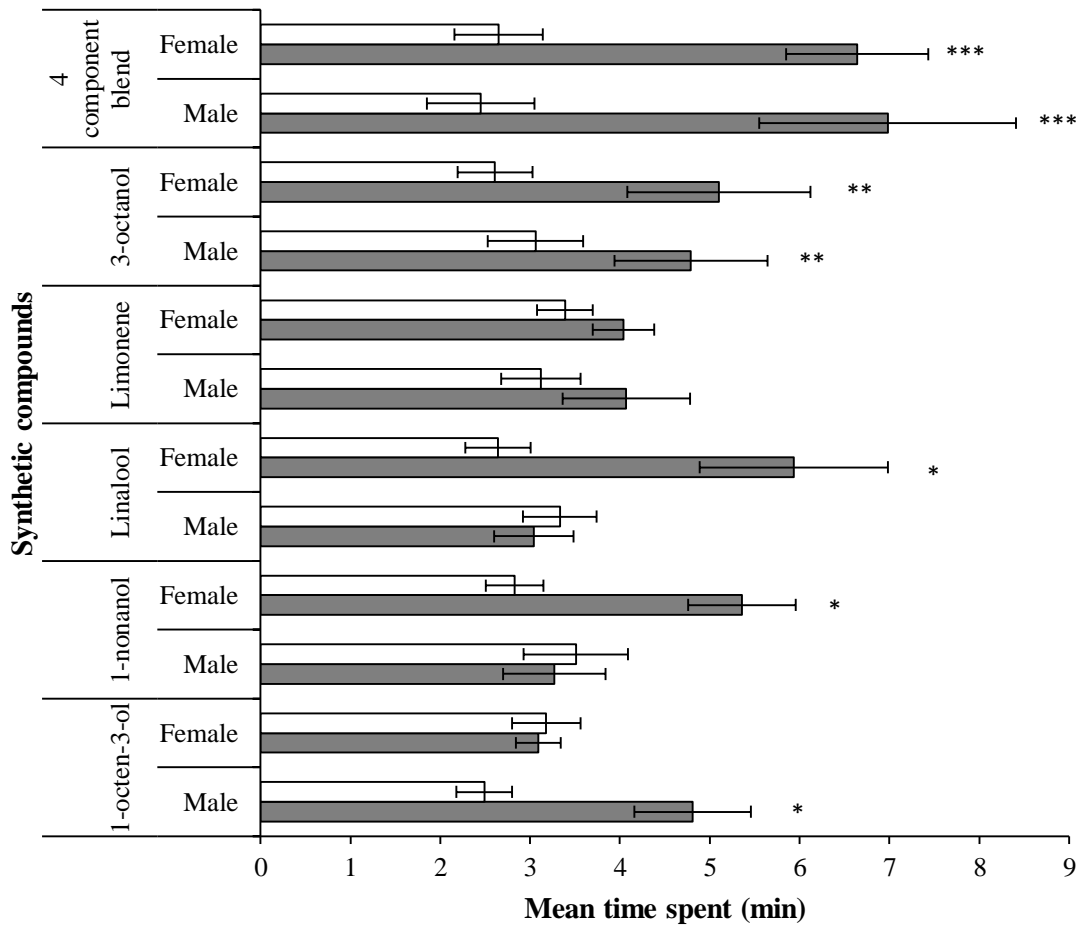
Treatments	Mean time spent (min) ( $\pm$ SE)
<b>SB1 soybeans volatiles</b>	4.06 $\pm$ 0.73
Control 1	2.68 $\pm$ 0.38
Control 2	2.53 $\pm$ 0.44
Control 3	2.46 $\pm$ 0.36
<b>SB2 soybeans volatiles</b>	5.73 $\pm$ 0.71 **
Control 1	2.99 $\pm$ 0.66
Control 2	2.16 $\pm$ 0.38
Control 3	2.04 $\pm$ 0.35
<b>SB 3 soybeans volatiles</b>	5.18 $\pm$ 0.80 **
Control 1	2.83 $\pm$ 0.46
Control 2	2.29 $\pm$ 0.36
Control 3	1.95 $\pm$ 0.25

\*\* =  $P < 0.001$

**Table 3.** Electrophysiologically active compounds identified in soybeans (*Glycine max*) air entrainment extracts.

Compound <sup>†</sup>	LRI	RT	Concentration in the soybeans headspace sample ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )		
			SB1	SB2	SB3
Alcohols					
<b>1-octen-3-ol</b>	982	11.186	<b>1.49</b>	<b>5.10</b>	<b>4.58</b>
<b>3-octanol</b>	995	11.550	<b>0.21</b>	ND	ND
<b>Linalool</b>	1092	13.923	ND	ND	<b>1.71</b>
<b>1-nonanol</b>	1172	15.697	ND	<b>4.80</b>	<b>4.51</b>
Terpenoid					
<b>Limonene</b>	1026	12.329	<b>5.80</b>	ND	ND

<sup>†</sup> Compounds identified based on correspondence of retention time and mass spectrum with genuine standards. LRI, Linear Retention Index based on identified compound retention times calculated from a linear equation between each pair of straight chain alkanes (C7-C30). RT, Retention Times founded in the GC-FID analyses. ND: compound not detected in the sample.



**Figure 1.** Behavioural responses of *Lasioderma serricorne* adults to electrophysiologically active synthetic compounds (10  $\mu\text{L}$  on filter paper) and a four-component blend of attractive synthetic compounds in a four-arm olfactometer. Concentrations: 1-octen-3-ol ( $5 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), 1-nonanol ( $5 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), linalool ( $2 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), limonene ( $6 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) and 3-octanol ( $0.2 \mu\text{g mL}^{-1}$ ).  $n = 12$  in all bioassays.  $P < 0.05 = *$ ,  $P < 0.01 = **$ ,  $P < 0.001 = ***$ . ■ = treatment, □ = control, presented as a mean of the three control arms. Bars = standard errors of the means.

## GRAPHICAL ABSTRACT



**Identification of kairomones from stored soybeans, *Glycine max*, for the cigarette beetle, *Lasioderma serricorne* (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Anobiidae)**

**Ana PO da Silva,\* Henrique F Goulart, Joeferson R Martins, Talita A da Silveira, Chrystian IMA Ferez, Janeilda C Vaz, Larissa C dos Santos and Antônio EG Santana**

This article presents volatile organic compounds released by soybean grains, attractive for *Lasioderma serricorne* and with potential for application in integrated management strategies against this important pest of stored products.

### **CAPÍTULO III. ATIVIDADE REPELENTE DO ÓLEO ESSENCIAL DOS FRUTOS DE *Schinus terebinthifolius* Raddi (ANACARDIACEAE) CONTRA *Lasioderma serricorne* (FABRICIUS, 1792) (COLEOPTERA: ANOBIIDAE)**

#### **RESUMO**

A constituição química do óleo essencial dos frutos maduros de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) coletados no município de Maceió-AL, Brasil, foi analisada por CG-DIC e C-EM. Foram identificados 14 compostos, equivalentes a 96,13% do óleo, sendo a maioria deles monoterpenos. Os compostos majoritários do óleo foram  $\beta$ -pineno (49,8%),  $\alpha$ -pineno (33,49 %), 3-careno (5,85%), germancreno-D (2,08%) e bornileno (1,21%). A bioatividade do óleo essencial foi testada contra a praga de produtos armazenados *L. serricorne* (Coleoptera: Anobiidae) em bioensaios em olfatômetro de 4 braços. O óleo essencial apresentou forte atividade repelente contra os adultos de *L. serricorne* na dose de 10 $\mu$ L. Possíveis relações entre a constituição química do óleo essencial e sua a atividade repelente são discutidas.

#### **ABSTRACT**

The chemical composition of the essential oil of the ripe fruits of *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) collected in the city of Maceió-AL, Brazil, was analyzed by GC-FID and GC-MS. 14 compounds, equivalent to 96.13% of the oil, were identified, most of them monoterpenes. The major compounds of the oil were  $\beta$ -pinene (49.8%),  $\alpha$ -pinene (33.49%), 3-carene (5.85%), germancrene-D (2,08%) and bornylene (1,21%). The bioactivity of the essential oil was tested against the stored products pest *L. serricorne* (Coleoptera: Anobiidae) in 4-arm olfactometer bioassays. The essential oil presented strong repellent activity against *L. serricorne* adults at a dose of 10 $\mu$ L. Possible relations between the chemical constitution of the essential oil and its repellent activity are discussed.

## **1. INTRODUÇÃO**

*Lasioderma serricorne* (F.) (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Anobiidae) é um inseto cosmopolita conhecido popularmente como besourinho do tabaco por ser considerada a principal praga do tabaco e seus produtos derivados, como cigarros e charutos (ASHWORTH, 1993). No entanto, essa espécie tem sido descrita atacando uma grande variedade de produtos

agrícolas armazenados (ASHWORTH, 1993; HORI; MIWA; IIZAWA, 2011). No Brasil, *L. serricornis* já foi descrita atacando frutos armazenados, ração para animais, produtos naturais desidratados e grãos de soja (LORINI, 2012; MACHADO et al., 2008; PODEROSO et al., 2013; SILVA; OLIVEIRA, 1985; ZANUNCIO et al., 2014)

O controle de pragas de produtos armazenados no Brasil é feito predominantemente pela utilização de inseticidas, principalmente pelo método de fumigação com fosfina e dióxido de carbono. No entanto, há relatos do surgimento de algumas populações de *L. serricornis* resistentes à fumigação com fosfina, o que pode estar associado à exposição constante ao pesticida, bem como à aplicação inadequada da técnica (BOYER; ZHANG; LEMPÉRIÈRE, 2012; SAĞLAM; EDDE; PHILLIPS, 2015).

*Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) é uma árvore perene nativa das Américas Central e Sul, conhecida popularmente como aroeira, aroeirinha ou aroeira-da-praia, cujos frutos são muito valorizados como condimento alimentar especialmente na culinária francesa, em que são chamados de *poivre rose*. Nos países da América do Norte, a espécie é considerada uma invasora e seus frutos recebem o nome de pimenta brasileira, *Florida holly* ou *christmas-berry*; enquanto no Brasil, a nomenclatura mais utilizada é pimenta-rosa (AZEVEDO; QUIRINO; BRUNO, 2015; LORENZI, 2008).

Em Alagoas, nos últimos anos, o cultivo da pimenta rosa tem contribuído para o desenvolvimento sócio-ambiental da região da foz do rio São Francisco, no município de Piaçabuçu. Através de parcerias entre empresas públicas, privadas e organizações não governamentais houve o aprimoramento dos processos de coleta e beneficiamento e inserção do produto no mercado sem atravessadores, melhorando a renda de diversas famílias ribeirinhas (EBC, 2012). O quilo da pimenta rosa, para o consumidor final no Brasil chega a aproximadamente R\$ 500,00.

Pesquisas têm demonstrado que o óleo essencial (OE) obtido dos frutos de *S. terebinthifolius* possui diversas atividades farmacológicas, como antioxidante, antimicrobiana, antidepressiva, anti-hiperalgésica e até anticâncer (BENDAOU et al., 2010; COLE et al., 2014; MATSUO et al., 2011; PICCINELLI et al., 2015; RICHTER; REUS; KÖNIG, 2010) e também é valorizado pela indústria de cosméticos e perfumaria como agente flavorizante. No contexto da entomologia agrícola, o OE das folhas de *S. terebinthifolius* demonstrou atividade inseticida contra *Acanthoscelides obtectus* e *Zabrotes subfasciatus*, coleópteros da família Bruchidae, considerados importantes pragas de grãos armazenados (SANTOS et al., 2007).

Os OEs de plantas têm sido reportados como fontes de compostos com atividades de interesse no manejo integrado de pragas (MIP), aplicáveis como repelentes ou inseticidas naturais (GUO et al., 2015; WU et al., 2015a; YANG et al., 2014; YOU et al., 2015). Esses compostos naturais bioativos podem contribuir para a redução no uso de pesticidas, em estratégias de MIP na proteção dos produtos durante a etapa de armazenamento e comercialização, como também são de especial interesse em sistemas de produção orgânicos.

O objetivo do presente estudo foi avaliar a atividade repelente do óleo essencial dos frutos de *S. terebinthifolius* contra adultos de *L. serricorne*, com o objetivo de avaliar o potencial desse produto natural para aplicação no combate a essa praga em estratégias de (MIP).

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Material vegetal e extração do óleo essencial**

Frutos maduros de *S. terebinthifolius* foram coletados de árvores situadas no Campus Aristóteles Calazans Simões da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), em Maceió, Alagoas, em novembro de 2016 (Figura 1). A identificação foi realizada por Rosângela P. Lyra-Lemos do Herbário MAC do Instituto do Meio Ambiente de Alagoas (IMA-AL), onde foi depositada exsicata botânica com registro de nº 63595.

O OE foi extraído dos frutos frescos e macerados por destilação por arraste de vapor d'água (400 g em 8 L de água destilada), durante 4 horas. Após separação da fase aquosa, a porção de óleo foi armazenada em vidro âmbar sob refrigeração (- 4 °C) até o uso. A extração foi feita em triplicata e o rendimento do óleo foi calculado através da relação “g de OE / 100g de pimenta”.

**Figura 1 – *Schinus terebinthifolius*, (A) ramo com frutos; (B) preparação e seleção dos frutos maduros.**



Fonte: autora da tese (2016).

## **2.2. Análise do óleo essencial por cromatografia gasosa com detector por ionização em chama (CG-DIC) e cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM)**

O óleo essencial foi analisado em equipamento da marca Shimadzu, modelo GC-2010 Plus, equipado com um detector de ionização de chama (DIC) e coluna capilar da marca Restek<sup>®</sup>, modelo Rtx-1 (30m x 0,25mm, com 0,25 $\mu$ m de espessura do filme). As temperaturas do injetor e do detector foram ajustadas a 260 °C; o hélio foi o gás carreador com taxa de fluxo de 1.0 mL.min<sup>-1</sup>; programação de temperatura de 60 °C (2 min) para 180 °C a 2 °C.min<sup>-1</sup> e depois de 180 °C (4 min) para 260 °C a 10 °C.min<sup>-1</sup>, permanecendo na temperatura final de 260 °C por 10 min. Uma amostra diluída (1 mg em 10 mL de hexano) de 1  $\mu$ L foi injetada no modo *split* (razão 1:50). Foi realizado cálculo do índice de retenção relativo de cada composto em relação a uma série homóloga de *n*-alcanos C<sub>7</sub>-C<sub>30</sub> (Sigma-Aldrich) injetada nas mesmas condições aplicadas ao óleo. A quantificação relativa com base na porcentagem da área dos picos foi feita com base nas análises por CG-DIC.



Para as análises por CG-EM, foram aplicadas as mesmas condições e temperaturas descritas para o CG-DIC, em um equipamento Shimadzu, modelo GCMS-QP2010 Ultra (modo EI 70 eV, temperatura de 250 °C, modo de varredura entre 35 a 400 m/z). A identificação dos componentes do óleo essencial foi feita pela comparação de seus espectros de massas com base de dados NIST08 e Wiley 275L, utilizando ainda as informações sobre o índice de retenção linear obtido nas análises no CG-DIC e comparação com padrões sintéticos, quando possível.

### 2.3. Insetos

*Lasioderma serricorne* foi obtido de cultura do Laboratório de Pesquisa em Recursos Naturais da Universidade Federal de Alagoas, Brasil. A identificação dos insetos foi confirmada no Departamento de Entomologia e Acarologia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo (ESALQ-USP). Os insetos foram mantidos em grãos de soja triturados ou em mistura de farinha de trigo e farinha de soja, em câmara tipo BOD com temperatura de  $30 \pm 2$  °C, umidade relativa de  $60 \pm 10\%$  e fotoperíodo de 12:12 (L:D). Para os bioensaios, foram utilizados insetos adultos com até 10 dias de idade, mantidos sem alimentação por 24h antes dos testes. Os insetos foram sexados após os bioensaios pela observação, com uso de estereomicroscópio, de um apodema em forma de “V” na região da genitália das fêmeas (PAPADOPOULOU; BUCHELOS, 2002).

### 2.4. Bioensaios em olfatômetro

A resposta comportamental de *L. serricorne* ao óleo essencial dos frutos de *S. terebinthifolius* foi avaliada por meio de bioensaios em olfatômetro de quatro braços (PETTERSSON, 1970; UKEH et al., 2009), sob iluminação uniforme difusa e temperatura de 26°C. Cada olfatômetro era composto por 3 camadas sobrepostas, formando uma câmara de exposição em formato de uma estrela de quatro pontas, à base da qual foi acrescentada uma camada de papel de filtro para facilitar o deslocamento do inseto. Cada uma dessas pontas continha uma abertura na qual era conectado um tubo de vidro contendo estímulo ou controle.

O estímulo (doses de 1 e 10 µL do óleo essencial) era introduzido na câmara em apenas um dos braços, enquanto os outros três serviram como controles (controle: apenas papel de filtro) (MENDESIL et al., 2009; VUTS et al., 2016). O ar introduzido no olfatômetro foi

previamente filtrado com carvão ativado e bombeado para dentro do sistema a um fluxo de aproximadamente  $100 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$  em cada braço, ao mesmo tempo em que foi bombeado para fora do olfatômetro através de abertura central na face superior da câmara a um fluxo de  $400 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ . Em cada bioensaio foi utilizado um novo inseto, nova fonte de estímulo e novo olfatômetro.

O adulto de *L. serricorne*, com até 10 dias de idade, era introduzido no centro do olfatômetro e contados 2 minutos para aclimatação do inseto ao ambiente. Em seguida, sua posição começava a ser registrada durante 16 minutos, contabilizando-se o tempo gasto e o número de entradas em cada braço, com auxílio do software Olfa (Udine, Itália). Os insetos que não realizassem pelo menos 3 entradas nos primeiros 2 minutos do bioensaio eram considerados inativos e substituídos. A cada 4 minutos o aparato era girado  $45^\circ$  no sentido horário, para eliminar qualquer efeito posicional. Foram realizadas 12 repetições para cada um dos sexos.

## 2.5. Análise estatística

Os dados do número de entradas e tempo de permanência e dos insetos em cada braço do olfatômetro foram tabulados e submetidos à análise de variância (ANOVA), após verificada normalidade de distribuição dos mesmos pelo teste de Anderson-Darling. As médias foram comparadas pelo teste de Scott Knott com intervalo de confiança de 95%. Os dados foram analisados com uso do software ActionStat<sup>®</sup>.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1. Constituintes químicos do óleo essencial de *S. terebinthifolius*

O rendimento do óleo essencial obtido dos frutos de *S. terebinthifolius* foi de 2,20 g de OE por 100 g de pimenta, assemelhando-se a valores descritos na literatura (BENDAOU et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2014). Os resultados das análises por CG-DIC e CG-EM estão compilados na Tabela 1. Foram identificados 14 componentes no óleo essencial dos frutos de *S. terebinthifolius*, correspondente a 96,13 % do óleo total.

**Tabela 1.** Composição química do óleo essencial dos frutos maduros de *Schinus terebinthifolius* Raddi.

Composto	TR	LRI	*Área do Pico %
4-aliloxi-2-metil-2-pentanol	6.870	899	0,06
Triciclono	7.493	915	0,73
$\alpha$ -tujeno <sup>1</sup>	7.620	918	0,08
$\alpha$ -pineno <sup>1</sup>	8.012	927	33,49
Canfeno <sup>1</sup>	8.503	940	0,66
$\beta$ -pineno <sup>1</sup>	9.593	966	49,08
Mirceno <sup>1</sup>	10.213	982	0,72
3-careno <sup>1</sup>	11.183	1004	5,85
$\beta$ -felandreno <sup>1</sup>	11.564	1011	0,62
Bornileno <sup>1</sup>	11.929	1018	1,21
$\alpha$ -terpineol <sup>1</sup>	20.121	1158	0,71
Bornil acetato (álcool monoterpeneo)	27.108	1266	0,73
Citronelil acetato (éster de ácido graxo)	31.270	1329	0,10
Germacrene D <sup>2</sup>	38.998	1466	2,08
Total identificado	-	-	96,13
Redimento	-	-	2,20

TR = Tempo de Retenção nas análises por CG-DIC; LRI = Índice de Retenção Linear, calculado a partir de uma equação linear baseada nos tempos de retenção dos compostos identificados em relação a uma série homóloga de *n*-alcanos C<sub>7</sub>-C<sub>30</sub> (Sigma-Aldrich) injetada nas mesmas condições das amostras.

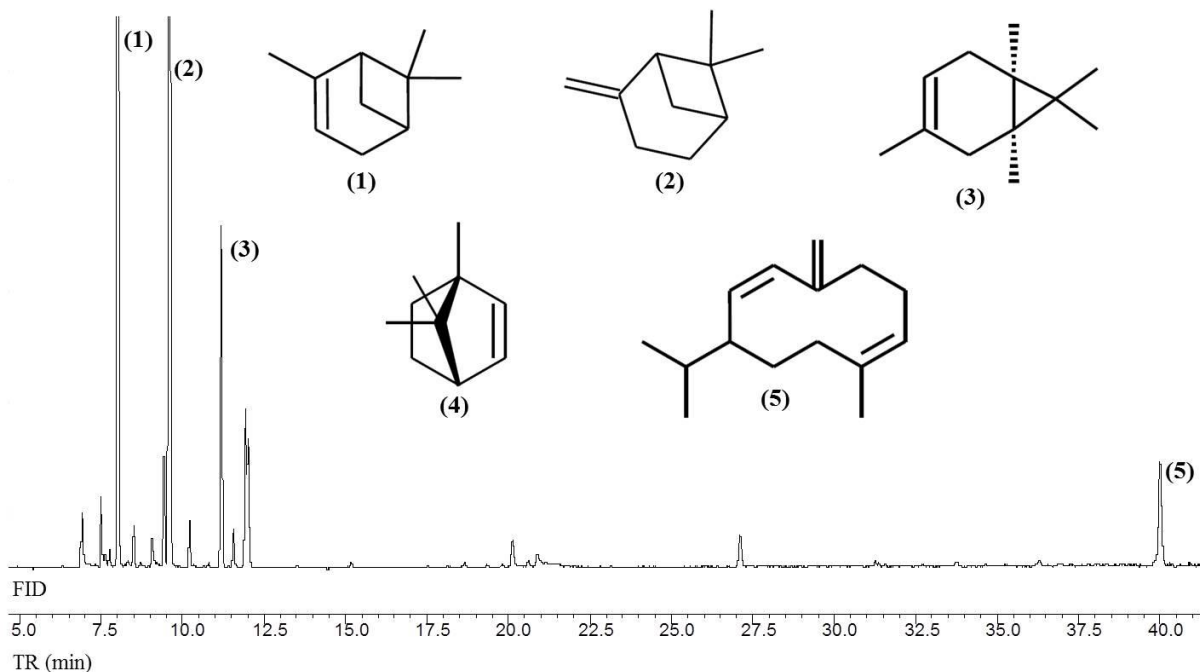
\*Dados expressos como média (três repetições).

<sup>1</sup> Monoterpenos; <sup>2</sup> Sesquiterpenos.

A alta concentração de monoterpenos no OE dos frutos de *S. terebinthifolius* (92,42%) demonstra um perfil semelhante ao encontrado em estudos anteriores, em que compostos dessa classe representaram mais de 50% dos compostos identificados (AFFONSO et al., 2012; DOS SANTOS CAVALCANTI et al., 2015; ENNIGROU et al., 2017; PÉRINO-ISSARTIER et al., 2010).

A Figura 2 mostra o perfil cromatográfico do OE dos frutos, destacando os picos dos compostos principais do óleo essencial:  $\alpha$ -pineno (**1**; 33,49 %),  $\beta$ -pineno (**2**; 49,8%), 3-careno (**3**; 5,85%), bornileno (**4**; 1,21%) e germacrene-D (**5**; 2,08%).

**Figura 2.** Cromatograma CG-FID do óleo essencial dos frutos maduros de *S. terebinthifolius* Raddi., com compostos principais em destaque:  $\alpha$ -pineno (1),  $\beta$ -pineno (2), 3-careno (3), bornileno (4) e germacreno-D (5).



A Tabela 2 mostra os compostos principais encontrados em estudos realizados com o OE dos frutos de *S. terebinthifolius* coletados em diversas partes do mundo e demonstra as variações do OE dessa espécie em função da localização geográfica das plantas matrizes.

Richter et al. (2010) relataram diferentes concentrações relativas e proporções enantioméricas dos monoterpênicos majoritários do OE dos frutos de *S. terebinthifolius* provenientes de diferentes localidades da Alemanha e França:  $\alpha$ -pineno (28.6-88.9%) e  $\beta$ -pineno (2.3-15.7%),  $\alpha$ -felandreno (traço-36.5%) e  $\beta$ -felandreno (0.6-14.7%) e limoneno (2.5-13.6%). Além da localização geográfica, outros fatores podem influenciar a composição do OE de *S. terebinthifolius*, como épocas de colheita e estágio de maturação dos frutos (ENNIGROU et al., 2017).

**Tabela 2.** Compostos principais descritos no OE dos frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi. coletados em diferentes partes do mundo.

Compostos principais	País	Referência
Limoneno, 3-careno, sabineno, p-cimeno	EUA	Lloyd et. al. (1977)
$\alpha$ -pineno (26,5%), $\alpha$ -felandreno (22,3%), limoneno (16%)	EUA	Pieribattesti et al. (1981)
Elixeno (15,18%), $\alpha$ -pineno (15,01%) e germacreno-D (14,31%)	Egito	Ibrahim et al. (2004)
$\alpha$ -cadinol (16,26%), elemol (13,62%), $\delta$ -cadineno (6,33%), $\delta$ -3-careno (5,82%), germacreno-D (4,39%)	Brasil	Barbosa et al. (2007)
$\alpha$ -felandreno (34,38%), $\beta$ -felandreno (10,61%), $\alpha$ -terpineol (5,60%), $\alpha$ -pineno (6,49%), $\beta$ -pineno (3,0%), p-cimeno (7,34%), $\gamma$ -cadineno (18,04%)	Tunísia	Bendaoud et al. (2010)
Limoneno (16,9%), $\alpha$ -felandreno (15,5%), $\alpha$ -pineno (12%), germacreno-D (13%), sabineno (6,7%), p-cimeno (6%)	Madagascar	Périno-Issartier et al. (2010)
$\alpha$ -pineno (22,56%), sabineno (15,78%), $\beta$ -pineno (10,52%), $\alpha$ -funebreno (8,82%) e limoneno (5,52%)	Brasil	Carvalho et al. (2013)
Limoneno (20,81%), $\alpha$ -fencheno (20,75%), $\alpha$ -felandreno (14,94%), $\beta$ -pineno (10,11%), $\beta$ -mirceno (9,30%)	Brasil	Affonso et al. (2012)
$\delta$ -3-careno (30,37%), limoneno (17,44%), $\alpha$ -felandreno (12,60%), $\alpha$ -pineno (12,59%)	Brasil	Cole et al. (2014)
$\alpha$ -pineno (44,9%), germacreno-D (17,6%), $\beta$ -pineno (15,1%)	Brasil	Cavalcanti et al. (2015)
$\alpha$ -felandreno (46,85%), $\alpha$ -pineno (26,3%), limoneno (8,63%)	Tunísia	Ennigrou et al. (2017)

### 3.2. Resposta comportamental de *L. serricorne*

A Tabela 3 mostra que os insetos adultos de *L. serricorne* permaneceram significativamente mais tempo nos braços controle do olfatômetro, que no braço onde estava o OE de *S. terebinthifolius* na dose de 10 $\mu$ L (machos:  $P < 0,01$ ; fêmeas:  $P < 0,01$ ), indicando uma forte atividade repelente do óleo.

**Tabela 3.** Tempo médio de permanência em cada braço do olfatômetro por adultos de *Lasioderma serricorne* em resposta ao óleo essencial de *Schinus teribinthifolius* Raddi..

Tratamentos	Tempo médio de permanência (min±SE)	
	Machos	Fêmeas
<b>Óleo essencial (10µL)</b>	0,45 ± 0,22 A	0,83 ± 0,31 A
Controle 1	3,81 ± 0,72 B	4,24 ± 0,78 B
Controle 2	4,00 ± 1,21 B	4,58 ± 1,21 B
Controle 3	4,18 ± 0,94 B	4,58 ± 1,08 B
<b>Óleo essencial (1µL)</b>	3,04 ± 0,73 A	3,24 ± 0,65 A
Controle 1	2,99 ± 0,78 A	3,41 ± 0,78 A
Controle 2	3,29 ± 0,74 A	3,47 ± 0,70 A
Controle 3	3,83 ± 0,71 A	3,87 ± 0,60 A

Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes entre si a um intervalo de confiança de 95% (teste de Skott Knott).

Entretanto, quando a dose foi reduzida para 1µL, não foi observada atividade repelente do OE, já que o tempo médio de permanência no braço tratamento não diferiu estatisticamente dos braços controles (Tabela 3).

O OE dos frutos de *S. terebinthifolius* também reduziu significativamente o número de visitas dos machos de *L. serricorne* ao braço tratado do olfatômetro com a dose de 10µL, como mostra a Tabela 4. O número médio de entradas feito pelas fêmeas no braço com o OE nessa mesma concentração foi numericamente menor, porém não diferiu estatisticamente do controle, tendo sido observada grande variação entre os indivíduos.

**Tabela 4.** Número médio de entradas em cada braço do olfatômetro por adultos de *Lasioderma serricorne* em resposta ao óleo essencial de *Schinus teribinthifolius* Raddi.

Tratamentos	Número médio de entradas (min±SE)	
	Machos	Fêmeas
<b>Óleo essencial (10µL)</b>	1,75 ± 0,77 A	5,92 ± 2,22 A
Controle 1	5,00 ± 1,17 B	8,42 ± 1,99 A
Controle 2	5,50 ± 1,10 B	9,58 ± 2,13 A
Controle 3	6,25 ± 1,50 B	10,33 ± 2,22 A
<b>Óleo essencial (1µL)</b>	7,25 ± 2,24 A	7,00 ± 1,62 A
Controle 1	6,92 ± 1,83 A	7,00 ± 1,39 A
Controle 2	7,75 ± 2,33 A	7,67 ± 1,96 A
Controle 3	8,00 ± 2,06 A	8,00 ± 1,85 A

Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes entre si a um intervalo de confiança de 95% (teste de Skott Knott)

Ainda observando na Tabela 4, é possível verificar que na dose de 1 µL, o OE não provocou diferenças no número de visitas ao braço tratado em relação aos controles, tanto para machos quanto para fêmeas.

Os resultados dos bioensaios comportamentais indicam ainda que o poder de repelência do OE de *S. terebinthifolius* contra *L. serricorne* diminui com a redução da concentração aplicada, assim como observado para os OEs das folhas de *Atalantia guillauminii* (YANG et al., 2015), das raízes de *Dictamnus dasycarpus* (GUO et al., 2015), das partes aéreas de *Liriope muscari* (WU et al., 2015a) e do pó dos frutos de *Litsea cubeba* (YANG et al., 2014). Santos et al. (2007) verificaram que a diminuição da concentração do OE das folhas de *S. terebinthifolius* pode reduzir em até 40% a taxa de mortalidade de *A. obtectus* e em 20% a de *Z. subfasciatus*.

Dentre os compostos principais encontrados no OE de *S. terebinthifolius*,  $\alpha$ -pineno e  $\beta$ -pineno já demonstraram atividade fumigante e toxicidade por contato contra *L. serricorne*, tendo sido isolados a partir do OE do rizoma de *Alpinia kwangsiensis*, no qual também figuraram entre os componentes principais (10,50 e 11,15%, respectivamente) (WU et al.,

2015b). O OE das folhas de *Pistacia lentiscus*, uma Anacardiaceae da região do Mediterrâneo, também apresentou o  $\alpha$ -pineno como um de seus componentes majoritários (9,48%) e mostrou forte atividade fumigante contra *L. serricornis* (BACHROUCH et al., 2010).

O 3-careno é outro composto identificado neste trabalho como um dos componentes majoritários do OE dos frutos de *S. terebinthifolius* que também já foi descrito como repelente contra insetos. Estudos de Omolo et al. (2004) e Odalo et al. (2005) com diferentes plantas do Quênia, apontaram o 3-careno como um dos compostos com maior atividade repelente contra o mosquito *Anopheles gambiae*, principal vetor da malária na África.

Embora a atividade repelente dos OEs seja geralmente atribuída a alguns compostos particulares, pode ocorrer um efeito sinérgico entre os metabólitos integrantes do óleo como um todo, inclusive os componentes minoritários, que resulta em uma bioatividade maior quando comparada com a desses compostos isolados (OMOLO et al., 2004). Outro fator relevante é que o efeito protetivo dos OEs tende a diminuir com o tempo, devido à alta volatilidade de seus compostos, levando à necessidade do desenvolvimento de produtos e tecnologias de liberação que mantenham a ação repelente por mais tempo (NERIO; OLIVERO-VERBEL; STASHENKO, 2010). Esses fatores, assim como as concentrações ideais de aplicação do OE dos frutos de *S. terebinthifolius* na proteção de produtos armazenados, sem que venham a ser prejudiciais à saúde de pessoas e animais, deverão ser cuidadosamente avaliados para que este bioproduto possa ser utilizado no manejo de *L. serricornis*.

#### 4. CONCLUSÃO

O presente trabalho mostrou que o OE dos frutos maduros de *S. terebinthifolius* possui atividade repelente contra adultos de *L. serricornis* na dose de 10 $\mu$ L, revelando potencial para uso na proteção de produtos armazenados. Sendo assim, estudos futuros deverão ser empreendidos para completa compreensão dos mecanismos envolvidos na bioatividade do OE sobre *L. serricornis*, com a avaliação de cada um de seus compostos, e também para determinar as condições ótimas de uso no manejo dessa praga.



## AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro. Agradecemos ainda a Rosângela P. Lyra-Lemos, do IMA-AL, pela identificação botânica de *S. terebinthifolius*, e ao Dr Sinval Silveira Neto, da ESALQ/USP, pela identificação taxonômica dos insetos.

## 5. REFERÊNCIAS

AFFONSO, C. R. G.; FERNANDES, R. M.; OLIVEIRA, J. M. G. DE; LIMA, S. G. DE; ZANINI, S. F. Effects of the essential oil from fruits of *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) on reproductive functions in male rats. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, n. 1, p. 180–185, 2012.

ASHWORTH, R. The biology of *Lasioderma serricorne*. **Journal of Stored Products Research**, v. 29, n. 4, p. 291–303, 1993.

AZEVEDO, C. F.; QUIRINO, Z. G. M.; BRUNO, R. L. A. Estudo farmacobotânico de partes aéreas vegetativas de aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolius* raddi, anacardiaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 1, p. 95–102, 2015.

BACHROUCH, O.; JEMÂA, J. M. BEN; TALOU, T.; MARZOUK, B.; ABDERRABA, M. Fumigant toxicity of *Pistacia lentiscus* essential oil against *Tribolium castaneum* and *Lasioderma serricorne*. **Bulletin of Insectology**, v. 63, n. 1, p. 129–135, 2010.

BENDAOU, H.; ROMDHANE, M.; SOUCHARD, J. P.; CAZAUX, S.; BOUAJILA, J. Chemical composition and anticancer and antioxidant activities of *Schinus molle* L. and *Schinus terebinthifolius* Raddi Berries Essential Oils. , v. 75, n. 6, p. 466–472, 2010.

BOYER, S.; ZHANG, H.; LEMPÉRIÈRE, G. A review of control methods and resistance mechanisms in stored-product insects. **Bulletin of entomological research**, v. 102, n. 2, p. 213–29, 2012.

COLE, E. R.; SANTOS, R. B.; JÚNIOR, V. L.; et al. Chemical composition of essential oil from ripe fruit of *Schinus terebinthifolius* Raddi and evaluation of its activity against wild strains of hospital origin. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 828, p. 821–828, 2014.

EBC (EMPRESA BRASIL DE COMUNICAÇÃO. **Ribeirinhos aumentam renda com projeto de pimenta rosa em Alagoas**. Disponível em: <<http://www.ebc.com.br/noticias/brasil/galeria/videos/2012/09/ribeirinhos-aumentam-renda-com-projeto-de-pimenta-rosa-em>>. Acesso em: 14 nov. 2017.

ENNIGROU, A.; CASABIANCA, H.; LAARIF, A.; HANCHI, B.; HOSNI, K. Maturation-related changes in phytochemicals and biological activities of the Brazilian pepper tree (*Schinus terebinthifolius* Raddi) fruits. **South African Journal of Botany**, v. 108, p. 407–415, 2017.

GUO, S.; GENG, Z.; DU, S.; WANG, C. Contact toxicity and repellency of the essential oil of *Dictamnus dasycarpus* roots from China against two stored-product insects. **Chemistry & Biodiversity**, v. 12, p. 980–986, 2015.

HORI, M.; MIWA, M.; IIZAWA, H. Host suitability of various stored food products for the cigarette beetle, *Lasioderma serricornis* (Coleoptera: Anobiidae). **Applied Entomology and Zoology**, v. 46, n. 4, p. 463–469, 2011.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 5<sup>o</sup> ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008.

LORINI, I. Insetos que atacam grãos de soja armazenados. In: HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MORCARDI, F. (orgs.). **Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga**. Brasília: EMBRAPA Informação Tecnológica, 2012. p. 421-444.

MACHADO, E. H. L.; ALVES, L. C.; FAUSTINO, M. A. DA; MACHADO, E. DE C. L. Ocorrência de coleópteros em alimentos industrializados para cães, comercializados na Região Metropolitana de Recife, PE. **Neotropical Entomology**, v. 37, n. 5, p. 602–605, 2008.

MATSUO, A. L.; FIGUEIREDO, C. R.; ARRUDA, D. C.; et al. Biochemical and biophysical research communications  $\alpha$ -pinene isolated from *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) induces apoptosis and confers antimetastatic protection in a melanoma model. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 411, n. 2, p. 449–454, 2011.

MENDESIL, E.; BRUCE, T. J. A.; WOODCOCK, C. M.; et al. Semiochemicals used in host location by the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 35, n. 8, p. 944–950, 2009.

NERIO, L. S.; OLIVERO-VERBEL, J.; STASHENKO, E. Repellent activity of essential oils: a review. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 372-378, 2010.

ODALO, J. O.; OMOLO, M. O.; MALEBO, H.; ANGIRA, J.; NJERU, P. M.; NDIEGE, I. O.; HASSANALI, A. Repellency of essential oils of some plants from the Kenyan coast against *Anopheles gambiae*. **Acta Tropica**, v. 95, p. 210–218, 2005.

OLIVEIRA, L. F. M.; OLIVEIRA, L. F. G.; SANTOS, M. C.; NARAIN, N.; LEITE NETA, M. T. S. Tempo de destilação e perfil volátil do óleo essencial de aroeira da praia (*Schinus terebinthifolius*) em Sergipe. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 2, 2014.

OMOLO, M. O.; OKINYO, D.; NDIEGE, I. O.; LWANDE, W.; HASSANALI, A. Repellency of essential oils of some Kenyan plants against *Anopheles gambiae*. **Phytochemistry**, v. 65, p. 2797–2802, 2004.

PAPADOPOULOU, S. C.; BUCHELOS, C. T. Identification of female adult *Lasioderma serricorne* (F.) by simple external observation of the abdomen. **Journal of Stored Products Research**, v. 38, n. 3, p. 315–318, 2002.

PÉRINO-ISSARTIER, S.; ABERT-VIAN, M.; PETITCOLAS, E.; CHEMAT, F. Microwave turbo hydrodistillation for rapid extraction of the essential oil from *Schinus terebinthifolius* Raddi Berries. **Chromatographia**, v. 72, n. 3–4, p. 347–350, 2010.

PETTERSSON, J. An aphid sex attractant. **Entomologia Scandinavica**, v. 1, p. 63–73, 1970.

PICCINELLI, A. C.; SANTOS, J. A.; KONKIEWITZ, E. C.; OESTERREICH, S. A.; FORMAGIO, A. S.; CRODA, J.; ZIFF, E. B.; KASSUYA, A. L. Antihyperalgesic and antidepressive actions of (R)-(+)-limonene,  $\alpha$ -phellandrene, and essential oil from *Schinus terebinthifolius* fruits in a neuropathic pain model. **Nutritional Neuroscience**, v. 18, n. 5, p. 217–224, 2015.

PODEROSO, J.; CORREIA-OLIVEIRA, M.; MENDES, J.; et al. *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Anobiidae): first record in dehydrated bee pollen in Sergipe State, Brazil. **Florida Entomologist**, v. 96, n. 2, p. 682–685, 2013.

RICHTER, R.; REUS, S. H. VON; KÖNIG, W. A. Phytochemistry spirocyclopropane-type sesquiterpene hydrocarbons from *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Phytochemistry**, v. 71, n. 11–12, p. 1371–1374, 2010.

SAGLAM, Ö.; EDDE, P. A.; PHILLIPS, T. W. Resistance of *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Anobiidae) to fumigation with phosphine. **Journal of Economic Entomology**, v. 108, n. 5, p. 2489–2495, 2015.

SANTOS, M. R. A. DOS; LIMA, R. A.; SILVA, A. G.; et al. Atividade inseticida do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* Raddi sobre *Acanthoscelides obtectus* Say e *Zabrotes subfasciatus* Boheman. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento EMPRAPA Rondônia**, v. 48, 2007. 13p.

DOS SANTOS CAVALCANTI, A.; ALVES, M. DE S.; DA SILVA, L. C. P.; et al. Volatiles composition and extraction kinetics from *Schinus terebinthifolius* and *Schinus molle* leaves and fruit. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 25, n. 4, p. 356–362, 2015.

SILVA, P. H. S. DA; OLIVEIRA, J. R. P. Ocorrência de *Lasioderma serricorne* em babaçu no Estado do Piauí. **Comunicado Técnico EMBRAPA**, v. 32, p. 1–2, 1985.

UKEH, D. A.; BIRKETT, M. A.; PICKETT, J. A.; BOWMAN, A. S.; JENNIFER MORDUE, A. Repellent activity of alligator pepper, *Aframomum melegueta*, and ginger, *Zingiber officinale*, against the maize weevil, *Sitophilus zeamais*. **Phytochemistry**, v. 70, n. 6, p. 751–758, 2009.

VUTS, J.; WOODCOCK, C. M.; SUMNER, M. E.; et al. Responses of the two-spotted oak buprestid, *Agilus biguttatus* (Coleoptera: Buprestidae), to host tree volatiles. **Pest Management Science**, v. 72, n. 4, p. 845–851, 2016.

WU, Y.; ZHANG, W. J.; HUANG, D. Y.; et al. Chemical compositions and insecticidal activities of *Alpinia kwangsiensis* essential oil against *Lasioderma serricorne*. **Molecules**, v. 20, n. 12, p. 21939–21945, 2015.

WU, Y.; ZHANG, W. J.; WANG, P. J.; et al. Contact toxicity and repellency of the essential oil of *Liriope muscari* (Decn.) bailey against three insect tobacco storage pests. **Molecules**, v. 20, n. 1, p. 1676–1685, 2015.

YANG, K.; WANG, C. F.; YOU, C. X.; et al. Bioactivity of essential oil of *Litsea cubeba* from China and its main compounds against two stored product insects. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 17, p. 459–466, 2014.

YANG, K.; YOU, C.; WANG, C.; et al. Chemical composition and bioactivity of essential oil of *Atalantia guillauminii* against three species stored product insects. **Journal of Oleo Science**, v. 64, n. 10, p. 1101–1109, 2015.

YOU, C. X.; JIANG, H. Y.; ZHANG, W. J.; et al. Contact toxicity and repellency of the main components from the essential oil of *Clausena anisum-olens* against two stored product

insects. **Journal of insect science (Online)**, v. 15, n. 1, p. 87, 2015.

ZANUNCIO, J. C.; TAVARES, W. DE S.; FARONI, L. R. D. A.; WILCKEN, C. F.; SERRÃO, J. E. *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Anobiidae) in stored *Matricaria recutita* (Asteraceae) in Brazil. **Florida Entomologist**, v. 97, n. 2, p. 807–808, 2014.

## CONCLUSÃO GERAL

Os insetos adultos de *L. serricorne* são atraídos pelos grãos de soja armazenados. Essa atração é mediada por compostos orgânicos voláteis liberados pelos grãos de soja.

As análises por cromatografia gasosa acoplada à eletroantografia e espectrometria de massas permitiram a identificação de 5 compostos orgânicos voláteis no *headspace* dos grãos de soja capazes de desencadear resposta eletrofisiológica nas antenas de *L. serricorne*: 1-octen-3-ol, 3-octanol, 1-nonanol, linalol e limoneno.

Nos bioensaios em olfatômetro com compostos sintéticos, o 1-octen-3-ol foi atrativo para machos, enquanto 1-nonanol e linalol foram atrativos para fêmeas. Já o 3-octanol atraiu tanto machos quanto fêmeas. Os indivíduos de *L. serricorne* se mostraram indiferentes ao limoneno na concentração testada.

A resposta dos adultos de *L. serricorne* à mistura dos 4 compostos sintéticos atrativos foi equivalente à observada para os grãos de soja nos bioensaios em olfatômetro.

Portanto, conclui-se que os compostos identificados no *headspace* dos grãos de soja podem ser considerados cairomônios para *L. serricorne*.

A análise química do óleo essencial dos frutos maduros de *S. terebinthifolius* por cromatografia gasosa com detector por ionização de chama e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas permitiu a identificação de 14 compostos, equivalentes a 96,13% do óleo.

Os compostos majoritários do óleo foram  $\beta$ -pineno (49,8%),  $\alpha$ -pineno (33,49%), 3-careno (5,85%), germancreno-D (2,08%) e bornileno (1,21%).

Nos bioensaios em olfatômetro, os insetos adultos de *L. serricorne* permaneceram significativamente mais tempo nos braços controle do olfatômetro, que no braço tratado com o óleo essencial dos frutos de *S. terebinthifolius* na dose de 10 $\mu$ L.

Diante do exposto, é possível concluir que o óleo possui atividade repelente contra adultos de *L. serricorne*, revelando potencial para uso na proteção de produtos armazenados.

## PERSPECTIVAS

1. Realizar novos bioensaios, em laboratório e em campo, com os compostos atrativos identificados no *headspace* dos grãos de soja, inclusive com outros atraentes descritos na literatura, testando diferentes concentrações, a fim de estabelecer formulação aplicável como adjuvante alimentar em armadilhas com feromônio de *L. serricorne*.
2. Realizar análises do óleo essencial dos frutos de *S. terebinthifolius* utilizando a técnica de Cromatografia Gasosa acoplada à Eletroantenografia (GG-EAG) para isolar e identificar os compostos ativos contra *L. serricorne*.
3. Estabelecer mecanismo de aplicação/liberação tanto para o atrativo alimentar quanto para o óleo essencial utilizáveis na proteção de produtos armazenados contra *L. serricorne*.
4. Os resultados obtidos contribuirão para o aumento da eficiência de armadilhas de monitoramento e captura massal contra *L. serricorne*, indicando biomoléculas ativas e compostos naturais com potencial para aplicação em ferramentas de *push-pull* em estratégias de Manejo Integrado de Pragas em ambientes de armazenamento.

## REFERÊNCIAS

AGELOPOULOS, N. G.; HOOPER, A. M.; MANIAR, S. P.; PICKETT, J. A.; WADHAMS, L. J. A novel approach for isolation of volatile chemicals released by individual leaves of a plant in situ. **Journal of Chemical Ecology**, v. 25, p. 1411-1425, 1999.

ALVES, J. N. **Utilização da radiação gama do Cobalto-60 como tratamento quarentenário de plantas medicinais, aromáticas e condimentares desidratadas infestadas por *Lasioderma serricorne* (Fabricius, 1792) (Coleoptera, Anobiidae) e *Plodia interpunctella* (Hubner, 1813) (Lepidoptera, Pyralidae)**. 2007. 83 f. (Mestrado em Ciências – Área Tecnologia Nuclear) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, SP, 2007.

AMBADKAR, P. M.; KHAN, D. H. Observations on the influence of crude leaf extracts of some plants on adult and larval forms of the cigarette beetle, *Lasioderma serricorne* F. (Coleoptera: Anobiidae). **The Journal of Animal Morphology and Physiology**, v. 36, p. 99–114, 1989.

AMBADKAR, P. M.; KHAN, D. H. Screening of responses of adult cigarette beetle, *Lasioderma serricorne* F. (Coleoptera: Anobiidae) to fresh and dried leaves of 51 plant species for possible repellent action. **Indian Journal of Entomology**, v. 56, p. 169–175, 1994.

ASHWORTH, J. R.. The biology of *Lasioderma serricorne*. **Journal of Stored Products Research**, v. 29, n. 4, p. 291-303, 1993.

BALA, M.; SHARMA, A. Review of some recente techniques of age determination of blow flies having forensic implications. **Egyptian Journal of Forensic Sciences**, v. 6, p. 203-208, 2016.

BAOUA, I. B.; AMADOU, L.; ABDOURAHMANE, M.; BAKOYE, O.; BARIBUTSA, D.; MURDOCK, L. L. Grain storage and insect pests of stored grain in rural Niger. **Journal of Stored Products Research**, v. 64, p. 8–12, 2015.

BARZMAN, M.; BÀRBERI, P.; BIRCH, A. N. E.; BOONCKAMP, P.; DACHBRODT-SAAYDEH, S.; GRAF, B.; HOMMEL, B.; JENSEN, J. E.; KISS, J.; KUDSK, P.; LAMICHHANE, J. R.; MESSÉAN, A.; MOONEN, A. C.; RATNADASS, A.; RICCI, P.; SARAH, J. L.; SATTIN, M. Eight principles of integrated pest management. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 35, p. 1199-1215, 2015.



BENDERA, M.; EKESI, S.; NDUNG'U, M.; SRINIVASAN, R.; TORTO, B. A major host plant volatile, 1-octen-3-ol, contributes to mating in the legume pod borer, *Maruca vitrata* (Fabricius) (Lepidoptera: Crambidae). **The Science of Nature**, v. 102, n. 7, p.1-10, 2015.

BICCHI, C.; CAGLIERO, C.; RUBIOLO, P. New trends in the analysis of the volatile fraction of matrices of vegetable origin: a short overview. **Flavor and Fragrance Journal**, v. 26, p. 321–325, 2011.

BINIECKA, M.; CAROLI, S. Analytical methods for the quantification of volatile aromatic compounds. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 30, p. 1756–1770, 2011.

BLANC, M.; KAELIN, P.; GADANI, F. *Bacillus thuringiensis* (Bt) for the control of insect pests in stored tobacco: a review. **Beiträge zur Tabakforschung International / Contributions to Tobacco Research**, v. 20, p. 15-22, 2002.

BOUSQUET, Y. **Beetles associated with stored products in Canada: An identification guide**. Canadian Government Publishing Centre: Ottawa, Canada, 1990.214p.

BUCHELOS, C. T. Coleoptera populations at flour mills and related áreas. **Annales de l'Institut Phytopathologique Benaki**, v. 13, p. 6-29, 1981.

CANEVARI, G. C.; REZENDE, F.; SILVA, R. B.; D'ANTONIO-FARONI, L. R.; ZANUNCIO, J. C.; PAPADOPOULOU, Z.; SERRÃO, J. E. Potencial of *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank.) (Astigmata: Acaridae) for the biological control of *Lasioderma serricorne* (F.) (Coleoptera: Anobiidae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 55, n. 2, p. 299-303, 2012.

CEBALLOS, R.; FERNANDÉZ, N.; ZÚÑIGA, S.; ZAPATA, N. Electrophysiological and behavioral responses of pea weevil *Bruchus pisorum* L. (Coleoptera: Bruchidae) to volatiles collected from its host *Pisum sativum* L. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v. 75, n.2, p. 202-209, 2015.

CHAUDHRY, M. Q.; BELL, H. A.; SAVVIDOU, N.; MACNICOLL, A. D. Effect of low temperatures on the rate of respiration and uptake of phosphine in different life stages of the cigarette beetle *Lasioderma serricorne*. **Journal of Stored Products Research**, v. 40, p. 125-134, 2004.

CHUMAN, T.; KATO, K.; NOGUCHI, M. Synthesis of (+)-serricornin, 4,6-dimethyl-7-hydroxy-nonan-3-one, a sex pheromone of cigarette beetle (*Lasioderma serricorne* F.). **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 43, n. 9, p. 2005, 1979.

CHUMAN, T.; MOCHIZUKI, K.; KATO, K.; ONO, M.; ŌKUBO, A. Serricorone and serricorole, new sex pheromone components of cigarette beetle. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 47, n. 6, p. 1413-1415, 1983.

CHUMAN, T.; MOCHIZUKI, K.; MORI, M.; KOHNO, M.; KATO, K.; NOGUCHI, M. Lasioderma chemistry. Sex pheromone of cigarette beetle (*Lasioderma serricorne* F.). **J. Chem. Ecol.**, v. 11, p. 417-434, 1985.

CLIFFORD, A. **Fundamentals of supercritical fluids** - Série Oxford Science Publications. 1ed. Oxford: Oxford University Press, 1999. 210p.

COFFELT, J. A. Multiple mating by *Lasioderma serricorne* (F.) – Effects on fertility and fecundity. **Proc. 1st Int. Working Conf. Stored Prod. Ent.**, Savannah, GA, p. 549-553, 1975.

COSSÉ, A. A.; TODD, J. L.; MILLAR, J. G.; MARTINÉZ, L. A.; BAKER, T. C. Electroantennographic and coupled gas chromatographic-electroantennographic responses of the mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*, to male-produced volatiles and mango odor. **Journal of Chemical Ecology**, v. 21, n. 11, 1995.

COSTA LIMA, A. **Insetos do Brasil. Coleópteros**. Rio de Janeiro, Escola Nacional de Agronomia, Série didática 9, 1952. 372p.

COX, P. D. Potential for using semiochemicals to protect stored products from insect infestation. **Journal of Stored Products Research**, v. 40, n. 1, p. 1-25, 2004.

COX, P. D.; COLLINS, L. E. Factors affecting the behaviour of beetle pests in stored grain, with particular reference to the development of lures. **Journal of Stored Products Research**, v. 38, n. 2, p. 95-115, 2002.

COX, P. D.; DOLDER, H. S. A simple flight chamber to determine flight activity in small insects. **Journal of Stored Products Research**, v. 31, p. 311-316, 1995.

DOWD, P. F.; BARTELT, R. J. Host-derived volatiles as attractants and pheromone synergists for driedfruit beetle, *Carpophilus hemiterus*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 17, n. 2, p. 285-308, 1991.

DU, S.S.; YANG, K.; WANG, C.F.; YOU, C. X.; GENG, Z. F.; GUO, S.S.; DENG, Z. W.; LIU, Z. L. Chemical constituents and activities of the essential oil from *Myristica fragrans* against cigarette beetle *Lasioderma serricorne*. **Chemistry & Biodiversity**, v. 11, p. 1449–1456 2014.

EIRAS, A. E.; MAFRA-NETO, A. Olfatometria aplicada ao estudo do comportamento de insetos. In: VILELA, E.F.; DELLA-LUCIA, T. M.C. (Eds). **Feromônios de insetos: biologia, química e emprego no manejo de pragas**. 2 ed. Ribeirão Preto: Holos Editora, 2001. p. 27-39.

FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS). **Report of the fourth ministerial meeting on commodity markets and prices: long-term commodity price trends and sustainable agricultural development**. FAO, 2017. 34p. Disponível em: < <http://www.fao.org/3/a-i7194e.pdf>>. Acesso em: 23 nov. 2017.

FARDISI, M.; MASON, L. J. Influence of temperature, gender, age, and mating status on cigarette beetle (*Lasioderma serricorne* (F.)) (Coleoptera: Anobiidae) flight initiation. **Journal of Stored Products Research**, v. 52, p. 93-99, 2013a.

FARDISI, M.; MASON, L. J. Influence of lure (food/sex pheromone) on young mated cigarette beetle (*Lasioderma serricorne* (F.)) (Coleoptera: Anobiidae) flight initiation. **Journal of Stored Products Research**, v. 53, p. 15-18, 2013b.

FERRI, G. C.; LORINI, I.; VENTURA, M. U. Longevidade de adultos de *Lasioderma serricorne* (F.) (Coleoptera, Anobiidae) em soja armazenada. In: **Anais da CONFERÊNCIA BRASILEIRA DE PÓS-COLHEITA**, 6., 2014, Londrina-PR. Londrina, PR: ABRAPÓS, 2014. p. 186-191.

FOCANT, J. F.; SJOIN, A.; PATTERSON JR, D. G. Improved separation of the 209 polychlorinated biphenyl congeners using comprehensive two-dimensional gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1040, n. 2, p. 227-238, 2004.

FRANÇA-NETO, J. B.; LORINI, I.; KRZYZANOWSKI, F. C.; HENNING, A. A.; MALLMANN, C. A. Ocorrência de contaminantes em grãos e sementes de soja armazenados em diversas regiões brasileiras. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA**, 6., 2012, Cuiabá, MT. **Soja: integração nacional e desenvolvimento sustentável, resumos**. Brasília, DF: EMBRAPA, 2012. p.231, res. 406.

GAUTAM, S. G.; OPIT, G. P.; MARGOSAN, D.; TEBBETS, J. S.; WALSE, S. Egg morphology of key stored-product insect pests of the United States. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 107, n. 1, p. 1-10, 2014.

GROOT, A. T.; DICKE, M. Insect-resistant transgenic plants in a multi-trophic context. **The Plant Journal**, v. 31, n. 4, p. 387-406, 2002.

GUNASEKARAN, N.; RAJENDRAN, S. Toxicity of carbon dioxide to drugstore beetle *Stegobium paniceum* and cigarette beetle *Lasioderma serricornis*. **Journal of Stored Products Research**, v. 41, p. 283-294, 2005.

HALSTEAD, D. G. H. External sex differences in stored-product Coleoptera. **Bulletin of Entomological Research**, v. 54, p.119-134, 1963.

HARWALKAR, M. R.; DONGRE, T. K.; PADWAL-DESAI, S. R. Radiation desinfestation of spice and spice products I. Radiation sensitivity of developmental stages of *Lasioderma serricornis* and *Stegobium paniceum*. **Journal of Food Science and Technology Mysore**, v. 32, n. 3, p. 249-251, 1995.

HODGES, R. J.; BUZBY, J. C.; BENNETT, B. Foresight Project on global food and farming futures – Postharvest losses and waste in developed and less developed countries: opportunities to improve resource use. **The Journal of Agricultural Science**, v. 149, p. 37–45, 2001.

HORI, M. Repellency of essential oils against the cigarette beetle, *Lasioderma serricornis* (Fabricius) (Coleoptera: Anobiidae). **Applied Entomology and Zoology**, v. 38, n. 4, p. 467-473, 2003.

HORI, M. Repellency of hinokitiol against the cigarette beetle, *Lasioderma serricornis* (Fabricius) (Coleoptera: Anobiidae). **Applied Entomology and Zoology**, v. 39, n. 3, p. 521-526, 2004.

HORI, M.; MIWA, M.; IIZAWA, H. Host suitability of various stored food products for the cigarette beetle, *Lasioderma serricornis* (Coleoptera: Anobiidae). **Applied Entomology and Zoology**, v. 46, p. 463-469, 2011.

HOWE, R. W. A laboratory study of the cigarette beetle, *Lasioderma serricornis* (F.) (Col., Anobiidae) with a critical review of the literature on its biology. **Bulletin of Entomological Research**, v. 48, p. 9-56, 1957.

HOWE, R. W. A summary of estimates of optimal and minimal conditions for population increase of some stored product insects. **Journal of Stored Products Research**, v. 1, n. 2, p. 177-184, 1965.

HOWLADER, A. J.; AMBADKAR, P. M. Oviposition deterring influence of female body wash in tobacco beetle, *Lasioderma serricornis* (F.) (Coleoptera: Anobiidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 31, n. 1, p. 91-95, 1995.

HU-TSAN.; CHEN-CHIA-CHE.; PENG-WU-KANG. The letal effect of gamma radiation on *Lasioderma serricorne* (Fabricius). **Formosan Entomology**, v. 22, n. 2, p. 157-162, 2002.

IBÁÑEZ, E.; OCA, A.; MURGA, G.; LÓPEZ-SEBASTIÁN, S.; TABERA, J.; REGLERO, G. Supercritical fluid extraction and fractionation of different preprocessed rosemary plants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, p. 1400–1404, 1999.

IMAI, T.; HARADA, H. Low-temperature as na alternative to fumigation to desinfest stored tobacco of the cigarette beetle, *Lasioderma serricorne* (F.) (Coleoptera: Anobiidae). **Applied Entomology and Zoology**, v. 41, n. 1, p. 87-91, 2006.

IMAI, T.; KODAMA, H.; CHUMAN, T.; MASAHIRO, K.J. Oviposition deterrents of the cigarette beetle, *Lasioderma serricorne* (F.) (Coleoptera: Anobiidae). **Journal of Chemical Ecology**, v. 16, n. 4, p. 1237-1247, 1990.

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

JONES, C. R. The cigarette beetle (*Lasioderma serricorne* Fabr.) in the Philippine Islands. **Phillipine J. Sci. D. Gen. Biol. Ethnol. Anthropol.**, v. 8, p. 1-61, 1913.

KAELIN, P.; MOREL, P.; GADANI, F. Isolation of *Bacillus thuringiensis* from stored tobacco and *Lasioderma serricorne* (F.). **Applied and Environmental Microbiology**, v. 60, p. 19-25, 1994.

KAELIN, P.; ZAUGG, L.; ALBERTINI, A. M.; GADANI, F. Activity of *Bacillus thuringiensis* isolates on *Lasioderma serricorne* (F.) (Coleoptera: Anobiidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 35, p. 145-158, 1999.

KIM, S. I.; PARK, C.; OHH, M. H.; CHO, H. C.; AHN, Y. J. Contact and fumigant activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Anobiidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 39, p. 11–19, 2003.

KIM, S. I.; AHN, Y. J.; KWON, H. W. Toxicity of aromatic plants and their constituents against coleopteran stored products insect pests. In: BANDANI, A. R. (ed.). **New Perspectives in Plant Protection**. InTech, 2012. p. 93-120. Disponível em: <http://www.intechopen.com/books/newperspectives-in-plant-protection/toxicity-of-aromatic-plants-and-their-constituents-against-coleopteran-storedproducts-insect-pests>

- KREMSER, A.; JOCHMANN, M. A.; SCHMIDT, T. C. Systematic comparison of static and dynamics headspace sampling techniques for gas chromatography. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 408, p. 6567-6579, 2016.
- LAW, J. H.; REGNIER, F. E. Pheromones. **Annu. Rev. Biochem.**, v. 40, p. 533-548, 1971.
- LAZZARI, S. M. N.; KARKLE, A. F.; LAZZARI, F. A. Resfriamento artificial para o controle de Coleoptera em arroz armazenado em silo metálico. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 50, n. 2, p. 293-296, 2006.
- LEAHY, M. J. A.; OLIVER, T. H.; LEATHER, S. R. Feeding behaviour of the black pine beetle, *Hylastes ater* (Coleoptera: Scolytidae). **Agricultural and Forest Entomology**, v. 9, p. 115-124, 2007.
- LEE, J. H.; SHIN, K. S.; SUH, S. C.; RHIM, S. L.; LEE, Y. H.; LIM, M. H.; WOO, H. J.; QIN, Y.; CHO, H. S. CryIIIa toxin gene expression in transgenic rice confers resistance to rice water weevil. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 115, n. 2, p. 243-252, 2013.
- LEVINSON, H. Z.; LEVINSON, A. R.; FRANCKE, W.; MACKENROTH, W. The pheromone activity of anhydroserriornin and serriornin for male cigarette beetles (*Lasioderma serricornis* F.). **Naturwissenschaften**, v. 68, n. 1-5, p. 148-149, 1981.
- LEVINSON, H. Z.; LEVINSON, A. R. Pheromone biology of the tobacco beetle (*Lasioderma serricornis* F., Anobiidae) with notes on the pheromone antagonism between 4S, 6S, 7S- and 4S, 6S, 7R-serriornin. **Journal of Applied Entomology**, v. 103, p. 217-240, 1987.
- LI, C.; LI, Z. Z.; CAO, Y.; ZHOU, B.; ZHENG, X. Partial characterization of stress-induced carboxylesterase from adults of *Stegobium paniceum* and *Lasioderma serricornis* (Coleoptera: Anobiidae) subjected to CO<sub>2</sub>-enriched atmosphere. **Journal of Pest Science**, v. 82, p. 7-11, 2009.
- LICCIARDELLO, F.; MURATORE, G.; SUMA, P.; RUSSO, A.; NERÍN, C. Effectiveness of a novel insect-repellent food packaging incorporating essential oils against the red flour beetle (*Tribolium castaneum*). **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 19, p. 173-180, 2013.
- LIKHAYO, P. W.; HODGES, R. J. Field monitoring *Sitophilus zeamais* and *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) using refuge and flight traps baited with synthetic pheromone and cracked wheat. **Journal of Stored Products Research**, v. 36, p. 341-353, 2000.

LORENZO, P. Application of  $^{60}\text{Co}$  gamma radiation to control insects in stored rice. Part IV. *Lasioderma serricorne* (Anobiidae: Coleoptera), *Alphitobius diaperinus* and *Tenebrionido sp* (Tenebrionidae: Coleoptera). **Ciencia y técnica em la Agricultura Arroz.**, Cuba, v. 13, n. 1-2, p. 67-72, 1990.

LORINI, I. Insetos que atacam grãos de soja armazenados. In: HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MORCARDI, F. (orgs.). **Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga**. Brasília: EMBRAPA Informação Tecnológica, 2012. p. 421-444.

LORINI, I.; KRZYZANOWSKI, F. C.; FRANÇA-NETO, J. B.; HENNING, A. A. **Expurgo da semente de soja com fosfina e seu efeito na qualidade fisiológica** – Série Sementes. Londrina: Embrapa Soja, 2013. 12p. (Embrapa Soja. Circular Técnica, 97).

LÜ, J. H.; SU, X. H.; ZHONG, J. J. Fumigant activity of *Elsholtzia stauntonii* extract against *Lasioderma serricorne*. **South African Journal of Science**, v. 108, n. 7/8, Art. #556, 3 p, 2012.

LÜ, J.; MA, D. Repellent and contact toxicity of *Alpinia officinarum* rhizome extract against *Lasioderma serricorne* adults. **Plos One**, v. 10, n. 8, p. e0135631, 2015. doi: 10.1371/journal.pone.0135631

MACHADO, E. H. L.; ALVES, L. C.; FAUSTINO, M. A. G.; MACHADO, E. C. L. Ocorrência de coleópteros em alimentos industrializados para cães, comercializados na região metropolitana de Recife, PE. **Neotropical Entomology**, v. 37, n. 5, p. 602-605, 2008.

MCLAFFERTY, F. W.; SENKO, M. W. Mass spectrometry in the development of drugs from traditional medicines. **Stem Cells**, v. 12, n. 1, p. 68-73, 1994.

MAHROOF, R. M.; PHILLIPS, T. W. Orientation of the cigarette beetle, *Lasioderma serricorne* (F.) (Coleoptera: Anobiidae) to plant-derived volatiles. **Journal of Insect Behavior**, v. 20, n. 1, p. 99-115, 2007.

MAHROOF, R. M.; PHILLIPS, T. W. Life history parameters of *Lasioderma serricorne* (F.) as influenced by food sources. **Journal of Stored Products Reserach**, v. 44, n. 3, p. 219-226, 2008a.

MAHROOF, R. M.; PHILLIPS, T. W. Responses of stored-products Anobiidae to pheromone lures and plant-derived volatiles. **Journal of Applied Entomology**, v. 132, n. 2, p. 161-167, 2008b.

MAHROOF, R. M.; PHILLIPS, T. W. Mating disruption of *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Anobiidae) in stored product habitats using the synthetic pheromone serricornin. **Journal of Applied Entomology**, v. 138, n. 5, p. 378-386, 2014.

MASIGA, D.; OBIERO, G.; MACHARIA, R.; MIREJI, P.; CHRISTOFFELS, A. Chemosensory receptors in tsetse flies provide link between chemical and behavioural ecology. **Trends in Parasitology**, v. 30, n. 9, p. 426-428, 2014.

MARTINS, J. R.; ALVARENGA, A. A.; CASTRO, E. M. de; SILVA, A. P. O. da; OLIVEIRA, C.; ALVES, E. Anatomia foliar de plantas de alfavaca-cravo cultivadas sob malhas coloridas. **Ciência Rural**, v. 39, n. 1, p. 82-87, 2009.

MENDESIL, E.; BRUCE, T. J. A.; WOODCOCK, C. M.; CAULFIELD, J. C.; SEYOUM, E.; PICKETT, J. A. Semichemicals used in host location by the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 35, p. 944-950, 2009.

MI, X.; JI, X.; YANG, J.; LIANG, L.; SI, H.; WU, J.; ZHANG, N.; WANG, D. Transgenic potato plants expressing *cry3A* gene confer resistance to Colorado potato beetle. **Comptes Rendus Biologies**, v. 338, n. 7, p. 443-50, 2015.

MOORHOUSE, J. E.; YEADON, R.; BEEVOR, P. S.; NESBITT, P. F. Method for use in studies of insect chemical communication. **Nature**, n. 223, p. 1174-1175, 1969.

MOREIRA, L. L. **Desenvolvimento e danos de *Lasioderma serricorne* (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Anobiidae)**. 2008. 98 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical) – Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, MT, 2008.

MORI, K. Chemical ecology. In: **Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering**. Elsevier, 2013. 2p.

NAVARRO, S.; TIMLICK, B.; DEMIANYK, C. J.; WHITE, N. Contolled or Modified Atmospheres. In: HAGSTRUM, D. W.; PHILLIPS, T. W.; CUPERUS, G. (Eds). **Stored Product Protection**. Manhattan: Kansas State University, 2012. p 191-202.

NYASEMBE, V. O.; TEAL, P. E. A.; MUKABANA, W. R.; TUMLINSON, J. H.; TORTO, B. Behavioral response of the malaria vector *Anopheles gambiae* to host plant volatiles and synthetic blends. **Parasites & Vectors**, v. 5, p. 234, 2012.



OLSSON, S. B.; HANSSON, B. S. Electroantennogram and single sensillum recording in insect antennae. **Methods in Molecular Biology**, v. 1068, p. 157-177, 2013.

OMAR, J.; OLIVARES, M.; ALONSO, I.; VALLEJO, A.; AIZPURUA-OLAIZOLA, O.; ETXEBARRIA, N. Quantitative Analysis of bioactive compounds from aromatic plants by means of dynamic headspace extraction and multiple headspace extraction-gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Food Science**, v. 81, n. 4, 2016.

OKADA, K.; WATANABE, A.; MORI, M.; SHIMAZAKI, K.; CHUMAN, T.; MOCHIZUKI, F.; SHIBUYA, T. Olfactory responses to the sex pheromone component and its behavioural inhibitor in the male cigarette beetle, *Lasioderma serricorne*. **Journal of Insect Physiology**, v. 38, n. 9, p.705-709, 1992.

OKADA, K.; WATANABE, A.; MORI, M.; SHIMAZAKI, K.; NISHI, Y.; SATO, S. Fine structure of antennal sex-pheromone-sensitive sensilla of the male cigarette beetle, *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Anobiidae). **Applied Entomology and Zoology**, v. 28, n. 3, p. 283-289, 1993.

OKADA, K.; FUCHIKAWA, T.; OMAE, Y.; KATSUKI, M. Pre-copulatory sexual selection in the cigarette beetle *Lasioderma serricorne*. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 67, n. 1, p. 53-59, 2013.

OMAE, Y.; FUCHIKAWA, T.; NAKAYAMA, S. et al. Life history and mating behavior of a black-bodied strain of the cigarette beetle *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Anobiidae). **Applied Entomology and Zoology**, v. 47, n. 2, p. 157-163, 2012.

PAPADOPOULOU, S. CH.; BUCHELOS, C. TH. Comparison of trapping efficacy for *Lasioderma serricorne* (F.) adults with electric, pheromone, food attractant and control-adhesive traps. **Journal of Stored Products Research**, v. 38, n. 4, p. 375-383, 2002.

PENTEADO, J. C. P.; MAGALHÃES, D.; MASINI, J. C. Experimento didático sobre cromatografia gasosa: uma abordagem analítica e ambiental. **Química Nova**, v. 31, n. 8, p. 2190-2193, 2008.

PEREIRA, P. R. V. S.; ALMEIDA, L.M. Chaves para identificação dos principais Coleoptera (Insecta) associados com produtos armazenados. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 18, n. 1, p. 271-283, 2001.

PETTERSSON, J. An aphid sex attractant. **Insect Systematics & Evolution**, v. 1, n. 1, p. 63-73, 1970.

PHOONAN, W.; DEOWANISH, S.; CHAVASIRI, W. Food attractant from mulberry leaf tea and its main volatile compounds for the biocontrol of *Lasioderma serricorne* F. (Coleoptera: Anobiidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 59, p. 299-305, 2014.

PODEROSO, J. C. M.; CORREIA-OLIVEIRA, M. E.; VIEIRA, J. M.; RIBEIRO, G. T.; RIBEIRO, R. C.; ZANUNCIO, J. C. *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Anobiidae): first record in dehydrated bee pollen in Sergipe State, Brazil. **Florida Entomologist**, v. 96, n. 2, p. 682-685, 2013.

POPE, T. W.; GIRLING, R. D.; STALEY, J. T.; TRIGODET, B.; WRIGHT, D. J.; LEATHER, S. R.; VAN EMDEN, H. F.; POPPY, G. M. Effects of organic and conventional fertilizer treatments on host selection by the aphid parasitoid *Diaeretiella rapae*. **Journal of Applied Entomology**, v. 136, p. 445-455, 2012.

REBOREDO-RODRÍGUEZ, P.; GONZÁLEZ-BARREIRO, C.; CANCHO-GRANDE, B.; SIMAL-GÁNDARA, J. Dynamic headspace / GC-MS method for the characterization and control of the flavor finger- print of Extra Virgin Olive Oil. **Food Control**, v.25, p. 684–695, 2012.

REN, Y. C.; DONG, Y.; ZHANG, J.; QIU, T.; YANG, M. S. Genetic transformation and expression detection of tobacco by using a multi-gene plant transformation vector. **Journal of Animal and Plant Sciences** (Special Issue), v. 25, n. 3 Supl. 1, p. 13-21, 2015.

REGNAULT-ROGER, C.; VINCENT, C.; ARNASON, J. T. Essential oils in insect control: low-risk products in a high-stakes world. **Annual Review of Entomology**, v. 57, p. 405–424, 2012.

RIUDAUVETS, J.; CASTAÑÉ, C.; ALOMAR, O.; PONS, M. J.; GABARRA, R. Modified atmosphere packaging (MAP) as an alternative measure for controlling ten pests that attack processed food products. **Journal of Stored Products Research**, v. 45, n. 2, p. 91-96, 2009.

RIUDAUVETS, J.; CASTAÑÉ, C.; ALOMAR, O.; PONS, M. J.; GABARRA, R. The use of carbon dioxide at high pressure to control nine stored-product pests. **Journal of Stored Products Research**, v. 46, n. 4, p. 228-233, 2010.

RUBIOLO, P.; SGORBINI, B.; LIBERTO, E.; CORDERO, C.; BICCHI, C. Essential oils and volatiles: sample preparation and analysis. **Flavor and Fragrance Journal**, v. 25, p. 282–290, 2010.

RUMBOS, C. I.; ATHANASSIOU, C. G. Insecticidal effect of six entomopathogenic nematode strains against *Lasioderma serricorne* (F.) (Coleoptera: Anobiidae) and *Tribolium confusum* Jacquelin du Val (Coleoptera: Tenebrionidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 50, p. 21-26, 2012.

SAEED, M.; KHAN, S. M.; SHAID, M. Effective monitoring of cigarette beetle *Lasioderma serricorne* (F.) Coleoptera: Anobiidae in tobacco warehouses of NWFP Pakistan. **Sarhad Journal of Agriculture**, v. 23, n. 1, p. 123-128, 2007.

SAĞLAM, Ö.; EDDE, P. A.; PHILLIPS, T. W. Resistance of *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Anobiidae) to fumigation with phosphine. **Journal of Economic Entomology**, v. 108, n. 5, p. 2489-2495, 2015.

SILVA, C. L.; CÂMARA, J. S. Profiling of volatiles in the leaves of Lamiaceae species based on headspace solid phase microextraction and mass spectrometry. **Food Research International**, v. 51, p. 378-387, 2013.

SILVA, P. H. S.; OLIVEIRA, J. R. P. Ocorrência de *Lasioderma serricorne* em babaçu no Estado do Piauí. **EMBRAPA: Comunicado Técnico**, n. 32, p. 1-2, 1985.

SYNTECH. **Electroantennography**: a practical introduction. Kirchzarten: Syntech, 2015. 30p.

TREMATERRA, P. Advances in the use of pheromones for stored-product protection. **Journal of Pest Science**, v. 84, p. 285-299, 2012.

UKEH, D. A.; BIRKETT, M. A.; BRUCE, T. J. A.; ALLAN, E. J.; PICKETT, J. A.; MORDUE (LUNTZ), A. J. M. Behavioural responses of the maize weevil, *Sitophilus zeamais*, to host (stored-grain) and non-host plant volatiles. **Pest Management Science**, v. 66, p. 44-50, 2010.

ULRICHS, V. C.; REICHMUTH, C. Einfluß physikalischer parameter auf die bekiimpfung des tabakiiifers *Lasioderma serricorne* Fab. (Col". Anobiidae) mit kohlenstoffdioxid unter hochdruck. **Anzeiger für Schädlingskunde**, v. 70, n. 5, p. 81-86 1997.

UE (UNIÃO EUROPEIA). Directive 2009/128/EC of the European Parliament na of the Council: establishing a framework for Community action to achieve the sustainable use of pesticides. **Official Journal of the European Union**. 24 nov. 2009. Disponível em: <<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2009:309:0071:0086:en:PDF>>. Acesso em: 23 nov.2017.

VET, L. E. M.; VAN LENTEREN, J. C.; HEYMANS, M.; MEELIS, E. An airflow olfactometer for measuring olfactory responses of hymenopterous parasitoids and other small insects. **Physiological Entomology**, v. 8, p. 97-106, 1983.

WANG, C. F.; YANG, K.; YOU, C. X.; ZHANG, W. J.; GUO, S. S.; GENG, Z. F.; DU, S. S.; WANG, Y. Y. Chemical composition and insecticidal activity of essential oils from *Zanthoxylum dissitum* leaves and roots against three species of storage pests. **Molecules**, v. 20, p. 7990–7999, 2015a.

WANG, Y.; YOU, C. X.; YANG, K.; WU, Y.; CHEN, R.; ZHANG, W. J.; LIU, Z. L.; DU, S. S.; DENG, Z. W.; GENG, Z. F.; HAN, J. Bioactivity of essential oil of *Zingiber purpureum* rhizomes and its main compounds against two stored product insects. **Journal of Economic Entomology**, v. 108, p. 925–932, 2015b.

WEBSTER, B.; BRUCE, T.; DUFOUR, S.; BIRKEMEYER, C.; BIRKETT, M.; HARDIE, J.; PICKETT, J. Identification of volatile compounds used in host location by the black bean aphid, *Aphis fabae*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 34, p. 1153–1161, 2008.

WEIZHENG, L.; YINYIN, F.; JINGJING, A.; QIONG, W.; XIANRU, G.; MEIHAO, L.; GUOHUI, Y. Screening of plant-derived repellents against tobacco beetle, *Lasioderma serricornis* (Fabricius). **Acta Tabacaria Sinica**, v. 20, p. 93–97, 2014.

WU, Y.; ZHANG, W. J.; HUANG, D. Y.; WANG, Y.; WEI, J. Y.; LI, Z. H.; SUN, J. S.; BAI, J. F.; TIAN, Z. F.; DU, S. S. Chemical compositions and insecticidal activities of *Alpinia kwangsiensis* essential oil against *Lasioderma serricornis*. **Molecules**, v. 20, p. 21939–21945, 2015a.

WU, Y.; ZHANG, W. J.; WANG, P. J.; YANG, K.; HUANG, D. Y.; WEI, J. Y.; TIAN, Z. F.; BAI, J. F.; DU, S. S. Contact toxicity and repellency of the essential oil of *Liriope muscari* (DECN.) Bailey against three insect tobacco storage pests. **Molecules**, v. 20, p. 1676–1685, 2015b.

XINGHUA, G.; LANKMAYR, E. Hyphenated techniques in gas chromatography. In: MOHD, M. A. (Ed). **Advanced gas chromatography** - progress in agricultural, biomedical and industrial applications. Changai: InTech, 2012. 25p. Disponível em: <<http://www.intechopen.com/books/advanced-gaschromatography-progress-in-agricultural-biomedical-and-industrial-applications/hyphenated-techniques-ingaschromatography>>. Acessado em: 19 de out. 2017.

XUE, Z.; DUAN, L. X.; QI, X. Gas chromatography mass spectrometry coupling techniques. In: QI, X.; CHEN, X.; WANG, Y. (Eds). **Plant Metabolomics: methods and applications**. Dordrecht: Springer, 2015. p. 25-44.

YANG, K.; WANG, C. F.; YOU, C. X.; GENG, Z. F.; SUN, R. Q.; GUO, S. S.; DU, S. S.; LIU, Z. L.; DENG, Z. W. Bioactivity of essential oil of *Litsea cubeba* from China and its main compounds against two stored product insects. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 17, p. 459–466, 2014.

YANG, K.; GUO, S. S.; GENG, Z. F.; DU, S. S.; WANG, C. F.; DENG, Z. W. Chemical composition and bioactivity of essential oil of *Atalantia guillauminii* against three species stored product insects. **Journal of Oleo Science**, v. 64, p. 1101–1109, 2015a.

YANG, K.; GUO, S. S.; GENG, Z. F.; DU, S. S.; WANG, C. F.; DENG, Z. W. Contact toxicity and repellency of the essential oil of *Dictamnus dasycarpus* roots from China against two stored-product insects. **Chemistry & Biodiversity**, v. 12, p. 980–986, 2015b.

YANG, S. Z.; LIU, H. X.; YANG, M. H.; ZHANG, J. T.; LI, Z. W.; JING, X. Y.; ZHENG, H. X. Female sex pheromone of a nettle caterpillar, *Monema flavescens*, in China. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 161, p. 161-167, 2016.

YOU, C. X.; WANG, Y.; ZHANG, W.; YANG, K.; WU, Y.; GENG, Z. F.; CHEN, H. P.; JIANG, H. Y.; DU, S. S.; DENG, Z. W.; LIU, Z. L. Chemical constituents and biological activities of the Purple Perilla essential oil against *Lasioderma serricorne*. **Industrial Crops and Products**, v. 61, p. 331–337, 2014.

YOU, C. X.; JIANG, H. Y.; ZHANG, W. J.; GUO, S. S.; YANG, K.; LEI, N.; MA, P.; GENG, Z. F.; DU, S. S. Contact toxicity and repellency of the main components from the essential oil of *Clausena anisum-olens* against two stored product insects. **Journal of Insect Science**, v. 15, n. 1, p.87, 2015.

YU, C.; SUBRAMANYAM, B.; HOU, X.; FLINN, P. W.; GWIRTZ, J. A. Ground, pelleted poultry feed: an optimal diet for the cigarette beetle, *Lasioderma serricorne* (F.) (Coleoptera: Anobiidae). **Research Kernels** – Center for Grain and Animal Health Research, 2010. Disponível em: <<https://www.ars.usda.gov/SP2UserFiles/Place/30200000/RK05-2010.pdf>>. Acesso em: 14 maio 2016.

YU, C.; SUBRAMANYAN, B.; FLINN, P. W.; GWIRTZ, J. Susceptibility of *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Anobiidae) life stages to elevated temperatures used during structural heat treatments. **Journal of Economic Entomology**, v. 104, n. 1, p. 317-324, 2011.

ZHANG, W.J.; YANG, K.; YOU, C. X.; WANG, C. F.; GENG, Z. F.; SU, Y.; WANG, Y.; DU, S. S.; DENG, Z. W. Contact toxicity and repellency of the essential oil from *Mentha haplocalyx* Briq. against *Lasioderma serricorne*. **Chemistry & Biodiversity**, v. 12, p. 832–839, 2015.

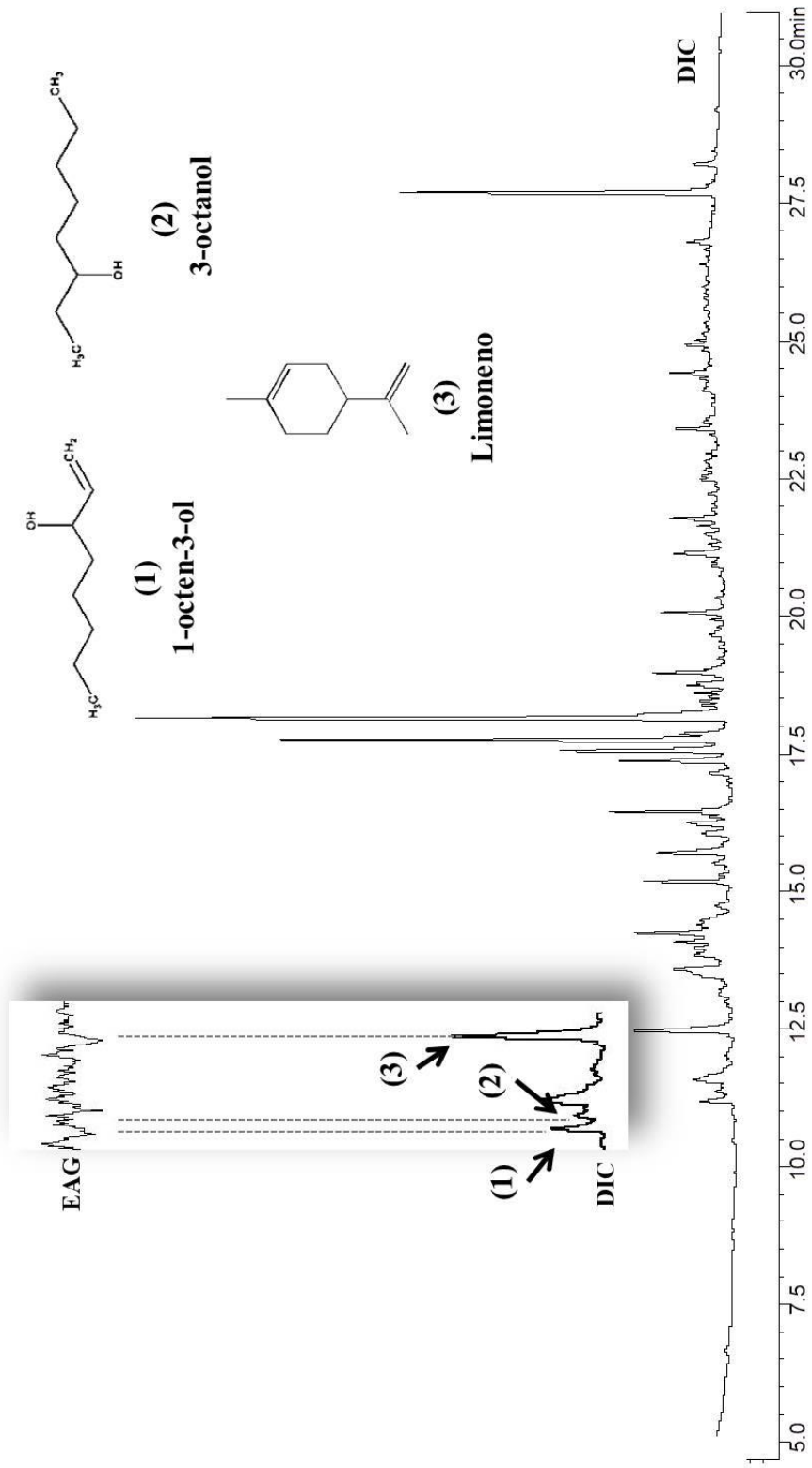
ZANUNCIO, J. C.; TAVARES, W. S.; D'ANTONIO-FARONI, L. R.; WILCKEN, C. F.; SERRÃO, J. E. *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Anobiidae) in stored *Matricaria recutita* (Asteraceae) in Brazil. **Florida Entomologist**, v. 97, n. 2, p. 807-808, 2014.

ZARBIN, P. H. G. Extração, isolamento e identificação de substâncias voláteis de insetos. In: VILELA, E.F.; DELLA-LUCIA, T. M.C. (Eds). **Feromônios de insetos: biologia, química e emprego no manejo de pragas**. 2 ed. Ribeirão Preto: Holos Editora, 2001. p. 45-50.

ZARBIN, P. H. G.; RODRIGUES, M. A. C. M.; LIMA, E. R. Feromônios de insetos: tecnologia e desafios para uma agricultura competitiva no Brasil. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 722-731, 2009.

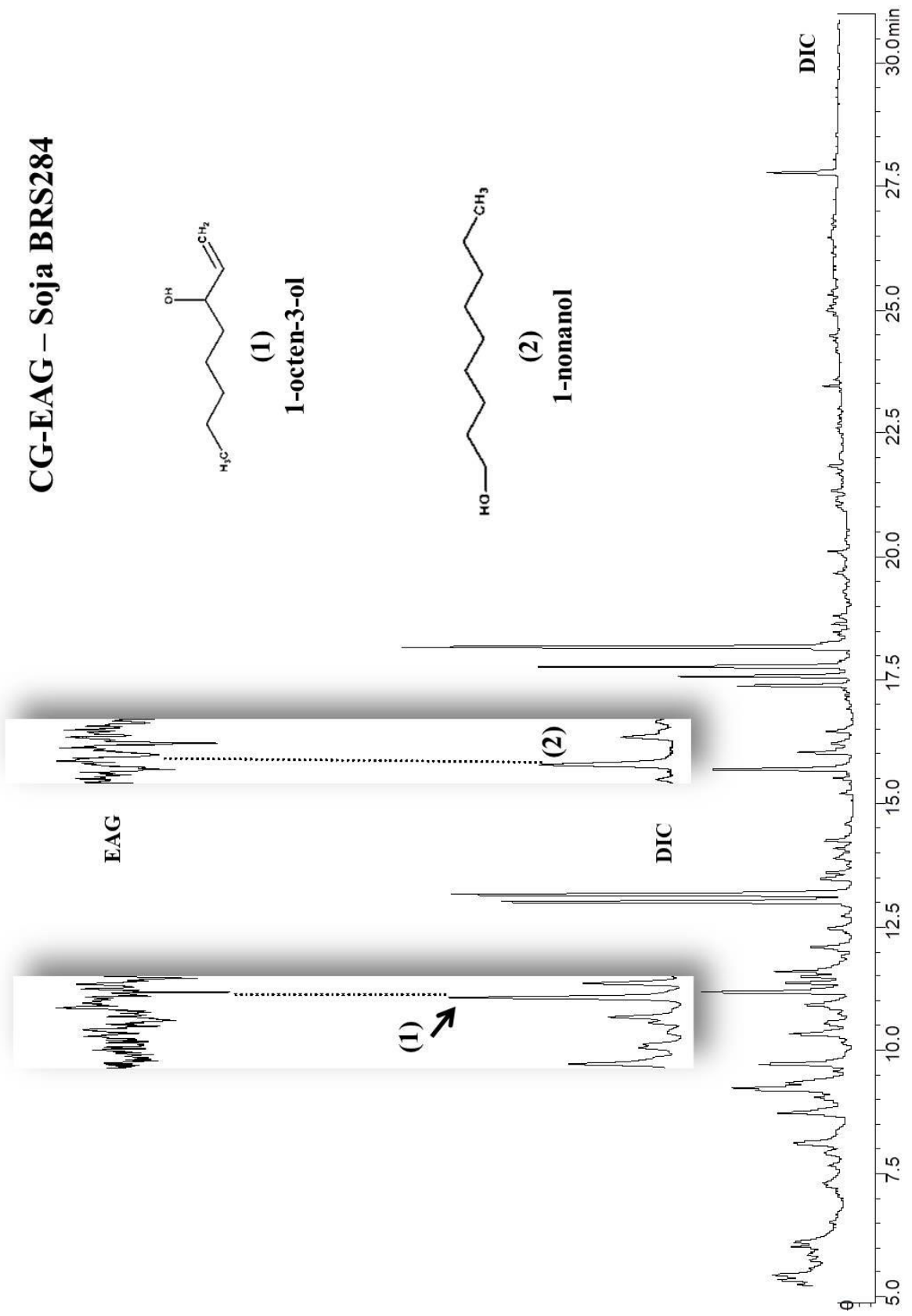
**APÊNDICE – A**  
**FIGURAS COM RESULTADOS DO CG-EAG, DESTACANDO OS COMPOSTOS**  
**EAG ATIVOS IDENTIFICADOS POR CG-EM EXTRAÍDOS DO *HEADSPACE* DE**  
**GRÃOS DE SOJA ARMAZENADOS.**

## CG-EAG – Soja Orgânica

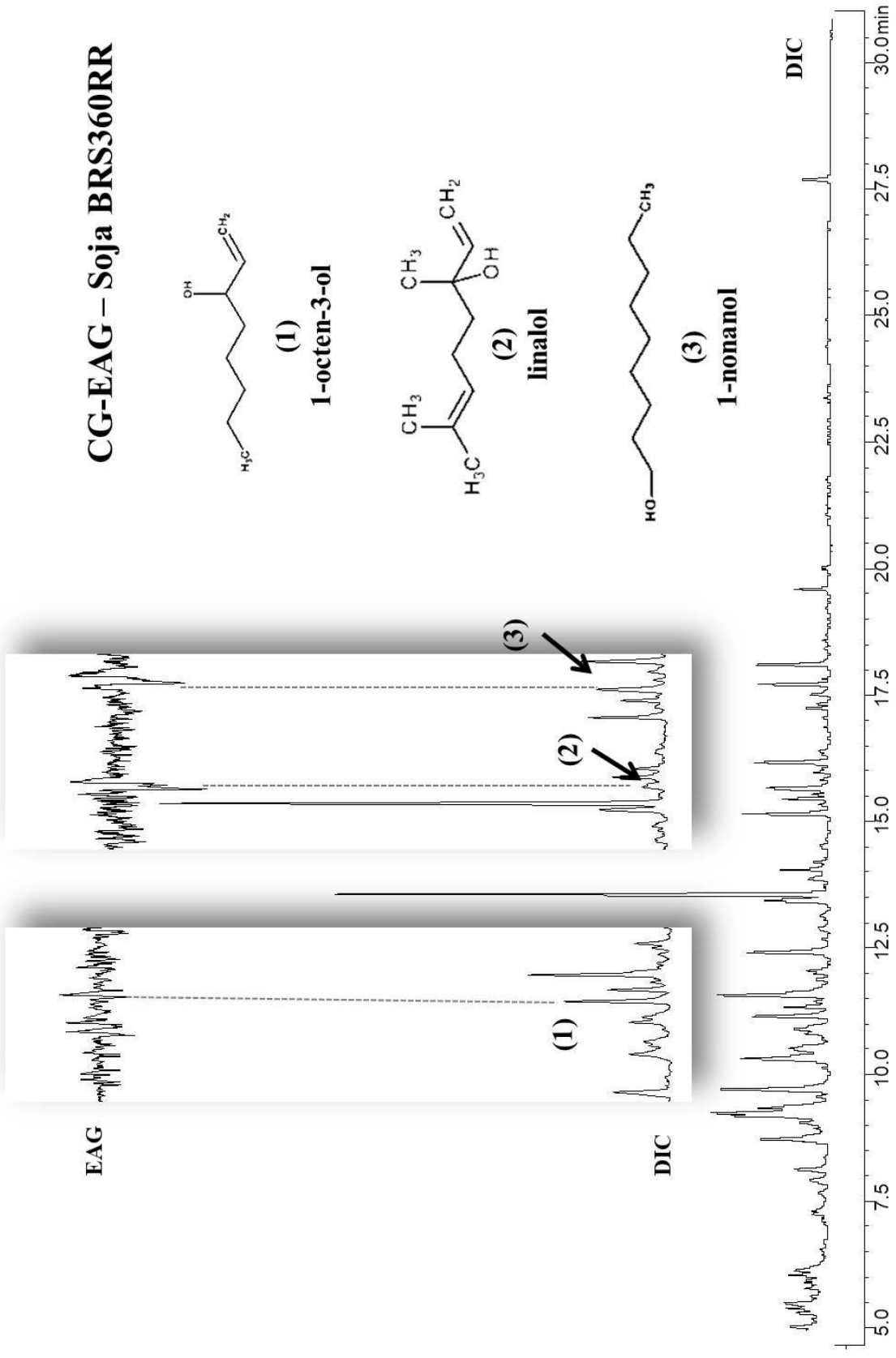




# CG-EAG – Soja BRS284

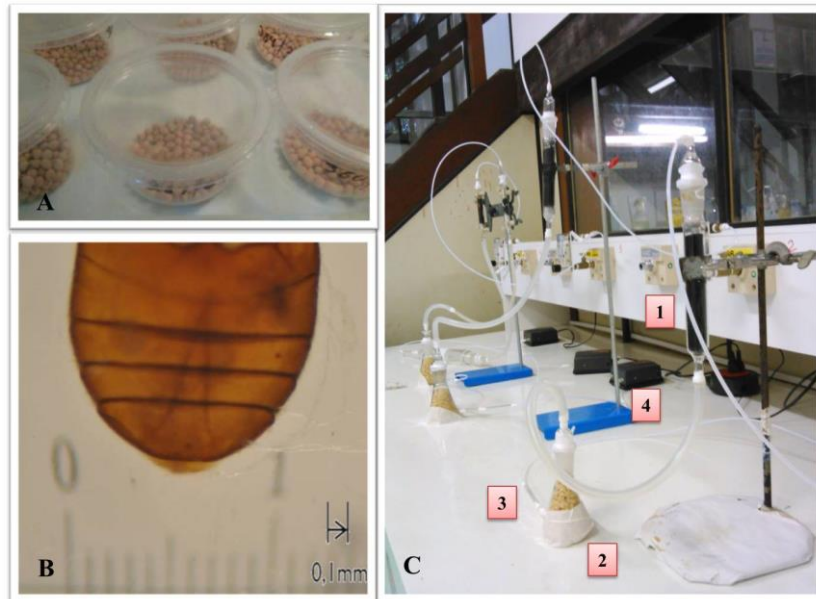


**CG-EAG – Soja BRS360RR**

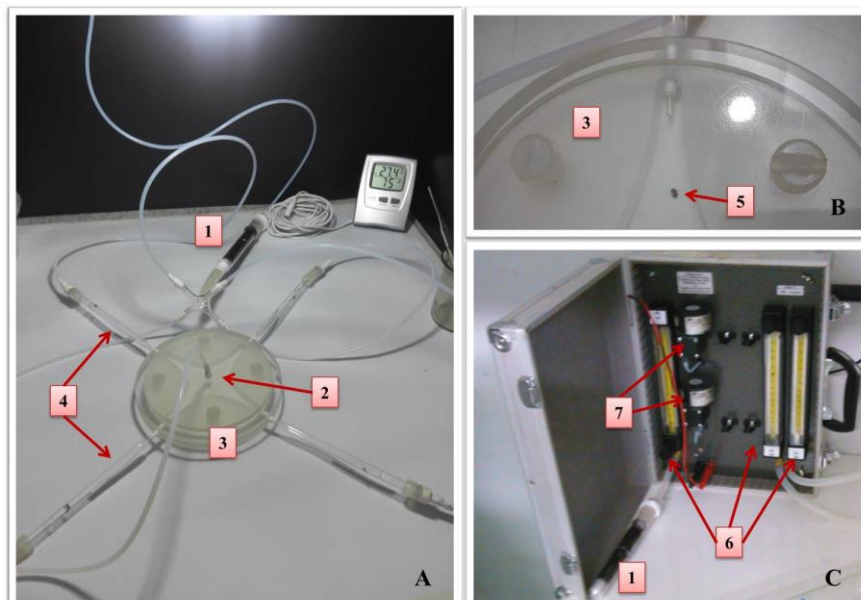


## APÊNDICE – B

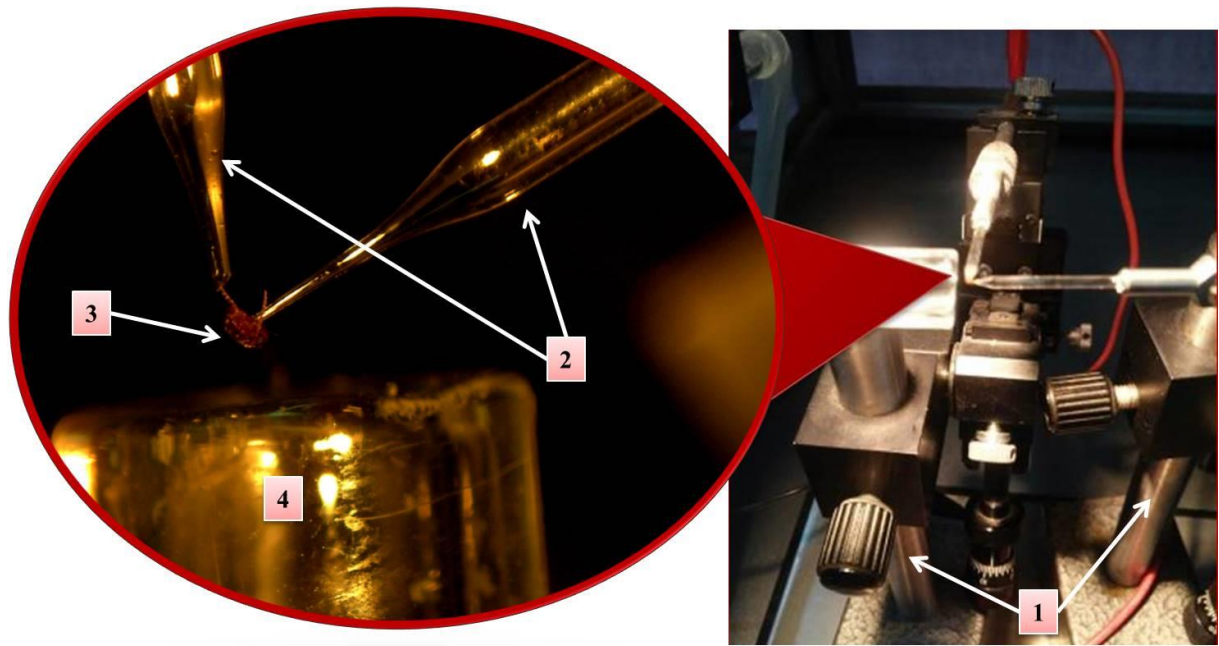
### Figuras relativas à parte experimental do Capítulo 2



- A) Criação de *L. serricorne* em grãos de soja no interior de câmara tipo BOD.  
 B) Vista ventral em estereomicroscópico do abdômen de fêmea adulta de *L. serricorne* com apodema em forma de “V”.  
 C) Coleta dinâmica do *headspace* dos grãos de soja: 1- carvão ativado para limpeza do ar que entra no sistema; 2- frasco com grãos de soja; 3- coluna de adsorvente Porapak Q; 4- bomba de ar.



- A) Bioensaio em olfatômetro de 4 braços: 1- carvão ativado; 2- abertura para colocação dos insetos e entrada de ar; 3- olfatômetro de 4 braços.  
 B) Detalhe do olfatômetro de 4 braços: 5- *L. serricorne*.  
 C) Sistema de bombeamento de ar: 6- fluxômetros; 7- bombas de ar.



Montagem de *L. serricorne* para análise de CG-EAG: 1- micromanipuladores; 2- microcapilares com solução salina; 3- cabeça e antenas de *L. serricorne* preparadas para início do CG-EAG; 4- tubo de vidro que conduz a parte do efluente da coluna até a antena.