


ROGER VENTURA OLIVEIRA



**TOXICIDADE, SINERGISMO E EFEITOS SUBLETAIS DO ÓLEO
ESSENCIAL DE PIMENTA-DE-MACACO (*Piper aduncum* L.) PARA
Sitophilus zeamais (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE)**

RIO BRANCO - AC

2023

ROGER VENTURA OLIVEIRA

**TOXICIDADE, SINERGISMO E EFEITOS SUBLETAIS DO ÓLEO
ESSENCIAL DE PIMENTA-DE-MACACO (*Piper aduncum* L.) PARA
Sitophilus zeamais (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal, da Universidade Federal do Acre, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Produção Vegetal.

Orientador: Dr. Adalberto Hipólito de Sousa

RIO BRANCO - AC

2023


ROGER VENTURA OLIVEIRA

TOXICIDADE, SINERGISMO E EFEITOS SUBLETAIS DO ÓLEO ESSENCIAL DE PIMENTA-DE-MACACO (*Piper aduncum* L.) PARA *Sitophilus zeamais* (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE)


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

APROVADA em 17 de março de 2023


BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 ADALBERTO HIPOLITO DE SOUSA
Data: 19/05/2023 15:20:51-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


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

Documento assinado digitalmente
 JOSIANE MOURA DO NASCIMENTO
Data: 21/05/2023 22:44:13-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


Dra. Josiane Moura do Nascimento (Membro)
Instituto de Educação Profissional e Tecnológica - IEPTEC

Documento assinado digitalmente
 CLARICE MAIA CARVALHO
Data: 22/05/2023 10:47:03-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Clarice Maia Carvalho (Membro)
Universidade Federal do Acre

Documento assinado digitalmente
 REGINA LUCIA FELIX FERREIRA
Data: 19/05/2023 19:28:56-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Regina Lúcia Félix Ferreira (Membro)
Universidade Federal do Acre

Documento assinado digitalmente
 LUIS GUSTAVO DE SOUZA E SOUZA
Data: 18/05/2023 21:58:43-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr. Luís Gustavo de Souza e Souza (Membro)
Instituto Federal do Acre

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da UFAC

- O482t Oliveira, Roger Ventura, 1989 -
Toxicidade, sinergismo e efeitos subletais do óleo essencial de pimenta-de-
macaco (*Piper aduncum* L.) para *Sitophilus zeamais* (COLEOPTERA:
CURCULIONIDAE) / Roger Ventura Oliveira; Orientador: Dr. Adalberto Hipólito
de Sousa - 2023.
76 f. :il; 30 cm.
- Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Acre, Programa de Pós-
Graduação em Agronomia, Área de concentração em Produção Vegetal, Rio
Branco, 2023.
Inclui referências bibliográficas e apêndice.
1. Sudoeste da Amazônia. 2. Dilapiol. 3. Gorgulho-do-milho. I. Sousa,
Adalberto Hipólito de. II. Título.

CDD: 338.1

Bibliotecário: Uéliton Nascimento Torres CRB-11º/1074

Aos meus pais,
Romualdo de Souza Oliveira e Maria Verônica Ventura Oliveira
e meu irmão,
Lucas Henrique Ventura Oliveira,
pelo carinho, amor e apoio incondicional.

Dedico!

AGRADECIMENTOS

Ao Criador do Universo, que derrama bênçãos sempre em meus caminhos munidos de esperança e determinação, e que se faz presente diariamente com gestos singelos de amor e carinho,

À Universidade Federal do Acre e ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal - PPG-PV pela oportunidade de estar inserido neste curso de excelência,

À CAPES pela concessão da bolsa e apoio financeiro que viabilizaram a execução desta pesquisa,

Ao meu orientador, Professor Dr. Adalberto Hipólito de Sousa, pelas orientações, aprendizado, oportunidades de poder dar continuidade em sua linha de pesquisa, e apoio ao longo do desenvolvimento da tese,

Aos professores do PPG-PV, em especial, Regina Lúcia Felix Ferreira, Sebastião Elviro de Araújo Neto e Jorge Ferreira Kusdra, que contribuíram para a minha formação. Gratidão!

Aos técnicos do Laboratório de Química da UFAC, Guaracy e Joelton Barata, pela paciência, amizade e contribuição, juntamente com a Fundação de Tecnologia do Estado do Acre - FUNTAC, pelo suporte, infraestrutura e equipamentos que auxiliaram nesta pesquisa,

Aos colegas do grupo de pesquisa do Laboratório de Manejo Integrado de Pragas (MIP), Josiane Moura, Josilene Rocha, Jamila Farias e Weverton Peroni, pela parceria, trocas de conhecimento, ajuda nos experimentos e momentos de conversa durante a condução do trabalho,

Aos colegas do curso PPG-Produção Vegetal, pelos bons momentos de convivência, horas sofridas e gargalhadas com muitas trocas de experiências.

Aos colegas do curso PPG-Produção Vegetal, pelos bons momentos de convivência, desafios superados e risadas compartilhadas com muitas trocas de experiências,

Aos meus amigos que a vida acadêmica me proporcionou momentos de alegria e companheirismo: Bárbara Mota, Clarice Pedroza, Érica Lima, Gabriela Tawming, Luis Gustavo Souza, Izabelle Barros, João Bosco, Lucas Lopes, Márcio e Márcia Chaves, Nadja Rayad, Ryan Feitosa, Sandra Bezerra, Thays Uchoa e Wendrio Melo, vocês são maravilhosos!

Enfim, a todos que direta ou indiretamente contribuíram para o sucesso desse trabalho, meu muito obrigado!

RESUMO GERAL

O milho é considerado a cultura de maior relevância, em termos de produção, sendo amplamente cultivada em todas as partes do mundo, apresenta potencial genético e destinada a múltiplos usos. Durante a fase do armazenamento, essa *commodity* está sujeita a deterioração devido à presença de insetos-praga, como o *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1855 (Coleoptera: Curculionidae), gerando desperdício alimentar e perdas econômicas. O seu controle pode ser alcançado através de inseticidas sintéticos, porém, o uso persistente de inseticidas sintéticos pode causar toxicidade direta ao usuários, efeito residual ao meio ambiente, além do aumento dos níveis de resistência e ressurgimento de pragas. O uso de inseticidas botânicos, como os óleos essenciais são alternativas potenciais para a proteção de produtos armazenados. O objetivo deste trabalho foi investigar o potencial inseticida do óleo essencial de *Piper aduncum* L. (OEPA), no controle de populações brasileiras de *S. zeamais*. Esta pesquisa foi realizada em duas etapas, dispostas em dois capítulos propostos na tese. O primeiro capítulo, avaliou-se a toxicidade do inseticida OEPA, do deltametrina e o sinergismo da mistura combinada (OEPA+deltametrina) em populações brasileiras de *S. zeamais*. As populações brasileiras de *Sitophilus zeamais*, apresentam uniformidade de resposta ao OEPA, exceto, a população de Jacarezinho (PR), havendo indícios de resistência cruzada entre o OEPA e deltametrina. A mistura binária (OEPA+deltametrina) suprimem mecanismos de resistência em cinco populações brasileiras de *S. zeamais*, evidenciando efeito sinérgico do OEPA ao deltametrina, havendo uniformidade de resposta toxicológica. No segundo capítulo, investigou-se efeitos subletais do OEPA sobre as taxas de desenvolvimento populacional e taxa instantânea de crescimento (r). As concentrações subletais do OEPA, promove redução na taxa instantânea de crescimento e desenvolvimento populacional das três populações investigadas, e concentrações de até 300 $\mu\text{L Kg}^{-1}$ (15%) do OEPA são capazes de reduzir em até 93% do número total de insetos emergidos.

Palavras-chave: Sudoeste da Amazônia. Dilapiol. Gorgulho-do-milho. Toxicidade. Efeito subletal.

GENERAL ABSTRACT

Corn is considered the most relevant crop in terms of production, being widely cultivated in all parts of the world, presenting genetic potential and intended for multiple uses. During the storage phase, this commodity is subject to deterioration due to the presence of insect pests such as *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1855 (Coleoptera: Curculionidae), causing food waste and economic losses. Its control is performed through synthetic insecticides, however, the persistent use of synthetic insecticides can cause direct toxicity to users, residual effect on the environment, in addition to increased levels of resistance and pest resurgence. The use of botanical insecticides, such as essential oils, are potential alternatives for protecting stored products. The objective of this work was to investigate the insecticidal potential of the essential oil of *Piper aduncum* L. (EOPA), in the control of Brazilian populations of *S. zeamais*. This research was carried in two stages, arranged in two chapters proposed in the thesis. In the first chapter, the toxicity of the EOPA insecticide, deltamethrin and the synergism of the combined mixture (EOPA+deltamethrin) in Brazilian populations of *S. zeamais* were evaluated. The Brazilian populations of *S. zeamais* show uniform response to EOPA, except for the population of Jacarezinho (PR), with evidence of cross-resistance between EOPA and deltamethrin. The binary mixture (EOPA+deltamethrin) suppresses resistance mechanisms in five Brazilian populations of *S. zeamais*, demonstrating the synergistic effect of EOPA on deltamethrin, with uniformity of toxicological response. In the second chapter, sublethal effects of EOPA on population development rates and instantaneous growth rate (r_i) were investigated. The sublethal concentrations of EOPA, promotes reduction in the instantaneous rate of population growth and development of the three investigated populations, and concentrations of up to 300 $\mu\text{L Kg}^{-1}$ (15%) of EOPA are capable of reducing up to 93% of the total number of emerged insects.

Keywords: Southwest Amazon. Dilapiol. Maize Weevil. Toxicity. Sublethal effect.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Método de extração e separação do óleo essencial de *Piper aduncum* 36
- Figura 2** – Bioensaios de toxicidade via de contato do deltametrina e OEPA e sinergismo em populações brasileiras de *Sitophilus zeamais* Most. 1855 38
- Figura 3** – (A) Bioensaios com a utilização do aérografo de ação dupla para aplicação do óleo essencial no grão. (B) Aplicação da cauda sobre os grãos (C) Bioensaios da taxa de desenvolvimento populacional e taxa instantânea de crescimento (r_i) de três populações brasileiras de *Sitophilus zeamais* 62
- Figura 4** – Taxa instantânea de crescimento populacional (r_i) de três populações de *Sitophilus zeamais* em função das concentrações de OEPA 64
- Figura 5** – Emergência diária de três populações de *Sitophilus zeamais* não expostas (controle), e expostas a concentrações de OEPA. (A) Barbacena, MG; (B) Jacarezinho, PR e (C) Plácido de Castro, AC 66
- Figura 6** – Total de insetos emergidos de três populações de *Sitophilus zeamais* 67
- Figura 7** – Total de insetos emergidos de *Sitophilus zeamais* não expostas (controle), e expostas as concentrações de OEPA 68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Concentrações utilizadas de OEPA nos bioensaios de toxicidade das populações de <i>S. zeamais</i>	37
Tabela 2 -	Toxicidade residual relativa de K-Obiol em adultos de populações brasileiras de <i>S. zeamais</i> . O intervalo de concentração do deltametrina foi 0,017 - 0,33% (24 h exposição)	43
Tabela 3 -	Toxicidade residual relativa de OEPA em adultos de populações brasileiras de <i>S. zeamais</i> . O intervalo de concentração do deltametrina foi 0,25 – 12, 97% (24 h exposição)	44
Tabela 4 -	Toxicidade residual relativa da mistura binária do OEPA+K-obiol em populações brasileiras de <i>S. zeamais</i> . O intervalo de concentração da mistura binária foi 0,01 - 0,09% (24 h exposição)	45
Tabela 5 -	Sumário das análises de regressão não-lineares das curvas de desenvolvimento populacional de <i>S. zeamais</i>	66
Tabela 6 -	Modelos matemáticos ajustados para o número total de insetos emergidos das populações de <i>S. zeamais</i> aos 70 dias de armazenamento	68

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	14
2 REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 CONTROLE DE PRAGAS DE PRODUTOS ARMAZENADOS	16
2.2 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE O GORGULHO <i>Sitophilus zeamais</i>	18
2.3 INSETICIDAS BOTÂNICOS	20
2.3.1 Óleos essenciais	21
2.3.1 Óleos essenciais como sinergistas	22
2.4 ASPECTOS GERAIS DA ESPÉCIE <i>Piper aduncum</i> L.	24
REFERÊNCIAS	26
3 CAPÍTULO I	30
TOXICIDADE, SINERGISMO DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Piper aduncum</i> L. EM DIFERENTES POPULAÇÕES DE <i>Sitophilus zeamais</i> (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE)	30
RESUMO	31
ABSTRACT	32
3.1 INTRODUÇÃO	33
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	35
3.2.1 Populações de <i>Sitophilus zeamais</i> Motschulsky, 1855	35
3.2.2 Inseticida sintético	35
3.2.4 Bioensaios de toxicidade deltametrina e OEPA	37
3.2.5 Bioensaios de sinergismo.....	38
3.2.6 Análises estatísticas	39
3.3 RESULTADOS	40
3.3.1 Toxicidade do deltametrina e do OEPA.....	40
3.3.2 Toxicidade do OEPA	41
3.3.3 Toxicidade do OEPA+deltametrina	41
3.4 DISCUSSÃO	46
3.5 CONCLUSÕES	50
REFERÊNCIAS	51
4 CAPÍTULO II	55

DESEMPENHO POPULACIONAL DE <i>Sitophilus zeamais</i> (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) SOB CONCENTRAÇÕES SUBLETAS DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Piper aduncum</i> L.	555
RESUMO.....	566
ABSTRACT.....	577
4.1 INTRODUÇÃO	588
4.2 MATERIAL E MÉTODOS	600
4.2.1 Populações de <i>Sitophilus zeamais</i> Motschulsky, 1855	600
4.2.2 Obtenção e extração do óleo essencial.....	600
4.2.3 Taxa de desenvolvimento populacional.....	611
4.2.4 Efeitos subletais do OEPA sobre taxa instantânea de crescimento populacional (r)	63
4.2.5 Delineamento e análise estatística	633
4.3 RESULTADOS	644
4.3.1 Efeitos subletais do óleo essencial de <i>Piper aduncum</i> OEPA sobre taxa instantânea de crescimento populacional (r).....	644
4.3.2 Taxas de desenvolvimento populacional.....	655
4.4 DISCUSSÃO	69
4.5 CONCLUSÕES	72
REFERÊNCIAS.....	73
5 CONCLUSÕES FINAIS	76

1 INTRODUÇÃO GERAL

O milho é considerado uma das culturas graníferas mais importantes, sendo amplamente cultivado em todo o mundo devido ao seu alto rendimento, potencial genético e adaptabilidade a diferentes condições ambientais. Além de ser uma fonte de nutrientes, o milho também é utilizado na fabricação de subprodutos para indústria, farmácia, bebidas e combustíveis. No entanto, durante o armazenamento, diversas espécies de insetos-praga podem atacar esse produto, causando perdas econômicas.

O Gorgulho-do-milho *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1855 (Coleoptera: Curculionidae) é uma praga que ataca os grãos de milho armazenados. Essa praga é considerada primária devido ao seu alto potencial reprodutivo e capacidade de destruir os grãos intactos. Sua presença também pode permitir a entrada de microrganismos, como fungos e suas micotoxinas, comprometendo a qualidade do produto e tornando-o impróprio para comercialização. Isso leva os agricultores a vender seus produtos logo após a colheita para evitar perdas.

Medidas de manejo dependem fortemente do uso de pesticidas sintéticos para o controle de pragas em grãos armazenados. No entanto, o uso indiscriminado desses pesticidas tem impactos negativos na saúde humana, causando efeitos adversos em mamíferos e em organismos não-alvo. Além disso, a resistência dos insetos aos pesticidas tem se tornado um problema recorrente. Com a preocupação dos consumidores em relação à saúde alimentar, torna-se necessário o uso de alternativas naturais para o controle de pragas em grãos armazenados, garantindo a viabilidade econômica sem comprometer a saúde e o meio ambiente.

O uso de produtos alternativos, com baixo impacto ambiental e menor resíduo nos grãos, é crucial para o manejo de insetos-praga em lavouras. Dentre as opções disponíveis, os inseticidas botânicos se destacam, uma vez que são derivados de diferentes partes de plantas com propriedades de defesa contra insetos, patógenos e microrganismos. Essas substâncias são frequentemente encontradas na forma de pós, extratos vegetais ou óleos essenciais (OEs), sendo os últimos os mais empregados no controle de pragas agrícolas e em grãos armazenados.

Os óleos essenciais (OEs) são substâncias complexas compostas por compostos químicos aromáticos encontrados em diferentes espécies vegetais. Eles são produzidos como metabólitos secundários e liberados pelas plantas como parte de sua defesa contra agressores. Estudos revisados por Isman (2006) e Koul et al.

(2008) revelam que os OEs possuem componentes que são eficazes contra os efeitos tóxicos causados pelos insetos-praga através de diferentes vias de intoxicação, como contato, fumigação e contato tópico. Além de atuarem como repelentes e inibidores da alimentação dos insetos, os OEs afetam diretamente o desenvolvimento populacional dessas pragas. Outra vantagem é que os OEs têm demonstrado potenciais sinérgicos quando combinados com inseticidas sintéticos, o que os torna eficazes para proteger grãos armazenados contra as pragas.

A pesquisa institucional na região amazônica tem se dedicado à exploração das espécies da flora nativa visando a descoberta de substâncias ativas com potencial farmacêutico e aplicação na indústria química. Entre essas espécies, destaca-se a *Piper aduncum* L., conhecida popularmente como pimenta-de-macaco, que possui propriedades bioinseticidas em seu óleo essencial. Estudos realizados pela Embrapa Acre têm evidenciado os efeitos tóxicos desse óleo contra pragas agrícolas e de armazenamento. Além disso, pesquisas conduzidas por Fazolin et al. (2016) demonstraram a atividade sinérgica do óleo essencial de *P. aduncum* em combinação com a deltametrina.

Investigar o potencial inseticida de espécies endêmicas da região amazônica, como é o caso da *P. aduncum*, é de suma importância para o manejo integrado de pragas em grãos armazenados, a fim de evitar o surgimento de resistência em insetos e surtos de pragas secundárias. O objetivo deste estudo foi avaliar o potencial inseticida do óleo essencial de *P. aduncum* (OEPA) no controle de populações brasileiras de *S. zeamais*, uma praga de grãos de milho.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Os desafios da segurança alimentar e nutricional envolvem perdas pós-colheita devido à presença de insetos-praga durante o armazenamento, transporte e comercialização. (BEZABIH et al., 2022). O uso constante de inseticidas sintéticos tem impactos adversos na saúde humana e no meio ambiente, levando os pesquisadores a buscar alternativas de pesticidas derivados de produtos vegetais. Essas alternativas visam ser eficazes, biodegradáveis e adequadas para programas integrados de manejo de pragas (CHAUDAHARI et al., 2021; GARIBA et al., 2022).

2.1 CONTROLE DE PRAGAS DE PRODUTOS ARMAZENADOS

As culturas de grãos são fontes dominantes de nutrição para a maioria da população mundial, particularmente em nações em desenvolvimento. No entanto, às condições adversas ambientais juntamente aos métodos de controle inadequados podem ser ineficientes às perdas significativas do produto em locais de armazenamento, devido à presença de roedores, fungos, ácaros e principalmente a presença de insetos-praga (TADDESE et al., 2020).

Diferentes grupos de insetos infestam commodities alimentares e produtos processados, causando perdas na qualidade dos produtos armazenados. Entre eles, estão: *Sitophilus zeamais* Mots.; *S. oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae); *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrichidae); *Acanthoscelides obtectus* (Say), *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Crysomiladae-Bruchinae); *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae); *Lasioderma serricorne* (L.) (Coleoptera: Anobiidae), *Liposcelis bostrychophila* (Badonnel) (Psocoptera: Liposcelididae) e *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera: Silvanidae) (CHAUDAHARI et al., 2021; SINGH et al., 2021). Dentre essas pragas, *S. zeamais*, *S. oryzae* e *R. dominica* são as mais preocupantes do ponto de vista econômico, justificando a necessidade de controle químico na maioria dos casos (LORINI et al., 2018).

O armazenamento inadequado pode levar a uma enorme perda na quantidade de grãos alimentares. Assim, os agricultores muitas vezes antecipam suas vendas de produtos após a colheita com retornos monetários mínimos (SINGH et al., 2021). Os métodos de controle convencionais baseiam-se no uso de inseticidas sintéticos, pois são ferramentas de manejo mais eficazes e viáveis para a redução das populações de pragas a níveis aceitáveis (FREITAS et al., 2016). Dentre os inseticidas sintéticos amplamente

utilizados, destacam-se os produtos à base de organofosforados e piretróides, assim como fumigantes como o brometo de metila e a fosfina. Além disso, também são empregadas técnicas como o uso de atmosferas controladas. No entanto, há também a opção de utilizar compostos naturais, como as poeiras inertes (terra de diatomáceas - DE) e os botânicos (extratos vegetais e óleos essenciais). Esses últimos são considerados alternativas aos inseticidas sintéticos e podem ser estratégias eficazes para o controle de pragas em grãos armazenados. (FREITAS et al., 2016; LORINI et al., 2018; HAJAM et al., 2022; STEJSKAL et al., 2021).

Os fumigantes sintéticos são amplamente utilizados como medida efetiva em todos os estágios de desenvolvimento dos insetos dentro das instalações de armazenamento (SINGH et al., 2021). Esses fumigantes possuem a capacidade de penetrar nos grãos, apresentam boa difusão em ambientes fechados e podem ser aplicados nas sementes para o plantio. Tais características permitem a preservação da integridade dos alimentos e facilitam o comércio internacional de commodities livres de pragas e resíduos (NAYAK et al., 2020).

O brometo de metila e a fosfina (PH_3), são fumigantes amplamente utilizados globalmente para desinfestar pragas em produtos armazenados. No entanto, a aplicação intensiva desses produtos resultou em efeitos adversos sobre organismos não-alvo e no meio ambiente, como o esgotamento do ozônio devido ao brometo de metila, além do desenvolvimento de resistência entre as pragas, como é o caso da fosfina. Diante disso, surgiu a necessidade de buscar alternativas mais seguras, especialmente por meio da utilização de produtos de origem vegetal (PIMENTEL et al., 2007; NAYAK et al., 2020; SINGH et al., 2021; CHAUDAHARI et al., 2021).

Há um crescente interesse na pesquisa de inseticidas botânicos, especialmente os óleos essenciais (OEs), como alternativas aos fumigantes tradicionalmente utilizados. Estudos têm sido realizados para investigar diferentes estratégias de controle de pragas de produtos armazenados, abrangendo métodos de aplicação (como contato, fumigação e aplicação tópica), atividade inseticida (toxicidade, atração, repelência e/ou inibição alimentar) e o uso de concentrações ou doses subletais. Essas pesquisas têm como foco a análise dos parâmetros biológicos dos insetos, como taxa de crescimento, tempo de vida e reprodução (BOYLER et al., 2012; CAMPOLO et al., 2018). Além disso, são relatados estudos que visam avaliar formulações de OEs como sinergistas aos inseticidas sintéticos demonstrando resultados promissores (CAMPOLO et al., 2018).

A utilização de botânicos isoladamente ou em combinação com inseticidas sintéticos pode ser recomendada, desde que apresente características como baixo custo, biodegradabilidade e segurança ambiental e para a saúde humana, visando o controle de pragas como *S. zeamais* em grãos armazenados. Por outro lado, para obter sucesso no manejo de pragas em grãos armazenados, é necessário adotar uma abordagem que envolva a combinação de diferentes práticas e estratégias tradicionais acessíveis (HAJAM et al., 2022).

Os métodos de manejo, sejam eles convencionais ou alternativos, desempenham um papel fundamental no controle de insetos-praga em sistemas de armazenamento. Essas abordagens podem ser adotadas por produtores de pequena e média escala, incorporando tanto estratégias tradicionais como modernas. É importante avaliar a viabilidade econômica de cada método, considerando seus custos e perfil de compatibilidade ambiental (STEJSKAL et al., 2021).

2.2 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE O GORGULHO *Sitophilus zeamais*

O gorgulho-do-milho, *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1855 (Coleoptera: Curculionidae), é uma praga cosmopolita grave de cereais armazenados devido ao seu ataque aos grãos inteiros. Sendo uma praga primária do milho, ela afeta diretamente o produto comercializado, apresenta hábitos de polifagia e pode atacar outros cereais e produtos processados. Além disso, ocorre infestação cruzada tanto no campo quanto no armazenamento. O *S. zeamais* é capaz de penetrar nos grãos e infestá-los, levando à destruição e esvaziamento dos mesmos, resultando na perda de seus valores nutricionais e tornando-os inviáveis para germinação. Além disso, sua presença contribui para a entrada de outras pragas secundárias, ácaros e fungos, resultando em uma queda no valor de mercado tanto local quanto internacional (NWOSU, 2018; DEVI et al., 2017; BARROS et al., 2022).

Os adultos de *S. zeamais* medem cerca de 3 mm comprimento, coloração castanho-escura com machas avermelhadas em seus élitros, visíveis logo após a emergência. Possui cabeça projetada à frente e com rostro recurvado, onde estão inseridos as peças bucais. Pronoto fortemente pontuado e élitros estriados. Larvas de coloração amarelo-claro com pontas escuras na cabeça e as pupas esbranquiçadas (DEVI et al., 2017; KUMARI et al., 2022).

Devi et al. (2017), citaram os seguintes dados biológicos sobre o período médio de desenvolvimento de *S. zeamais* criados em grãos milho nas condições laboratoriais. Os períodos de desenvolvimento de ovos, os quatro instares larvais, pupas e adultos foram 6,9; 5,8; 7,0; 8,4; 7,5; 12,5 e 3,5 dias, respectivamente. A duração total do ciclo de vida de 51,6 dias; longevidade média dos machos de 67,4 dias (variando de 61,8 a 73 dias) e das fêmeas de 105,9 dias (variando de 97,1 a 114,7 dias); período médio de pré-acasalamento aproximadamente 3 dias; longevidade feminina 105,9 dias e longevidade masculina de 67,4 dias.

Os ovos são colocados em pequenas cavidades perfuradas pela fêmea adulta. Após a oviposição, essas cavidades são fechadas com uma substância mucilaginosa secretada pela mesma. Posteriormente, essa substância endurece, formando uma pequena área elevada na superfície do grão, indicando infestação. Os ovos recém-colocados são translúcidos e se tornam opacos com o tempo (DEVI et al., 2017). O período de incubação dos ovos é, em média, de 6 a 9 dias a 25 °C. As larvas penetram nos grãos, onde se alimentam e completam seu estágio larval (quatro instares) dentro do grão. Em seguida, elas pupam até a emergência e saída do adulto (KUMARI et al., 2022). Existe um comportamento de canibalismo entre os indivíduos, o que faz com que raramente mais de um adulto emerja de um único grão (FARONI; SOUSA, 2006).

O desenvolvimento completo do inseto é possível em temperaturas entre 15 a 35 °C, com um período ótimo de 35 dias. Condições ideais incluem uma umidade relativa de 70% e temperatura de 27 °C. O *S. zeamais* é um excelente voador e pode causar infestação tanto antes da colheita quanto nos locais de armazenamento. Devido aos seus hábitos polívoros, ele pode atacar outros cereais, como trigo, arroz e sorgo, além de se desenvolver em cereais processados (PINTO et al., 2002). Os adultos são longevos (vários meses a um ano). A duração real do ciclo pode variar de 31 a 37 dias, dependendo das condições ideais, os adultos podem viver de 4 a 5 meses (RESS, 1996).

O uso de produtos sintéticos registrados são altamente eficazes para controlar as populações de gorgulho do milho, apesar da eficácia das substâncias presentes do produto, sua aplicação contínua, e dependência excessiva de único produto, tem ocasionados efeitos nocivos aos outros organismos-não alvo, por exemplo, inimigos naturais (NAYAK et al., 2020; ACHIMÓN et al., 2022). Nesse contexto, o interesse considerável em desenvolver alternativas mais seguras com a utilização de

botânicos têm recebido grande atenção por apresentar pouca ameaça a saúde humana e ao ambiente pela sua baixa toxicidade e persistência residual (ISMAN, 2006; YANG et al., 2020).

2.3 INSETICIDAS BOTÂNICOS

A disponibilidade limitada, a legislação vigente rígida e o custo proibitivo dos pesticidas sintéticos levam os agricultores de subsistência em países em desenvolvimento a considerar os inseticidas botânicos como uma alternativa válida e aceita para a proteção de grãos armazenados (ISMAN, 2008; DOUGOUND et al., 2019). No entanto, as recomendações para o uso de inseticidas botânicos muitas vezes são questionadas devido à instabilidade do produto, disponibilidade em massa e aos diferentes modos de ação pouco conhecidos. A avaliação da toxicidade para espécies não-alvo e a eficácia inconsistente desses inseticidas ainda precisam ser estudadas para garantir seu uso sustentável (DOUGOUND et al., 2019; PRAKASH et al., 2022).

Antes de 1930, os botânicos eram amplamente utilizados para o controle de insetos-praga e microrganismos em grãos armazenados. Inseticidas botânicos como Azadiractina, Rotenonas, Piretinas I e II, Nicotina, entre outros, foram comprovados para o manejo integrado de pragas (VELASQUEZ et al., 2017). No entanto, a descoberta de inseticidas sintéticos altamente eficazes, como os organofosforados, clorados e carbamatos, juntamente com a crescente demanda por alimentos, resultou na intensificação da tecnologia agrícola para alcançar altas produtividades. Ao longo dos anos, o uso indiscriminado dessas tecnologias tem gerado sérios problemas (SOUTO et al., 2021).

A conscientização dos graves problemas causados pela persistência residual dos produtos no meio ambiente, afetando a biodiversidade, a resistência e o ressurgimento de insetos-praga, bem como a proteção de organismos não-alvo e da vida selvagem, levou à busca por pesticidas mais ecológicos que se degradam com o tempo. Além disso, vários países promoveram legislações que aprovam o uso de derivados vegetais que atendam aos padrões mínimos exigidos para uma produção sustentável. Essas ações também fortalecem políticas públicas que visam reduzir o uso de produtos fitossanitários (ISMAN; GRIENEISEN, 2014; SOUTO et al., 2021).

A utilização de inseticidas botânicos no controle de pragas agrícolas remonta a dois mil anos atrás, em regiões como China, Grécia e Índia, antes de se tornarem

amplamente aceito (ISMAN, 2006; DOUGOUD et al., 2019; IQBAL et al., 2021). As plantas desenvolveram uma variedade de compostos metabólicos secundários que desempenham um papel fundamental na sua sobrevivência em ambientes estressantes, atuando como defesa química contra fatores ambientais, como herbívoros, patógenos e variações sazonais (ISMAN, 2006; PAVELLA; BENELLI, 2016; PRAKASHI et al., 2022). Dentre esses compostos, destacam-se os constituintes fenólicos, terpenoides, esteroides, alcaloides e fenilpropanoides, que demonstram notável atividade biológica contra insetos-praga, recebendo considerável atenção da comunidade científica como alternativa abrangente aos pesticidas sintéticos convencionais (IQBAL et al., 2021).

O controle de insetos-praga por inseticidas botânicos para proteção e/ou armazenamento são utilizados por agricultores tradicionais de subsistência, principalmente em países em desenvolvimento, especialmente, em países africanos, que utilizam 100% de produtos a base de inseticidas botânicos (DOUGOUD et al., 2019; IQBAL et al., 2021). Há relatos de que há mais de 2.500 espécies de plantas com aproximadamente 235 famílias botânicas possuem atividades biológicas do controle de pragas (ISMAN, 2006 DOUGOUD et al., 2019).

Neste cenário, novas fontes de botânicos atingiram o status comercial nos últimos vinte anos com a volta dos pesticidas botânicos que incluem: piretrinas, rotenonas, azadiractina e os óleos essenciais (SOUTO et al., 2021). Dentre as fontes botânicas sejam extratos brutos ou produtos químicos naturais, os óleos essenciais (OEs), de plantas aromáticas evidenciam resultados promissores como agentes de múltiplos mecanismos de ação, alta eficácia contra artrópodes, baixa toxicidade em vertebrados não-alvo e potencial para formulação com sinergistas e de nanopesticidas (PAVELA; BENELLI, 2016).

2.3.1 Óleos essenciais

Os óleos essenciais (OEs) são sintetizados pelas plantas e desempenham papel fundamental nos processos de defesa vegetal, incluindo também atratividade para polinizadores e insetos benéficos. Além disso, são responsáveis pelo aroma e sabor específico com interesse nas indústrias farmacêuticas e cosméticos (CAMPOLO et al., 2018). A composição volátil dos OEs são sintetizados por estruturas secretoras como tricomas, ductos de resina encontrado em diferentes partes vegetais.

Esses compostos podem ser extraídos através da destilação a vapor, hidrodestilação e a prensagem a frio (óleos essenciais cítricos). A classificação dos OEs são formados por dois grandes grupos complexos: I - Terpenóides (monoterpenos, diterpenos e sesquiterpenos) e II - Fenilpropanóides de baixo peso molecular, oriundos das vias metabólicas secundárias da biossíntese presente no citosol e cloroplastos (REGNAULT-ROGER et al., 2012; PAVELA; BENELLI, 2016).

Os compostos constituintes dos OEs são misturas orgânicas complexas, que demonstram propriedades inseticida em insetos-praga de grãos armazenados, como: a toxicidade, repelência, antialimentares, supressão da fertilidade e oviposição de insetos adultos (CAMPOLO et al., 2018). Além das pragas de grãos armazenados, os OEs têm se mostrado eficazes na proteção vegetal contra insetos-praga mastigadores e succionadores, inibindo a oviposição de dípteros em frutíferas (REGNAULT-ROGER et al., 2012).

Estudos reforçam que o uso de OEs evidenciam atividades neurotóxicas semelhantes aos sintéticos em seus alvos moleculares nos organismos do insetos envolvendo os canais de sódio e cálcio fechados por tensão; na inibição das enzimas acetilcolinesterase (AChE); nos receptores das sinapses GABA e nos neuromoduladores de octopamina (FARAONE et al., 2015; PAVELA; BENELLI, 2016; CAMPOLO et al., 2018; SOUTO et al., 2021).

De acordo com Pavela e Benelli (2016), sugerem que os OEs podem ser usados em alternância com inseticidas sintéticos para gerenciar problemas de resistência. Assim como, a combinação de ambos, podem sugerir ação sinérgica devido a diversidade química e seus diferentes espectros de ação sobre os organismos-alvo (ISMAN, 2006). Desse modo, entender o espectro de ação dos OEs sobre os organismo-alvos poderá ser crucial para a aplicação desses subprodutos no desenvolvimento de novas formulações de pesticidas botânicos (FARAONE et al., 2015; PAVELA; BENELLI, 2016; CAMPOLO et al., 2018; SOUTO et al., 2021).

2.3.1 Óleos essenciais como sinergistas

Apesar da vantagens da utilização do OEs já descritas, como rápida degradação, toxicidade baixa à moderada em organismos não-alvo e maior seletividade, esses botânicos ainda possui suas limitações, no que diz respeito a sua ampla utilização no campo. Com a baixa persistência, escassez de recursos naturais, padronização, além

do quadro legislativo rigoroso (ISMAN, 2000; ISMAN; GREINEISEN, 2014). Entretanto, tais desafios, podem ser contornados a partir de intensificação de pesquisas científicas, como por exemplo, a combinação de óleos essenciais com sintéticos são reportadas em pragas de grãos armazenados (NENAAH, 2011; FAZOLIN et al., 2016; KANDA et al. 2017; BRITO et al., 2021).

As combinações de OEs podem gerar atividades de sinergismo ou antagonismo (BRITO et al., 2021). Dado a isso, o sinergismo tem por finalidade potencializar a toxicidade de um agente, a partir de concentrações de um ou mais agentes que podem exercer efeito maior comparado toxicidade de um agente isolado (DAS, 2014). Por outro lado, o antagonismo, é a soma esperada dos efeitos isolados, em que um componente reduz ou inibe a atividade do outro (DAS, 2014; REDDY; CHOWDARY, 2021).

Tanto sinergismo quanto ao efeito antagônico são indicados por muitos termos como, coeficiente de co-toxicidade, razão de sinergismo, percentual de mortalidade (REDDY; CHOWDARY, 2021). Por essa razão, as substâncias sinérgicas são consideradas ferramentas simples para o manejo integrado de pragas em superar resistências metabólicas, ou até mesmo, retardar a algum tipo de manifestação de resistência hereditária de genes, além de aumentar a vida útil de prateleira dos inseticidas sintéticos (BERNAND; PHILOGÉNE; 1993; RIBEIRO et al., 2003; FARAONE et al., 2015) e reduzindo a persistência residual de produtos altamente tóxicos nos produtos armazenados (WALIA et al., 2004).

O butóxido de piperonila (PBO), sinergista comercial de inseticidas, é um produto químico que aprimora a propriedades ativas das piretrinas, rotenonas e carbamatos. O PBO tem sido usado comercialmente desde 1940, principalmente em combinação com inseticidas piretróides. A sua especificidade na inibição da atividade de desintoxicação de enzimas do sistema citocromo P-450 contribuiu para seu sucesso como sinergista (SNOECK et al., 2017).

O PBO demonstrou suspeita toxicidade aguda e crônica em espécies não-alvo, resultando menor interesse em utilização desse sinergista comercial (WALIA et al., 2004). Mas, tem sugerido que as plantas possuem ações naturais de sinergismo entre suas moléculas orgânicas, a fim de superar estresses contra fitófagos. Alguns trabalhos evidenciaram que os OEs combinados com outros botânicos podem exercer atividades sinérgicas contra pragas de culturas e pragas de armazenados (FARAONE et al., 2015; DASSANAYAKE et al., 2021).

Lima e colaboradores (2011), verificaram sinergismo do OE de alecrim-pimenta com o monoterpeno timol combinado em espécies de *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae). Investigações com OEs combinado com inseticida comercial, revelaram suscetibilidade de *Myzus persicae* s.l. (Hemiptera: Aphididae) (pulgão), OEs de lavanda e tomilho combinado com Imidacloprido indicou razão de sinergismo de 19,8 no estudo (FARAONE et al. 2015). Segundo Fazolin et al. (2017), o óleo essencial de *Piper aduncum* demonstrou potencial como sinergista para os inseticidas Fenitrotiona, Profenofós e Clorpirifós, podendo ser uma alternativa ao butóxido de piperonila. Além disso, Ziaee et al. (2014) observaram um efeito sinérgico do óleo essencial da gramínea *Carum copticum* em combinação com terra de diatomáceas, resultando em atividade locomotora reduzida e toxicidade por contato contra as espécies de insetos *Sitophilus granarius* e *T. confusum*.

De acordo com Faraone et al. (2015), nem sempre ocorre sinergia, como observado na ação antagônica entre certos óleos essenciais (OEs) e inseticidas sintéticos. Da mesma forma, Eesiah et al. (2022) relataram um efeito antagônico na combinação dos óleos essenciais de canela, cravo e tomilho, resultando em efeitos repelentes menores em comparação com o uso isolado desses óleos em *S. zeamais*. Pesquisas indicam que a volatilização dos compostos presentes nos óleos essenciais ou a mistura de diferentes compostos podem levar a esse fenômeno antagônico (ARAUJO et al., 2012; PAVELA, 2014). Além disso, a estrutura molecular e a posição dos grupos funcionais podem influenciar nos fenômenos de sinergia ou antagonismo (PAVELA, 2014).

Conforme Ebadollahi e Sendi (2015), inúmeras famílias de plantas são frequentemente estudadas para obtenção dos seus óleos essenciais que incluem, Lauraceae, Myrtaceae, Lamiaceae, Rutaceae, Apiaceae, Asteraceae, Poaceae, Cupressaceae, Piperaceae e Zingiberaceae. Considerando esses fatos, os óleos essenciais (OEs) têm a capacidade de atuar de forma independente, além de interagir de maneira aditiva e sinérgica com outros agentes pesticidas, visando garantir a segurança na proteção das culturas agrícolas e reduzir os custos de produção. (DASSANAYAKE et al., 2021).

2.4 ASPECTOS GERAIS DA ESPÉCIE *Piper aduncum* L.

A pimenta de macacão (*Piper aduncum* L.) é uma planta arbustiva aromática endêmica da Amazônia, pertencente a família Piperaceae que possui um grande potencial na produção de óleo essencial (MAIA et al., 1988; BERGO et al., 2005). Conforme os

achados na literatura, o seu óleo essencial é utilizado para combater de forma direta e indireta a diversas doenças humanas causadas por agentes infecciosos parasitários e bacterianos. Além disso, destaca-se que a utilização do óleo essencial na agricultura por apresentar atividades inseticidas, larvicidas, antibacterianos e antifúngicos (MISNI et al., 2011; POTZERNHEIN et al., 2012; SAUTER et al., 2012; DUROFIL et al., 2021).

O Óleo essencial de *P. aduncum* (OEPA), é constituído por fenilpropanóides como o dilapiol, seu composto majoritário, seguido pela miristicina e apiol, já os monoterpenos estão incluídos: 1,8-cineol, β -ocimene, γ -terpineno (DUROFIL et al., 2021). A composição do OEPA é variável, e esses graus polimorfismo tem sido atribuído tanto nas diferenças genéticas inseridas nas coordenadas geográficas quanto as condições ambientais (SALEHI et al., 2019).

Como característica marcante das Piperaceas, as espécies de *P. aduncum* contém quantidade de lignanas ligadas a um grupo químico metileno dióxido fenil que formam o dilapiol, o fenilpropanoide mais abundante nessa espécie (ESTRELA et al., 2006). O dilapiol, é comumente encontrado em maior abundância nos óleos essenciais na Amazônia o que representa mais de 70% da composição total (DUROFIL et al., 2021).

O dilapiol apresenta um efeito inibidor de esterases semelhante ao sinergista comercial PBO, porém não acontece imediatamente, exige um tempo de 3 a 4 horas após a aplicação, o que indica que o OEPA pode ajudar na inibição de enzimas desintoxicantes e, aumentar o potencial do inseticida comercial (SHANKARGANESH et al., 2009).

A bioatividade do OEPA, já são relatadas sobre os insetos-praga de grãos armazenados: Toxicidade (ESTRELA et al., 2006; FAZOLIN et al., 2007; MARTINEZ et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2017), repelência (OLIVEIRA et al., 2017), redução das taxas de crescimento (NASCIMENTO, 2020) e agente sinérgico em misturas com os sintéticos (FAZOLIN et al., 2016). Devido ao seu potencial pesticida, o OEPA surge como indicativo de possibilidade de aproveitamento econômico dessa espécie. Além disso, outras investigações futuras serão importantes para o uso de OEPA em programas sustentáveis de controle de pragas da Amazônia.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, W. S.; ESPÍRITO-SANTO FILHO, K. Edge effect benefits galling insects in the Brazilian Amazon. **Biodiversity and Conservation**, v. 21, p. 2991-2997, 2012.
- BARROS, F. A. P et al. Efficacy of encapsulated and non-encapsulated thyme essential oil (*Thymus vulgaris* L.) in the control of *Sitophilus zeamais* and its effects on the quality of corn grains throughout storage. **Crop Protection**, v. 153, p. 105885, 2022.
- B-BERNARD, C.; PHILOGÈNE, B. JR. Insecticide synergists: role, importance, and perspectives. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A Current Issues**, v. 38, n. 2, p. 199-223, 1993.
- BERGO, C. L.; MENDONÇA, H. A. de; SILVA, M. R. da. Efeito da época e frequência de corte de pimenta longa (*Piper hispidinervum* C. DC.) no rendimento de óleo essencial. **Acta amazônica**, v. 35, p. 111-117, 2005.
- BEZABIH, G., SATHEESH, N.; WORKNEH-FANTA, S.; WALE, M.; ATLABACHEW, M. Reducing Postharvest Loss of Stored Grains Using Plant-Based Biopesticides: A Review of Past Research Efforts. **Advances in Agriculture**, v. 2022, 2022.
- BOYER, S.; ZHANG, H.; LEMPÉRIÈRE, Guy. A review of control methods and resistance mechanisms in stored-product insects. **Bulletin of entomological research**, v. 102, n. 2, p. 213-229, 2012.
- CAMPOLO, O.; GIUNTI, G.; RUSSO, A., PALMERI, V.; ZAPPALÀ, L. Essential oils in stored product insect pest control. **Journal of Food Quality**, v. 2018, 2018.
- CHAUDHARI, A. K.; SINGH, V. K.; KEDIA, A.; DAS, S.; DUBEY, N. K. Essential oils and their bioactive compounds as eco-friendly novel green pesticides for management of storage insect pests: prospects and retrospects. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, p. 18918-18940, 2021
- DAS, S. K. Scope and relevance of using pesticide mixtures in crop protection: a critical review. **International Journal of Environmental Science and Toxicology**, v. 2, n. 5, p. 119-123, 2014.
- DEVI, S. R.; THOMAS, A.; REBIJITH, K. B.; RAMAMURTHY, V. V. Biology, morphology and molecular characterization of *Sitophilus oryzae* and *S. zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 73, p. 135-141, 2017.
- DOUGOUD, J.; TOEPFER, S.; BATEMAN, M.; JENNER, W. H. Efficacy of homemade botanical insecticides based on traditional knowledge. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 39, p. 1-22, 2019.
- DUROFIL, A.; RADICE, M.; BLANCO-SALAS, J.; RUIZ-TÉLLEZ, T. *Piper aduncum* essential oil: a promising insecticide, acaricide and antiparasitic. A review. **Parasite**, v. 28, 2021.

- EBADOLLAHI, A.; JALALI SENDI, J. A review on recent research results on bio-effects of plant essential oils against major Coleopteran insect pests. **Toxin reviews**, v. 34, n. 2, p. 76-91, 2015.
- ESTRELA, J. L. V.; FAZOLIN, M.; CATANI, V.; ALÉCIO, M. R.; LIMA, M. S. de. Toxicidade de óleos essenciais de *Piper aduncum* e *Piper hispidinervum* em *Sitophilus zeamais*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, p. 217-222, 2006.
- FARAONE, N.; HILLIER, N. K.; CUTLER, G. C. Plant essential oils synergize and antagonize toxicity of different conventional insecticides against *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae). **PloS one**, v. 10, n. 5, p. e0127774, 2015.
- FARONI, L. R D.' A.; SOUSA, A. H de. Aspectos biológicos e taxonômicos dos principais insetos-praga de produtos armazenados. **Tecnologia de armazenagem em sementes. Campina Grande: UFCG**, v. 1, p. 371-402, 2006.
- FAZOLIN, M.; ESTRELA, J. L. V.; CATANI, V.; ALÉCIO, M. R.; LIMA, M. S. de. Propriedade inseticida dos óleos essenciais de *Piper hispidinervum* C. D.C.; *Piper aduncum* L. e *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. & K. Shum sobre *Tenebrio molitor* L., 1758. **Ciência e Agrotecnologia**, p. 31, n. 1, p. 113-120, 2007.
- FAZOLIN, M.; ESTRELA, J. L. V., MEDEIROS, A. F. M., DA SILVA, I. M., GOMES, L. P. Sinérgico alternativo para inseticidas inibidores de acetilcolinesterase. **Revista Agro@mbiente On-line**, v. 11, n.3, p. 232-240, 2017
- FREITAS, R. S.; FARONI, L. R. A.; SOUSA, A. H. Hermetic storage for control of common bean weevil, *Acanthoscelides obtectus* (Say). **Journal of Stored Products Research**, v. 66, p. 1-5, 2016.
- GARIBA, S. Y.; DZIDZIENYO, D. K.; EZIAH, V. Y. Assessment of four plant extracts as maize seed protectants against *Sitophilus zeamais* and *Prostephanus truncatus* in Ghana. **Cogent Food & Agriculture**, v. 7, n. 1, p. 1918426, 2021.
- HAJAM, Y. A.; KUMAR, R. Management of stored grain pest with special reference to *Callosobruchus maculatus*, a major pest of cowpea: A review. **Heliyon**, v. 8, n. 1, p. e08703, 2022.
- IQBAL, T.; AHMED, N.; SHAHJEER, K.; AHMED, S.; AL-MUTAIRI, K. A.; KHATER, H. F.; ALI, R. F. **Botanical Insecticides and their Potential as Anti-Insect/Pests: Are they Successful against Insects and Pests?**. In: Global Decline of Insects. IntechOpen, 2021.
- ISMAN, M. B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology**, v. 51, p. 45-66, 2006.
- ISMAN, M. B. Botanical insecticides: for richer, for poorer. **Pest Management Science: formerly Pesticide Science**, v. 64, n. 1, p. 8-11, 2008.
- KOUL, O.; WALIA, S.; DHALIWAL, G. S. Essential oils as green pesticides: potential and constraints. **Biopesticides international**, v. 4, n. 1, p. 63-84, 2008.
- KUMARI, N.; KUMAR, V.; KUMAR, A.; KUMAR, A.; SATI, K.; PRAKASH, O.; KAPOOR, N. Biology of *Sitophilus zeamais* Motsch. On maize grains under laboratory condition. **The Pharma Innovation Journal**, v. 11, n.9, p. 1388-1391, 2022.

LORINI, I. Descrição, biologia e danos das principais pragas de grãos e sementes armazenadas. In: LORINI, I.; MIKE, L. H.; SCUSSEL, V. M.; FARONI, L. R. D. (Eds). **Armazenagem de grãos**. Jundiaí: Instituto Bio Geneziz, 2018. p. 363-381.

MARTÍNEZ J. A, D'ANTONINO-FARONI L. R, SOTO, A. Porcentaje de perdida de masa en granos y efecto tóxico del aceite esencial *Piper aduncum* en *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). Boletín Científico. Centro de Museos. **Museo de Historia Natural**, v. 17, p. 81–90, 2013.

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. **Tropical biomedicine**, v. 28, n. 2, p. 249-258, 2011.

NASCIMENTO, J. M. **Bioatividade do óleo essencial de *Piper aduncum* L. para diferentes espécies de carunchos (insecta: coleptera) de grãos armazenados**. 2020. 61 f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal, Universidade Federal do Acre. Rio banco, AC, 2020.

NAYAK, MANOJ, K.; DAGLISH, G. J.; PHILLIPS, T.W.; EBERT, P.R. Resistance to the fumigant phosphine and its management in insect pests of stored products: a global perspective. **Annual Review of Entomology**, v. 65, p. 333-350, 2020.

NWOSU, L. C. Maize and the maize weevil: Advances and innovations in postharvest control of the pest. **Food Quality and Safety**, v. 2, n. 3, p. 145-152, 2018.

PAVELA, R.; BENELLI, G. Essential oils as ecofriendly biopesticides? Challenges and constraints. **Trends in plant science**, v. 21, n. 12, p. 1000-1007, 2016.

PIMENTEL, M. A. G., FARONI, L. R. D. A., TÓTOLA, M. R., GUEDES, R. N. C. Phosphine resistance, respiration rate and fitness consequences in stored-product insects. **Pest Management Science: formerly Pesticide Science**, v.63, n. 9, p. 876-881, 2007

PINTO, U. M., FARONI, L. R. D. A., ALVES, W. M., & DA SILVA, A. A. L. Influência da densidade populacional de *Sitophilus zeamais* (Motsch.) sobre a qualidade do trigo destinado à panificação. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 24, 1407-1412, 2002.

POTZERNHEIM, M. C. L.; BIZZO, H. R.; SILVA, J. P.; VIEIRA, R. F. Chemical characterization of essential oil constituents of four populations of *Piper aduncum* L. from Distrito Federal, Brazil. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 42, p. 25-31, 2012.

PRAKASH, B.; SINGH, P. P.; KUMAR, A.; GUPTA, V. Botanicals for Sustainable Management of Stored Food Grains: Pesticidal Efficacy, Mode of Action and Ecological Risk Assessment Using Computational Approaches. **Anthropocene Science**, v. 1, n. 1, p. 62-79, 2022.

REDDY, D. S.; CHOWDARY, N. M. Botanical biopesticide combination concept - a viable option for pest management in organic farming. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 31, n. 1, p. 1-10, 2021.

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

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.

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

SALEHI, B.; ZAKARIA, Z. A.; GYAWALI, R.; IBRAHIM, S. A.; RAJKOVIC, J.; SHINWARI, Z. K.; KHAN, T.; SHARIFI-RAD, J.; OZLEYEN, A.; TURKDOMENZ, E.; VALUSSI, M.; BOYUNEGMEZ TUMER, T.; FIDALGO, L. M. MARTORELL, M.; SETZER, W. N. *Piper species*: A comprehensive review on their phytochemistry, biological activities and applications. **Molecules**, v. 24, n. 7, p.1364, 2019.

SAUTER, I. P.; ROSSA, G. E; LUCAS, A. M.; CIBULSKI, S. P.; ROEHE, P. M.; SILVA, L. A.; ROTT, M. B.; VARGAS, R. M.; CASSEL, E.; VON POSER, G. L. Chemical composition and amoebicidal activity of *Piper hispidinervum* (Piperaceae) essential oil. **Industrial Crops and Products**, v. 40, p. 292-295, 2012.

SHANKARGANESH, K.; SUBAHMANYAM, B.; WALIAAND S.; DHINGRA, S. Dillapiole mediated esterase inhibition in insecticide resistant *Spodoptera litura* (Fabricius). **Pesticide Research Journal**, v. 21, n. 2, p. 143-147, 2009

SINGH, K. D.; MOBOLADE, A. J.; BHARALI, R., SAHOO, D.; RAJASHEKAR, Y. Main plant volatiles as stored grain pest management approach: A review. **Journal of Agriculture and Food Research**, v. 4, p. 100127, 2021.

SOUTO, A. L.; SYLVESTRE, M.; TÖLKE, E. D.; TAVARES, J. F., BARBOSA-FILHO, J. M.; CEBRIÁN-TORREJÓN, G. Plant-derived pesticides as an alternative to pest management and sustainable agricultural production: Prospects, applications and challenges. **Molecules**, v. 26, n. 16, p. 4835, 2021.

STEJSKAL, V.; VENDL, T.; AULICKY, R.; ATHANASSIOU, C. Synthetic and natural insecticides: Gas, liquid, gel and solid formulations for stored-product and food-industry pest control. **Insects**, v. 12, n. 7, p. 590, 2021.

TADDESE, M., DIBABA, K., BAYISSA, W., HUNDE, D., MENDESIL, E., KASSIE, M., MUTUNGI, C.; TEFERA, T. Assessment of quantitative and qualitative losses of stored grains due to insect infestation in Ethiopia. **Journal of Stored Products Research**, v. 89, p.101689. 2020.

VELASQUES, J.; CARDOSO, M. H.; ABRANTES, G.; FRIHLING, B. E.; FRANCO, O. L.; MIGLIOLO, L. The rescue of botanical insecticides: A bioinspiration for new niches and needs. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 143, p. 14-25, 2017.

WALIA, S.; SAHA, S.; PARMAR, B. S. Liquid chromatographic method for the analysis of two plant based insecticide synergists dillapiole and dihydrodillapiole. **Journal of Chromatography A**, v. 1047, n. 2, p. 229-233, 2004.

ZIAEE, M.; MOHARRAMIPOUR, S.; MOHSENFAR, A. Toxicity of *Carum copticum* essential oil-loaded nanogel against *Sitophilus granarius* and *Tribolium confusum*. **Journal of Applied Entomology**, v. 138, n. 10, p. 763-771, 2014.

3 CAPÍTULO I

**TOXICIDADE, SINERGISMO DO ÓLEO ESSENCIAL DE
Piper aduncum L. EM DIFERENTES POPULAÇÕES DE *Sitophilus zeamais*
(COLEOPTERA: CURCULIONIDAE)**

RESUMO

O objetivo desta pesquisa foi determinar a toxicidade do deltametrina e do óleo essencial do *Piper aduncum* (OEPA) para as populações brasileiras do inseto *Sitophilus zeamais*, e estudar o efeito da mistura binária OEPA+deltametrina em cinco populações brasileiras de *S. zeamais*. Foram analisados dados de concentração-mortalidade do deltametrina e do OEPA em treze populações brasileiras de *S. zeamais*. Utilizando a população padrão de susceptibilidade, foram geradas concentrações letais (CL_{50} e CL_{95}) da mistura binária OEPA x deltametrina em cinco populações de *S. zeamais*, a fim de detectar o efeito sinérgico em relação ao deltametrina. Após a geração das curvas de concentração-mortalidade, as toxicidades residuais após 24 horas de exposição variaram de 0,003 a 0,08 $\mu\text{L cm}^{-2}$ para o deltametrina, 0,04 a 2,038 $\mu\text{L cm}^{-2}$ para o OEPA, e 0,0016 a 0,014 $\mu\text{L cm}^{-2}$ para a mistura binária (OEPA+deltametrina). As populações brasileiras de *S. zeamais* mostraram toxicidade desuniformidade de resposta ao deltametrina. A população de Jacarezinho, PR, apresentou resistência, com razões de toxicidade (RTs) na CL_{50} indicando uma toxicidade 3,06 e 4,13 vezes maior em relação às populações suscetíveis para o OEPA e deltametrina, respectivamente. A população de Barbacena, MG, foi a população padrão de susceptibilidade nos bioensaios de toxicidade do OEPA. A mistura binária suprime mecanismo de resistência nas populações de *S. zeamais* devido à ação sinérgica do bioinseticida ao deltametrina. Esses resultados são promissores para o uso do OEPA na via de contato como estratégia no manejo de pragas de grãos armazenados.

Palavras-chave: Gorgulho-do-milho. Dilapiol. Controle alternativo. Mistura binária.

ABSTRACT

The objective of this research was to determine the toxicity of deltamethrin and the essential oil of *Piper aduncum* (OEPA) on Brazilian populations of the insect *Sitophilus zeamais*, and to study the effect of the binary mixture OEPA+deltamethrin on five Brazilian populations of *S. zeamais*. Concentration-mortality data for deltamethrin and OEPA were analyzed in thirteen Brazilian populations of *S. zeamais*. Using the standard susceptible population, lethal concentrations (LC₅₀ and LC₉₅) of the binary mixture OEPA x deltamethrin were generated for five populations of *S. zeamais* to detect the synergistic effect with deltamethrin. After generating the concentration-mortality curves, residual toxicities after 24 hours of exposure ranged from 0.003 to 0.08 $\mu\text{L cm}^{-2}$ for deltamethrin, 0.04 to 2.038 $\mu\text{L cm}^{-2}$ for OEPA, and 0.0016 to 0.014 $\mu\text{L cm}^{-2}$ for the binary mixture (OEPA+deltamethrin). Brazilian populations of *S. zeamais* showed uneven toxicity responses to deltamethrin. The Jacarezinho (PR) population exhibited resistance, with toxicity ratios (TRs) at LC₅₀ indicating 3.06 and 4.13 times higher toxicity compared to susceptible populations for OEPA and deltamethrin, respectively. The population from Barbacena, MG, served as the standard susceptible population in the OEPA toxicity bioassays. The binary mixture suppressed resistance mechanisms in the populations of *S. zeamais* tested due to the synergistic action of the bioinsecticide with deltamethrin. These results are promising for the use of OEPA as a contact-based strategy in the management of stored grain pests.

Keywords: Maize-weevil. Dilapiol. Alternative control. Binary mixture.

3.1 INTRODUÇÃO

O gorgulho-do-milho, *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae), é uma praga primária do milho que causa sérios danos pós-colheita tanto no campo quanto no armazenamento em todo o mundo. Adultos e larvas dessa praga se alimentam de grãos saudáveis, resultando em perdas significativas na produção de grãos armazenados (LÓPEZ-CASTILHO et al., 2018; NWOSU, 2018).

Os métodos convencionais de controle dessa praga baseiam-se no uso de pesticidas sintéticos, sendo o controle químico o mais eficaz devido à sua resposta imediata e capacidade de reduzir as populações de pragas abaixo do nível econômico de dano (FREITAS et al., 2016). No entanto, esses produtos geralmente não são seletivos e seu uso indiscriminado tem causado danos à saúde humana e ao meio ambiente, além de contribuir para o surgimento de populações de insetos resistentes. Nesse contexto, compostos derivados de plantas, como os óleos essenciais, têm sido propostos como alternativas sustentáveis (PATIÑO-BAYONA et al., 2021; ACHIMÓN et al., 2022).

Os óleos essenciais (OEs) são complexas misturas de compostos orgânicos voláteis, biodegradáveis, extraídos de diferentes partes de plantas aromáticas, e consistem principalmente de terpenos, fenilpropanoides e seus derivados, que compõem o perfil fitoquímico desses subprodutos (SINGH et al., 2021). Sabe-se que os óleos essenciais apresentam diversas atividades biológicas, incluindo toxicidade aguda e crônica, repelência, inibição da oviposição, crescimento, alimentação e desenvolvimento contra espécies de insetos-praga (YANG et al., 2020). A atividade inseticida de diferentes óleos essenciais contra diversas pragas agrícolas já foi amplamente documentada (EBADOLLAHI; SENDI, 2015; BENELLI; PAVELLA, 2018; CAMPOLO et al., 2018).

A espécie *Piper aduncum* (L.), uma Piperácea, tem sido extensivamente investigada devido aos seus óleos essenciais comprovadamente inseticidas contra diferentes ordens de insetos. A toxicidade do óleo essencial de *P. aduncum* (OEPA) já foi relatada em ordens como Díptera (MISNI et al., 2011), Hymenoptera (SOUTO et al., 2012), Coleóptera (ESTRELA et al., 2006); Lepidóptera (FAZOLIN et al., 2016) e Hemíptera (TURCHEN et al., 2016). O OEPA tem demonstrado atividade sinérgica em misturas com outros inseticidas sintéticos (FAZOLIN et al., 2016).

A utilização de óleos essenciais (OEs) em combinação com inseticidas convencionais é uma estratégia interessante, pois pode reduzir a quantidade de

inseticidas sintéticos necessários (FARAONE et al., 2015). Além disso, o uso de compostos botânicos com potencial sinérgico é uma ferramenta importante para superar a resistência a inseticidas, potencializando a ação dos inseticidas sintéticos e reduzindo a ocorrência de resíduos no corpo dos insetos (NORRIS et al., 2018).

Os OEs estão emergindo como alternativa promissora ao butóxido de piperonila (PBO), um sinergista comercial que potencializa a ação dos piretróides sintéticos. Essas combinações têm demonstrado eficácia aditiva e sinérgica, e sua utilidade já tem sido investigada em estudos anteriores (LIMA et al., 2011; FARAONE et al., 2015; SILVA et al., 2017; BRITO et al., 2021). Fazolin et al. (2016) relataram trabalhos que utilizaram a combinação do OEPA com inseticidas piretróides no controle de *Spodoptera frugiperda* E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae).

Embora haja estudos sobre a toxicidade do OEPA em pragas de grãos armazenados, não encontramos informações na literatura consultada sobre o uso do OEPA combinado com deltametrina em populações brasileiras de *S. zeamais*. Portanto, este é o primeiro estudo investigativo sobre o potencial sinérgico do OEPA com deltametrina em populações do gorgulho-do-milho em ambientes de armazenamento.

Considerando a importância econômica de *S. zeamais* como praga do milho e de outros cereais armazenados, é oportuno desenvolver pesquisas com inseticidas botânicos compatíveis com o manejo integrado de pragas, visando mitigar os efeitos indesejáveis e o uso indiscriminado de inseticidas sintéticos (COITINHO et al., 2011). Portanto, o objetivo desta pesquisa foi determinar a toxicidade da deltametrina e do OEPA em populações brasileiras de *S. zeamais*, e avaliar o efeito da combinação binária OEPA+deltametrina em cinco populações brasileiras de *S. zeamais*.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

A extração o OEPA foi conduzido no Laboratório de Produtos Naturais da Fundação de Tecnologia do Estado do Acre - FUNTAC e os bioensaios de toxicidade e sinergismo foram realizados no laboratório de Manejo Integrado de Pragas da Universidade Federal do Acre - campus Rio Branco.

3.2.1 Populações de *Sitophilus zeamais*

Treze populações brasileiras de *S. zeamais* coletadas nos municípios de Barbacena, MG; Crixás, GO; Jacarezinho, PR; Juiz de Fora, MG; Londrina, PR; Machado, MG; Plácido de Castro, AC; Picos, PI; Recife, PE; Rio Branco, AC; Tunápolis, SC; Uirapuru, GO e Viçosa, MG foram utilizadas a partir de colônias-estoque do laboratório. Essas populações eram mantidas em frascos de vidro (1,5 L), fechados com tampas plásticas perfuradas e revestidas internamente com organza para permitir suas trocas gasosas, sob temperatura constante (27 ± 2 °C), umidade relativa ($70 \pm 5\%$) e escotofase (24 h). Utilizou-se como substrato alimentar, grãos de milho com teor de água de 13% em base úmida (bu), previamente fumigados com fosfina (PH_3) e mantidos a -18 °C para evitar reinfestação conforme a metodologia adaptada por Sousa et al. (2009).

3.2.2 Inseticida sintético

Para os bioensaios do inseticida sintético. Utilizou-se, o composto comercial do ingrediente ativo deltametrina, nome comercial K-Obiol® 25 EC, grupo químico dos piretróides classe toxicológica categoria 4 - pouco tóxico.

3.2.3 Obtenção e extração do óleo essencial

Plantas adultas silvestre de *P. aduncum* foram obtidas no Campus da UFAC, no município de Rio Branco, Acre, nas coordenadas geográficas: $9^\circ 57' 29''$ (S) e $67^\circ 48' 36''$ (W). A coleta do material vegetal foi realizada no período da manhã durante o mês de agosto de 2021. Inicialmente, realizou-se apenas uma coleta as amostras botânicas foram coletadas a partir de 0,4 m do solo, posteriormente secas em estufa a 45 °C até

atingir 30% de umidade. Após a secagem o material botânico foi armazenado em sacos plásticos para serem submetidos a extração do óleo essencial. A exsicata de *P. aduncum* foi depositada no Herbário UFACPZ da Universidade Federal do Acre, sob o número de registro: UFACPZ 20.646. A espécie foi identificada pela Dra. Elsie Franklin Guimarães, do Herbário do Jardim Botânico do Rio de Janeiro (Herbário RB).

Para a extração do óleo essencial (OE), utilizou-se a técnica por hidrodestilação ou arraste de vapor de água, onde utilizou-se uma manta térmica aquecedora para alocação do balão volumétrico juntamente com aparelho tipo Clevenger, conectado ao sistema de refrigeração para então, realizar sistema de extração. Para cada extração, utilizou-se 150 g da biomassa seca inseridas em um balão volumétrico de 5 L com auxílio de funil e aferido com água destilada. Logo em seguida, foi ligada a manta térmica e regulada a temperatura de ebulição aproximadamente 120 °C, a extração do OE foi de 240 minutos. Após o processo de ebulição e condensação do OE no extração, o mesmo foi coletado com Erlenmeyer para o processo de decantação e separação do óleo essencial e o hidrolato (SOUSA et al., 2014).

O OE foi separado do hidrolato por um funil de separação obtida por decantação acoplado ao suporte universal, e a secagem com o uso de sulfato de sódio anidro. As amostras contidas com OE foram armazenadas em frascos do tipo âmbar e mantido sob refrigeração em câmara do tipo B.O.D. a 4 °C (Figura 1).

Figura 1 – Método de extração e separação do óleo essencial de *Piper aduncum*.



3.2.4 Bioensaios de toxicidade deltametrina e OEPA

Realizou-se testes preliminares para estimar concentrações mínimas e máximas dentro de intervalo de 5% a 95% de mortalidade dos insetos. Com base nestas informações, foram estabelecidas cinco diferentes concentrações para exposições dos mesmos em bioensaios definitivos de toxicidade do OEPA e do deltametrina para as treze populações de *S. zeamais*.

Para os bioensaios definitivos de toxicidade do deltametrina foram utilizadas as seguintes concentrações: 0,0027; 0,0046; 0,0093; 0,0173 e 0,0519 $\mu\text{L cm}^{-2}$, exceto para a população de Crixás pois, as suas concentrações foram ajustadas (0,0027; 0,0046; 0,0056; 0,0093; 0,0173 $\mu\text{L cm}^{-2}$). Para a toxicidade do OEPA foram estabelecidas usando concentrações crescentes do OEPA, conforme determinado em testes preliminares (Tabela 1).

Tabela 1 – Concentrações utilizadas de OEPA nos bioensaios de toxicidade das populações de *Sitophilus zeamais*

Populações	Concentrações ($\mu\text{L cm}^{-2}$)				
Barbacena	0,0393	0,0786	0,6052	0,9416	1,1648
Crixas	0,0393	0,0786	0,6052	0,9416	1,1648
Jacarezinho	0,1179	0,2358	1,1648	1,4557	2,0389
Juiz de Fora	0,0393	0,1179	0,7074	0,9416	1,1648
Londrina	0,0786	0,1179	0,9416	0,9416	1,1648
Machado	0,0786	0,1556	0,9416	1,1648	1,4557
Plácido de Castro	0,0786	0,1556	0,6052	0,9416	1,1648
Picos	0,0786	0,1179	0,6052	0,9416	1,4557
Recife	0,0393	0,0786	0,6052	0,9416	1,1648
Rio Branco	0,0393	0,0786	0,6052	0,7074	0,9416
Tunápolis	0,0786	0,1179	0,6052	0,9416	1,1648
Uirapuru	0,0786	0,1556	0,6052	0,9416	1,1648
Viçosa	0,0786	0,1556	0,6052	0,9416	1,1648

Os bioensaios definitivos de toxicidade foram por via de aplicação em superfície de contato, sendo realizados em placas de petri (9,0 cm x 1,5 cm) revestidas de papel-filtro com 50 insetos não-sexados com idade 1 a 25 dias. Aplicou-se nos papéis-filtro

com um pipetador automático, 1 mL do volume da cauda conforme as concentrações do inseticida comercial e do OEPA, diluídos em acetona (solvente) e 1 mL de acetona (solvente que não afetou a sobrevivência das populações de *S. zeamais*) para o tratamento testemunha. Depois da evaporação total do solvente (cerca de 5 min), foram infestados 50 insetos adultos por placa em quatro repetições e avaliada a mortalidade após 24 horas. Por meio de bioensaios de concentração-mortalidade, obteve-se as concentrações que causam mortalidade de 50 e 95% dos insetos (CL₅₀ e CL₉₅), foi calculado os intervalos fiduciais e suas razões de toxicidade entre o inseticida comercial piretróide e o OEPA, conforme a metodologia de Robertson e Preisler (1992). Considerou-se a mortalidade dos insetos quando não apresentava mais nenhum movimento ao ser tocado com pincel, ou quando não conseguiam mais se locomover.

Figura 2 – Bioensaios de toxicidade via de contato do deltametrina e OEPA e sinergismo em populações brasileiras de *Sitophilus zeamais*.



3.2.5 Bioensaios de sinergismo

Para avaliar o efeito da mistura do OEPA+deltametrina, foram realizados testes preliminares com a concentração subletal do OEPA (um quarto da CL₂₀: 0,0208 $\mu\text{L cm}^{-2}$ da População Padrão de Susceptibilidade) combinada com as concentrações do inseticida comercial sintético para estimar concentrações mínimas e máximas dentro de intervalo de 5% a 95% de mortalidade dos insetos em cinco populações de *S. zeamais*. A população padrão de suscetibilidade, Barbacena, MG, foi determinada pelo bioensaio de toxicidade do OEPA. Os bioensaios definitivos de mistura binária foram realizados nas mesmas condições dos bioensaios de toxicidade (subseção 3.2.4) utilizou-se a mesma

concentração subletal de OEPA combinado com as concentrações do deltametrina conforme a metodologia adaptada por ALMEIDA et al. (2017). As concentrações dos bioensaios da misturas binária (OEPA+deltametrina) foram: 0,002; 0,005; 0,006; 0,009 e 0,014 $\mu\text{L cm}^{-2}$, respectivamente. Nos bioensaios de sinergismo utilizou-se apenas cinco populações escolhidas com base nas populações que apresentaram maiores e menores CL_{50} nos bioensaios de deltametrina, respectivamente (Tabela 2). Foram as populações de Jacarezinho, PR; Plácido de Castro, AC; Recife, PE; Uirapuru, GO e Viçosa, MG.

3.2.6 Análises estatísticas

Os dados de concentração-mortalidade dos bioensaios de toxicidade e do sinergismo foram submetidos a análise de Probit (PROC PROBIT, SAS Institute 2011), para gerar curvas de concentração-mortalidade. Os intervalos de confiança para as razões de toxicidade (RT) foram calculadas conforme Robertson e Preisler (1992).

Realizou-se ainda análise de correlação ($p < 0,05$) entre a razão de toxicidade (RT_{50} e RT_{95}) do OEPA com o deltametrina, além da correlação da mistura binária (OEPA + inseticida comercial), para inferir se há ou não uma relação de sinergismo, utilizando o procedimento PROC CORR do programa SAS (PROC CORR, SAS Institute 2011).

3.3 RESULTADOS

As curvas de concentração-mortalidade das populações de *S. zeamais* expostas ao deltametrina, OEPA e sinergismo são apresentados nas tabelas 2, 3 e 4. Essas curvas de concentração-mortalidade foram usadas para avaliar a toxicidade da exposição ao deltametrina, identificar a população padrão de suscetibilidade, bem como a toxicidade do OEPA para as populações brasileiras de *S. zeamais* além de investigar um potencial efeito sinérgico da mistura do OEPA + deltametrina. O modelo probit foi adequado para analisar os dados de mortalidade, pois foram observados baixos valores de χ^2 (qui-quadrado) e altos valores de P (probabilidade) para cada curva de concentração-mortalidade para valores de toxicidade ($\chi^2 < 5,98$; $P > 0,05$) deltametrina ($\chi^2 < 6,40$ $P > 0,05$), OEPA e ($\chi^2 < 5,95$; $P > 0,05$) da combinação OEPA+deltametrina.

3.3.1 Toxicidade do deltametrina e do OEPA

Para as CL_{50} e CL_{95} das populações de *S. zeamais* expostas ao deltametrina variaram de 0,003 a 0,066 $\mu\text{L cm}^{-2}$. Da mesma forma, as razões de toxicidade RT_{50} e RT_{95} variaram de 1,00 a 4,13 vezes, respectivamente (Tabela 2). Esses resultados confirmam uma variação de resposta entre as populações de espécies de *S. zeamais* com o princípio ativo comercial.

De acordo com os resultados obtidos, verifica-se que as populações de Viçosa (MG) e Jacarezinho (PR), apresentaram menor e maior CL_{50} (0,003 e 0,013 $\mu\text{L cm}^{-2}$), com razões de toxicidade de 1 a 4,13 vezes na CL_{50} respectivamente. Da mesma forma, as populações de Crixás (GO) e Plácido de Castro (AC), apresentaram menor e maior CL_{95} (0,019 a 0,066 $\mu\text{L cm}^{-2}$) e suas razões de toxicidade de 1 e 3,44 vezes na CL_{95} .

Por outro lado, as inclinações das curvas de concentrações-mortalidade variaram entre as populações, sendo menor ($1,67 \pm 0,18$) de Viçosa (MG) e a maior ($3,92 \pm 0,30$) de Crixás (GO). Maiores inclinações das curvas de concentração-mortalidade indicam que menores concentrações do deltametrina é capaz de provocar grande mortalidade, resultando em heterogeneidade de resposta na mortalidade dessas populações.

3.3.2 Toxicidade do OEPA

Através dos bioensaios de concentração-resposta, obteve-se resultados de toxicidade com exposição ao OEPA, no qual foram utilizados para estimar as CL_{50} e CL_{95} das treze populações de *S. zeamais* estudadas. Para as CL_{50} e CL_{95} , os resultados de mortalidade das populações ao OEPA variaram de 0,2676 a 10,53 $\mu\text{L cm}^{-2}$, respectivamente. A população de Barbacena (MG), apresentou a menor (CL_{50} : 0,2676 $\mu\text{L cm}^{-2}$), em decorrência disto, esta população foi considerada a padrão de susceptibilidade. Já população de Uirapuru (GO), apresentou menor CL_{95} (CL_{95} : 2,831 $\mu\text{L cm}^{-2}$). Por outro lado, a população de Jacarezinho (PR), apresentou maiores CL_{50} : 0,819 e CL_{95} : 10,53 $\mu\text{L cm}^{-2}$ (Tabela 3).

Não foram observadas correlações significativas entre as razões de toxicidade (RT_{50} e RT_{95}) do deltametrina x OEPA (RT_{50} : n = 13; r = 0,59; P = 0,31; RT_{95} : n = 13; r = 0,23; P = 0,43). Assim como, não houve grandes variações de inclinação da curva das populações (1,43-1,87), reforçando homogeneidade toxicológica entre as populações investigadas, indicam que populações apresentaram uniformidade de resposta descartando qualquer indício de resistência. Por outro lado, verifica-se que as curvas de concentração-mortalidade entre as populações com a exposição do OEPA foram distintas dos resultados apresentados no bioensaios com a deltametrina, exceto para a Jacarezinho que apresentou maior CL_{50} tanto para o OEPA quanto para o deltametrina. De um modo geral, observa-se que suas RT_{50} e RT_{95} das populações brasileiras de *S. zeamais* variaram de 1,0 a 3,72 vezes, respectivamente. Esses resultados confirmam que há variação de resposta destas populações à toxicidade do OEPA, fazendo-se necessário ajustar concentrações letais diferentes para cada população conforme mencionados na Tabela 1.

3.3.3 Toxicidade do OEPA+deltametrina

Resultados encontrados com a mistura binária (OEPA+deltametrina) da toxicidade de cinco populações estudadas variaram de 0,003 a 0,272 $\mu\text{L cm}^{-2}$ das CL_{50} e CL_{95} respectivamente. A razão de toxicidade dos adultos em *S. zeamais* apresentou pouca variação 1,0 a 1,68 vezes na CL_{50} e 1,0 a 1,89 vezes na CL_{95} . As populações exibiram uniformidade de resposta entre as populações.

Com a combinação do OEPA+deltametrina, verificou-se que as populações de Viçosa (MG) e Jacarezinho (PR), apresentaram maior susceptibilidade e resistência

na CL_{50} . Enquanto que para as CL_{95} , as populações que apresentaram susceptibilidade e resistência foram Recife (PE) e Plácido de Castro (AC) respectivamente. Não houve grandes variações na inclinação da curva das populações investigadas (1,58 - 2,71), reforçando homogeneidade toxicológica.

Embora razões de toxicidade mostraram valores menores que (<2). No entanto, essas razões apresentaram correlação altamente positiva em relação as suas razões de toxicidade da mistura binária x deltametrina RT_{50} ($n = 13$; $r = 0,97$; $P = 0,01$) e significativa para RT_{95} ($n = 13$; $r = 0,90$; $P = 0,03$). Essa correlação positiva indica que a aplicação do OEPA potencializou o deltametrina conforme toxicidade residual tabela 4. As concentrações combinadas da mistura binária apresentou maior toxicidade residual comparado com os resultados de efeitos isolados OEPA e do deltametrina, havendo redução da quantidade do inseticida sintético.

Tabela 2 - Toxicidade residual relativa do deltametrina em adultos de populações brasileiras de *Sitophilus zeamais*. O intervalo de concentração do deltametrina foi 0,003 - 0,08 $\mu\text{L cm}^{-2}$ (24 h exposição).

Populações	Inclinação \pm E.P.M. ¹	CL ₅₀ (IF 95%) $\mu\text{L cm}^{-2}$	RT (IC 95%) CL ₅₀	CL ₉₅ (IF 95%) $\mu\text{L cm}^{-2}$	RT (IC 95%) CL ₉₅	χ^2	P
Viçosa, MG	1,67 \pm 0,18	0,003 (0,001-0,003)	-	0,031 (0,02-0,05)	1,59 (0,99 ⁻² ,56)	5,08	0,17
Recife, PE	2,03 \pm 0,18	0,005 (0,005-0,006)	1,52 (1,14 ⁻² ,04)	0,031 (0,02-0,05)	1,61 (0,98 ⁻² ,66)	4,55	0,20
Picos, PI	2,29 \pm 0,19	0,006 (0,005-0,006)	1,74 (1,40 ⁻² ,16)	0,029 (0,02-0,04)	1,49 (1,02 ⁻² ,18)	5,36	0,15
Barbacena, MG	2,29 \pm 0,19	0,006 (0,005-0,006)	1,79 (1,47 ⁻² ,19)	0,030 (0,02-0,04)	1,55 (1,04 ⁻² ,83)	5,38	0,14
Machado, MG	2,65 \pm 0,22	0,006 (0,005-0,006)	1,82 (1,51 ⁻² ,20)	0,024 (0,03-0,05)	1,25 (0,92-1,50)	5,98	0,11
Rio Branco, AC	2,09 \pm 0,18	0,006 (0,003-0,006)	1,87 (1,54 ⁻² ,27)	0,037 (0,03-0,05)	1,88 (1,20 ⁻² ,93)	4,85	0,18
Juiz de Fora, MG ²	2,38 \pm 0,20	0,006 (0,005-0,006)	1,97 (1,62 ⁻² ,41)	0,031 (0,02-0,04)	1,58 (1,06 ⁻² ,35)	4,65	0,20
Tunápolis, SC	2,18 \pm 0,18	0,007 (0,006-0,007)	2,09 (1,73 ⁻² ,54)	0,038 (0,03-0,05)	1,96 (1,26-3,03)	5,03	0,16
Crixás, GO	3,92 \pm 0,30	0,007 (0,007-0,008)	2,32 (1,97 ⁻² ,73)	0,019 (0,01-0,02)	-	5,74	0,12
Londrina, PR	2,44 \pm 0,19	0,008 (0,008-0,009)	2,57 (2,21 ⁻² ,99)	0,038 (0,03-0,05)	1,99 (1,31-3,01)	4,89	0,18
Uirapuru, GO	2,25 \pm 0,18	0,010 (0,010-0,011)	3,10 (2,57-3,73)	0,053 (0,04-0,08)	2,74 (1,81-4,13)	4,96	0,17
Plácido de Castro, AC	2,23 \pm 0,17	0,012 (0,012-0,014)	3,83 (3,16-4,65)	0,067 (0,05-0,10)	3,44 (2,44-5,29)	5,00	0,17
Jacarezinho, PR ²	2,46 \pm 0,18	0,013 (0,013-0,014)	4,13 (3,41-5,00)	0,061 (0,05-0,09)	3,17 (2,09-4,83)	4,95	0,18

¹ Erro Padrão da Média; ² População resistente; CL: Concentração letal; RT: Razão de toxicidade para CL₅₀ e CL₉₅; IF 95%: Intervalo fiducial a 95% de probabilidade; χ^2 : qui-quadrado; P: Probabilidade.

Tabela 3 - Toxicidade residual relativa de OEPA em adultos de populações brasileiras de *Sitophilus zeamais*. O intervalo de concentração do OEPA foi de 0,04 - 2,04 $\mu\text{L cm}^{-2}$ (24 h exposição).

Populações	Inclinação \pm E.P.M. ¹	CL ₅₀ (IF 95%) $\mu\text{L cm}^{-2}$	RT (IC 95%) CL ₅₀	CL ₉₅ (IF 95%) $\mu\text{L cm}^{-2}$	RT (IC 95%) CL ₉₅	χ^2	P
Barbacena, MG ³	1,43 \pm 0,11	0,268 (0,22-0,33)	-	3,811 (1,03-6,27)	1,35 (0,74 ⁻² ,45)	5,95	0,11
Rio Branco, AC	1,47 \pm 0,12	0,269 (0,22-0,33)	1,00 (0,75-1,34)	3,733 (2,51-6,33)	1,32 (0,80 ⁻² ,18)	6,03	0,11
Recife, PE	1,47 \pm 0,12	0,316 (0,26-0,43)	1,18 (0,89-1,57)	4,176 (2,86-6,87)	1,48 (0,79 ⁻² ,75)	5,70	0,13
Crixás, GO	1,46 \pm 0,12	0,350 (0,29-0,43)	1,31 (0,98-1,74)	4,684 (3,15-7,85)	1,66 (0,86-3,20)	6,12	0,11
Viçosa, MG	1,52 \pm 0,14	0,354 (0,29-0,43)	1,32 (1,00-1,74)	4,300 (2,89-7,51)	1,52 (0,79 ⁻² ,92)	6,10	0,11
Juiz de Fora, MG	1,67 \pm 0,14	0,373 (0,31-0,44)	1,39 (1,12-1,73)	3,599 (2,57-5,63)	1,27 (0,83-1,94)	6,01	0,11
Uirapuru, GO	1,87 \pm 0,22	0,374 (0,25-0,54)	1,40 (1,08-1,80)	2,831 (1,54-9,54)	-	6,40	0,10
Plácido de Castro, AC	1,65 \pm 0,12	0,376 (0,31-0,45)	1,41 (1,05-1,89)	3,745 (2,73-5,65)	1,32 (0,73 ⁻² ,39)	6,17	0,10
Londrina, PR	1,57 \pm 0,13	0,377 (0,31-0,45)	1,41 (1,09-1,82)	4,203 (2,88-7,04)	1,49 (0,80 ⁻² ,78)	5,77	0,12
Tunápolis, SC	1,69 \pm 0,13	0,405 (0,34-0,48)	1,52 (2,00-1,95)	3,794 (2,69-6,02)	1,34 (0,78 ⁻² ,31)	5,70	0,13
Picos, PI	1,82 \pm 0,15	0,418 (0,36-0,49)	1,56 (1,24-1,97)	3,350 (2,11-5,13)	1,18 (0,63 ⁻² ,21)	5,26	0,15
Machado, MG	1,42 \pm 0,13	0,498 (0,41-0,61)	1,86 (1,44 ⁻² ,40)	7,077 (4,62-12,77)	2,50 (1,27-4,94)	5,79	0,12
Jacarezinho, PR	1,48 \pm 0,14	0,819 (0,61-0,68)	3,06 (2,32-4,03)	10,525 (6,77-19,58)	3,72 (1,79-7,73)	4,86	0,18

¹ Erro Padrão da Média; ² População resistente; ³ População padrão suscetibilidade; CL: Concentração letal; RT: Razão de toxicidade para CL₅₀ e CL₉₅; IF 95%: Intervalo fiducial a 95% de confiança; χ^2 : qui-quadrado; P: Probabilidade

Tabela 4 - Toxicidade residual relativa do efeito combinado do OEPA+deltametrina em adultos de populações brasileiras de *S. zeamais*.

O intervalo de concentração da mistura binária foi de 0,0016 - 0,014 $\mu\text{L cm}^{-2}$ (24 h exposição).

Populações	Inclinação \pm E.P.M. ¹	CL ₅₀ (IF 95%) $\mu\text{L cm}^{-2}$	RT (IC 95%) CL ₅₀	CL ₉₅ (IF 95%) $\mu\text{L cm}^{-2}$	RT (IC 95%) CL ₉₅	χ^2	P
Viçosa, MG	1,72 \pm 0,19	0,004 (0,003-0,005)	-	0,032 (0,02-0,05)	1,07 (0,62-1,86)	5,40	0,14
Uirapuru, GO	1,71 \pm 0,19	0,004 (0,003-0,005)	1,16 (0,90-1,49)	0,037 (0,02-0,07)	1,26 (0,67 ⁻² ,35)	5,95	0,11
Recife, PE	2,11 \pm 0,20	0,005 (0,005-0,005)	1,40 (1,13-1,75)	0,030 (0,02-0,04)	-	5,06	0,17
Plácido de Castro, AC	1,58 \pm 0,19	0,005 (0,005-0,006)	1,45 (1,16-1,80)	0,056 (0,04-0,12)	1,89 (0,91-3,94)	4,70	0,19
Jacarezinho, PR ²	1,90 \pm 0,20	0,006 (0,005-0,006)	1,68 (1,34 ⁻² ,11)	0,043 (0,03-0,07)	1,45 (0,70 ⁻² ,99)	5,24	0,16

¹ Erro Padrão da Média; ² População resistente; CL: Concentração letal; RT: Razão de toxicidade para CL₅₀ e CL₉₅; IF 95% = Intervalo fiducial a 95% de confiança; χ^2 qui-quadrado; P=Probabilidade.

3.4 DISCUSSÃO

A resistência a inseticidas em populações de *S. zeamais* é um fator limitante para o controle dessa espécie (GUEDES et al., 1995; OLIVEIRA et al., 2005; FRAGOSO et al., 2007; GUEDES et al., 2017). Populações resistentes a DDT e piretróides, como é caso das populações de Jacarezinho (PR) e Juiz de Fora (MG), em cinco estados brasileiros durante a década de 1990 (GUEDES et al. 1995).

As curvas de concentração-mortalidade em resposta ao deltametrina variaram entre as populações estudadas. Curvas mais inclinadas indicam respostas homogêneas ao produto comercial, o que significa que pequenas variações nas concentrações resultam em maior mortalidade, devido aos mecanismos de ação dos piretróides (FRAGOSO et al., 2002). Embora os piretróides atuem principalmente na interrupção do local-alvo dos canais de sódio, causando desequilíbrio e disfunção osmorreguladora, o uso indiscriminado desses inseticidas contribuiu para a seleção de gorgulhos resistentes. Os principais mecanismos de resistência a piretróides são mutações no gene *kdr*, aumento da desintoxicação enzimática e alterações comportamentais (RIBEIRO et al., 2003; FRAGOSO et al., 2007).

A população de Juiz de Fora (MG) analisada neste estudo não demonstrou resistência ao deltametrina, com valores de CL_{50} inferiores a $0,007 \mu\text{L cm}^{-2}$ e RT abixao 1,97 vezes. Esses resultados são diferentes dos relatados na literatura por Fragoso et al. (2005), que mencionaram a presença de resistência nessa população. Estudos demográficos conduzidos por Fragoso et al. (2005) e Guedes et al. (2006) indicaram uma desvantagem de aptidão na população de Juiz de Fora, enquanto a população de Jacarezinho (PR) mostrou-se mais resistente devido à sua capacidade de alocar maiores reservas de energia para o desenvolvimento populacional e resistência a inseticidas sintéticos.

A população de Plácido de Castro (AC) foi observada como a segunda população mais resistente, com valores de RT_{50} inferiores a 3,83 e RT_{95} inferiores a 3,44 vezes, respectivamente. Esse resultado foi surpreendente, considerando que o estado do Acre tem pouca produção de grãos, sendo a maior parte produzida por agricultores de subsistência que geralmente armazenam os grãos em paióis durante a safra, com poucos ou nenhum tratamento preventivo. É importante ressaltar que ainda não é possível afirmar com certeza se a população de Plácido de Castro apresenta resistência confirmada, uma vez que a coleta foi realizada em campo de

agricultores familiares em 2019. No entanto, o Acre importa grãos de algumas regiões da região Centro-Oeste, onde os grãos são tratados com produtos fitossanitários antes de serem armazenados e posteriormente comercializados no mercado nacional e internacional. A exposição de grãos a quantidades inadequadas de inseticidas durante a fumigação com fosfina na comercialização pode contribuir para a disseminação da resistência (BENHALIMA et al., 2004). Portanto, essa pode ser uma possível explicação para as potenciais causas de resistência observadas nessa população.

No manejo integrado de pragas de grãos armazenados, é comum enfrentar problemas devido à utilização de um único produto químico e à falta de opções registradas de formulações, o que leva a uma maior dependência desses produtos e ao aumento da frequência de genótipos resistentes. Para lidar com essa situação, é necessário adotar uma estratégia prática de manejo que inclua maiores intervalos entre as aplicações de piretróides e a alternância com produtos comerciais, como aqueles à base de organofosforados, a fim de reduzir a pressão de seleção (SANTOS et al., 2009). Além disso, é importante considerar o comportamento da população e outras características de sua história de vida para alcançar níveis satisfatórios de controle (CORREA et al., 2015).

Diversos estudos têm destacado os óleos essenciais (OEs) de plantas como uma estratégia alternativa para o controle de pragas de grãos armazenados, especialmente devido aos efeitos tóxicos que eles apresentam em indivíduos de *S. zeamais* (ESTRELA et al., 2006; ARAUJO et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2018). Esses OEs são substâncias complexas que contêm um ou mais compostos orgânicos, como monoterpenos e sesquiterpenos, o que confere vantagens no controle de pragas. Além disso, eles têm o potencial de apresentar efeitos sinérgicos entre esses compostos (ODEYEMI et al., 2008).

As populações brasileiras de *S. zeamais* avaliadas neste estudo apresentaram susceptibilidade de resposta em relação a exposição do óleo essencial de *Piper aduncum* L. (OEPA) por via de contato. Embora seja observada susceptibilidade ao OEPA, tal variação nas RT_{50} foi pequena (<2,0) para afirmar qualquer indício de resistência. No entanto, a população de Jacarezinho (PR), mostrou-se mais resistente, enquanto que a população de Barbacena (MG), a mais suscetível. Esse comportamento é observado da população de Jacarezinho (PR), pode estar relacionada com sua comprovada resistência a piretróides (OLIVEIRA et al., 2005).

Com base nos resultados obtidos, não foi observada uma correlação significativa entre as razões de toxicidade das populações de insetos para o óleo essencial de *Piper aduncum* (OEPA) e a deltametrina, indicando a ausência de resistência cruzada entre esses compostos. Isso sugere que os mecanismos de defesa presentes nos insetos das populações resistentes a piretróides, como Jacarezinho e Juiz de Fora, não são eficazes quando expostos ao OEPA. Embora a resistência a piretróides e organofosforados seja amplamente relatada em insetos-praga de grãos armazenados no Brasil, não parece haver uma associação entre essa resistência e a resistência ao OEPA (GUEDES et al., 1995; OLIVEIRA et al., 2005; PEREIRA et al., 2009; BRAGA et al., 2011). Não foi constatado qualquer indício de resistência de populações brasileiras de *S. zeamais* em óleos essenciais de *P. aduncum* e *P. hispidinernum* (ARAÚJO et al., 2016).

O óleo essencial de *P. aduncum* e seus constituintes são potencialmente ativos como inseticidas, que são responsáveis pela maioria dos efeitos repelentes e inseticidas (SOUTO et al., 2012; DUROFIL et al., 2021). Pesquisas sobre a utilização do OEPA mostram resultados promissores para controle de insetos-pragas, não apenas de grãos armazenados, mas também de outras ordens de insetos: Hemíptera (TURCHEN et al., 2016), Hymenoptera (SOUTO et al., 2012), Díptera (OLIVEIRA et al., 2013), Lepidóptera (FAZOLIN et al., 2017; SANINI et al., 2017; SILVA et al., 2017).

Especificamente, ao avaliar altas concentrações do OEPA por intoxicação por contato em insetos adultos, observou-se extrema agitação, seguida de perda de locomoção motora e mortalidade em um período de 24 horas. Essas observações são corroboradas por Pavela e Bennelli (2016), que descrevem que os OEs atuam em atividades neurotóxicas através de mecanismos semelhantes aos modos de ação de inseticidas sintéticos. Além disso, Fazolin et al. (2017) indicam que o OEPA potencializa a ação de inseticidas sintéticos à base de piretróides e organofosforados, sugerindo que este produto pode ser um substituto alternativo para inseticidas inibidores de acetilcolinesterase.

A combinação do OEPA+deltametrina apresentou alta toxicidade nas cinco populações estudadas, apesar da pequena variação nas razões de toxicidade calculadas de acordo com Robertson e Presler (1992). Esses resultados indicam um efeito sinérgico, uma vez que houve uniformidade de resposta em todas as populações, descartando qualquer indício de resistência. Esse fenômeno foi

observado anteriormente na população de Jacarezinho (GUEDES et al., 1995; HADDI et al., 2018).

A combinação do OEPA com o produto mostrou resultados promissores, apresentando valores menores CL_{50} e CL_{95} (Tabela 4). Além disso, foi observada uma correlação positiva entre as razões de toxicidade (RT_{50} e RT_{95}) da mistura binária e da deltametrina isolada. Isso indica que as doses de deltametrina podem ser reduzidas na presença do OEPA, suprimindo possíveis mecanismos de resistência e aumentando o contato residual do inseticida no corpo do inseto devido à presença do OEPA.

As piperáceas apresentam um metabolismo secundário versátil, que inclui a presença de diversos constituintes fitoquímicos, tais como lignanas, ligninas e flavonoides. Esses compostos são frequentemente encontrados em espécies de Piper e têm o potencial de potencializar a ação de pesticidas sintéticos contra insetos, como mencionado por Fazolin et al. (2017). A combinação de diferentes produtos pode levar a um aumento na toxicidade para os insetos, uma vez que um composto pode potencializar o efeito de outro, interferindo no sistema de desintoxicação do inseto. Por exemplo, as lignanas presentes nas piperáceas, que possuem a ligação metilendioxifenil, são capazes de inibir as enzimas monooxigenases do citocromo P450 (FAZOLIN et al., 2016).

Estudos têm explorado combinações de produtos naturais e sintéticos para o controle de insetos. Silva et al. (2017) observaram uma redução significativa de 80% na lagarta *S. frugiperda* ao combinar o óleo essencial de *Occimum basilicum* com a deltametrina. Da mesma forma, Fazolin et al. (2016) constataram efeitos sinérgicos ao combinar o OEPA com piretróides contra a lagarta *S. frugiperda*. No entanto, Faraone et al. (2015) relataram que certas combinações de óleos essenciais podem apresentar ação antagônica com inseticidas. Além disso, estudos mostraram que misturas binárias de deltametrina e óleos essenciais aumentaram a mortalidade de percevejos resistentes à deltametrina (*Cimex lectularius*) (GAIRE et al., 2021).

A utilização de métodos alternativos, com a incorporação de OEs, é de grande importância, especialmente para pequenos e médios produtores familiares, visando o controle de insetos em grãos armazenados e a promoção da saúde dos consumidores livres de resíduos tóxicos aos pesticidas sintéticos. Neste estudo, verificou-se que o OEPA potencializou a ação do inseticida sintético, apresentando promissor controle sobre a praga *S. zeamais* por meio do contato. No entanto, são necessários mais estudos que explorem outras vias de intoxicação, como a fumigação ou o contato tópico, a fim de corroborar o uso de combinações de compostos naturais e sintéticos para o manejo de pragas.

3.5 CONCLUSÕES

As populações brasileiras de *S. zeamais* avaliadas apresentam desuniformidade em resposta na toxicidade ao deltametrina.

Dentre as 13 (treze) populações brasileiras de *S. zeamais*, Jacarezinho (PR) e Plácido de Castro (AC) exibem resistência, enquanto Vicososa (MG) é susceptível com CL_{50} , ao deltametrina.

O OEPA exibe toxicidade nas populações brasileiras de *S. zeamais*, indicando uniformidade de resposta, exceto a população de Jacarezinho (PR) que mostra-se resistente tanto ao OEPA quanto ao deltametrina.

A mistura binária OEPA x deltametrina suprime mecanismos de resistência das cinco populações brasileiras de *S. zeamais*, indicando uniformidade de resposta.

REFERÊNCIAS

- ACHIMÓN, F.; PESCHIUTTA, M. L.; BRITO, V. D.; BEATO, M.; PIZZOLITTO, R. P.; ZYGADLO, J. A.; Zunino, M. P. Exploring contact toxicity of essential oils against *Sitophilus zeamais* through a Meta-Analysis Approach. **Plants**, v. 11, n. 22, p. 3070, 2022.
- ALMEIDA, W. A.; SILVA, I. H. L. D.; SANTOS, A. C. V. D.; BARROS, A. P.; SOUSA, A. H. D. POTENTIATION OF COPAÍBA OIL-RESIN WITH SYNTHETIC INSECTICIDES TO CONTROL OF FALL ARMYWORM. **Revista Caatinga**, v. 30, n. 4, p. 1059-1066, 2017.
- ARAÚJO, A. M. N. DE.; FARONI, L. R. A.; OLIVEIRA, J. V. DE.; NAVARRO, D. M. DO A. F.; BARBOSA, D. R. E S.; BREDA, M. O.; FRANÇA, S. M. de. Lethal and sublethal responses of *Sitophilus zeamais* populations to essential oils. **Journal of Pest Science**, v. 90, p. 589-600, 2016.
- BENELLI, G.; PAVELA, R. Repellence of essential oils and selected compounds against ticks - A systematic review. **Acta tropica**, v. 179, p. 47-54, 2018.
- 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, n. 3, p. 241-249, 2004.
- BRAGA, L. S.; CORREA, A. S.; PEREIRA, E. J. G.; GUEDES, R. N. C. Face or flee? Fenitrothion resistance and behavioral response in populations of the maize weevil. *Sitophilus zeamais*. **Journal of Stored Products Research**, v. 47, n. 3, p. 161-167, 2011.
- BRITO, V. D.; ACHIMÓN, F.; PIZZOLITTO, R. P.; RAMÍREZ SÁNCHEZ, A.; GÓMEZ TORRES, E. A.; ZYGADLO, J. A.; ZUNINO, M. P. An alternative to reduce the use of the synthetic insecticide against the maize weevil *Sitophilus zeamais* through the synergistic action of *Pimenta racemosa* and *Citrus sinensis* essential oils with chlorpyrifos. **Journal of Pest Science**, v. 94, p. 409-421, 2021.
- CAMPOLO, O.; GIUNTI, G.; RUSSO, A.; PALMERI, V.; ZAPPALÀ, L. Essential oils in stored product insect pest control. **Journal of Food Quality**, v. 2018, p. 1-18, 2018.
- COITINHO, R. L. B. D. C.; OLIVEIRA, J. V. D.; GONDIM JUNIOR, M. G. C.; CÂMARA, C. A. G. D. (2011). Toxicidade por fumigação, contato e ingestão de óleos essenciais para *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1885 (Coleoptera: Curculionidae). **Ciência e agrotecnologia**, v. 35, p. 172-178, 2011.
- CORREA, Y. D. C. G.; FARONI, L. R.; HADDI, K.; OLIVEIRA, E. E.; PEREIRA, E. J. G. Locomotory and physiological responses induced by clove and cinnamon essential oils in the maize weevil *Sitophilus zeamais*. **Pesticide biochemistry and physiology**, v. 125, p. 31-37, 2015.
- DUROFIL, A.; RADICE, M.; BLANCO-SALAS, J.; RUIZ-TÉLLEZ, T. *Piper aduncum* essential oil: a promising insecticide, acaricide and antiparasitic. A review. **Parasite**, v. 28, 2021.
- EBADOLLAHI, A.; JALALI SENDI, J. A review on recent research results on bio-effects of plant essential oils against major Coleopteran insect pests. **Toxin reviews**, v. 34, n. 2, p. 76-91, 2015.

FARAONE, N.; HILLIER, N. K.; CUTLER, G. Christopher. Plant essential oils synergize and antagonize toxicity of different conventional insecticides against *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae). **PloS one**, v. 10, n. 5, p. e0127774, 2015.

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, 2016.

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J. V.; MONTEIRO, A. M.; DA SILVA, I. M.; GOMES, L. P. Alternative synergistic for acetylcholinesterase inhibitors insecticide. **Agro@ mbiente On-line**, v. 11, n. 3, p. 232-240, 2017.

FRAGOSO, D. B.; GUEDES, R. N. C.; OLIVEIRA, M. G. A. Partial characterization of glutathione S-transferases in pyrethroid-resistant and-susceptible populations of the maize weevil, *Sitophilus zeamais*. **Journal of Stored Products Research**, v. 43, n. 2, p. 167-170, 2007.

FRAGOSO, D. B.; GUEDES, R. N. C.; PETERNELLI, L. A. Developmental rates and population growth of insecticide-resistant and susceptible populations of *Sitophilus zeamais*. **Journal of Stored Products Research**, v. 41, n. 3, p. 271-281, 2005.

FRAGOSO, D. B.; JUSSELINO FILHO, P.; PALLINI FILHO, A.; BADJI, C. A. Ação de inseticidas organofosforados utilizados no controle de *Leucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville)(Lepidoptera: Lyonetiidae) sobre o ácaro predador *Iphiseiodes zuluagai* Denmark & Muma (Acari: Phytoseiidae). **Neotropical Entomology**, v. 31, n. 3, p. 463-467, 2002.

FREITAS, R. S.; FARONI, L. R. A.; SOUSA, A. H. Hermetic storage for control of common bean weevil, *Acanthoscelides obtectus* (Say). **Journal of Stored Products Research**, v. 66, p. 1-5, 2016.

GAIRE, S.; ZHENG, W.; SCHARF, M. E.; GONDHALEKAR, A. D. Plant essential oil constituents enhance deltamethrin toxicity in a resistant population of bed bugs (*Cimex lectularius* L.) by inhibiting cytochrome P450 enzymes. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 175, p. 104829, 2021.

GUEDES, R. N. C.; OLIVEIRA, E. E.; GUEDES, N. M. P.; RIBEIRO, B.; SERRÃO, J. E. Cost and mitigation of insecticide resistance in the maize weevil, *Sitophilus zeamais*. **Physiological Entomology**, v. 31, n. 1, p. 30-38, 2006.

GUEDES, R. N. C.; WALSE, S. S.; THRONE, J. E. Sublethal exposure, insecticide resistance, and community stress. **Current opinion in insect science**, v. 21, p. 47-53, 2017.

GUEDES, R. N. C.; LIMA, J. G., SANTOS, J. P., CRUZ, C. D. Resistance to DDT and pyrethroids in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* Motsch.(Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 31, n. 2, p. 145-150, 1995.

HADDI, K.; VALBON, W. R.; VITERI JUMBO, L. O.; DE OLIVEIRA, L. O.; GUEDES, R. N.; OLIVEIRA, E. E. Diversity and convergence of mechanisms involved in pyrethroid resistance in the stored grain weevils, *Sitophilus* spp. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 16361, 2018.

- LIMA, R. K.; CARDOSO, M. G.; MORAES, J. C.; CARVALHO, S. M.; RODRIGUES, V. G.; GUIMARÃES L. G. L. Chemical composition and fumigant effect of essential oil of *Lippia sidoides* Cham. and monoterpenes against *Tenebrio molitor* (L.) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, p. 664-671, 2011.
- LÓPEZ-CASTILLO, L. M.; SILVA-FERNÁNDEZ, S. E.; WINKLER, R.; BERGVINSON, D. J.; ARNASON, J. T.; GARCÍA-LARA, S. Postharvest insect resistance in maize. **Journal of Stored Products Research**, v. 77, p. 66-76, 2018.
- 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. **Tropical biomedicine**, v. 28, n. 2, p. 249-258, 2011.
- NORRIS, E. J.; JOHNSON, J. B.; GROSS, A. D.; BARTHOLOMAY, L. C.; COATS, J. R. Plant essential oils enhance diverse pyrethroids against multiple strains of mosquitoes and inhibit detoxification enzyme processes. **Insects**, v. 9, n. 4, p. 132, 2018.
- NWOSU, L. C. Maize and the maize weevil: Advances and innovations in postharvest control of the pest. **Food Quality and Safety**, v. 2, n. 3, p. 145-152, 2018.
- ODEYEMI, O. O.; MASIKA, P.; AFOLAYAN, A. J. Insecticidal activities of essential oil from the leaves of *Mentha longifolia* L. subsp. *capensis* against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). **African Entomology**, v. 16, n. 2, p. 220-225, 2008.
- OLIVEIRA, G. L.; CARDOSO, S. K.; LARA JUNIOR, C. R.; VIEIRA, T. M.; GUIMARÃES, E. F.; FIGUEIREDO, L. S.; KAPLAN, M. A. C. Chemical study and larvicidal activity against *Aedes aegypti* of essential oil of *Piper aduncum* L. (Piperaceae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 85, p. 1227-1234, 2013.
- OLIVEIRA, A. P.; SANTOS, A. A.; SANTANA, A. S.; LIMA, A. P. S.; MELO, C. R.; SANTANA, E. D.; BACCI, L. Essential oil of *Lippia sidoides* and its major compound thymol: Toxicity and walking response of populations of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Crop Protection**, v. 112, p. 33-38, 2018.
- OLIVEIRA, E. E.; GUEDES, R. N.; CORRÊA, A. S.; DAMASCENO, B. L.; SANTOS, C. T. Pyrethroid resistance vs susceptibility in *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae): is there a winner?. **Neotropical Entomology**, v. 34, p. 981-990, 2005.
- PATIÑO-BAYONA, W. R.; NAGLES GALEANO, L. J.; BUSTOS CORTES, J. J.; DELGADO ÁVILA, W. A.; HERRERA DAZA, E.; SUÁREZ, L. E. C.; PATIÑO-LADINO, O. J. Efeitos de óleos essenciais de 24 espécies de plantas sobre *Sitophilus zeamais* Motsch (Coleoptera, Curculionidae). **Insetos**, v. 12, n. 6, p. 532, 2021.
- PAVELA, R.; BENELLI, G. Essential oils as ecofriendly biopesticides? Challenges and constraints. **Trends in plant science**, v. 21, n. 12, p. 1000-1007, 2016.
- 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**, v. 28, n. 2, p. 168-173, 2009.

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

ROBERTSON, J. L.; PREISLER, H. K. **Pesticide bioassays with arthropods**. 1. ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 1992. 127 p.

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). **Brazilian journal of botany**, v. 40, p. 399-404, 2017.

SANTOS, J. C.; FARONI, L. R. D. A.; DE OLIVEIRA SIMÕES, R.; PIMENTEL, M. A. G.; SOUSA, A. H. Toxicidade de inseticidas piretróides e organofosforados para populações brasileiras de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Bioscience Journal**, v. 25, n. 6, p. 75-81, 2009.

SAS Institute. **SAS/STAT User`s Guide, version 9**. 3ed. Cary: Statistical Analysis System, 2011

SILVA, J. K.; DA TRINDADE, R.; ALVES, N. S.; FIGUEIREDO, P. L.; MAIA, J. G. S.; SETZER, W. N. Essential oils from neotropical *Piper* species and their biological activities. *International journal of molecular sciences*, v. 18, n. 12, p. 2571, 2017.

SINGH, K. D.; MOBOLADE, A. J.; BHARALI, R., SAHOO, D.; RAJASHEKAR, Y. Main plant volatiles as stored grain pest management approach: A review. **Journal of Agriculture and Food Research**, v. 4, p. 100127, 2021.

SOUTO, R. N. P.; HARADA, A. Y.; ANDRADE, E. H. A.; MAIA, J. G. S. Insecticidal activity of *Piper* essential oils from the Amazon against the fire ant *Solenopsis saevissima* (Smith)(Hymenoptera: Formicidae). **Neotropical Entomology**, v. 41, p. 510-517, 2012.

SOUSA, A. H.; FARONI, L. R. D. A.; REZENDE, F.; AURÉLIO, M.; PIMENTEL, G.; SILVA, G. N. Population growth of *Cathartus quadricollis* (Guerin-Meneville)(Coleoptera: Silvanidae) in products stored at different temperatures. **African Journal of Food Science**, v. 3, n. 11, p. 347-351, 2009.

SOUSA, A. H.; FARONI, L. R. D. A.; FREITAS, R. da Silva. Relative toxicity of mustard essential oil to insect-pests of stored products. **Revista Caatinga**, v. 27, n. 2, p. 222-226, 2014.

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

YANG, Y.; ISMAN, M. B.; TAK, J. H. Insecticidal activity of 28 essential oils and a commercial product containing *Cinnamomum cassia* bark essential oil against *Sitophilus zeamais* Motschulsky. **Insects**, v. 11, n. 8, p. 474, 2020.

4 CAPÍTULO II

**DESEMPENHO POPULACIONAL DE *Sitophilus zeamais* (COLEOPTERA:
CURCULIONIDAE) SOB CONCENTRAÇÕES SUBLETAIS DO ÓLEO
ESSENCIAL DE *Piper aducum* L.**

RESUMO

Os óleos essenciais têm sido sugeridos como uma alternativa promissora aos inseticidas sintéticos. Informações acerca dos efeitos subletais dos inseticidas botânicos e sintéticos muitas vezes são negligenciados, pois, geralmente, os estudos são direcionados na toxicidade aguda em concentrações/doses letais dos produtos testados. Compreender os efeitos subletais é de fundamental importância, a fim de evitar falhas que comprometam o manejo de pragas de produtos armazenados. O presente estudo teve como objetivo, avaliar os efeitos subletais do óleo essencial de *Piper aduncum* (OEPA) sobre taxas instantâneas de crescimento (r_i) e desenvolvimento populacional de três populações brasileiras de *Sitophilus zeamais*. Utilizou-se três populações brasileiras de *S. zeamais*, Barbacena (MG), Jacarezinho (PR) e Plácido de Castro (AC), que foram expostas as concentrações subletais (0, 100, 200, 300, 400 e 500 $\mu\text{L Kg}^{-1}$) de OEPA em massa de grãos para os experimentos de r_i e taxa de desenvolvimento populacional. As taxas de desenvolvimento populacional foram determinadas através de curvas de emergência diária e número total de insetos emergidos e contabilizada em dias alternados no total de 70 dias. A r_i foram contabilizados aos 60 dias de armazenamento. A exposições subletais do OEPA reduziu a r_i e o desenvolvimento populacional dos insetos. A população de Jacarezinho (PR), apresentou maior número de insetos emergidos, e curvas de emergência diária similares da população padrão de susceptibilidade, Barbacena (MG). A população de Plácido de Castro (AC), apresentou reduzida r_i e taxa de desenvolvimento populacional tardia comparada as outras populações estudadas. Independente das população estudadas, as concentrações subletais em até 300 $\mu\text{L Kg}^{-1}$, (15%) de OEPA, reduziram em até 93,3% no número de insetos emergidos comparado ao controle.

Palavras-chave: Gorgulho-do-milho. Inseticidas botânicos. Demografia. Grãos-armazenados.

ABSTRACT

Essential oils have been proposed as a promising alternative to synthetic insecticides. Information about the sublethal effects of botanical and synthetic insecticides are often neglected, as studies are generally focused on acute toxicity at lethal concentrations/dose of the products tested. Understanding sublethal effects is of fundamental importance in order to avoid failures that compromise the management of stored product pests. The aim of this study was to evaluate the sublethal effects of *Piper aduncum* essential oil (EOPA) on instantaneous growth rates (r_i) and population development of three Brazilian populations of *Sitophilus zeamais*. Three Brazilian populations of *S. zeamais* were used, Barbacena (MG), Jacarezinho (PR) and Plácido de Castro (AC), which were exposed to sublethal concentrations (0, 100, 200, 300, 400 and 500 $\mu\text{L Kg}^{-1}$) of EOPA in grain mass for the experiments of r_i and rate of population development. Population development rates were determined through daily emergence curves and the total number of emerged insects and counted on alternate days for a total of 70 days. The r_i were counted after 60 days of storage. Sublethal exposures to EOPA reduced insect r_i and population development. The population from Jacarezinho (PR), presented a higher number of emerged insects, and similar daily emergence curves from the standard susceptibility population, Barbacena (MG). The population from Plácido de Castro (AC) showed reduced r_i and late population development rate compared to the other populations studied. Regardless of the population studied, sublethal concentrations of up to 300 $\mu\text{L Kg}^{-1}$ (15%) of EOPA reduced the number of emerged insects by up to 93.3% compared to the control.

Keywords: Maize weevil. Botanical insecticides. Demography. Stored grains.

4.1 INTRODUÇÃO

O gorgulho-do-milho, *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae) está entre as principais pragas comumente encontradas em todas as unidades armazenadoras do Brasil (GUEDES et al., 2011). Os inseticidas sintéticos, como piretróides, organofosforados e fumigantes de fosfina, são amplamente utilizados no controle de pragas (SOUSA et al., 2008; PIMENTEL et al., 2012). No entanto, o uso repetido desses produtos tem causado efeitos prejudiciais em organismos não-alvo e no meio ambiente, além da ocorrência de altos níveis de resistência. Diante disso, a busca por tecnologias alternativas, como o uso de agentes botânicos, torna-se uma opção promissora para o controle de pragas em armazenamento (RIBEIRO et al., 2003; FAGROSO et al., 2005; GUEDES et al., 2006).

Os produtos à base de plantas, incluindo extratos vegetais, compostos fitoquímicos e óleos essenciais, são considerados alternativas viáveis para o controle de pragas em produtos armazenados (HADDI et al., 2020; JUMBO et al., 2022). Por serem biodegradáveis e menor risco aos aplicadores comparados aos sintéticos (RAJERDRAN; SRIRANJINI, 2008). Esses compostos são oriundos de metabólitos secundários das plantas com múltiplos modos de ação como, inseticidas, repelentes, inibidores de crescimento, antialimentar, ocasionando redução no desenvolvimento populacional dos organismos-alvos (KANDA et al., 2017; CAMPOLO et al., 2018).

Os óleos essenciais (OEs) são complexos de terpenos aromáticos obtidas das plantas, geralmente extraídas por via hidrodestilação ou arraste à vapor de água, amplamente utilizadas na indústrias farmacêuticas, além de demonstrarem diversas propriedades fungicidas, bactericidas e inseticidas (ISMAN, 2006; REGNAULT-ROGER et al., 2012; CAMPOLO et al., 2018). Esse subproduto é considerado como uma ferramenta importante de estratégia alternativa para o manejo sustentável, possuindo atividade reguladora de crescimento de insetos-pragas de grãos armazenados (SUTHISUT et al., 2011; ISMAN; GRIENEISEN, 2014; CORREA et al., 2015; FARAONE et al., 2015; SOUZA et al., 2018).

Espécies de piperáceas da Amazônia são fontes naturais de substâncias com bioatividade aplicadas na medicina popular, inseticidas e antimicrobianas. A pimenta-de-macaco, *Piper aduncum* (L.), arbusto distribuído na América do Sul e predominante na região Amazônica, excelente produtora e OE rico em dilapiol, fenilpropanóide abundante

dessa espécie (ESTRELA et al., 2006; DUROFIL et al., 2021). Estudos com o óleo essencial de *P. aduncum* (OEPA), evidenciam os efeitos inseticidas sobre insetos-pragas de grãos armazenados como *S. zeamais* (ESTRELA et al., 2006; MARTINEZ et al., 2013); *Tribolium castaneum* (JAMARILLO-COLORADO et al., 2015); *Callosobruchus maculatus* (OLIVEIRA et al., 2017), *Tenebrio molitor* (FAZOLIN et al., 2007).

Apesar de trabalhos realizados com a investigação do potencial inseticida dessa espécie por meio de vias de aplicação (contato, ingestão e fumigação) em insetos-pragas, estudos que exploram os efeitos subletais dos inseticidas botânicos e/ou sintéticos raramente são focos explorados, pois, a maioria das investigações são destinadas apenas na efeitos letais de toxicidade (GUEDES et al., 2011; CORREA et al., 2015; CUTLER; GUEDES, 2017). Algumas lacunas que consideram a potencialidade de base populacional do insetos-pragas em observâncias do tempo e espaço sobre efeito de concentrações subletais devem ser investigadas (GUEDES et al., 2017). Dessa forma, estudar o comportamento populacional expostos subletalmente a inseticidas botânicos é de fundamental importância, a fim de evitar falhas futuras no surgimento de resistência em populações e surtos de pragas secundárias que comprometam o manejo de pragas de produtos armazenados (CUTLER; GUEDES, 2017).

O objetivo deste estudo foi investigar os efeitos subletais do OEPA nas taxas instantâneas de crescimento (r_i) e no desenvolvimento populacional de três populações de *S. zeamais* no Brasil.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

A extração o OEPA foi conduzido no Laboratório de Produtos Naturais da Fundação de Tecnologia do Estado do Acre - FUNTAC e os bioensaios de taxa instantânea de crescimento e desenvolvimento populacional foram realizados no laboratório de Manejo Integrado de Pragas da Universidade Federal do Acre - campus Rio Branco.

4.2.1 Populações de *Sitophilus zeamais*

Três populações brasileiras de *S. zeamais* coletadas nos municípios de Barbacena, MG; Jacarezinho, PR e Plácido de Castro, AC. A seleção dessas populações foram utilizadas de acordo com os ensaios toxicológicos do OEPA, no qual a população Barbacena (MG), foi a padrão de suscetibilidade, e populações de Jacarezinho (PR) e Plácido de Castro (AC), foram as que apresentaram maiores CL₅₀, de acordo com os ensaios toxicológicos com OEPA

Os insetos foram criados em frascos de vidro de (1,5 L), fechados com tampas plásticas perfuradas e revestidas internamente com o tecido de organza para permitir suas trocas gasosas, sob temperatura constante (27±2 °C), umidade relativa (70±5%) e escotofase (24 h). Utilizou-se como substrato alimentar, grãos de milho com teor de água de 13% em base úmida (bu), previamente fumigados com fosfina (PH₃) e mantidos a -18 °C para evitar reinfestação conforme a metodologia adaptada por Sousa et al. (2009).

4.2.2 Obtenção e extração do óleo essencial

Plantas adultas silvestre de *P. aduncum* foram obtidas no Campus da UFAC, no município de Rio Branco, Acre, nas coordenadas geográficas: 9° 57' 29" (S) e 67° 48' 36" (W). A coleta do material vegetal foi realizada no período da manhã durante o mês de agosto de 2021. Inicialmente, realizou-se apenas uma coleta as amostras botânicas foram coletadas a partir de 0,4 m do solo, posteriormente secas em estufa a 45 °C até atingir 30% de umidade. Após a secagem o material botânico foi armazenado em sacos plásticos para serem submetidos a extração do óleo essencial. A exsicata de *P. aduncum* foi depositada no Herbário UFACPZ da Universidade Federal do Acre, sob o número de registro: UFACPZ 20.646. A

espécie foi identificada pela Dra. Elsie Franklin Guimarães, do Herbário do Jardim Botânico do Rio de Janeiro (Herbário RB).

Para a extração do óleo essencial (OE), utilizou-se a técnica por hidrodestilação ou arraste de vapor de água, onde utilizou-se uma manta térmica aquecedora para alocação do balão volumétrico juntamente com aparelho tipo Clevenger, conectado ao sistema de refrigeração para então, realizar sistema de extração. Para cada extração, utilizou-se 150 g da biomassa seca inseridas em um balão volumétrico de 5 L com auxílio de funil e aferido com água destilada. Logo em seguida, foi ligada a manta térmica e regulada a temperatura de ebulição aproximadamente 120 °C, a extração do OE foi de 240 minutos. Após o processo de ebulição e condensação do OE na extração, o mesmo foi coletado com Erlenmeyer para o processo de decantação e separação do óleo essencial e o hidrolato (SOUSA et al., 2014).

O OE foi separado do hidrolato por um funil de separação obtida por decantação acoplado ao suporte universal, e a secagem com o uso de sulfato de sódio anidro. As amostras contidas com OE foram armazenadas em frascos do tipo âmbar e mantido sob refrigeração em câmara do tipo B.O.D. a 4 °C.

4.2.3 Taxa de desenvolvimento populacional

Foram utilizados insetos adultos não-sexados de três populações de *S. zeamais* (Barbacena-MG, Jacarezinho-PR e Plácido de Castro-AC) com idade variando de 01 a 15 dias. Os bioensaios foram realizados em frascos plásticos com capacidade de 1,0 L contendo 200 g de milho, com teor de umidade de 13% (bu), expostos as concentrações subletais de OEPA (5,10,15, 20 e 25%) que corresponde aos volumes da calda (100, 200, 300, 400 e 500 µL Kg⁻¹). O controle foi constituído por acetona. O OEPA e a acetona foram pulverizados na massa de grãos através de um aerógrafo de dupla ação, com sistema de mistura interna. A pressão de trabalho utilizada na pulverização foi de 15 Psi e o volume de calda aplicado foi de 400 µL para cada 200 g de milho, que corresponde a 2 L t⁻¹ (recomendação de volume de calda para inseticidas comerciais) conforme Ferraz (2018).

Os grãos foram infestados com 50 insetos adultos não-sexados das três populações. Posteriormente, os frascos foram armazenados em câmaras climáticas tipo B.O.D. sob condições constantes de temperatura (27±2 °C), umidade relativa (70±5%) e escotofase de 24 h. Aos 13 dias, os insetos foram removidos dos frascos, conforme o método descrito por Trematerra et al. (1996). Quatro repetições foram

utilizadas para cada população. A progênie adulta obtida no substrato de alimentação foi contabilizada e removida em dias alternados a partir da primeiro dia de emergência.

Foram analisados os dados de emergência diária tomando-se apenas os dados de avaliação da emergência de insetos em dias alternados, devido a influência dos tempos de amostragem (TREMATERRA et al., 1996; SOUSA et al., 2009). Adicionalmente, o total de insetos emergidos foi contabilizado das três populações expostas as concentrações ao OEPA e o controle (Figura 3).

Figura 3 - (A) Bioensaios com a utilização do aérografo de ação dupla para aplicação do óleo essencial no grão. (B) Aplicação da cauda sobre os grãos (C) Bioensaios da taxa de desenvolvimento populacional e taxa instantânea de crescimento (r_i) de três populações brasileiras de *Sitophilus zeamais*.



4.2.4 Efeitos subletais do OEPA sobre taxa instantânea de crescimento populacional (r_i)

Os bioensaios para taxa instantânea de crescimento populacional (r_i) foram realizados nas mesmas condições dos bioensaios do desenvolvimento populacional (subseção 4.2.3). Porém, nestes bioensaios, os insetos das três populações estudadas não foram removidos. Foram utilizadas quatro repetições para cada tratamento. A progênie adulta foi contabilizada após 60 dias de armazenamento (Figura 3).

A taxa instantânea de crescimento (r_i) foi calculada por meio da equação proposta por Walthall e Stark (1997) (Equação 1), utilizado-se o total de insetos obtidos ao final do armazenamento (60 dias) e o número inicial de insetos de cada população.

$$r_i = \frac{\left[\ln \left(\frac{N_f}{N_0} \right) \right]}{\Delta T} \quad (\text{Equação 1})$$

Em que N_f = Número final de insetos; N_0 = Número inicial de insetos; e ΔT = Variação de tempo (número de dias em que o ensaio foi executado).

4.2.5 Análise estatística

O delineamento foi inteiramente ao acaso, em esquema fatorial 3 x 6, três populações, cinco concentrações de OEPA e o controle. Os dados de r_i e total de insetos emergidos foram submetidos à análise de variância (PROC GLM; SAS Institute 2011), para estudar os efeitos das concentrações subletais ao OEPA em diferentes populações. Dada a interação dos fatores, os dados de r_i e total de insetos emergidos foram submetidos à análise de regressão em função da concentração do OEPA. Realizou-se comparação de médias entre as populações (TUKEY, 1949).

Para os dados de emergência diária foram submetidos a análises de regressões não-lineares, utilizando o procedimento de ajustes de curvas do software SigmaPlot, versão 13.1 (Systat Software, Inc., San Jose, CA, EUA).

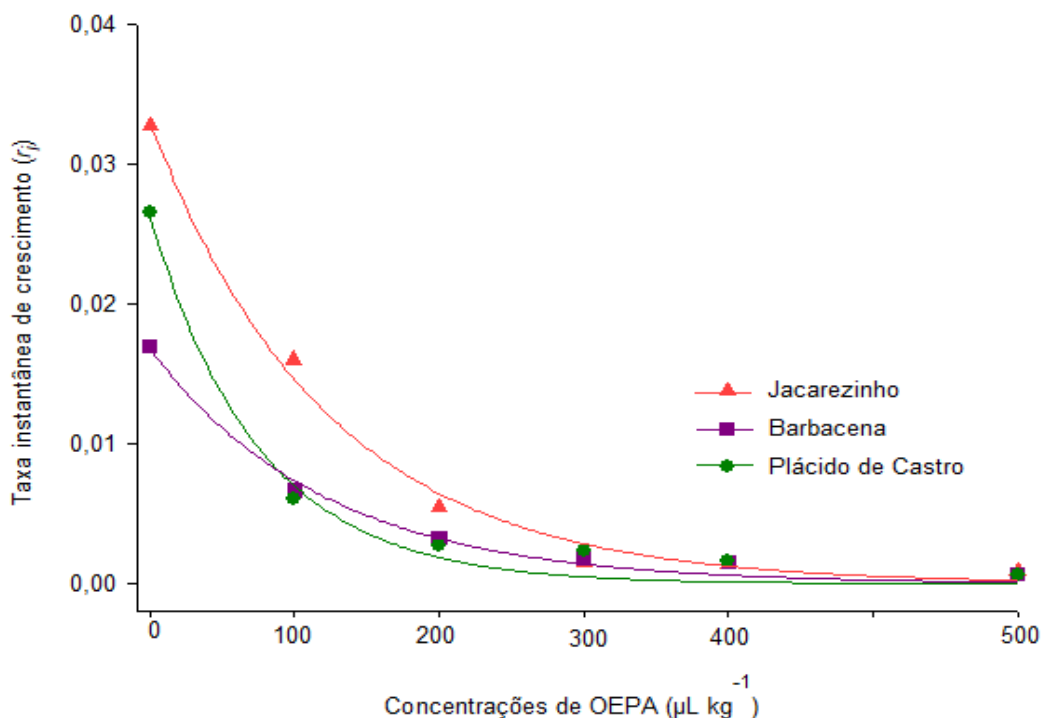
4.3 RESULTADOS

4.3.1 Efeitos subletais do óleo essencial de *Piper aduncum* OEPA sobre taxa instantânea de crescimento populacional (r_i)

Com relação a taxa instantânea de crescimento populacional de *S. zeamais* em milho tratados com óleo essencial do OEPA, houve efeito significativo para as populações ($F_{2,54} = 54,28$; $P \leq 0,0001$), concentrações ($F_{5,54} = 456,83$; $P \leq 0,0001$) e sua interação ($F_{10,54} = 21,68$; $P \leq 0,0001$). Estes resultados evidenciam que as populações expostas as concentrações OEPA reduziu a taxa instantânea de crescimento, sendo, portanto, o evento estudado por meio de análise de regressão.

O modelo exponencial de decaimento de dois parâmetros ($y = a \exp(-bx)$) foi o que melhor se ajustou para dados de r_i em função das concentrações do OEPA, para as três populações estudadas (Figura 4). Embora as populações apresentaram redução da r_i conforme o aumento das concentrações de OEPA, observa-se que a r_i das populações diferiram entre si até a concentração de $200 \mu\text{L kg}^{-1}$ (10%) do OEPA, e a população de Jacarezinho (PR), que apresentou r_i superior as outras populações. A partir das maiores concentrações houve redução da r_i de forma homogênea.

Figura 4 - Taxa instantânea de crescimento populacional (r_i) de três populações de *Sitophilus zeamais* em função das concentrações de OEPA.



4.3.2 Taxas de desenvolvimento populacional

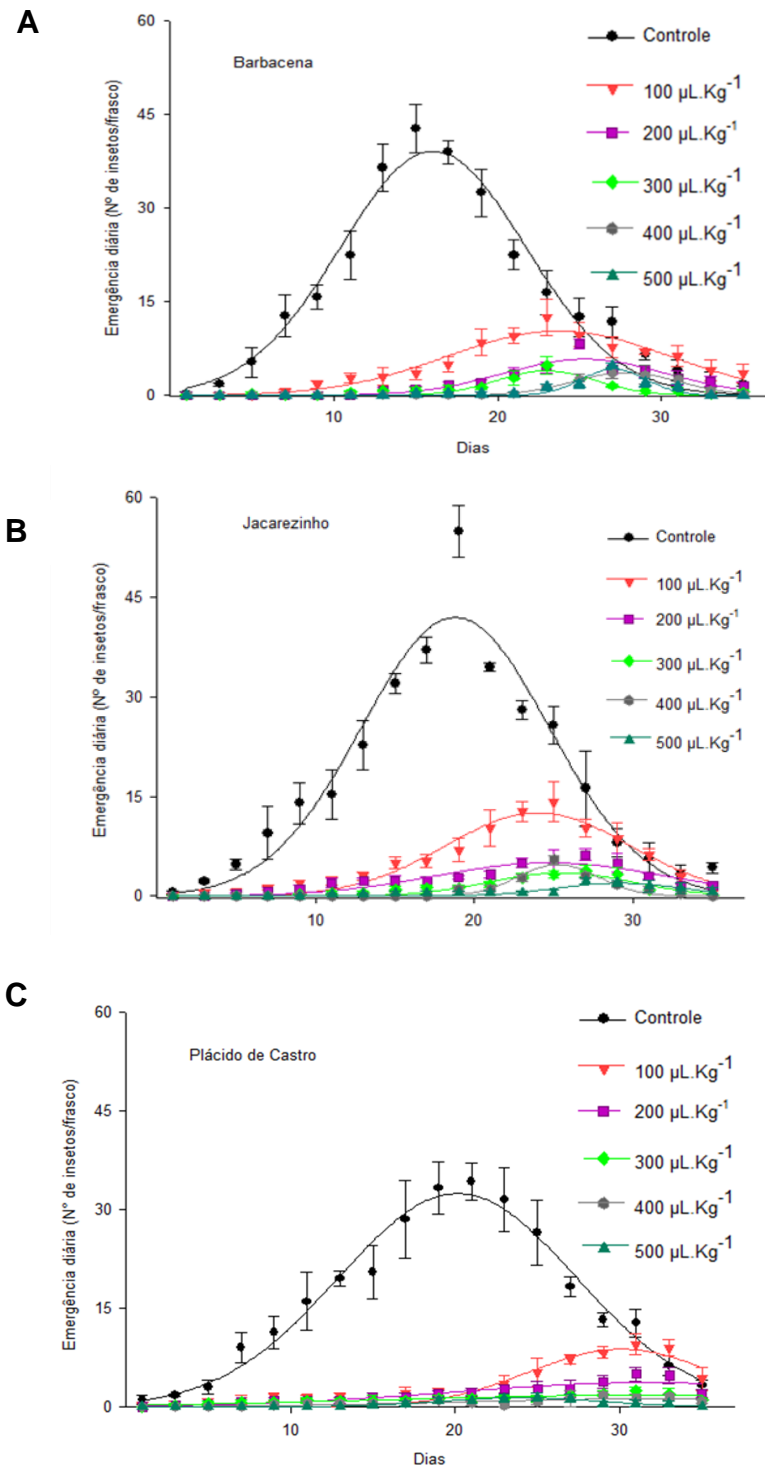
As curvas de regressão da emergência diária mostram valores distintos para as taxas de desenvolvimento populacional das três populações estudadas expostas OEPA. A exposição da massa de grãos de milho em todas concentrações do óleo essencial retardou o pico de emergência de adultos *S. zeamais* (Figura 5). O modelo gaussiano de pico com três parâmetros $f=a^{\exp(-0,5((x-b)/c)^2)}$ foi o que melhor se ajustou a emergência diária das populações de *S. zeamais*. E os valores dos parâmetros estimados variaram em função das concentrações dos óleos essenciais utilizados (Tabela 5).

Nos primeiros dias, a emergência diária das populações estudadas no tratamento controle foram semelhantes (Figura 5). As curvas de emergência diária máxima das populações de Barbacena (MG), e Jacarezinho (PR), apresentaram semelhança. Essas populações necessitaram de 16 a 18 dias para atingirem o pico máximo de emergência no tratamento controle, respectivamente (Figuras 5.A, 5.B; Tabela 5). Já a população de Plácido de Castro (AC), apresentou pico máximo em maior tempo, 21 dias após a início da emergência (Figura 5.C; Tabela 5).

Foi observado diferenças nas curvas de emergência diária de populações de *S. zeamais* expostos nas diferentes concentrações do OEPA (Figura 5). As concentrações de 100 e 200 $\mu\text{L Kg}^{-1}$, retardou a emergência inicial entre 7 a 9 dias para as populações estudadas. Concentrações de 300, 400 e 500 $\mu\text{L Kg}^{-1}$ do OEPA, retardaram a emergência diária e praticamente aboliram o surgimento dos gorguinhos (≤ 5 insetos/dia) independente das populações estudadas. De modo geral, as curvas de emergência diária máxima das populações de Barbacena e Jacarezinho expostas as concentrações óleo essencial foram alcançadas no 23^o ao 27^o dia, com exceção da concentração de 500 $\mu\text{L Kg}^{-1}$ (25% de OEPA), população de Plácido de Castro apresentou emergência máxima diária tardia do 30^o até o 33^o dia de avaliação.

Acrescenta-se ainda, mesmo não havendo sobreposição das curvas de emergência diária em relação ao controle. Observa-se que os tratamentos expostos ao OEPA, além de retardar a emergência dos insetos adultos, houve o surgimento de emergência diária tardia nos últimos dias alternados para as três populações estudadas.

Figura 5 – Emergência diária de três populações de *Sitophilus zeamais* não expostas (controle), e expostas a concentrações de OEPA. (A) Barbacena, MG; (B) Jacarezinho, PR e (C) Plácido de Castro, AC.



Os símbolos representam as médias de quatro repetições. As barras de erro representam o erro padrão da média.

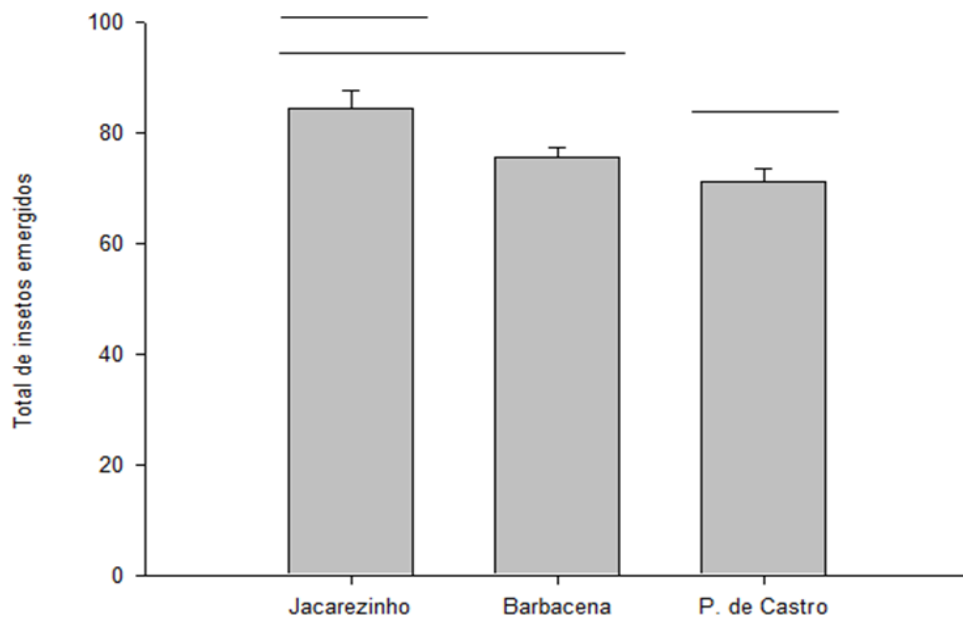
Tabela 5 – Sumário das análises de regressão não-lineares das curvas de desenvolvimento populacional de *S. zeamais*.

Variável (Figura 5)	Modelo	População	Tratamento ($\mu\text{L Kg}^{-1}$)	Parâmetros estimados (\pm E. P. M.)			G. I. erro	F	R ²
				a	b	c			
Emergência diária (Figura 5)	$f=a \exp(-0,5((x-b)/c)^2)$	Barbacena	Controle	39,12 \pm 1,65	16,05 \pm 0,28	5,66 \pm 0,28	15	170,35	0,98
			100	10,30 \pm 0,48	23,72 \pm 0,37	6,78 \pm 0,39	15	129,49	0,97
			200	5,78 \pm 0,49	25,30 \pm 0,49	4,93 \pm 0,49	15	53,58	0,94
			300	3,91 \pm 0,37	22,95 \pm 0,33	2,99 \pm 0,33	15	45,39	0,93
			400	3,64 \pm 0,10	27,81 \pm 0,10	3,19 \pm 0,10	15	1053,78	0,99
			500	4,20 \pm 0,37	27,08 \pm 0,20	1,96 \pm 0,20	15	71,66	0,95
		P. de Castro	Controle	32,43 \pm 0,97	20,75 \pm 0,25	7,22 \pm 0,25	15	260,32	0,99
			100	8,76 \pm 0,64	30,08 \pm 0,60	5,56 \pm 0,66	15	60,00	0,94
			200	3,68 \pm 0,30	31,80 \pm 3,24	11,98 \pm 2,52	15	34,26	0,90
			300	1,76 \pm 0,15	31,38 \pm 4,66	15,74 \pm 3,72	15	22,22	0,87
			400	1,22 \pm 0,15	32,40 \pm 5,04	11,93 \pm 3,78	15	17,91	0,84
			500	1,38 \pm 0,08	23,93 \pm 0,33	4,85 \pm 0,33	15	115,40	0,97
		Jacarezinho	Controle	41,99 \pm 2,36	18,78 \pm 0,38	5,89 \pm 0,38	15	92,34	0,96
			100	12,54 \pm 0,59	23,99 \pm 0,32	5,79 \pm 0,32	15	133,46	0,97
			200	5,03 \pm 0,40	24,76 \pm 0,68	7,20 \pm 0,75	15	39,25	0,92
			300	3,50 \pm 0,28	25,44 \pm 0,42	4,48 \pm 0,42	15	58,44	0,94
			400	4,75 \pm 0,33	25,23 \pm 0,20	2,53 \pm 0,20	15	109,53	0,97
			500	1,96 \pm 0,22	29,14 \pm 0,52	3,97 \pm 0,56	15	28,97	0,89

* Todos os parâmetros estimados foram significativos a $P < 0,05$ pelo teste t de Student. Todos os modelos foram significativos a $P < 0,05$ pelo teste F de Fisher. Os parâmetros caracterizam diferentes atributos da curva, onde a é o valor máximo da variável dependente, b é o valor do pico máximo do eixo e c é a assimetria (taxa de mudança) da resposta em função do tempo. Valores dos parâmetros com base da não sobreposição de limites de confiança foram significativamente diferentes entre si.

Observou-se o efeito para o número total de insetos emergidos entre as populações de *S. zeamais* ($F_{2;54}=4,93$; $P<0,01$), e nas concentrações de OEPA ($F_{5,54} = 683,912$; $P\leq 0,0001$). Não houve interação entre os fatores estudados ($F_{10,54} = 1,34$; $P= 0,23$). A população de Jacarezinho (PR), apresentou maior número total de insetos emergidos ($84,25\pm 3,29$) quando comparado a população de Plácido de Castro (AC) ($71,08\pm 2,27$), e Barbacena (MG) não apresentou diferença ($75,54\pm 1,85$) entre as populações de *S. zeamais* (Figura 6).

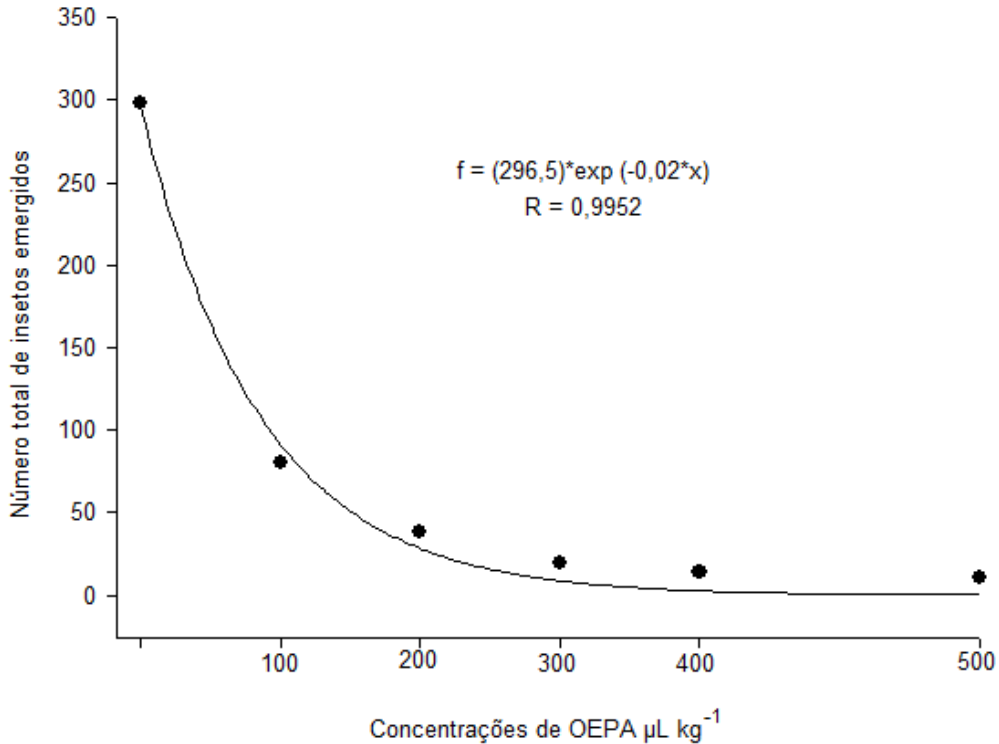
Figura 6 – Total de insetos emergidos de três populações de *S. zeamais*.



Médias com barras na mesma altura não diferem entre as populações pelo teste de Tukey ($P>0,05$) e os traços indicam diferença significativa entre a população exposta e não exposta ao OEPA pelo teste F ($P<0,05$).

As concentrações estudadas do OEPA para número total durante os 70 dias de armazenamento foi explicado por diferentes modelos matemáticos de regressão ajustados (Tabela 6). O modelo ajustado foi o exponencial de decaimento de dois parâmetros $y = a^{exp}(bx)$ com os valores de R^2 de 0,9905; RQEM de 3,9443 e P de 0,0001. Verificou-se que o número total de insetos emergidos reduziu com incremento das concentrações do OEPA. Com a concentração de até $300 \mu\text{L Kg}^{-1}$ (15%) de OEPA, e redução de 93,3% no número de insetos emergidos comparado ao controle (Figura 7).

Figura 7 – Total de insetos emergidos de *S. zeamais* não expostas (controle), e expostas as concentrações de OEPA.



Médias com barras na mesma altura não diferem entre as populações pelo teste de Tukey ($P > 0,05$) e os asteriscos indicam diferença significativa entre a população exposta e não exposta ao OEPA pelo teste F ($P < 0,05$).

Tabela 6 – Modelos matemáticos ajustados para o número total de insetos emergidos das populações de *S. zeamais* aos 70 dias de armazenamento.

Tratamento	Modelo	Equação	R ²	RQEM	P
Contato	Linear	$y = -0,6395x + 179,28$	0,74	9,134	0,0905
	Quadrático	$y = 257,11 + (-2,1961x) + 0,0043x^2$	0,94	7,069	0,0418
	Cúbico	$y = 290,46 + (-4,19x) + 0,02x^2 + (-2,8587e-5x^3)$	0,99	4,9273	0,0283
	Exponencial	$y = 296,496^{\exp(-0,02x)}$	0,99	3,4943	0,0001

4.4 DISCUSSÃO

A taxa instantânea de crescimento (r_i) mostrou diferença significativa entre as concentrações testadas com o OEPA. O aumento das concentrações, a r_i decresceu, o que indica que as populações diminuíram até a extinção da sua prole. Esses resultados estão em linha com estudos anteriores que investigaram óleos essenciais de cravo e canela, e observaram uma redução exponencial na taxa instantânea de crescimento das populações de *S. zeamais* à medida que as doses letais desses óleos aumentaram (CORREA et al., 2015).

Magalhães et al. (2015), investigaram o potencial inseticida de óleos essenciais de algumas espécies de plantas, observaram que, os óleos essenciais de *Croton pulegioides* Baill, *C. heliotropiifolius* Kunth (Euphorbiaceae), *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae) ocasionaram 100% de redução de emergência de insetos e consequentemente reduziu a taxa instantânea de crescimento (r_i), em adultos de *T. castaneum*, apresentando efeito ovicida/larvicida, indicando que os mesmos podem reduzir o número de gerações desse inseto-praga. Neste sentido, a toxicidade do OEPA pode ter atuado sobre os ovos e larvas e nos adultos de *S. zeamais*, reduzindo a população desse inseto.

As concentrações subletais do OEPA tiveram um efeito negativo nas taxas de desenvolvimento populacional e no número total de insetos emergidos em comparação com o grupo controle. Isso foi observado nas populações de *S. zeamais* estudadas. A análise estatística dos dados foi facilitada pela medição diária da emergência, o que aumentou a confiabilidade dos resultados. Esses parâmetros são importantes para descrever e simular o comportamento dos indivíduos e populações em diferentes condições experimentais (Trematerra et al., 1996).

Efeitos negativos da exposição subletal dos OEs nos padrões biológicos dos insetos-praga de grãos armazenados têm sido amplamente relatados na literatura científica. Esses efeitos incluem ação inseticida, repelente e antialimentar dos OEs (FREITAS et al., 2016; SOUZA et al., 2018; PLATA-RUEDA et al., 2020; BARBOSA et al., 2021). Além da toxicidade dos OEs, eles também podem afetar outros estágios imaturos do desenvolvimento dos insetos, resultando em redução no desenvolvimento populacional (SOUZA et al., 2018).

A população resistente de Jacarezinho (PR), que já apresentava resistência comprovada a piretróides, demonstrou uma performance demográfica semelhante à

população suscetível de Barbacena (MG). No entanto, a população de Plácido de Castro (AC) exibiu uma redução no crescimento populacional e um desenvolvimento tardio quando exposta às concentrações do OEPA. Esse padrão de comportamento foi relatado por Fragoso et al. (2005) e está relacionado ao tamanho corporal dessas populações. A população de Jacarezinho, por ser maior em tamanho, é capaz de acumular reservas de energia, o que contribui para sua proteção contra inseticidas e para seus padrões reprodutivos. Essa pode ser uma das hipóteses mais aceitas para a origem da resistência nessa população.

Outra possível explicação é que o OEPA, assim como outros óleos essenciais, possui efeitos inibitórios sobre mecanismos enzimáticos, o que resulta na mortalidade das fases mais jovens (ovos e larvas) da prole dos insetos (FARAONE et al., 2015; MAGALHÃES et al., 2015; CAMPOLO et al., 2018). Como consequência, observou-se uma redução nas taxas de emergência diárias e no número total de insetos emergidos.

As populações de Jacarezinho (PR) e Plácido de Castro (AC) apresentaram emergências de insetos mais tardias em comparação com a população de Barbacena (MG). Esses resultados indicam a presença de potenciais custos adaptativos associados à mitigação de futuras resistências ao inseticida botânico, semelhante ao observado em populações resistentes a piretróides (OLIVEIRA et al., 2005; GUEDES et al., 2006) e ao fosfina (SOUSA et al., 2009).

Esses custos adaptativos resultam em um desequilíbrio energético, levando à realocação das reservas de energia de processos fisiológicos, como desenvolvimento e reprodução, para a proteção contra inseticidas (GUEDES et al., 2006; SOUSA et al., 2009). Embora não tenham sido abordados em detalhes, é importante destacar que a população de Barbacena, MG (população padrão de susceptibilidade), apresentou taxas instantâneas de crescimento, emergências diárias e total de insetos emergidos semelhantes a Jacarezinho e ligeiramente superiores a Plácido de Castro quando expostas a concentrações menores do OEPA.

As concentrações acima de 10% de OEPA (200 $\mu\text{L Kg}^{-1}$) reduziram aproximadamente 90% do número total de insetos emergidos. O OEPA demonstra ser uma alternativa viável não apenas para o controle de *S. zeamais*, mas também para outras pragas de armazenamento, o que permite sua inclusão em estratégias de minimização do desenvolvimento de resistência a pesticidas sintéticos. É importante destacar que o uso de diferentes produtos fitossanitários, para os quais os insetos não apresentam resistência cruzada, pode contribuir para retardar o surgimento de genes de

resistência. Dessa forma, a rotação de inseticidas pode reduzir possíveis vantagens adaptativas e tornar os insetos mais suscetíveis (SOUZA et al., 2018).

Acrescenta-se ainda que o OEPA contém compostos que atuam de forma sinérgica, devido aos seus constituintes voláteis, como monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanoides, que possuem múltiplos modos de ação sobre os insetos (PACHECO et al., 2016). Dessa forma, o OEPA é sugerido como um possível candidato promissor para o desenvolvimento de bioformulações que potencializem a ação de inseticidas sintéticos, contribuindo significativamente para a redução do desenvolvimento de resistência cruzada. No entanto, é importante ressaltar que o uso indiscriminado de qualquer inseticida botânico deve ser evitado, uma vez que alguns óleos essenciais, mesmo sendo biodegradáveis, podem apresentar efeitos nocivos em organismos não-alvo (SUTHISUT et al. 2011). Portanto, mesmo com resultados promissores neste estudo, é essencial não negligenciar os possíveis riscos associados ao uso incorreto do OEPA e de qualquer outro bioinseticida.

O uso do OEPA possui atividade bioinseticida em populações brasileiras de *S. zeamais*, mesmo em concentrações subletais foram capazes de retardar e reduzir a r_i e as taxas de desenvolvimento populacional de indivíduos.

4.5 CONCLUSÕES

A exposição subletal ao óleo essencial de *P. aduncum* diminui as taxas de crescimento nas três populações estudadas.

Concentrações acima de 200 $\mu\text{L Kg}^{-1}$ de OEPA reduzem a taxa de crescimento de forma igual nas três populações de *S. zeamais*.

A população de Plácido de Castro tem uma taxa de crescimento menor e desenvolvimento mais lento quando exposta ao OEPA.

A concentração de até 300 $\mu\text{L Kg}^{-1}$ de OEPA reduz em até 93,3% o número de insetos emergidos em comparação com o controle.

REFERÊNCIAS

- BARBOSA, D. R. E. S.; de OLIVEIRA, J. V.; da SILVA, P. H. S.; SANTANA, M. F.; BREDA, M. O.; de FRANÇA, S. M.; de MIRANDA, V. L. Lethal and sublethal effects of chemical constituents from essential oils on *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae) in cowpea stored grains. **Journal of Plant Diseases and Protection**, v. 128, p. 1575-1586, 2021.
- CAMPOLO, O.; GIUNTI, G.; RUSSO, A.; PALMERI, V.; ZAPPALÀ, L. Essential oils in stored product insect pest control. **Journal of Food Quality**, v. 2018, p. 1-18, 2018.
- CORREA, Y. D. C. G.; FARONI, L. R.; HADDI, K.; OLIVEIRA, E. E.; PEREIRA, E. J. G. Locomotory and physiological responses induced by clove and cinnamon essential oils in the maize weevil *Sitophilus zeamais*. **Pesticide biochemistry and physiology**, v. 125, p. 31-37, 2015.
- CUTLER, G. C.; GUEDES, R. N. C. Occurrence and significance of insecticide-induced hormesis in insects. In: Pesticide dose: Effects on the environment and target and non-target organisms. **American Chemical Society**, p. 101-119, 2017.
- DUROFIL, A.; RADICE, M.; BLANCO-SALAS, J.; RUIZ-TÉLLEZ, T. *Piper aduncum* essential oil: a promising insecticide, acaricide and antiparasitic. A review. **Parasite**, v. 28, 2021.
- ESTRELA, J. L. V.; FAZOLIN, M.; CATANI, V.; ALÉCIO, M. R.; LIMA, M. S. D. Toxicidade de óleos essenciais de *Piper aduncum* e *Piper hispidinervum* em *Sitophilus zeamais*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, p. 217-222, 2006.
- FARAONE, N.; HILLIER, N. K.; CUTLER, G. C. Plant essential oils synergize and antagonize toxicity of different conventional insecticides against *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae). **PloS one**, v. 10, n. 5, p. e0127774, 2015.
- FAZOLIN, M.; ESTRELA, J. L. V.; CATANI, V.; ALÉCIO, M. R.; LIMA, M. S. D. Propriedade inseticida dos óleos essenciais de *Piper hispidinervum* C. DC.; *Piper aduncum* L. e *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. & K. Shum sobre *Tenebrio molitor* L., 1758. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, p. 113-120, 2007.
- FERRAZ, M. S. S. **Potencial inseticida do óleo essencial de *Piper hispidinervum* sobre *Callosobruchus maculatus* e qualidade de feijão-caupi**. 2018. 80 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Viçosa, MG, 2018.
- FRAGOSO, DANIEL B.; GUEDES, R. N. C.; PETERNELLI, L. A. Developmental rates and population growth of insecticide-resistant and susceptible populations of *Sitophilus zeamais*. **Journal of Stored Products Research**, v. 41, n. 3, p. 271-281, 2005.
- FREITAS, R. S.; FARONI, L. R. A.; SOUSA, A. H. Hermetic storage for control of common bean weevil, *Acanthoscelides obtectus* (Say). **Journal of Stored Products Research**, v. 66, n. 2, p. 1-5, 2016.
- GUEDES, R. N. C.; GUEDES, N. M. P.; ROSI-DENADAI, C. A. Sub-lethal effects of insecticides on stored-product insects: current knowledge and future needs. **Stewart Postharvest Review**, v. 7, p. 1-5, 2011.
- GUEDES, R. N. C.; LIMA, J. O. G.; SANTOS, J. P.; CRUZ, C. D. Resistance to DDT and pyrethroids in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 31, n. 2, p. 145-150, 1995.

GUEDES, R. N. C.; OLIVEIRA, E. E.; GUEDES, N. M. P.; RIBEIRO, B.; SERRAO, J. E. Cost and mitigation of insecticide resistance in the maize weevil, *Sitophilus zeamais*. **Physiological Entomology**, v. 31, n. 1, p. 30-38, 2006.

GUEDES, R. N. C.; WALSE, S. S.; THRONE, J. E. Sublethal exposure, insecticide resistance, and community stress. **Current opinion in insect science**, v. 21, p. 47-53, 2017.

HADDI, K.; TURCHEN, L. M.; VITERI JUMBO, L. O.; GUEDES, R. N.; PEREIRA, E. J.; AGUIAR, R. W.; OLIVEIRA, E. E. Rethinking biorational insecticides for pest management: unintended effects and consequences. **Pest management science**, v. 76, n. 7, p. 2286-2293, 2020.

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

ISMAN, M. B.; GRIENEISEN, M. L. Botanical insecticide research: many publications, limited useful data. **Trends in plant science**, v. 19, n. 3, p. 140-145, 2014.

JARAMILLO-COLORADO, B. E.; DUARTE-RESTREPO, E.; PINO-BENÍTEZ, Nayive. Evaluación de la actividad repelente de aceites esenciales de plantas Piperáceas del departamento de Chocó, Colombia. **Revista de toxicología**, v. 32, n. 2, p. 112-116, 2015.

JUMBO, L. O. V.; CORRÊA, M. J. M.; GOMES, J. M.; ARMIJOS, M. J. G.; VALAREZO, E.; MANTILLA-AFANADOR, J. G.; MACHADO, F. P.; ROCHA, L.; AGUIAR, R. W. S.; OLIVEIRA, E. E. Potential of *Bursera graveolens* essential oil for controlling bean weevil infestations: Toxicity, repellence, and action targets. **Industrial Crops and Products**, v. 178, p. 114611, 2022.

KANDA, D.; KAUR, S.; KOUL, O. A comparative study of monoterpenoids and phenylpropanoids from essential oils against stored grain insects: acute toxins or feeding deterrents. **Journal of Pest Science**, v. 90, n. 2, p. 531-545, 2017.

MAGALHÃES, C. R. I.; OLIVEIRA, C. R. F.; MATOS, C. H. C.; BRITO, S. S. S.; MAGALHÃES, T. A.; FERRAZ, M. S. S. Potencial inseticida de óleos essenciais sobre *Tribolium castaneum* em milho armazenado. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, p. 1150-1158, 2015.

MARTÍNEZ J. A, D'ANTONINO-FARONI L. R, SOTO, A. Porcentaje de perdida de masa en granos y efecto tóxico del aceite esencial *Piper aduncum* en *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). Boletín Científico. Centro de Museos. **Museo de Historia Natural**, v. 17, p. 81-90, 2013.

OLIVEIRA, E. E.; GUEDES, R. N.; CORRÊA, A. S.; DAMASCENO, B. L.; SANTOS, C. T. Pyrethroid resistance vs susceptibility in *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae): is there a winner?. **Neotropical Entomology**, v. 34, p. 981-990, 2005.

OLIVEIRA, J. V.; FRANÇA, S. M. D.; BARBOSA, D. R.; DUTRA, K. D. A.; ARAUJO, A. M. N. D.; NAVARRO, D. M. D. A. F. Fumigation and repellency of essential oils against *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae) in cowpea. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 52, p. 10-17, 2017.

PACHECO, F. V.; DE PAULA AVELAR, R.; ALVARENGA, I. C. A.; BERTOLUCCI, S. K. V.; DE ALVARENGA, A. A.; PINTO, J. E. B. P. Essential oil of monkey-pepper (*Piper*

aduncum L.) cultivated under different light environments. **Industrial Crops and Products**, v. 85, p. 251-257, 2016.

PLATA-RUEDA, A.; ROLIM, G. D. S.; WILCKEN, C. F.; ZANUNCIO, J. C.; SERRÃO, J. E.; MARTÍNEZ, L. C. Acute toxicity and sublethal effects of lemongrass essential oil and their components against the granary weevil, *Sitophilus granarius*. **Insects**, v. 11, n. 6, p. 379, 2020.

PIMENTEL, M. A. G.; FERREIRA, E. G. Toxicity of products formulated with entomopathogenic fungi on the maize weevil. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 11, n. 2, p. 209-215, 2012.

RAJENDRAN, S.; SRIRANJINI, V. Plant products as fumigants for stored-product insect control. **Journal of stored products Research**, v. 44, n. 2, p. 126-135, 2008.

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.

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

SAS Institute. **SAS/STAT User's Guide, version 9**. 3ed. Cary: Statistical Analysis System, 2011.

SOUSA, A. H.; FARONI, L. D. A.; GUEDES, R. N. C.; TÓTOLA, M. R.; URRUCHI, W. I. Ozone as a management alternative against phosphine-resistant insect pests of stored products. **Journal of Stored Products Research**, v. 44, n. 4, p. 379-385, 2008.

SOUSA, A. H.; FARONE, L. R. D'A.; PIMENTEL, M. A. G.; GUEDES, R. N. C. Developmental and population growth rates of phosphine-resistant and-susceptible populations of stored-product insect pests. **Journal of Stored Products Research**, v. 45, n. 4, p. 241-246, 2009.

SOUZA, L. P.; FARONI, L. R. D. A.; LOPES, L. M.; SOUSA, A. H.; PRATES, L. H. F. Toxicity and sublethal effects of allyl isothiocyanate to *Sitophilus zeamais* on population development and walking behavior. **Journal of pest science**, v. 91, n. 2, p. 761-770, 2018.

SUTHISUT, D.; FIELDS, P. G.; CHANDRAPATYA, A. Fumigant toxicity of essential oils from three Thai plants (Zingiberaceae) and their major compounds against *Sitophilus zeamais*, *Tribolium castaneum* and two parasitoids. **Journal of Stored Products Research**, (Online), v. 47, n. 5, p. 222-230, 2011.

TREMATERRA, P.; FONTANA, F.; MANCINI, M. Analysis of development rates of *Sitophilus oryzae* (L.) in five cereals of the genus *Triticum*. **Journal of Stored Products Research**, Amsterdam, v. 32, p. 315-322, 1996.

TUKEY, J. W. Comparing individual means in the analysis of variance. **Biometrics**, v. 5, p. 99-114, 1949.

WALTHALL, W. K.; STARK, J. D. Comparison of two population-level ecotoxicological endpoints: The intrinsic (r_m) and instantaneous (r_i) rates of increase. **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, v. 16, n. 5, p. 1068-1073, 1997.

5 CONCLUSÕES FINAIS

As populações brasileiras de *Sitophilus zeamais*, apresentam uniformidade de resposta ao óleo essencial de *Piper aduncum*, exceto a população de Jacarezinho, indicando uma possível resistência tanto ao OEPA quanto ao deltametrina.

A mistura binária OEPA x deltametrina está relacionado com uniformidade de resposta toxicológica em cinco populações brasileiras de *S. zeamais*

Os efeitos subletais do OEPA, promovem redução nas taxas de instantâneas de crescimento e desenvolvimento das três populações investigadas, e concentrações de até 300 $\mu\text{L Kg}^{-1}$ (15%) do OEPA são capazes de reduzir em até 93% do número total de insetos emergidos.