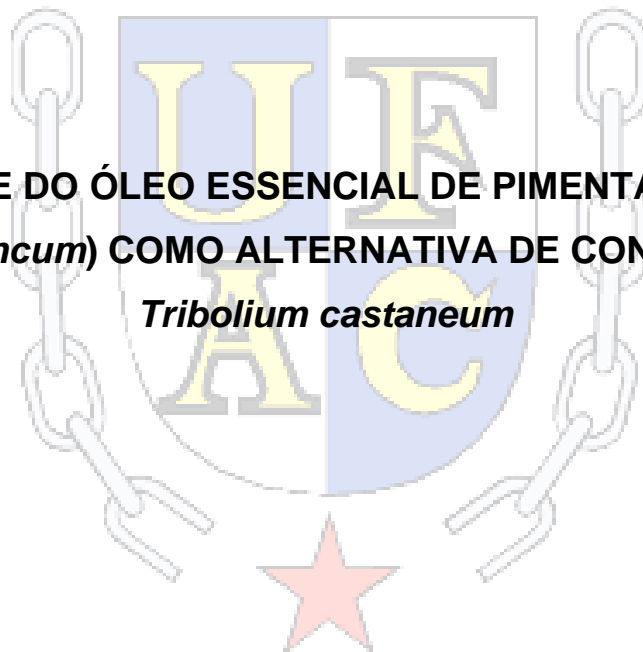


JOSILENE FERREIRA ROCHA



**BIOATIVIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE PIMENTA-DE-MACACO
(*Piper aduncum*) COMO ALTERNATIVA DE CONTROLE DO
*Tribolium castaneum***



RIO BRANCO - AC

2022

JOSILENE FERREIRA ROCHA

**BIOATIVIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE PIMENTA-DE-MACACO
(*Piper aduncum*) COMO ALTERNATIVA DE CONTROLE DO
*Tribolium castaneum***

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Centro de Ciências Biológicas e da Natureza, Universidade Federal do Acre, como parte das exigências para obtenção do título de Doutora em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Adalberto Hipólito de Sousa

RIO BRANCO - AC

2022

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da UFAC

R672b Rocha, Josilene Ferreira, 1990 -
Bioatividade do óleo essencial de pimenta-de-macaco (*Piper aduncum*) como alternativa de controle do *Tribolium castaneum* / Josilene Ferreira Rocha; Orientador: Dr. Adalberto Hipólito de Sousa -2022.
49 f.: il.; 30 cm.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Acre, Programa de Pós-Graduação em produção Vegetal, Doutorado em Produção Vegetal, Rio Branco, 2022.

Inclui referências bibliográficas.

1. Grãos armazenados. 2. Inseticida botânico. 3. Resistência. I. Sousa, Adalberto Hipólito de. (Orientador). II. Título.

CDD: 630

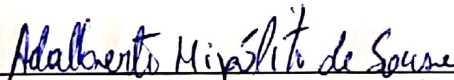
JOSILENE FERREIRA ROCHA

BIOATIVIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE PIMENTA-DE-MACACO (*Piper aduncum*) COMO ALTERNATIVA DE CONTROLE DO *Tribolium castaneum*

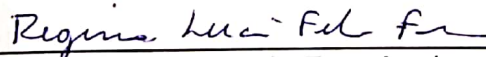
Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Centro de Ciências Biológicas e da Natureza, Universidade Federal do Acre, como parte das exigências para obtenção do título de Doutora em Produção Vegetal.

APROVADA em 28 de Abril de 2022.

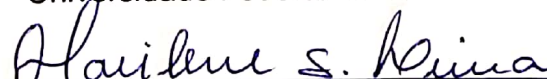
BANCA EXAMINADORA



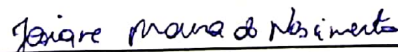
Dr. Adalberto Hipólito de Sousa (Orientador)
Universidade Federal do Acre



Dra. Regina Lúcia Felix Ferreira (membro)
Universidade Federal do Acre



Dra. Marilene Santos de Lima (membro)
Universidade Federal do Acre



Dra. Josiane Moura do Nascimento (membro)
SEBRAE ACRE



Geazi Penha Pinto (membro)
Instituto Federal do Acre

RIO BRANCO - AC

2022

A meu pai José Rodriguês da Rocha,
que me ensinou o valor os estudos desde as séries iniciais,
sempre foi meu grande exemplo e incentivador e desde 2020 luta contra o câncer.

OFEREÇO

A minha família,
Meus pais José Rodriguês da Rocha e Maria do Carmo Ferreira Rocha,
Meus Irmãos Valdirene Ferreira Rocha, Edilene Ferreira Rocha, Edilson Paulo
Ferreira Rocha, e meus sobrinhos Priscila Rocha e Pablo Rocha, pelas orações, carinho,
incentivo, compreensão, e por sempre acreditar na minha capacidade e potencial.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus pela oportunidade de mais uma etapa acadêmica vencida e por ter me sustentado até aqui, mesmo passando por muitas adversidades.

Aos meus familiares pelo apoio, incentivo, compreensão, preocupações e por estar sempre me animando com palavras de otimismo nos momentos difíceis.

Ao meu orientador prof. Dr. Adalberto Hipólito de Sousa pela amizade, paciência, compreensão, orientação, ensinamentos, disponibilidade quando necessário, além do incentivo de que ia dá certo e muitas palavras de conforto quando precisei.

Aos membros da banca examinadora Dra. Regina Lúcia Felix, Dra. Marilene Lima, Dr. Geasí Pinto, Dra. Josiane Moura pelas sugestões para melhoria do trabalho.

A Universidade Federal do Acre e ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal pela oportunidade de mais esse sonho realizado.

Aos colegas do grupo de pesquisa em Manejo Integrado de Pragas (MIP), Josiane Moura, Roger Ventura, Lucas Martins, Mayara Drumond, Weverton pela amizade, trocas de conhecimento, pela ajuda nos experimentos, pelos momentos de conversas durante a condução do trabalho.

A Ma. Jamila Farias pela amizade, companheirismo, troca de conhecimento ajuda na identificação e coleta de *P. aduncum*.

Aos professores do Programa em Produção Vegetal, pelos ensinamentos e troca de experiência.

A CAPES pela concessão de bolsa de estudo.

Enfim, a todos que direta ou indiretamente tenha contribuído para o sucesso desse trabalho.

Forte é aquele que não desiste dos seus sonhos, mesmo com tantas dificuldades no caminho.

(Vitor Sousa)

RESUMO

Na fase de armazenamento de grãos ocorrem muitas perdas causadas pela infestação de insetos pragas, onde se destaca o *Tribolium castaneum* como praga secundária de difícil controle. Nos últimos anos tem aumentado gradativamente o uso indiscriminado de inseticidas para conter as perdas causadas por pragas de grãos armazenados. Contudo, isso tem gerado um grande problema de resistência de insetos aos princípios ativos. Nesse sentido, a pesquisa foi desenvolvida em dois capítulos intitulados como: capítulo I - Taxa de mortalidade do inseticida piretróide deltametrina para dezenove populações brasileiras de insetos adultos de *T. castaneum* e capítulo II - Resistência e toxicidade do óleo essencial de *Piper aduncum* (OEPA) e deltametrina para cinco populações brasileiras de insetos adultos de *T. castaneum*. Para o capítulo I, foram realizados bioensaios para determinar a taxa de mortalidade das dezenove populações ao inseticida deltametrina; para o capítulo II, foram selecionadas cinco populações, sendo três mais susceptíveis e duas mais tolerantes avaliadas no capítulo I, para realizar os bioensaios de concentração-resposta ao inseticida sintético deltametrina e ao óleo essencial de *P. aduncum*. Dentre as dezenove populações da espécie *T. castaneum* avaliadas, obtiveram diferenças significativas na taxa de mortalidade, sendo as populações sacramento-MG, Nova Era-MG e Bom Despacho-MG as mais susceptíveis ao inseticida piretróide deltametrina e as populações São Pedro do Anta-MG e Rio Branco-AC mais tolerantes. Os resultados obtidos com o teste de toxicidade, no qual gerou as informações das curvas de concentração-resposta do inseticida químico sintético deltametrina entre populações brasileiras de *T. castaneum* observou-se que as populações São Pedro do Anta-MG e Rio Branco-AC apresentaram resistência. O OEPA altera a taxa de toxicidade de insetos da espécie *T. castaneum* resistentes, aumentando a taxa de mortalidade em relação ao inseticida sintético deltametrina.

Palavras chaves: grãos armazenados; inseticida botânico; resistência;

ABSTRACT

During the grain storage phase, there are many losses caused by the infestation of insect pests, where *Tribolium castaneum* stands out as a secondary pest that is difficult to control. In recent years, the indiscriminate use of insecticides has gradually increased to contain the losses caused by stored grain pests. However, this has generated a major problem of insect resistance to active ingredients. In this sense, the research was developed in two chapters entitled: chapter I - Mortality rate of deltamethrin pyrethroid insecticide for nineteen Brazilian populations of adult insects of *T. castaneum* and chapter II - Resistance and toxicity of essential oil of *Piper aduncum* (OEPA) and deltamethrin for five Brazilian populations of adult insects of *T. castaneum*. For chapter I, bioassays were carried out to determine the mortality rate of nineteen populations to the insecticide deltamethrin; for chapter II, five populations were selected, being three more susceptible and two more tolerant evaluated in chapter I, to carry out concentration-response bioassays to the synthetic insecticide deltamethrin and to the essential oil of *P. aduncum*. Among the nineteen populations of the *T. castaneum* species evaluated, there were significant differences in the mortality rate, with the populations sacramento-MG, Nova Era-MG and Bom Despacho-MG being the most susceptible to the pyrethroid insecticide deltamethrin and the populations São Pedro do Anta- MG and Rio Branco-AC more tolerant. The results obtained with the toxicity test, which generated information on the concentration-response curves of the synthetic chemical insecticide deltamethrin among Brazilian populations of *T. castaneum*, it was observed that the populations São Pedro do Anta-MG and Rio Branco-AC presented resistance. The OEPA changes the toxicity rate of resistant *T. castaneum* insects, increasing the mortality rate in relation to the synthetic insecticide deltamethrin.

Keywords: stored grains; botanical insecticide; resistance;

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Informações do código e local de coleta das populações de <i>Tribolium castaneum</i>	25
Tabela 2 – Taxa de tombamento e mortalidade discriminante de <i>Tribolium castaneum</i> expostos a deltametrina (0,05%).....	27
Tabela 3 – Concentrações de deltametrina usadas nos bioensaios de toxicidade em populações brasileiras de <i>T. castaneum</i>	31
Tabela 4 – Toxicidade residual relativa de deltametrina em adultos de populações brasileiras de <i>T. castaneum</i> . (9 dias de exposição).....	34
Tabela 5 – Toxicidade residual relativa de óleo essencial de <i>Piper aduncum</i> em adultos de populações brasileiras de <i>T. castaneum</i> . (9 dias de exposição).....	37

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 INSETO <i>Tribolium castaneum</i> : (COLEOPTERA: TENEBRIONIDAE).....	14
2.2 CONTROLE CONVENCIONAL: INSETICIDAS QUÍMICOS.....	14
2.3 RESISTÊNCIAS A INSETICIDAS SINTÉTICOS.....	15
2.4 INSETICIDAS BOTÂNICOS.....	17
2.4.1 Espécie <i>Piper aduncum</i> L.....	19
2.2.2 Óleo essencial.....	20
3 CAPÍTULO I: TAXA DE MORTALIDADE DO INSETICIDA PIRETRÓIDE DELTAMETRINA PARA DEZENOVE POPULAÇÕES BRASILEIRAS DE INSETOS ADULTOS DE <i>T. castaneum</i>	24
3.1 MATERIAL E MÉTODOS.....	24
3.1.1 Populações de <i>Tribolium castaneum</i>	24
3.1.2 Inseticida sintético.....	25
3.1.3 Bioensaios de toxicidade.....	25
3.1.4 Análise estatística.....	26
3.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
4 CAPÍTULO II: TOXIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Piper aduncum</i> (OEPA) E DELTAMETRINA PARA CINCO POPULAÇÕES BRASILEIRAS DE INSETOS ADULTOS DE <i>T. castaneum</i>	29
4.1 MATERIAL E MÉTODOS.....	29
4.1.1 Populações de <i>Tribolium castaneum</i>	29
4.1.2 Obtenção do óleo essencial de <i>Piper aduncum</i>	29
4.1.3 Inseticida sintético.....	30
4.1.4 Bioensaios de toxicidade com inseticida sintético.....	31
4.1.5 Bioensaios de toxicidade com OEPA.....	31
4.1.6 Análise estatística.....	32
4.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
4.2.1 Toxidade com inseticida sintético.....	32
4.2.2 Toxidade com OEPA.....	36
5 CONCLUSÃO	40
REFERÊNCIAS	41

1 INTRODUÇÃO

Atualmente o Brasil se destaca como o terceiro produtor mundial de milho, ficando atrás apenas dos Estados Unidos e China (FIESP, 2021), no entanto apresentam vários problemas sanitários que causa danos econômico durante o processo de produção, como também na fase de armazenamento dos grãos.

Dentre os principais insetos-pragas que acometem os grãos armazenados se destacam as pragas primárias: *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae), *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) e as pragas secundárias *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) (Coleoptera: Cucujidae), *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) (LORINI et al., 2015). O *T. castaneum*, mesmo sendo praga secundária, apresenta grande importância econômica para o setor do agronegócio, pois os danos causados são irreversíveis e causam perdas na qualidade tanto de sementes como de grãos em decorrência da redução da massa de grãos e teor de germinação (LORINI, 2008).

O método de controle mais usado para essas pragas são os inseticidas químicos sintéticos por apresentar controle imediato e alta eficiência. Por outro lado, esses produtos químicos requerem muito cuidado em suas aplicações, pois o uso indiscriminado principalmente em grãos destinados a alimentação humana pode apresentar efeito residual, sendo, portanto, prejudicial à saúde, assim como danos ao meio ambiente. Nesse aspecto, as pragas também podem desenvolver mecanismos de resistências aos princípios ativos dos inseticidas de uso contínuo, reduzindo consideravelmente a eficiência de controle (SPLETOZER, et al., 2021).

A resistência surge a partir do manejo inadequado da molécula sintética durante o controle químico, podendo ser classificada em resistência cruzada ou múltipla, dependendo dos mecanismos desenvolvidos (comportamentais, fisiológicos e bioquímicos) e da quantidade de princípios ativos envolvidos nessa resistência (GUEDES et al., 1995; (GUEDES et al., 1997).

Nesse sentido, o uso de bioinseticidas surge como uma alternativa para todos esses aspectos negativos causados pelas moléculas químicas sintéticas, pois essas substâncias adquiridas na forma de óleo essencial ou extratos apresentam rápida degradação ao meio ambiente, preservando a biodiversidade, a qualidade da água, contribuindo assim para uma produção sustentável (SPLETOZER, et al., 2021).

A região Amazônica é rica em biodiversidade, apresentando grande potencial de descoberta de novos compostos secundários com propriedades de controle para os insetos-pragas, colocando o Brasil em primeiro lugar no rank mundial de pesquisa com plantas alternativas (CARVALHO et al., 2022). Dentre as plantas mais investigadas, se destaca a família da Piperaceae, muito abundante na floresta amazônica e muito conhecida devido ao alto rendimento de óleo essencial (OE), onde se destaca a espécie *Piper hispidinervum* C.DC e *Piper aduncum* L. por apresentarem os compostos safrol e dilapiol, respectivamente, (NEGREIROS e MIQUELONI, 2015), substâncias estas que já são muito utilizadas nas indústrias brasileiras.

O potencial inseticida dos vegetais é obtido a partir dos metabólitos secundários que são extraídos na forma de extratos ou OE, esses compostos são produzidos para defesa natural das plantas contra o ataque de seres vivos herbívoros e microrganismos fitopatogênicos (MITHOFER & BOLAND, 2012).

O OE pode agir na toxicidade dos insetos pelos métodos de contato ou fumigação, causando a intoxicação através da ingestão, absorção pelo tegumento e inalação durante o processo de troca gasosa (EL-WAKEIL, 2013; SANTOS et al., 2017; TURCHEN et al., 2016).

O modo de ação dos OE pode ser através da toxicidade, repelência e outras alterações menos conhecidas como: inibição na alimentação, redução da taxa reprodutiva e alteração no desenvolvimento dos insetos (SPLETOZER, et al., 2021).

Desta forma, o objetivo desta pesquisa foi (i) avaliar a taxa de mortalidade do inseticida piretróide deltametrina para dezenove populações brasileiras de insetos adultos de *Tribolium castaneum*; e (ii) Determinar a toxicidade e resistência do óleo essencial de *Piper aduncum* (OEPA) e do inseticida piretróide deltametrina para cinco populações brasileiras de insetos adultos de *T. castaneum*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 INSETO *Tribolium castaneum*: (COLEOPTERA: TENEBRIONIDAE)

O besouro castanho ou besouro da farinha *Tribolium castaneum* é pragas secundárias que não conseguem atacar grãos e sementes saudáveis, pois requer que estejam danificados ou quebrados para poder infestá-los. Essas pragas ocorrem na massa de grãos quando estes estão trincados, quebrados ou mesmo danificados por pragas primárias. No entanto é considerada uma praga-chave de produtos processados como farinha, milho triturado, cereais, ração animal entre outros, causando prejuízos elevados pela sua presença e atividade biológica associada as pragas primárias, provocando a deterioração. Multiplicam-se rapidamente sob condições ótimas de 35°C e UR 70% completando o ciclo reprodutivo de ovos a adulto em até 21 dias. Os adultos dessa espécie têm vida longa (podendo chegar a dois anos), alta capacidade reprodutiva, e alta tolerância a fatores abióticos (LORINI, 2008; LORINI e GALLEY, 1999; REES, 1996).

Esta praga tem grande relevância para a economia brasileira, visto que apresenta alta taxa de reprodução, distribuição regional e alto nível de resistência a princípios ativos sintéticos (PACHECO et al., 1990).

Desta forma, os cereais infestado por essa praga apresentam odores e cores desagradáveis devido à secreção de benzoquinonas pelas glândulas abdominais e grande quantidade de exúvias que o inseto libera em sua metamorfose (PHANKAEN et al., 2017).

Os adultos são besouros de coloração castanho-avermelhada, medindo de 2,3 mm a 4,4 mm de comprimento; o corpo é achatado e possui duas depressões transversais na cabeça. As larvas são branco-amareladas, cilíndricas, medindo até 7 mm de comprimento. As fêmeas colocam de 400 a 500 ovos em fendas de paredes, na sacaria e sobre os grãos (BOOTH et al., 1990).

2.2 CONTROLE CONVENCIONAL: INSETICIDAS QUÍMICOS

Os cereais industrializados, sementes e grãos armazenados recebem tratamentos diferenciados de acordo com a finalidade de uso, grau de infestação e espécies de insetos presentes. O tratamento pode ser feito de forma preventiva para

evitar a contaminação da massa de grãos armazenados, por exemplo, se for armazenar no período de 60 – 90 dias pode-se fazer tratamento químico nos grãos e/ou sementes para proteção contra insetos pragas. Esse tratamento consiste em aplicar inseticidas líquidos sobre os grãos, na correia transportadora, no momento de carregar o armazém ou no momento de ensaque das sementes, e homogeneizar de forma que todo o grão ou semente receba inseticida. Esse inseticida protegerá contra o ataque de pragas que tentarão se instalar na massa de grãos. Os inseticidas mais utilizados para esse processo são pirimiphos-methyl, fenitrothion, deltamethrin, bifenthrin ou lambdacyhalothrin, sendo eficientes para as pragas de grãos armazenados de modo geral (LORINI, 2002).

O tratamento curativo é empregado quando a massa de grão já encontra infestada por insetos pragas e precisa realizar o controle imediato destes insetos para evitar perdas de produção na fase de armazenamento. Essa técnica consiste em realizar o expurgo com uso do gás tóxico com o princípio ativo fosfina (PH_3) em silo ou armazém (GUEDES, 1990; WHITE e LEESCH, 1996).

Para o controle de pragas de grãos armazenados existem poucos princípios ativos comerciais recomendado para essa finalidade (AGROFIT, 2022). Por isso, o mesmo produto químico é usado constantemente para o tratamento de grãos e sementes em silos e armazéns, fazendo com que haja redução da eficiência da toxicidade para os insetos alvos ao longo do tempo (DUTRA e FERREIRA, 2019).

Em decorrência da baixa eficiência dos inseticidas usados para controle convencional das pragas chaves de grãos armazenados, tem aumentado nos últimos anos, o uso indiscriminado de agrotóxicos no tratamento de grãos, em decorrência de resistência populacionais a alguns princípios ativos em diversas espécies de insetos que infestam principalmente o milho, arroz, feijão e trigo (FEROZ, 2020; PACHECO et al., 1990).

2.3 RESISTÊNCIAS A INSETICIDAS SINTÉTICOS

De acordo Organização Mundial de Saúde (OMS) resistência é a capacidade de uma população de insetos suportar o efeito de uma dose de substância tóxica que seria letal para a maioria dos indivíduos de uma população normal.

A resistência a inseticidas ocorre devido ao desenvolvimento de mecanismo de resistência a partir de alteração no genoma do indivíduo, dando condições para

que o mesmo resista a um ou mais princípios ativos e consiga sobreviver em condições adversas. Essas características perpetuam na população por anos, pois é transmitida de geração em geração na cadeia hereditária de reprodução dos ascendentes dentro da espécie como também intra-específica (BRATTSTEN et al., 1986; TABASHNIK et al., 1990; SUBRAMANYAN & HAGSTRUM, 1996).

As falhas no controle químico é um dos parâmetros indicadores de resistência, isso ocorre devido ao manejo inadequado no uso da molécula sintética, como: aplicação inadequada, dosagens inferior ou superior ao recomendado pelo fabricante e período de exposição insuficiente. O manejo incorreto repetitivo, leva os insetos a desenvolver maior tolerância ao tratamento, sendo necessário a intensificação do controle em decorrência da maior pressão de seleção para a resistência através dos indivíduos sobreviventes (BECKEL et al., 2006; DUTRA e FERREIRA, 2019; FARONI et al., 1995).

A resistência a inseticidas é classificada em dois tipos: Resistência cruzada – quando um único mecanismo, confere resistência a dois ou mais princípios ativos; Resistência múltipla – quando pelo menos dois ou mais mecanismo distintos, confere resistência a dois ou mais princípios ativos (GUEDES et al., 1995).

Os principais mecanismos de resistência a inseticidas são: comportamentais, fisiológicos e bioquímicos. Mecanismos comportamentais causa alterações nos órgãos sensoriais adquirindo maior habilidade em evitar os efeitos letais de compostos químicos. Dentre os mecanismos fisiológicos, os insetos podem desenvolver estruturas que dificultam a penetração do inseticida, aumento da excreção de substâncias tóxicas, isolamento de moléculas inseticidas no interior do corpo sem que cause intoxicação. Já os mecanismos bioquímicos consistem na destoxificação metabólica causada por grupos enzimáticos geralmente pela glutathione-S-transferase (GST) que quebram a molécula inseticida e a mesma é excretada pelo organismo ou também pode ocorrer a alteração no sítio de ação corresponde a alteração nas enzimas acetilcolinesterase (AChE) principal responsável pela resistência de inseticidas dos grupos organofosforados e carbamatos (GUEDES et al., 1997).

Já foi relatado a resistência a aproximadamente 33 inseticidas, incluindo matathion e fosfina, o controle desses insetos tem tornado um desafio para o futuro (TALUKDER, 2009).

Pesquisas relatam que o *T. castaneum* desenvolve resistência a uma substância por meio de dois efeitos principais: modificando o ponto de ação de enzimas vitais (como a acetilcolinesterase) ou através do aumento de sua atividade metabólica, gerando assim a elevação de enzimas desintoxicantes (glutathione S transferase e catalase) (TRIPATHI et al., 2009 ; SUBAHARAN et al., 2021).

2.4 INSETICIDAS BOTÂNICOS

Diversas espécies vegetais possuem substâncias secundárias que podem ser usadas para o controle de pragas de forma sustentável. Essas plantas normalmente apresentam uma diversidade de compostos químicos moderadamente tóxicos ou uma pequena quantidade altamente tóxica. Contudo, os inseticidas botânicos são capazes de controlar as pragas e serem menos agressivos ao ambiente quando comparada com os agrotóxicos sintéticos (BOIÇA JÚNIOR, 2005; SAUSEN et al., 2007).

Nos últimos 10 anos intensificou os estudos para descoberta de novos compostos naturais com efeito bioinseticidas para utilização no controle de insetos pragas, causar menos danos ao meio ambiente, não serem nocivos aos organismos benéficos, não apresentar problemas de resíduos nos alimentos e que evitem ou retardem o surgimento de insetos resistentes (KRINSKI; MASSAROLI; MACHADO, 2014).

Os metabólitos secundários encontrados nas plantas são produzidos para agir como mecanismos de defesa da mesma contra patógenos e herbívoros. E podem ser alterados de acordo com os fatores de estresse abiótico, favorecendo a produção de compostos do ajuste osmótico e produção de elementos tóxicos para outros seres vivos (TAIZ et al. 2017).

Nos últimos anos, essas substâncias estão sendo utilizadas no controle alternativo de diversas pragas para a obtenção de produtos alimentícios livres de resíduos químicos. Os princípios ativos desses bioinseticidas podem ser adquiridos a partir da extração de qualquer parte da planta (raiz, caule, folhas e inflorescência) e obter o produto vegetal na forma de extrato aquoso ou liofilizado e óleos essenciais e suas aplicações nas culturas deve seguir os mesmos critérios para o uso de controle químico, pois os inseticidas botânicos também podem apresentar

alta toxicidade para outros insetos benéficos, assim como para os mamíferos (CORRÊA; SALGADO, 2011; RATTAN, 2010; SILVA, et al., 2012).

Para potencializar ainda mais a ação das substâncias vegetais no controle de organismos vivos, pode preparar o composto botânico a partir de duas ou mais espécies com atividades biológicas distintas (CARMONA-HERNÁNDEZ, et al., 2016; GONZALEZ-COLOMA, et al., 2010). Desta forma, a ação desses metabólitos majoritários age com o objetivo de romper barreiras de resistência desenvolvidas pelos insetos submetidos a controle químico constante de forma indiscriminado.

A forma como os metabólitos secundários são obtidos dos vegetais assim como a parte da planta utilizada para sua obtenção, influencia diretamente no rendimento e concentração dos componentes majoritários, sendo que uma mesma matéria prima pode apresentar rendimentos variáveis de acordo com o método de extração aplicado (SANTOS et al., 2004). Além disso, as condições edafoclimáticas, assim como, a época de coleta também são fatores responsáveis pela despadronização das substâncias vegetais usadas para biocontroles. Desta forma, toda substância natural necessita de uma análise cromatográfica para determinar as concentrações de todos os compostos que constitui o material a ser usado, pois a determinação da dose é dependente da concentração dos componentes majoritários no óleo essencial (OLIVEIRA et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2014).

As substâncias que já foram estudadas e identificadas como plantas com potencial inseticida possuem metabólitos secundários pertencentes às classes dos alcalóides, flavonóides, terpenóides e quinonas que possui atividade natural com efeito fungicida, bactericida, larvicida e inseticida (POTENZA et al., 2004). O composto azadiractina é referência de compostos secundários de atividade inseticida, por apresentar atividade biológica, toxicidade, biodegradabilidade, baixo impacto ambiental, e apresenta efeito inseticida em cerca de 200 espécies já estudada (SPLETOZER et al., 2021).

Os efeitos da toxicidade desses produtos naturais ocorrem após a ação dos compostos químicos no sistema nervoso central dos insetos. Além disso, os inseticidas botânicos também apresentam outros efeitos benéficos além da morte por intoxicação como repelência, crescimento e desenvolvimento lento, inibição da alimentação e má formação dos insetos na fase reprodutiva (RATTAN, et al., 2010; SILVA, et al., 2012; VIANA; PRATES; RIBEIRO, 2006). As substâncias que agem

por contato, são absorvidas pela quitina e exoesqueleto ou através das vias respiratórias (CORRÊA; SALGADO, 2011).

O uso dos inseticidas botânicos tem se tornado foco de novas descobertas em várias pesquisas nos últimos anos, principalmente no controle de pragas de grãos armazenados associada ao programa de manejo integrado de pragas (MIP) com a finalidade de reduzir os efeitos negativos causados pelo uso indiscriminado de agrotóxicos que acarreta em vários problemas ambientais e de resistência pelos insetos e também minimizar os danos econômicos ocasionados pelas pragas (ALÉCIO, et al., 2010; SANTOS et al., 2016).

Os componentes fitoquímicos são versáteis também de uma espécie para outra sendo que, cada espécie tem sua particularidade de compostos que agem de forma diferente em cada organismo nocivo ou patogênico (CARMONA-HERNÁNDEZ, et al., 2016). Desta forma, vale ressaltar ainda que o tipo de teste aplicado também determina uma maior ou menor taxa de mortalidade, sendo fumigação, contato e aplicação tópica os testes de toxicidade mais avaliados (ESTRELA et al., 2006; FAZOLIN et al., 2016). Apesar da alta eficiência no controle, os pesticidas botânicos agem e degradam rapidamente, sendo assim pouco tóxico para mamíferos (EL-WAKEIL, 2013).

Algumas famílias de plantas como Meliaceae, Myrtaceae, Fabaceae, rutaceae, Solanaceae e Piperaceae já foram estudadas e foi identificado várias de espécies com a presença de substâncias secundárias que atuam negativamente no desenvolvimento dos insetos causando intoxicação ou algum distúrbio fisiológico (BIERMANN, 2009).

Estudos realizados com a família Piperaceae, em destaque o gênero *Piper*, avaliaram que essas plantas apresentam vários metabólitos secundários, incluindo alcaloides, amidas, propenilfenóis, lignanas, neolignanas, terpenos, esteroides, flavonas e flavanonas (DYER; RICHARDS; DODSON, 2004).

2.4.1 Espécie *Piper aduncum* L.

A espécie *P. aduncum* L. pertence à família Piperaceae, gênero *Piper*, está distribuído em regiões tropicais e subtropicais. No Brasil, essas plantas são encontradas nos biomas da mata atlântica e cerrado brasileiro, no entanto com maior ocorrência na região Norte, sendo encontrada frequentemente em florestas

amazônicas do tipo secundária, em áreas úmidas, com pouca luminosidade e com presença de matéria orgânica (FAZOLIN et al., 2006; GUIMARÃES et al., 2015).

No Brasil é conhecida como “pimenta de macaco” e se destaca entre as variedades mais aromática do gênero *Piper* e por ser uma planta herbácea facilita a coleta de partes do vegetal, possui boa capacidade de regeneração dos ramos, brotos e folhas, além de apresentar bom rendimento de óleo essencial (NEGREIROS; MIQUELONI, 2015). Para exploração comercial é mais utilizado a extração de OEPA de populações selvagem nativas e/ou plantios experimentais.

Essa espécie aceita muito bem a implementação de tecnologia, como correção do solo, adubação e irrigação em cultivos para fins comerciais, respondendo significativamente com o incremento da produtividade, principalmente da parte aérea, maior rendimento da biomassa seca e de óleo essencial (SARNAGLIA JUNIOR et al., 2014).

Pesquisas realizadas com a espécie *P. Aduncum* mostra sua eficiência como inseticida para várias ordens de insetos como: Hemiptera (CASSOLIN et al., 2019; KRINSKI e FOERSTER, 2016; TURCHEN et al., 2016; VOLPE et al., 2015), coleoptera (ESTRELA, 2006; FAZOLIN et al., 2007; MARTINEZ et al., 2015), lepidoptera (LUCENA et al., 2017; SANINI et al., 2017), diptera (MISNI et al., 2011). Essa eficiência no controle de insetos se dar principalmente aos compostos miristicina e dilapiol presente no óleo essencial dessa espécie. Além disso, apresentou também seletividade a alguns parasitóides, sendo portanto um fator favorável no controle biológico (TURCHEN et al., 2016).

Silva et al. (2007) testando o extrato aquoso de *P. aduncum* no controle de *Aetalion* sp., observaram que não houve diferença dos extratos obtidos das folhas ou das raízes no controle deste inseto fitófago, por isso, recomenda-se a utilização do extrato da folhas para não destruir a planta e não causar impacto ambiental durante a coleta.

2.4.2 Óleo essencial

Segundo a Organização Internacional de Normalização (ISO), o termo "óleo essencial" é designado ao produto obtido a partir de matéria-prima vegetal, por destilação com água ou vapor ou por destilação a seco (ISO 9235, 1997). A extração pode ser feita da biomassa seca ou verde, no entanto, a biomassa seca apresenta

maior rendimento do composto principal, possivelmente pela perda de alguns compostos voláteis durante o processo de secagem (NEGREIROS; MIQUELONI, 2015).

A destilação a vapor é um dos métodos de extração do óleo essencial mais usado, sendo obtido com a secagem do material vegetal a 40°C, posteriormente triturado e colocado em uma caldeira com água e o material seco, que é aquecido por um resistor e conectado a um sistema de refrigeração para coletar o óleo pela técnica de arraste de vapor forçado (ROSSA et al., 2018) ou pelo extrator tipo Clevenger. A amostra é separada pelo método de decantação com um funil com diclorometano. As frações são secas com cloreto de cálcio anidro (CaCl_2) ou sulfato de sódio anidro. O sal é removido por filtração a vácuo e o solvente evaporado à temperatura ambiente (CASSOLIN et al., 2019; TURCHEN et al., 2016). A separação também pode ser feita por centrifugação (SANINI et al., 2017; ZACARONI et al., 2009). De acordo com Rossa et al., (2018) o tempo de extração viável, é até 240 minutos após o início da destilação a vapor, no entanto Negreiros e Miqueloni (2015) e Krinski e Foerster (2016) usando o método de coação e destilação a vapor respectivamente, recomendam 180 minutos.

A extração por hidrodestilação é a técnica mais usadas para obtenção do óleo essencial, no entanto, uma nova técnica de hidrodestilação por micro-ondas mostrou-se mais vantajoso, pois observou-se maior rendimento e menor tempo de extração (RIVA, et al., 2011).

Os óleos essenciais são analisados por cromatografia gasosa detectada em massa (GC-MS) acoplada ao espectrômetro de massas com a finalidade de identificar os compostos presentes no óleo, assim como, determinar os compostos majoritários e porcentagem de cada substâncias presentes. A densidade é determinada utilizando uma balança analítica, e de modo geral o OEPA apresenta valor próximo a $1,25 \text{ g cm}^3$ (ROSSA et al., 2018).

Os óleos essenciais OE podem ser alternativas para o manejo de pragas, pois são misturas voláteis complexas de monoterpenos, sesquiterpenos, fenilpropanos e hidrocarbonetos, que apresentam alta especificidade nas pragas alvo, baixa persistência no ambiente e redução da probabilidade de gerar resistência (REGNAULT-ROGER et al., 2012 ; HANIF et al., 2019). OEPA é composto principalmente por monoterpenes e sesquiterpenes (OVIEDO-SARMIENTO et al., 2021).

Vários fatores interferem no rendimento de OEPA, pois as folhas do topo até meia altura das plantas tendem a produzir mais óleo essencial que as folhas da base (RIVA, et al., 2011). Segundo Andrade et al. (2009) as condições ambientais como clima, luz solar, solo, temperatura e umidade também interfere diretamente no rendimento e composição do óleo essencial. Além disso, o local de coleta, época do ano, estágio fenológico, estado nutricional das plantas e temperatura de extração, podem alterar o rendimento e concentração do composto majoritário e metabólitos secundários (KELMENDI et al., 2020 ; LIU et al., 2019; ROSSA, et al., 2018;). Vale ressaltar ainda que, variedades nativas da floresta Amazônica também apresentam rentabilidade de óleo distintas, principalmente pela variabilidade genética contida entre esses genótipos (NEGREIROS; MIQUELONI, 2015).

Para o teste de fumigação diretamente no grão para controle do inseto *S. zeamais*, o óleo essencial da espécie *Piper adundum* foi mais tóxico que a *Piper hispidinervum*, pois a CL₅₀ correspondeu a 0,56 mL e 1,32mL de óleo por g de grãos respectivamente. Contudo, para o teste de contato a espécie *Piper hispidinervum* apresentou mortalidade de 90% e 100% nas concentrações de 20% e 30% respectivamente, enquanto a *Piper adundum* obteve aproximadamente 50% a 70% nas mesmas concentrações (ESTRELA et al., 2006).

OEPA é usado para quebra de resistência de *T. castaneum* à princípio ativo sintético devido sua capacidade de inibir a atividade glutatona S-transferase (GST) em 50% (OVIEDO-SARMIENTO et al., 2021).

Pesquisas relacionadas as vantagens e desvantagens dos óleos essenciais no controle de pragas e doenças, assim como, aplicabilidade em indústrias são muito comum, no entanto, pouco se sabe sobre a estabilidade desse constituinte natural durante o armazenamento para uso a longo prazo. Os fatores abióticos (temperatura, luz, acessibilidade ao oxigênio atmosférico) pode causar alterações nos componentes do óleo essencial pelas reações oxidativas ou degradação dos mesmos, provocando mudança de cor, sabor e odor (TUREK; STINTZING, 2013).

Vale lembrar ainda que a qualidade do óleo pode ser influenciado também pela características fitosanitárias das plantas, época de colheita e fatores edáficos, além de falhas na extração e manipulação dos mesmos, pois as impurezas do óleo compromete a sua estabilidade, principalmente a presença de água adquirida no processo de hidrodestilação (TUREK; STINTZING, 2013).

Durante o armazenamento os óleos essenciais sofrem alterações químicas com o processo natural de envelhecimento, no entanto pouco se sabe até agora quais as condições ideais para a máxima preservação das substâncias que o constitui, bem como o prazo de validade. Negreiros et al (2017) verificaram a estabilidade do óleo nas condições de armazenamento (ambiente interno, externo e geladeira), tipo do frasco (âmbar e transparente) e tempo de armazenamento (12 meses) para a espécie *Piper aduncum*, e observaram que sob refrigeração não houve diferenças na concentração do composto majoritários dilapiol do OEPA, no entanto em frasco transparente verificaram a concentração do dilapiou quando armazenado em ambiente externo. Essa concentração pode está associada a perda dos compostos voláteis que não foram avaliados.

3 CAPÍTULO I: TAXA DE MORTALIDADE DO INSETICIDA PIRETRÓIDE DELTAMETRINA PARA DEZENOVE POPULAÇÕES BRASILEIRAS DE INSETOS ADULTOS DE *T. castaneum*

Neste capítulo, foi avaliado a taxa de mortalidade do inseticida piretróide deltametrina para dezenove populações brasileiras de insetos adultos de *T. castaneum*, com objetivo de verificar a diferença dessas populações a mesma concentração de calda inseticida.

3.1 MATERIAL E MÉTODOS

Os bioensaios foram realizados no laboratório de manejo integrado de pragas – MIP, do bloco de doutorado em Produção Vegetal da Universidade Federal do Acre - UFAC, campus Rio Branco.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC) com 38 (trinta e oito) tratamentos e 4 (quatro) repetições, totalizando 152 (cento e cinquenta e dois) unidades experimentais, sendo dezenove tratamentos com a concentração de inseticida e dezenove tratamentos testemunha.

3.1.1 Populações de *Tribolium castaneum*

Para estudo, foram utilizadas dezenove populações de *T. castaneum* coletadas em diferentes estados brasileiros (Tabela 1). Os insetos foram multiplicados no laboratório de MIP em frascos de vidro de 1,5 L, contendo 50 insetos adultos, estes frascos foram mantidos em câmaras climáticas do tipo B.O.D., sob condições constantes de temperatura ($28\pm 2^{\circ}\text{C}$), umidade relativa ($70\pm 5\%$) e escotofase de 24 h. Foram utilizados grãos de milho triturados como substrato alimentar com teor de água de 13 % base úmida (b.u.), previamente expurgados com fosfina (PH_3).

O expurgo é feito com o objetivo de eliminar qualquer infestação de insetos na massa de grãos usada no experimento. Esse processo é feito previamente ao uso dos grãos, que depois de expurgados foram armazenados em câmara B.O.D.

Tabela 1 – Informações do código e local de coleta das populações de *Tribolium castaneum*

Código	Cidade	Estado
1	Água boa	MT
2	Barrabos	-
3	Barra do Garças	MT
4	Bom Despacho	MG
5	Campos de Júlio	MT
6	Guaxupé	MS
7	Maracajú	MS
8	Nova Era	MG
9	Pensão Velha	MG
10	Picos	PI
11	Piracicaba	SP
12	Rio Branco	AC
13	Rio Pomba	MG
14	Rio Verde	GO
15	Sacramento	MG
16	São Pedro do Anta	MG
17	Uberlândia	MG
18	Unai	MG
19	Viçosa	MG

3.1.2 Inseticida sintético

Para os bioensaios foram utilizado o inseticida sintético comercial composto do ingrediente ativo deltametrina, nome comercial Decis 25 EC, grupo químico piretróide, classe inseticida e classe toxicológica categoria 4 – pouco tóxico.

3.1.3 Bioensaios de toxicidade

O teste de toxicidade preliminar foi realizado com apenas uma população escolhida aleatoriamente para verificar a variação da taxa de mortalidade dos insetos de acordo com as oito concentrações pré estabelecidas que foram: 0,05 %, 0,25 %, 0,5 %, 0,9 %, 1,48 %, 1,96 %, 2,91 %, 3,85 % de deltametrina.

Os bioensaios de toxicidade para cada população, foram realizados com o inseticida sintético (deltametrina) na concentração de 0,05 %, sendo este, escolhido por apresentar taxa de mortalidade no intervalo de 5 % a 95 %. Portanto, a mesma concentração foi verificada para as 19 populações em estudo com o objetivo de identificar as diferenças entre as populações de insetos da espécie *T. castaneum*.

No teste de toxicidade foi usado placa de petri de (9,0 cm de diâmetro x 1,5 cm de altura) forrada com papel filtro na superfície de contato, onde na mesma com auxílio de uma pipeta automática foi adicionado 1 ml de solução da calda inseticida preparada com deltametrina e acetona (solvente) e 1 ml de acetona para a testemunha. Após cinco minutos da aplicação, para total evaporação do solvente, cada unidade experimental foi infestada com 50 (cinquenta) insetos adultos não sexados com idade de 1 a 4 semanas.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com trinta e oito tratamentos (presença e ausência da concentração para 19 populações) e quatro repetições, totalizando 152 unidades experimentais sendo utilizado 50 insetos em cada unidade. Os bioensaios foram mantidos em câmara climatizada a $28\pm 2^{\circ}\text{C}$ a $70\pm 5\%$ de UR e com 12 horas de fotoperíodo dia.

A avaliação da taxa de mortalidade foi realizada com 1 dia e 8 dias após a infestação, contabilizando-se a quantidade de insetos mortos e tombados. Onde, mortos foram considerados insetos que não apresentaram nenhum movimento ao ser tocado e tombados quando os insetos se moviam, mas não conseguiam caminhar.

3.1.4 Análise estatística

Os dados coletados foram ajustados pela fórmula de Abbott (1925). Os resultados de toxicidade obtidos na concentração discriminante foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e comparação de média pelo teste de Scott-Knott (1974).

3.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A toxicidade de deltametrina a 0,05 % apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) entre as populações da mesma espécie de *Tribolium castaneum* com uma variação na taxa de mortalidade de 19,58 % (São Pedro do Anta-MG) a 99,34 % (Sacramento-MG). Entre as populações avaliadas, São Pedro do Anta-MG e Rio Branco-AC apresentaram menor mortalidade (Tabela 2), induzindo assim possível resistência ao princípio ativo do inseticida sintético utilizado para teste (deltametrina). Em contrapartida, as populações Nova Era-MG, Bom despacho-MG e

Sacramento-MG foram as mais susceptíveis (Tabela 2) a concentração de deltametrina.

A taxa de insetos tombados avaliado com um dia após o teste dos bioensaios, não apresentou correlação com a mortalidade de insetos para um dia nem para 9 dias quando comparado as 19 populações estudadas.

Tabela 2 – Taxa de tombamento e mortalidade discriminante de *Tribolium castaneum* expostos a deltametrina (0,05 %)

Populações	Tombamento (1 dia) ±E.P.M.	Mortalidade (1 dia) ±E.P.M.	Mortalidade (9 dias) ±E.P.M.
São Pedro do Anta-MG	4,50±1,26 a	0,00±0,00 a	9,79±2,54 a
Rio Branco-AC	48,50±0,96 g	0,00±0,00 a	18,35±2,50 a
Rio Pomba-MG	15,00±1,63 b	0,00±0,00 a	27,55±3,84 b
Campos de Júlio-MT	33,50±1,85 e	0,00±0,00 a	28,09±0,43 b
Guaxupé-MS	23,75±3,35 c	0,00±0,00 a	28,72±3,13 b
Viçosa, MG	36,75± 1,70 f	0,76±0,76 a	29,04±2,20 b
Barra do Garças-MT	17,00±2,42 b	0,00±0,00 a	29,45±2,45 b
Rio Verde-GO	37,19±1,90 f	1,14±1,14 a	29,72±2,55 b
Maracajú-MS	40,25±1,11 f	0,00±0,00 a	30,05±3,45 b
Água Boa-MT	25,93±0,86 d	0,00±0,00 a	31,00±1,57 b
Barrabos	22,75±0,63 c	0,50±0,29 a	32,98±0,43 b
Piracicaba, SP	31,33±0,85 e	0,00±0,00 a	33,43±2,59 b
Pensão Velha-MG	26,50±1,55 d	0,25±0,25 a	36,13±0,29 c
Picos-PI	40,86±1,13 f	4,85±0,87 b	37,33±1,80 c
Uberlândia, MG	28,67±1,43 d	0,33±0,24 a	37,50±0,29 c
Unaí-MG	29,67±1,55 d	0,33±0,24 a	39,00±0,71 c
Nova Era-MG	46,50±1,19 g	0,00±0,00 a	47,25±0,48 d
Bom Despacho-MG	24,00±2,04 c	0,75±0,48 a	47,75±0,75 d
Sacramento-MG	38,00±1,47 f	0,33±0,24 a	49,67±0,24 d

*Médias seguidas de mesma letra na coluna não difere entre si ($p < 0,05$) pelo teste de Scott-Knott.

Algumas populações tiveram baixo índice de tombamento (4,50 insetos) no primeiro dia de avaliação e correspondeu com baixa taxa de mortalidade ao nono dia (São Pedro do Anta-MG), a população Rio Branco-AC apresentou tombamento de 48,50 insetos e baixa taxa de mortalidade com 9 dias (18,35 insetos), já Nova Era-

MG teve alta taxa de tombamento inicial (46,50 insetos) assim como elevada taxa de mortalidade (47,25 insetos), e Sacramento média taxa de tombamento (38,0 insetos) e alta taxa de mortalidade (49,67 insetos) após 9 dias.

A partir dos resultados obtidos na tabela 3, observa-se que o comportamento das dezenove populações brasileiras de *T. castaneum* a dose de 0,05 % de deltametrina foram distintas entre si. Sendo, portanto, algumas mais resistente que outras tanto no tombamento, mortalidade com 1 dia e 9 dias. Resultado similar a esse foi obtido por Pimentel (2006) ao avaliar populações de *T. castaneum* resistente a fosfina.

Essa concentração utilizada foi determinada a partir de testes preliminares com várias concentrações inferiores ao recomendado pelo fabricante que é de 1,0 a 1,5 %. Dentre as concentrações testadas, 0,05 % foi a que apresentou melhores resultados em relação a diferença entre as populações da mesma espécie.

Além disso, essa concentração mesmo não apresentando diferença entre as populações para taxa de mortalidade no primeiro dia, com exceção a população Picos-PI que obteve 4,85 insetos mortos, aos 9 dias após a instalação do teste, a diferença foi altamente significativa, apresentando variação na taxa de mortalidade de 9,79 (São Pedro do Anta-MG) a 49,67 insetos (Sacramento-MG).

Portanto, a subdose avaliada, mesmo não apresentando eficácia de toxicidade após 24 h, foi altamente eficiente na taxa de mortalidade após 9 dias, com mortalidade acima de 50 %, com exceção para as populações Rio Branco-AC e São Pedro do Anta-MG, com apenas 36,70 % e 19,58 % respectivamente.

4 CAPÍTULO II: TOXIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Piper aduncum* (OEPA) E DELTAMETRINA PARA CINCO POPULAÇÕES BRASILEIRAS DE INSETOS ADULTOS DE *T. castaneum*

Neste capítulo foi avaliado, toxicidade do OEPA e inseticida piretróide deltametrina para cinco populações brasileiras de insetos adultos de *T. castaneum*, no qual foram selecionadas as populações mais resistentes e, mas susceptíveis entre as dezenove avaliadas no capítulo I.

4.1 MATERIAL E MÉTODOS

Os bioensaios foram realizados no laboratório de manejo integrado de pragas – MIP, do bloco de doutorado em Produção Vegetal da Universidade Federal do Acre - UFAC, campus Rio Branco e laboratório de produtos naturais da Fundação de Tecnologia do Estado do Acre - FUNTAC.

O delineamento experimental utilizado tanto para OEPA como para Deltametrina foram o inteiramente casualizado (DIC) com 25 (vinte e cinco) tratamentos e 4 (quatro) repetições, totalizando 100 (cem) unidades experimentais.

4.1.1 Populações de *Tribolium castaneum*

Para estudo, foram utilizadas 5 populações de *T. castaneum* coletadas em diferentes estados brasileiros: Bom Despacho-MG, Nova Era-MG, Rio Branco-AC, Sacramento-MG e São Pedro do Anta-MG. Os insetos foram multiplicados no laboratório de MIP em frascos de vidro de 1,5 L, em câmaras climáticas do tipo B.O.D., sob condições constantes de temperatura ($28\pm 2^{\circ}\text{C}$), umidade relativa ($70\pm 5\%$) e escotofase de 24 h. Foram utilizados grãos de milho triturados como substrato alimentar com teor de água de 13 % base úmida (b.u.), previamente expurgados com fosfina (PH_3).

4.1.2 Obtenção do óleo essencial de *Piper aduncum*

O material vegetal foi obtido a partir de plantas adultas de *P. aduncum* coletada na Universidade Federal do Acre, Campus Rio Branco, localizado na

latitude 19L 0698182 e longitude 8868334. Folhas de plantas silvestres da espécie *P. aduncum* foram coletadas nos meses de novembro de 2019, agosto e setembro de 2020.

Foi realizada a pré secagem das folhas em bancada sob temperatura ambiente por 48 horas, sendo revolvidas duas vezes ao dia para reduzir o teor de umidade das mesmas, posteriormente foram transferidas para estufa á 45°C até atingir entre 20 e 30 % de umidade. Após a secagem os materiais foram quebrados em partículas menores manualmente e armazenados em sacos plásticos com capacidade de 10 Kg.

O material seco foi submetido a extração do óleo essencial no laboratório de produtos naturais na FUNTAC nos meses de fevereiro, março, setembro, outubro e novembro de 2020.

A técnica de extração utilizado foi por arraste forçado de vapor de água, onde foi usado uma manta térmica aquecedora, balão volumétrico capacidade de 3 L acoplado ao extrator tipo clewenger e interligado ao condensador. Com o auxílio de um funil foi colocado aproximadamente 100 g da biomassa vegetal seca no balão volumétrico e aferido com água destilada, em seguida acoplada ao extrator e o condensador conectado ao sistema de refrigeração para assim ser ligado o sistema de extração. Logo em seguida foi ligada a manta térmica e regulada a temperatura de ebulição em aproximadamente 120°C, dando início assim a extração do óleo essencial com duração de 240 minutos. Após o processo de ebulição e condensação do óleo essencial no extrator, o mesmo foi coletado juntamente com o hidrolato em um Erlenmeyer, posteriormente transferido para um funil de decantação acoplado ao suporte universal e um funil convencional com filtro e sulfato de sódio anidro para absorver as moléculas de água e realizar o processo de secagem do mesmo.

O óleo obtido foi armazenado em frascos de vidro do tipo âmbar com capacidade de 100 ml e mantido em câmara do tipo B.O.D. sob refrigeração a 4°C.

4.1.3 Inseticida sintético

Para os bioensaios foram utilizado o inseticida sintético comercial composto do ingrediente ativo deltametrina, nome comercial Decis 25 EC, grupo químico piretróide, classe inseticida e classe toxicológica categoria 4 – pouco tóxico.

4.1.4 Bioensaios de toxicidade com inseticida sintético

Foi realizado o teste de toxicidade previamente com 19 (dezenove) populações com a concentração de 0,05% de deltametrina e a partir deste resultado foi escolhido as populações com menor e maior taxa de mortalidade. E com base nesses dados, foi determinada cinco concentrações (Tabela 3) para exposição dos insetos e obtenção da curva de mortalidade dentro do intervalo de 5 % a 95 %.

No teste de toxicidade foi usado placa de petri de (9,0 cm de diâmetro x 1,5 cm de altura) forrada com papel filtro na superfície de contato, onde na mesma com auxílio de uma pipeta automática foi adicionado 1 ml de solução da calda inseticida preparada com deltametrina e acetona (solvente) em cinco concentrações e 1 ml de acetona para a testemunha. Cada unidade experimental foi infestada com 50 insetos adultos não sexados com idade de 1 a 4 semanas, após a evaporação do solvente (5 minutos após a aplicação). Os bioensaios foram mantidos em câmara climatizada a $28\pm 2^{\circ}\text{C}$ a 70 ± 5 % de UR e com escotofase de 24 horas.

Tabela 3 – Concentrações de deltametrina usadas nos bioensaios de toxicidade em populações brasileiras de *T. castaneum*

Populações	Concentrações ($\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$)				
Bom Despacho-MG	0,0033	0,0061	0,0125	0,0250	0,0500
Nova Era-MG	0,0033	0,0061	0,0125	0,0250	0,0500
Sacramento-MG	0,0033	0,0061	0,0125	0,0250	0,0500
Rio Branco-AC	0,0500	0,0999	0,9900	1,4778	4,7619
São Pedro do Anta_MG	0,0500	0,0999	0,9900	1,4778	4,7619

A avaliação da taxa de mortalidade foi realizada com 1 dia e 8 dias após a infestação, contabilizando-se a quantidade de insetos mortos e tombados. Onde, mortos foram considerados insetos que não apresentaram nenhum movimento ao ser tocado e tombados quando os insetos se moviam, mas não conseguiam caminhar.

4.1.5 Bioensaios de toxicidade com OEPA

Foi realizado o teste de toxicidade previamente com cinco populações já utilizadas para os testes com inseticidas sintéticos com a finalidade de obter a menor e maior taxa de mortalidade de insetos no intervalo de 5 % a 95 %. Após a identificação desses dados foi estabelecido cinco concentrações distintas para a exposição dos insetos aos testes definitivos com a espécie *Tribolium castaneum* que foram: 3,0 %, 6,0 %, 12,0 %, 25,0 %, e 50 %.

Os bioensaios do teste de contato em superfície foram realizados com insetos não sexados com idade de 1 a 4 semanas, usando placa de Petri (9,0 cm x 1,5 cm) forrada com papel filtro onde na mesma com auxílio de uma pipeta automática foi adicionado 1 ml de solução da calda inseticida preparada com óleo essencial de *P. aduncim* e acetona (solvente) em cinco concentrações distintas e 1 ml de acetona para a testemunha. Cada unidade experimental foi infestada com 50 insetos adultos não sexados, após a evaporação do solvente (5 minutos após a aplicação). Os bioensaios foram mantidos em câmara climatizada a $28\pm 2^{\circ}\text{C}$ a 70 ± 5 % de UR e com escotofase de 24 horas.

A avaliação da taxa de mortalidade foi realizada com 1 dia e 8 dias após a infestação, contabilizando-se a quantidade de insetos mortos. Onde, mortos foram considerados insetos que não apresentaram nenhum movimento ao ser tocado.

4.1.6 Análise estatística

Os dados coletados por meio dos bioensaios foram ajustados pela fórmula de Abbott (1925). Os resultados de toxicidade obtidos na concentração mortalidade foram submetidas a análise de probit (PROC PROBIT; SAS INSTITUTE 2011).

4.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.2.1 Toxicidade com inseticida sintético

Os resultados obtidos com o teste de toxicidade, no qual gerou as informações das curvas de concentração-resposta do inseticida químico sintético deltametrina entre populações brasileiras de *T. castaneum* estão expressos na tabela 4. As concentrações utilizadas se ajustaram adequadamente ao modelo de

Probit, apresentando valores de χ^2 considerados baixos ($\chi^2 < 5,22$) e P com valores elevados ($P > 0,16$) para cada curva de concentração-mortalidade.

As concentrações letais (CL_{50} e CL_{95}) para a população Sacramento foram: 0,0001 e 0,3685 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$, para a população Nova Era de 0,0010 e 0,1207 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$, para Bom Despacho de 0,0027 e 0,1725 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$, para Rio Branco de 0,0716 e 2,4434 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ e para São Pedro do Anta de 0,0911 e 3,134 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ respectivamente. A partir dessas informações, confirma a resistência das populações Rio Branco e São Pedro do Anta a deltametrina, visto que, a CL_{95} foi muito superior a dose comercial recomendada pelo fabricante que é 1,0 a 1,5 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$.

As razões de toxicidade CL_{50} e CL_{95} variaram de 7,18 e 801,42 vezes, e de 1,23 e 90,41 vezes respectivamente (Tabela 4). Esse resultado confirma a grande variação de resistência entre populações da espécie *T. castaneum* ao inseticida com princípio ativo deltametrina.

Vale ressaltar que, este é o primeiro estudo que verifica resistência de *T. castaneum* ao princípio ativo deltametrina no Brasil, não havendo qualquer informação na literatura consultada sobre a investigação de toxicidade em populações dessa espécie.

De acordo com os resultados obtidos, verifica-se que houve grande variação na resistência da mesma espécie de insetos praga a toxicidade pelo inseticida químico sintético (Deltametrina), visto que, a população Sacramento apresentou maior suscetibilidade (CL_{50} : 0,0001 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$) e a população São Pedro do Anta maior resistência (CL_{50} : 0,0911 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$) a toxicidade, apresentando portanto, dose de 801,42 vezes mais elevada que o padrão de susceptibilidade. Já para a CL_{95} a população mais susceptível foi Nova Era (CL_{95} : 0,1207 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$) e a mais resistente foi São Pedro do Anta (CL_{95} : 3,134 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$), onde a dose foi 90,41 vezes em relação ao padrão de susceptibilidade.

Tabela 4 - Toxicidade residual relativa de deltametrina em adultos de populações brasileiras de *T. castaneum*. (9 dias de exposição)

Populações	Inclinação \pm E.P.M. ¹	CL ₅₀ (IF 95%) g L ⁻¹	RT (IC 95%) LC ₅₀	CL ₉₅ (IF 95%) g L ⁻¹	RT (IC 95%) LC ₉₅	χ^2	P
Sacramento, MG	0,47 \pm 0,22	0,0001 (9,9954E-34-0,0011)	-	0,3685 (0,0583-2,6055E22)	8,86 (0,08-999,74)	4,41	0,22
Nova Era, MG	0,79 \pm 0,22	0,0010 (0,00006-0,0025)	8,86 (0,08-930,26)	0,1207 (0,0449-2,8771)	-	5,22	0,16
Bom Despacho, MG	0,71 \pm 0,22	0,0027 (0,0007-0,0048)	7,18 (0,79-65,03)	0,1725 (0,0535-15,3596)	1,23 (0,14-10,73)	5,20	0,16
Rio Branco, AC	1,07 \pm 0,14	0,0716 (0,0384-0,1125)	629,91 (110,23-3599,65)	2,4434 (1,3099-6,5251)	71,06 (0,83-6108,86)	4,22	0,24
São Pedro do Anta, MG	1,07 \pm 0,14	0,0911 (0,0514-0,1402)	801,42 (391,46-1640,70)	3,134 (1,6683-8,3693)	90,41 (44,16-185,08)	4,87	0,18

¹ Erro Padrão da Média.

A diferença na taxa de toxicidade de uma mesma espécie a um mesmo princípio ativo deltametrina está associado ao desenvolvimento de resistência a este princípio ativo, visto que, cada população isoladamente pode apresentar comportamentos distintos devido aos diferentes mecanismos de resistência que podem desenvolverem a partir de um controle químico com falhas na execução do tratamento, uso contínuo do mesmo inseticida ou uso de subdosagem.

As pragas de grãos armazenados apresentam grande tendência a resistência aos produtos químicos sintéticos, pois tem poucos princípios ativos no mercado, levando ao uso contínuo de um mesmo princípio ativo por muitos anos. Vários autores relatam a resistência de insetos pragas a essas moléculas inseticidas por contato, de piretróides e organofosforados, assim como ao fumigante fosfina (PEREIRA et al., 2009; CORRÊA et al., 2014; VÉLEZ et al., 2019).

Fatores que podem ter contribuído para a expansão da resistência de diversas espécies de insetos de grãos armazenados são as importações e exportações de insetos juntos aos produtos no comércio nacional e internacional (BENHALIMA et al., 2004).

Embora a população de insetos *T. castaneum* de Rio Branco, Acre apresentou resistência a deltametrina esse resultado foi surpreendente, visto que o estado apresenta pouca produção de grãos e a maior parte dessa produção é realizada pela agricultura familiar, para consumo de subsistência, onde esses produtos são armazenados geralmente em paiol durante o ano sem nenhum tratamento. No entanto, o Estado do Acre é um grande importador de milho produzido no Estado de Mato Grosso. Esses grãos geralmente são tratados com produtos químicos, armazenados e posteriormente comercializado no mercado nacional, no qual o Acre importa esses produtos durante todo o ano. Esse pode ser o motivo pelo qual obteve insetos resistentes a partir de coletas realizadas no município de Rio Branco. Tendo em vista que, a instituição que realiza o tratamento químico de grãos armazenados no Estado (CONAB) não possui capacidade para tratamento em grande escala.

Insetos resistentes podem apresentar redução de fecundidade, decréscimo de sobrevivência no estágios imaturos e adultos, ou prolongado tempo de desenvolvimento de certos estágios de vida em relação aos insetos susceptíveis (SUBRAMANYAM e HAGSTRUM, 1986). No entanto, eles se adaptam a condições

adversas para manutenção da sobrevivência de forma que com o passar do tempo torna-se uma população de difícil controle.

O manejo mais adequado para que se reestabeleça a susceptibilidade da população resistente é a aplicação do manejo integrado de pragas (MIP), que baseia-se em interromper por um tempo o controle com o princípio ativo ao qual os insetos desenvolveram resistência. Outro método também eficaz é a rotação de princípio ativos entre os controles químicos dos grãos. No entanto, o manejo de resistência pela rotação não apresenta tanta eficácia para pragas de grãos armazenados, visto que existe apenas um princípio ativo fumigante e um piretróide de contato (PIMENTEL, 2006).

4.2.2 Toxidade com OEPA

Os resultados obtidos com o teste de toxicidade, no qual gerou as informações das curvas de concentração-resposta do OEPA entre populações brasileiras de *T. castaneum* estão expressos na tabela 5. As concentrações utilizadas se ajustaram adequadamente ao modelo de Probit, apresentando valores de χ^2 considerados baixos ($\chi^2 < 5,12$) e P com valores elevados ($P > 0,15$) para cada curva de concentração-mortalidade.

Através dos bioensaios de concentração-resposta, obteve-se os resultados de mortalidade, no qual foram utilizados para estimar a CL_{50} e CL_{95} das cinco populações avaliadas de *T. castaneum*. Foi determinada como população padrão de suscetibilidade aquela que apresentou menor CL_{50} em relação as demais populações. Portanto, dentre as populações observadas, Sacramento-MG foi escolhida como susceptível por apresentar menor CL_{50} em relação as outras que apresentaram valores superiores que esta (Tabela 5). A razão de toxicidade CL_{50} entre estas populações variou de 22,27 e 222,54 vezes e CL_{95} apresentou variação inferior, entre 1,19 e 26,59 vezes a população padrão de suscetibilidade.

Desta forma, observa-se que a taxa de mortalidade entre as populações tiveram comportamento diferente dos resultados apresentados na tabela 4, bioensaios com deltametrina. Visto que, com o OEPA para CL_{50} , Sacramento-MG (CL_{50} : 0,0586 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$) foi a população padrão de suscetibilidade e Nova Era-MG a mais resistente dentre as cinco populações avaliadas (CL_{50} : 3,4208 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$) e para CL_{95} Bom Despacho-MG (CL_{95} : 10,6669 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$) foi padrão de suscetibilidade e São Pedro do Anta-MG (CL_{95} : 74,7396 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$) continuou sendo a mais resistente ao OEPA assim como ao inseticida deltametrina (Tabela 4).

Tabela 5 - Toxicidade residual relativa de óleo essencial de *Piper aduncum* em adultos de populações brasileiras de *T. castaneum*. (9 dias).

Populações	Inclinação \pm E.P.M. ¹	CL ₅₀ (IF 95%) g L ⁻¹	RT (IC 95%) LC ₅₀	CL ₉₅ (IF 95%) g L ⁻¹	RT (IC 95%) LC ₉₅	χ^2	P
Sacramento, MG	0,55 \pm 0,26	0,0586 (5,1401E-27-0,7351)	-	60,1476 (19,9179-6,64874E10)	26,59 (0,20-351,90)	5,09	0,17
São Pedro do Anta,	0,94 \pm 0,23	1,3059 (0,1918-2,7386)	22,27 (0,15-3261,48)	74,7396 (34,4518-566,3002)	1,19 (0,01-174,87)	5,12	0,16
Bom Despacho, MG	1,97 \pm 0,43	1,5593 (0,5654-2,4455)	26,59 (7,73-91,42)	10,6669 (7,6791-20,1366)	-	4,50	0,21
Rio Branco, AC	1,69 \pm 0,29	2,4933 (1,3289-3,5807)	42,51 (19,62-92,13)	23,5834 (16,0309-46,8527)	1,60 (0,74-3,47)	5,33	0,15
Nova Era, MG	1,72 \pm 0,27	3,4208 (2,1438-4,6161)	222,54 (127,98-386,97)	30,9551 (20,7924-61,4933)	2,19 (1,22-3,94)	4,43	0,22

¹ Erro Padrão da Média.

Portanto, esses resultados são inovadores, uma vez que, ainda não tem estudo sobre a toxicidade de populações brasileiras de *T. castaneum* ao inseticida piretróide deltametrina, nem tão pouco com o OEPA. No entanto, a eficiência de toxicidade de OEPA para outra espécie (*Solenopsis saevissima*) já foi comprovada por (FAZOLIN et al., 2007; SOUTO et al., 2011).

O uso de novas substâncias químicas pode ser a solução para quebra de resistência e maior eficiência na taxa de mortalidade de insetos pragas. Algumas pesquisas já foram realizadas com uso de OE de *P. hispidinervum* e *P. aduncum* em populações brasileiras de *S. zeamais*, no entanto nenhuma evidência de resistência a esses bioinseticidas foram relatados (ARAÚJO et al., 2016; NASCIMENTO, 2020).

Apesar de nesse estudo, ter observado diferenças significativas entre as concentrações de OEPA avaliadas para as cinco populações de *T. castaneum*, isso não pode atribuir resistência a esse princípio ativo, visto que, os insetos resistentes a produtos químicos sintéticos podem desenvolver mecanismo de resistência diversos que implica na baixa eficiência de controle mesmo com outros princípios ativos, pois os insetos altamente adaptados a suportar condições de contínuo estresse para sobrevivência podem sofrer mutações, de forma que altera a taxa respiratória, reduz os gastos energéticos, reduz a massa corpórea, altera o metabolismo, dentre outros efeitos, tornando-se assim, resistentes a várias condições adversas de forma natural.

No entanto, essa tolerância a novos princípios ativos, não significa que esses insetos resistentes a produtos sintéticos já apresentam resistência também a essas novas moléculas, mais sim uma tolerância devido a alteração pelo mecanismo de resistência, podendo ser comportamental, fisiológico e ou bioquímico. Quanto mais mecanismo agrupado o inseto desenvolver, maior será a dificuldade para quebrar essa resistência.

Nesse sentido, a substância bioinseticida de PA pode alterar a taxa de toxicidade, visto que, mesmo a população São Pedro do Anta-MG apresentando maior tolerância também ao OEPA, a razão de toxicidade foi inferior (RT: 1,19 e 26,59 vezes) a obtida para o inseticida deltametrina (RT: 1,23 e 90,41 vezes). Isso está associado a composição deste OE, visto que, apresenta alta diversidade de componentes químicos, dificultando a identificação dessas moléculas pelo inseto resistente, sendo assim capaz de inibir mais de 50% da atividade glutatona S-transferase (GST),

enzima desenvolvida pelo mecanismo de resistência bioquímico (OVIEDO-SARMIENTO et al., 2021).

O OE adquirido de diversas plantas, podem ser uma das alternativas para solucionar o problema em populações de insetos resistentes, pois são formadas através da junção de compostos químicos produzidos a partir dos metabólitos secundários adquiridos pelas plantas no processo de fotossíntese. Essas substâncias são específicas de cada espécie, podendo pertencer a duas ou mais classes químicas distintas, sendo portanto, uma ótima característica para que os insetos resistentes principalmente pelo mecanismo bioquímico não reconheça essa nova molécula devido a maior diversidade de compostos presentes, sendo denominada de misturas voláteis complexas (REGNAULT-ROGER et al., 2012) e (HANIF et al., 2019) . No entanto os OE com presença de monoterpenos são menos ativo, podendo interferir negativamente sobre os insetos, no entanto não eficiente para quebra de resistência (OVIEDO-SARMIENTO et al., 2021).

Nesse sentido, vale ressaltar que, para alguns mecanismos de resistência, apenas a substituição do princípio ativo não é capaz de apresentar bons resultados de toxicidade e realizar a quebra da resistência. Nesse caso, além do uso de novas moléculas, é necessário também a realização de outros manejos como por exemplo, a reintrodução de novos insetos susceptível a esta população para que após o cruzamento entre eles obtenha uma redução na taxa de resistência no decorrer das gerações.

5 CONCLUSÃO

As populações de *Tribolium castaneum* apresentam desuniformidade na taxa de mortalidade em resposta ao inseticida deltametrina.

Dentre as 19 (dezenove) populações da espécie *T. castaneum* avaliadas, Sacramento-MG, Nova Era-MG e Bom Despacho-MG, são susceptíveis ao inseticida deltametrina.

As populações São Pedro do Anta-MG e Rio Branco-AC são resistentes ao inseticida deltametrina.

O OEPA altera a taxa de toxicidade em insetos da espécie *T. castaneum*, resistentes, aumentando a taxa de mortalidade em relação inseticida sintético deltametrina.

REFERÊNCIAS

- ABBOTT, W. S. A method for computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v.18, p. 265-267, 1925.
- AGROFIT. **Ministério da Agricultura, Abastecimento e Agropecuária**. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acessado em: 25 de março de 2022.
- ALÉCIO, M. R.; FAZOLIN, M.; COELHO NETTO, R. A.; CATANI, V.; ESTRELA, J. L. V.; ALVES, S. B.; CORREA, R. da S.; ANDRADE NETTO, R. de C.; GONZAGA, A. D. Ação inseticida do extrato de *Derris amazonica* Killip para *Cerotoma arcuatus* Olivier (Coleoptera: Chrysomelidae). **Acta Amazonica**. v. 40, n. 4, p. 719-728, 2010.
- ANDRADE, E. H. de A.; GUIMARÃES, E. F.; MAIA, J. G. S. (2009) **Variabilidade química em óleos essenciais de espécies de Piper da Amazônia**. FEQ/UFPA, Belém, 2009, 448p.
- ARAÚJO, A. M. N.; FARONI, L. R. A.; OLIVEIRA, J. V.; NAVARRO, D. M. A. F.; SILVA BARBOSA, D. R.; BREDA, M. O.; FRANÇA, S. M. Lethal and sublethal responses of *Sitophilus zeamais* populations to essential oils. **Journal of Pest Science**, (Online), v. 89, p. 1-12, 2016.
- BECKEL, H. dos S.; LORINI, I.; LAZZARINI, S.M.N. Efeito do sinergista butóxido de piperonila na resistência de *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera, Silvanidae) a deltametrina e fenitrotiom. *Revista Brasileira de Entomologia*, (Online), v. 50, n. 1, p. 110-114, 2006.
- BENHALIMA, H.; CHAUDHRY, M.Q.; MILLS, K.A.; PRICE, N.R. Phosphine resistance in stored-product insects collected from various grain storage facilities in Morocco. **Journal of Stored Products Research**, v.40, p.241-249, 2004.
- BERNARD, C. B.; KRISHNAMURTY, H. G.; CHAURET, D.; DURST, T.; PHILOGÈNE, B. J. R.; SÁNCHEZ-VINDAS, I.; HASBUN, C.; POVEDA, L.; SAN ROMÁN, L.; ARNASON, J. T. Insecticidal defenses of piperaceae from the neotropics. **Journal of Chemical Ecology**, v. 21, n. 6, p. 801-814, Feb. 1995.
- BIERMANN, A. C. S. **Bioatividade de inseticidas botânicos sobre *Ascia monuste orseis* (Lepidoptera: Pieridae)**. 2009. 72f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009.
- BOIÇA JÚNIOR, A. L. et al. Efeito de extratos aquosos de plantas no desenvolvimento de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) em couve. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 72, n. 1, p. 45-50, mar. 2005.
- BOOTH, R. G.; COX, M. L.; MADGE, R. B. **IIE guides to insects of importance to man 3. Coleoptera**. Wallingford: CAB International, 1990. 384p.

BRATTSTEN, L. B.; HOLYOKE, J. R.; LEEPER, L. W.; RAFFA, K. F. Insecticide resistance: challenge top est management ande basic research. **Science**, v. 231, p. 1255-1260, 1986.

CARMONA-HERNÁNDEZ, O.; LOZADA-GARCÍA, J. A.; MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, M. DE J.; FERNÁNDEZ, M. del S.; TORRES-PELAYO, V. del R. *Piper* L. genus potential as natural biocide. **Wulfenia**, v. 23, n. 6, p. 65-95, Jun. 2016.

CARVALHO, R DA S.; SILVA, M. A. DA; BORGES, M. T. M. R.; FORTI, V. A. Plant extracts in agriculture and their applications in the treatment of seeds. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 52, n. 5, p. 1-15, 2022.

CORRÊA, A. S.; TOMÉ, H. V. V.; BRAGA, L. S.; MARTINS, G. F.; DE OLIVEIRA, L. O.; GUEDES, R. N. C. Are mitochondrial lineages, mitochondrial lysis and respiration rate associated with phosphine susceptibility in the maize weevil *Sitophilus zeamais*. **Annals of Applied Biology**, London, v. 165, n. 1, p. 137-146, 2014.

CORRÊA, J. C. R.; SALGADO, H. R. N. Atividade inseticida das plantas e aplicações: revisão. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai, Botucatu**, v.13, n.4, p.500-506, 2011.

COSSOLIN, J. F. S.; PEREIRA, M. J. B.; MARTÍNEZ, L. C.; TURCHEN, L. M.; FIAZ, M.; BOZDOĞAN, H.; SERRÃO, J. E. Cytotoxicity of *Piper aduncum* (Piperaceae) essential oil in brown stink bug *Euschistus heros* (Heteroptera: Pentatomidae). **Ecotoxicology**, v. 28, n. 7, p. 763-770, Sep. 2019.

DUTRA, L. S.; FERREIRA, A. P. Tendência de malformações congênitas e utilização de agrotóxicos em commodities: um estudo ecológico. **Saúde debate**, Rio de Janeiro, v. 43, n. 121, p.390-405, 2019.

DYER, L. A.; RICHARDS, J.; DODSON, C. D. Isolation, synthesis, and evolutionary ecology of Piper amides. In: DYER, L. A.; PALMER, A. D. N. (ed.). **Piper: a model genus for studies of phytochemistry, ecology, and evolution**. [S. l.]: Springer US, 2004. p. 117-139.

EL-WAKEIL, N. E. Botanical Pesticides and Their Mode of Action. **Gesunde Pflanzen**, v. 65, p. 125-149, Nov. 2013.

ESTRELA, L. L. V.; FAZOLIN, M.; CATANI, V.; ALÉCIO, M. R.; LIMA, M. S. Toxicidade de óleos essenciais de *Piper aduncum* e *Piper hispidinervum* em *Sitophilus zeamais*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 2, p. 217-222, fev. 2006.

FAZOLIN, M; ESTRELA, J. L. V; CATANI, V.; ALÉCIO, M. R.; LIMA, M. S. Propriedade química dos óleos essenciais de *Piper hispidinervum* C. DC .; *Piper aduncum* L. e *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. e K. Shum sobre *Tenebrio molitor* L., 1758. **Cienc. Agrotecnol.**, Lavras, v. 31, n.1, p. 113-120, jan./fev. 2007.

FARONI, L. R. A.; MOLIN, L.; ANDRADE, E. T.; CARDOSO, E. G. Utilização de produtos naturais no controle de *Acanthoscelides obtectus* em feijão armazenado. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa-MG, v. 20, n. 1-2, p. 44-48, 1995.

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J. L. V.; MEDEIROS, A. F. M.; SILVA, I. M.; GOMES, L. P.; SILVA, M. S. F. Synergistic potential of dillapiole-rich essential oil with synthetic pyrethroid insecticides against fall armyworm. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 46, n. 3, p. 382-388, May 2016.

FEROZ, A. Efficacy and cytotoxic potential of deltamethrin, essential oils of *Cymbopogon citratus* and *Cinnamomum camphora* and their synergistic combinations against stored product pest, *Trogoderma granarium* (Everts). **J. Stored Prod. Res.** v. 87, 101614. 2020.

FIESP. **Safra mundial de milho 2021/22** - 4^o Levantamento do USDA. Informativo. Disponível em: <<https://www.fiesp.com.br/indices-pesquisas-e-publicacoes/safra-mundial-de-milho-2/>>. Acessado em: 30 de maio 2022.

GONZALEZ-COLOMA, G.; REINA, M.; DIAZ, C. E.; FRAGA, B. M. Natural product-based biopesticides for insect control. **Biology**, v. 3, p. 237-268, 2010.

GUEDES, R. N. C. Manejo integrado para a proteção de grãos armazenados contra insetos. **Revista Brasileira de Armazenamento**, v. 15,16, n. 1,2, p.3-48, 1990/1991.

GUEDES, R. N. C.; LIMA, J. O. L.; SANTOS, J. P.; CRUZ, C. D. Resistance to DDT and pyrethroids in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Stored Product Research**, v. 31, p. 145-150, 1995.

GUEDES, R. N. C.; ZHU, K. Y.; DOVER, B. A.; KAMBHAMPATI, S. Partial characterization of phosphotriesterases from organophosphate-susceptible and –resistente populations of *Rhyzopertha diminica* (Coleoptera: Bostrichidae). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 57, p. 156-164, 1997.

GUIMARÃES, E. F.; CARVALHO-SILVA, M.; MONTEIRO, D.; MEDEIROS, E. S.; QUEIROZ, G. A. Piperaceae in lista de espécies da flora do Brasil. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 66, n. 4, p. 1085-1113, 2015.

HANIF, M. A.; NISAR, S.; KHAN, G. S.; MUSHTAQ, Z.; ZUBAIR, M. Essential oils. In: **Essential Oil Research**, Springer, p.3-7, Jun. 2019.

KELMENDI, N.; MUSTAFA, B. ZAHIRI, F.; NEBIJA, D.; HAJDARI, A. Essential Oil Composition of *Tilia platyphyllos* Scop. Collected from Different Regions of Kosovo. **Records of Natural Products**, v.14, n. 5, p. 371, Mar. 2020

KRINSKI, D.; FOERSTER, L. A. Toxicity of essential oils from leaves of Piperaceae species in rice stalk stink bug eggs, *Tibraca limbativentris* (Hemiptera: Pentatomidae). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 40, p. 676-687, 2016.

KRINSKI, D.; MASSAROLI, A.; MACHADO, M. Insecticidal potential of the Annonaceae family plants. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 36, n.1, p. 225-242, 2014.

LIU, Z.; KUANG, S.; QING, M.; WANG, D., Li, D. Metabolite profiles of essential oils and SSR molecular markers in *Juniperus rigida* Sieb. et Zucc. from different regions: a potential source of raw materials for the perfume and healthy products. **Ind. Crop. Prod.** v. 133, p. 424-434, 2019.

LORINI, I. e GALLEY, D. J. Deltamethrin resistance in *Rhysopertha dominica* (F.) (Coleoptera; Bostrichidae), a pest of stored grain in Brasil. **Journal of Stored Products Research**, v.35, p. 37-45, 1999.

LORINI, I.; KRZYZANOWSKI, F. C.; FRANÇANETO, J. B.; HENNING, A. A.; HENNING, F. A. **Manejo integrado de pragas de grãos e sementes armazenadas**. Brasília, DF: Embrapa, 84 p. 2015.

LORINI, I. **Manejo integrado de pragas de grãos de cereais armazenados**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 72 p. 2008.

LORINI, I.; MIKE, L. H.; SCUSSEL, V. M. **Armazenagem de grãos**. Campinas: IBG, 983p. 2002.

LUCENA, D. C.; BERTHOLDO-VARGAS, L. R.; SILVA, W. C.; MACHADO, A. F.; LOPES, T. S.; MOURA, S.; BARROS, N. M. Biological Activity of *Piper aduncum* extracts on *Anticarsia gemmatalis* (Hübner) (Lepidoptera: Erebidae) and *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 89, n. 3, p. 1869-1879, 2017.

MARTÍNEZ, L. C.; PLATA-RUEDA, A.; ZANUNCIO, J. C.; SERRÃO, J. E. Bioactivity of Six Plant Extracts on Adults of *Demotispia neivai* (Coleoptera: Chrysomelidae). **J. Insect Sci**, v. 15, n. 34, p. 1–5, 2015.

MISNI, N.; OTHMAN, H.; SULAIMAN, S. The effect of *Piper aduncum* Linn. (Family: Piperaceae) essential oil as aerosol spray against *Aedes aegypti* (L.) and *Aedes albopictus* Skuse. **Trop Biomed** v. 28, p. 249–258, 2011.

MITHOFER, A.; BOLAND, W. Plant defense against herbivores: chemical aspects. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v. 63, n. 1, p. 431-50, 2012.

NASCIMENTO, J. M. do. **Bioatividade do óleo essencial de *Piper aduncum* L. para diferentes espécies de carunchos (insecta: coleoptera) de grãos armazenados**. 2020. 63 f. Tese. (Doutorado em Agronomia) – Centro de Ciência Biológicas e da Natureza, Universidade Federal do Acre, Rio Branco, AC, 2020.

NEGREIROS, J. R. S.; MIQUELONI, D. P. Morphological and phytochemical characterization of *Piper hispidinervum* DC. and *Piper aduncum* L. populations in the state of Acre. **Revista Ceres**, v. 62, 2015.

NEGREIROS, J. R. da S.; MIQUELONI, D. P.; ÁLVARES, V. de S. Comportamento do composto majoritário de óleos essenciais de espécies de *Piper* da Amazônia sob armazenamento. **Cad. Ciênc. Agra.**, v. 9, n. 1, p. 17-22, jul. 2017.

OLIVEIRA, G. L.; MOREIRA, D. L.; MENDES, A. D. R.; GUIMARÃES, E. F.; FIGUEIREDO, L. S.; KAPLAN, M. A. C.; MARTINS, E. R. Growth study and essential oil analysis of *Piper aduncum* L. from two sites of Cerrado biome of Minas Gerais State, Brazil. **Revista Brasileira Farmacogn.** v. 23, p. 743-753, 2013.

OLIVEIRA, G. L.; VIEIRA, T. M.; NUNES, V. F.; RUAS, M. de O.; DUARTE, E. R.; MOREIRA, D. de L.; KAPLAN, M. A. C.; MARTINS, E. R. Chemical composition and efficacy in the egg-hatching inhibition of essential oil of *Piper aduncum* against *Haemonchus contortus* from sheep. **Revista Brasileira Farmacognosia**, v. 24, p. 288-292, 2014.

OVIEDO SARMIENTO, J. S.; CORTES, J. J. B; ÁVILA, W. A. D.; LUIS E CUCA SUÁREZ, L. E. C.; DAZA, E. H.; PATIÑO-LADINO, O. J.; PRIETO-RODRIGUEZ, J. A. Fumigant toxicity and biochemical effects of selected essential oils toward the red flour beetle, *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. nov. 2021.

PACHECO, L. A. e PAULA, D. C. **Insetos de grãos armazenados - identificação e biologia**. Campinas, Fundação Cargill, 229 p.1995.

PEREIRA, C. J.; PEREIRA, E. J. G.; CORDEIRO, E. M. G.; DELLA LUCIA, T. M. C.; TÓTOLA, M. R.; GUEDES, R. N. C. Organophosphate resistance in the maize weevil *Sitophilus zeamais*: magnitude and behavior. **Crop Protection, Oxford**, v. 28, n. 2, p. 168-173, 2009.

PHANKAEN, Y.; MANAPRASERTSAK, A.; PLUEMPANUPAT, W.; KOUL, O.; KAINOH, Y.; BULLANGPOTI, V. Toxicity and repellent action of *Coffea arabica* against *Tribolium castaneum* (Herbst) adults under laboratory conditions. **J. Stored Prod. Res.** v. 71, p. 112-118, 2017.

PIMENTEL, M. A. G. **Resistência a fosfina: magnitude, mecanismo e custo adaptativo**. 2006. 80 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Programa de Pós-Graduação em Entomologia. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2006.

RATAN, R. S. Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. **Crop Protection**, v. 29, n. 9, p. 913-920, Dec. 2010.

REES, D. P. Coleoptera. In: SUBRAMANYAM, B.; HAGSTRUM, D. W. **Integrated Management of Insects in Stored Products**, New York: Marcel Dekker, cap. 1, p. 1-39, 1996.

REGNAULT-ROGER, C.; VINCENT, C.; ARNASON, J. T. Essential oils in insect control: lowrisk products in a high-stakes world. **Anu. Rev. Entomol.** v. 57, p. 405-424, 2012.

RIVA, D.; SIMIONATTO, E. L.; WISNIEWSKI JÚNIOR, A.; SALERNO, A. R.; SCHALLENBERGER, T. H. Estudo da adaptação da espécie *Piper hispidinervum* C. DC. (pimenta longa) à região do Vale do Itajaí – SC, através da composição química do óleo essencial obtido por hidrodestilação por micro-ondas e convencional. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 41, n. 2, p. 297-302, 2011.

ROSSA, G. E.; ALMEIDA, R. N.; VARGAS, R. M. F.; CASSEL, E.; MOYNA, G. Sequential Extraction Methods Applied to *Piper hispidinervum*: An Improvement in the Processing of Natural Products. **The Canadian Journal of Chemical Engineering**, v. 98, p. 756-762, Mar. 2018.

SANINI, C.; MASSAROLLI, A.; KRINSKI, D.; BUTNARIU, A. R. Essential oil of spiked pepper, *Piper aduncum* L. (Piperaceae), for the control of caterpillar soybean looper, *Chrysodeixis includens* Walker (Lepidoptera: Noctuidae). **Braz J Botany**, v. 40, n. 2, p. 399-404, Mar. 2017.

SANTOS, A. C. V.; FERNANDES, C. C.; LOPES, L. M.; SOUSA, A. H. Inseticidal oils from Amazon plants in controlo d fall armyworm. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 29, n. 3, p. 642-647, Jul./Set. 2016.

SANTOS, A. S.; ALVES, S. M.; FIGUEIRÊDO, F. J. C.; ROCHA NETO, O. G. Descrição de sistema e de métodos de extração de óleos essenciais e determinação de umidade de biomassa em laboratório. Embrapa Amazônia Oriental: Belém, PA, 2004. 6 p. **(Comunicado técnico, 99)**

SANTOS, T. L. B.; TURCHEN, L. M.; DALL’OGLIO, E. L.; BUTNARIU, A. R.; PEREIRA, M. J. B. Fitoquímica do óleo essencial de Piper e toxicidade aguda sobre *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 12, n. 4, p. 484-489, 2017.

SARNAGLIA JUNIOR, V. B.; BERUDEZ, G. M.; GUIMARÃES, E. F. Diversidade de Piperaceae em um remanescente de Floresta Atlântica na região serrana do Espírito Santo, Brasil. **Biotemas, Florianópolis**, v. 27, p.49-57, 2014.

SAUSEN, C. D.; RIBEIRO, L. do P.; FERREIRA, F.; RIGO, D. S.; CÂMERA, C.; STURZA, V. S.; DEQUECH, S. T. B. Ação de plantas inseticidas sobre oviposição e eclosão de larvas de *Eriopsis connexa* (Col.: Coccinellidae). **Revista Brasileira de Agroecologia**, Porto Alegre, v. 2, n. 2, p. 1247-1250, out. 2007.

SILVA, G. N.; FARONI, L. R. A.; SOUSA, A. H.; FREITAS, R. S. Bioactivity of *Jatropha curcas* L. to insect pest of stored products. **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 48, n. 1, p. 111-113, Jan./Mar. 2012.

SILVA, W. C.; RIBEIRO, J. D.; SOUZA, H. E. M. de; CORRÊA, R. da S. Atividade inseticida de *Piper aduncum* L. (Piperaceae) sobre *Aetalion* sp. (Hemiptera:

Aetalionidae), praga de importância econômica no Amazonas. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 37, n. 2, p. 293-298, 2007.

SOUTO, R. N. P. et al. Estudos preliminares da atividade inseticida de óleos essenciais de espécies de Piper Linneus (Piperaceae) em operárias de *Solenopsis saevissima* F Smith (Hymenoptera: formicidae), em laboratório. **Biota Amazônica**, Macapá, v. 1, n. 1, p. 42-48, jan. 2011.

SPLETOZER, A. G.; SANTOS, C. R. dos; SANCHES, L. A.; GARLET, J. Plantas com potencial inseticida: enfoque em espécies amazônicas. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 31, n. 2, p. 974-997, abr./jun. 2021.

SUBAHARAN, K.; SENTHOORAJA, R.; MANJUNATH, S.; THIMMEGOWDA, G. G.; PRAGADHEE, V. S.; BAKTHAVATSALAM, N.; BALLAL, C. Toxicity, behavioural and biochemical effect of Piper betle L. essential oil and its constituents against housefly, *Musca domestica* L. **Peste. Bioquímica. Fisiol.** 104804 2021.

SUBRAMANYAN, B.; HAGSTRUM, D. W. **Measurement and Management** In: SUBRAMANYAM, B.; HAGSTRUM, D. W. (Eds). *Integrated Management of Insects in Stored Products*. New York: Marcel Dekker, Inc., 1996. P. 331-397.

TABASHNIK, B. E. Implications of gene amplification for Evolution and management of insecticide resistance. **Journal of Economic Entomology**, v. 83, n. 4, p. 1170-1176, 1990.

TALUKDER, F. Pesticide Resistance in Stored-Product Insects and Alternative Biorational Management: A Brief Review. **Journal of Agricultural and Marine Sciences**, v. 14, p. 9-15, 2009.

TAIZ, L. et al. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

TRIPATHI, A. K.; UPADHYAY, S.; BHUIYAN, M.; BHATTACHARYA, P. R. Uma revisão sobre as perspectivas de óleos essenciais como biopesticidas no manejo de insetos-pragas. **J. Pharmacogn. Phytother.** v. 1, n. 5, p.52-63, 2009.

TURCHEN, L. M.; PITON, L. P.; DALL'OGGIO, E. L.; BUTNARIU, A. R.; PEREIRA, M. J. B. Toxicity of *Piper aduncum* (Piperaceae) essential oil against *Euschistus heros* F. (Hemiptera:Pentatomidae) and non-effect on egg parasitoids. **Neotropical Entomology**, v. 45, n. 5, p. 604-611, Jun. 2016.

TUREK, C.; STINTZING, F. C. Stability of essential oils: a review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Malden, v. 12, n. 1, p. 40-53, Jan. 2013.

VÉLEZ, M.; BERNARDES, R. C.; BARBOSA, W. F.; SANTOS, J. C.; GUEDES, R. N. C. Walking activity and dispersal on deltamethrin- and spinosad-treated grains by the maize weevil *Sitophilus zeamais*. **Crop Protection**, Oxford, v. 118, n.1, p. 50-56, 2019.

VIANA, P. A.; PRATES, H. T.; RIBEIRO, P. E. A. Uso do extrato aquoso de folhas de nim para o controle de *Spodoptera frugiperda* na cultura do milho. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2006. **(Circular técnica)**.

VOLPE, X. L. H.; FAZOLIN, M.; GARCIA, R. B.; MAGNANI, R. F.; BARBOSA, J. C.; MIRANDA, M. P. Efficacy of essential oil of *Piper aduncum* against nymphs and adults of *Diaphorina citri*. **Pest Manag Sci** v. 72, n. 6, p. 1242-1249, Out. 2015.

WHITE, N. D. G.; LEESCH, J. G. Chemical control In. SUBRAMANYAM, B.; HAGSTRUM, D. W. (Eds). **Integrated Management of insects in Stored Products**. New York: Marcel Dekker, inc., 1996. p. 287-330.

ZACARONI, L. M.; CARDOSO, M. G.; SOUZA, P. E.; PIMENTEL, F. A.; GUIMARÃES, L. G. L.; SALGADO, A. P. S. P. Potencial fungitóxico do óleo essencial de *Piper hispidinervum* (pimenta longa) sobre os fungos fitopatogênicos *Bipolaris sorokiniana*, *Fusarium oxysporum* e *Colletotrichum gloeosporioides*. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 39, n. 1, p. 193-198, 2009.