

GABRIELA DA SILVA TAMWING



**BIOATIVIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Piper aduncum* L. SOBRE
INSETOS-PRAGAS DE PRODUTOS ARMAZENADOS**

RIO BRANCO - AC

2024

GABRIELA DA SILVA TAMWING

**BIOATIVIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Piper aduncum* L. SOBRE
INSETOS-PRAGAS DE PRODUTOS ARMAZENADOS**

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

Orientador: Dr. Adalberto Hipólito de Sousa

RIO BRANCO - AC

2024

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da UFAC

T159b Tamwing, Gabriela da Silva, 1995 -
Bioatividade do óleo essencial de *Piper aduncum* L. sobre insetos-pragas de produtos armazeados / Gabriela da Silva Tamwing; orientador: Prof. Dr. Adalberto Hipólito de Sousa - 2024.
114 f. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Acre, Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal. Rio Branco, 2024.
Inclui referências bibliográficas.

1. Inseticidas botânicos. 2. Essências e óleos essenciais. 3. Toxicidade. I. Sousa, Adalberto Hipólito de (orientador). II. Título.

CDD: 338.1

Bibliotecária: Alanna Santos Figueiredo – CRB 11º/1003.

GABRIELA DA SILVA TAMWING

**BIOATIVIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Piper aduncum* L. SOBRE INSETOS-
PRAGAS DE PRODUTOS ARMAZENADOS**

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

Orientador: Dr. Adalberto Hipólito de Sousa

Aprovada em 27/02/2024.

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 **ADALBERTO HIPOLITO DE SOUSA**
Data: 12/03/2024 16:59:07-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

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

Documento assinado digitalmente
 **LUCAS MARTINS LOPES**
Data: 13/03/2024 13:29:25-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr. Lucas Martins Lopes (Membro)
Universidade Federal do Acre

Documento assinado digitalmente
 **MARILENE SANTOS DE LIMA**
Data: 13/03/2024 14:40:57-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

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

Documento assinado digitalmente
 **REGINA LUCIA FELIX FERREIRA**
Data: 13/03/2024 15:33:05-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

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

Documento assinado digitalmente
 **ALMECINA BALBINO FERREIRA**
Data: 13/03/2024 16:24:27-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Almecina Balbino Ferreira (Membro)
Universidade Federal do Acre

Aos meus pais Socorro e David e
ao meu companheiro de todas as horas Gabriel,
pelo apoio e amor incondicional.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Gratidão primeiramente a Deus, cuja força e sabedoria estiveram presentes em cada passo desta longa jornada acadêmica.

Ao meu orientador, Adalberto Hipólito de Sousa, pela orientação, dedicação, compreensão e todo conhecimento repassado durante esses quatro anos, que foram essenciais para o desenvolvimento desta pesquisa.

Ao meu esposo Gabriel Borges Claros pelo carinho, paciência, companheirismo e ajuda em todas as etapas do experimento.

À toda minha família, expresso minha profunda gratidão pelo amor incondicional e encorajamento em todos os momentos.

À Universidade Federal do Acre, especialmente o Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, pela oportunidade e pelo aprendizado adquirido.

Aos meus colegas do laboratório de Manejo Integrado de Pragas, Roger Ventura e Guilherme Calado, e aos amigos do PPG-Produção Vegetal pela troca de ideias, colaboração e momentos de descontração ao longo deste percurso.

À Fundação de Tecnologia do Estado do Acre (FUNTAC) pelo suporte, infraestrutura e equipamentos que auxiliaram nesta pesquisa.

Agradeço à minha comunidade acadêmica, professores e mentores que, de diversas formas, moldaram meu caminho acadêmico, desafiando-me a crescer como estudante e pesquisadora.

Por último, mas não menos importante, agradeço a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para o sucesso deste projeto. Cada um de vocês desempenhou um papel significativo, e sou profundamente grata pela disponibilidade e generosidade.

“Palavras são, na minha nada humilde opinião, nossa inesgotável fonte de magia.
Capazes de causar grandes sofrimentos e também de remediá-los”

(Alvo Dumbledore).

RESUMO GERAL

Durante o período de armazenamento, os grãos enfrentam o risco de deterioração devido ao ataque de insetos-praga, resultando em desperdício alimentar e prejuízos econômicos. Embora o controle dessas pragas seja frequentemente realizado por meio de inseticidas sintéticos, é importante destacar que o uso contínuo desses produtos pode causar toxicidade para organismos não-alvos, gerar resíduos ambientais e promover o desenvolvimento de populações de insetos resistentes. Uma alternativa para a proteção de produtos armazenados é o uso de inseticidas botânicos, dentre esses os óleos essenciais. Nesse contexto, o objetivo geral do estudo foi investigar a bioatividade do óleo essencial de *Piper aduncum* L. (OEPA) no controle de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae), *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae) e *Cryptolestes ferrugineus* (Coleoptera: Cucujidae). No primeiro capítulo, avaliou-se a toxicidade do OEPA e seu potencial sinérgico em combinação com o inseticida sintético deltametrina (K-Obiol® 25 EC). Foram realizados testes preliminares para determinar as faixas de concentrações e posteriormente foram obtidas as CL₅₀ e CL₉₅. Os resultados revelaram que *C. ferrugineus* apresenta maior suscetibilidade ao OEPA em comparação a outras espécies. Por outro lado, *T. castaneum* demonstrou ser tolerante tanto ao OEPA quanto ao inseticida sintético. As misturas binárias potencializaram o efeito tóxico da deltametrina para todas as espécies avaliadas, evidenciando um efeito sinérgico do OEPA. No segundo capítulo, foi avaliada a estabilidade toxicológica do OEPA armazenado por 12 meses, sob diferentes condições de luminosidade e temperatura. Os resultados indicaram que o OEPA permanece tóxico quando armazenado a temperaturas abaixo ou iguais a 20 °C e na ausência de luz. No terceiro capítulo, foram investigados os efeitos subletais do OEPA sobre as taxas de desenvolvimento populacional. Concentrações subletais do OEPA (1/3 e 2/3 da CL₅₀) reduziram a taxa de emergência diária de *S. zeamais*, *C. ferrugineus* e *T. castaneum*. Por outro lado, a exposição subletal ao inseticida botânico acelerou e aumentou o pico populacional de *O. surinamensis*, indicando um possível efeito estimulatório do OEPA. Diante dos resultados observados, conclui-se que o OEPA se mostra uma ferramenta promissora para o manejo integrado de coleópteros de grãos armazenados.

Palavras-chave: Inseticidas botânicos. Perdas pós-colheita. Sinergismo. Toxicidade.

GENERAL ABSTRACT

During the storage period, grains face the risk of deterioration due to attack by insect pests, resulting in food waste and economic losses. Although the control of these pests is often carried out using synthetic insecticides, it is important to highlight that the continuous use of these products can cause toxicity to non-target organisms, generate environmental residues and promote the development of resistant insect populations. An alternative for protecting stored products is the use of botanical insecticides, including essential oils. In this context, the general objective of the study was to investigate the bioactivity of the essential oil of *Piper aduncum* L. (OEPA) in the control of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae), *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae) and *Cryptolestes ferrugineus* (Coleoptera: Cucujidae). The research was carried out in three stages, presented in different chapters. In the first chapter, the toxicity of OEPA and its synergistic potential in combination with the synthetic insecticide deltamethrin (K-Obiol® 25 EC) were evaluated. Preliminary tests were carried out to determine the insecticide concentration ranges and LC₅₀ and LC₉₅ were subsequently obtained. The results revealed that *C. ferrugineus* is susceptible to OEPA compared to other species. On the other hand, *T. castaneum* proved to be tolerant to both OEPA and synthetic insecticide. Binary mixtures potentiated the toxic effect of deltamethrin for all species evaluated, demonstrating a synergistic effect of OEPA. In the second chapter, the toxicological stability of OEPA stored for 12 months, under different lighting and temperature conditions, was evaluated. The results indicated that OEPA remains toxic when stored at temperatures below or equal to 20 °C and in the absence of light. In the third chapter, the sublethal effects of OEPA on population development rates were investigated. Sublethal concentrations of OEPA (1/3 and 2/3 of LC₅₀) reduced the daily emergence rate of *S. zeamais*, *C. ferrugineus* and *T. castaneum*. On the other hand, sublethal exposure to the botanical insecticide accelerated and increased the population peak of *O. surinamensis*, indicating a possible stimulatory effect of OEPA. Given the results observed, it is concluded that OEPA is a promising tool for the integrated management of coleoptera in stored grains.

Keywords: Botanical insecticides. Post-harvest losses. Synergism. Toxicity.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Obtenção do óleo essencial de *Piper aduncum* L. (OEPA). (A) Extração pelo método de hidrodestilação utilizando aparelho Clevenger (B) Separação e secagem do OEPA 45
- Figura 2- Bioensaios de toxicidade por contato em superfície contaminada utilizando placas de Petri com fundo recoberto com papel filtro 47
- Figura 3- Fatores de sinergismo das misturas binárias (OEPA + K-Obiol® 25 EC) contra pragas de grãos armazenados. As barras representam os intervalos de confiança com 95% de probabilidade e a linha pontilhada como FS= 1, define o efeito das combinações como sinérgico (FS>1) 55
- Figura 4 - Armazenamento óleo essencial de *Piper aduncum* L. em diferentes condições de temperatura e luminosidade 73
- Figura 5 - Concentração letal (CL₅₀) do OEPA submetido a diferentes condições de armazenamento, por via de contato em superfície contaminada em adultos de (A) *Cryptolestes ferrugineus*, (B) *Oryzaephilus surinamensis*, (C) *Sitophilus zeamais* e (D) *Tribolium castaneum*. Os símbolos são as médias de quatro repetições e as barras os intervalos de confiança (IC_{95%}) obtidos pela análise Probit. (■) Temperatura 5 °C, (◆) 20 °C, (▲) 35 °C, (◀) Protegido da luz e (●) Exposto à luz 81
- Figura 6 - Bioensaios da taxa de desenvolvimento populacional 97
- Figura 7 - Emergência diária de insetos adultos de (A) *Sitophilus zeamais*, (B) *Oryzaephilus surinamensis*, (C) *Cryptolestes ferrugineus* e (D) *Tribolium castaneum* não expostos (controle) e expostos a concentrações subletais do OEPA. Os símbolos representam as médias de quatro repetições 101
- Figura 8 - Número total de insetos emergidos de *Sitophilus zeamais*, *Tribolium castaneum*, *Cryptolestes ferrugineus* e *Oryzaephilus surinamensis*. Barras seguidas com letras distintas são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey (p<0,05) 102

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Concentrações de OEPA utilizadas nos bioensaios de toxicidade por contato em superfície contaminada para insetos-praga de grãos armazenados 46
- Tabela 2 - Concentrações de deltametrina (K-Obiol® 25 EC) utilizadas nos bioensaios de toxicidade por contato em superfície contaminada para insetos-praga de grãos armazenados 46
- Tabela 3 - Concentrações das misturas binárias de OEPA ($\frac{1}{4}$ da CL₅₀) e deltametrina utilizadas nos bioensaios de toxicidade por contato em superfície contaminada 48
- Tabela 4 - Toxicidade residual relativa de OEPA em adultos de *Cryptolestes ferrugineus*, *Oryzaephilus surinamensis*, *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum*, após 24 h de exposição 51
- Tabela 5 - Toxicidade residual relativa de deltametrina (K-Obiol® 25 EC) em adultos de *Sitophilus zeamais*, *Oryzaephilus surinamensis*, *Cryptolestes ferrugineus* e *Tribolium castaneum*, após 24 horas de exposição 52
- Tabela 6 - Toxicidade residual relativa das combinações de OEPA + deltametrina (K-Obiol® 25 EC) em adultos de *Sitophilus zeamais*, *Cryptolestes ferrugineus*, *Oryzaephilus surinamensis* e *Tribolium castaneum*, após 24 horas de exposição 54
- Tabela 7 - Concentrações de OEPA utilizadas nos bioensaios de toxicidade por contato em superfície contaminada realizados a cada quatro meses 73
- Tabela 8 - Toxicidade residual relativa de OEPA armazenado durante quatro meses, sob diferentes condições de temperatura e luminosidade, em adultos de *C. ferrugineus*, *O. surinamensis*, *S. zeamais* e *T. castaneum* 76
- Tabela 9 - Toxicidade residual relativa de OEPA armazenado durante oito meses, sob diferentes condições de temperatura e luminosidade, em adultos de *C. ferrugineus*, *O. surinamensis*, *S. zeamais* e *T. castaneum* 78
- Tabela 10 - Toxicidade residual relativa de OEPA armazenado durante doze meses, sob diferentes condições de temperatura e luminosidade, em adultos de *C. ferrugineus*, *O. surinamensis*, *S. zeamais* e *T. castaneum* 80

Tabela 11 - Concentrações subletais de OEPA utilizadas nos bioensaios de taxa de desenvolvimento populacional 96

Tabela 12 - Sumário das análises de regressão não-lineares das curvas de desenvolvimento populacional das espécies *Sitophilus zeamais*, *Oryzaephilus surinamensis*, *Cryptolestes ferrugineus* e *Tribolium castaneum*100

Tabela 13 - Total de insetos emergidos em resposta a exposição ou não (controle) de concentrações subletais de OEPA 103

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	14
2 REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 INSETOS-PRAGA DE GRÃOS ARMAZENADOS	16
2.1.1 <i>Sitophilus zeamais</i> Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae)	16
2.1.2 <i>Tribolium castaneum</i> (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae)	17
2.1.3 <i>Oryzaephilus surinamensis</i> (L.) (Coleoptera: Silvanidae)	18
2.1.4 <i>Cryptolestes ferrugineus</i> (Stephens) (Coleoptera: Cucujidae)	19
2.2 CONTROLE DE INSETOS-PRAGA DE GRÃOS ARMAZENADOS	19
2.3 INSETICIDAS BOTÂNICOS	20
2.4 GÊNERO PIPER	22
2.4.1 Aspectos gerais de <i>Piper aduncum</i> L.	23
2.4.2 Bioatividade do óleo essencial de <i>Piper aduncum</i> no controle de pragas	24
2.4.3 Extração e armazenamento do OEPA	25
REFERÊNCIAS	28
3 CAPÍTULO I	39
TOXICIDADE E SINERGISMO DE ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Piper aduncum</i> L. SOBRE INSETOS-PRAGA DE GRÃOS ARMAZENADOS	39
RESUMO	40
ABSTRACT	41
3.1 INTRODUÇÃO	42
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	44
3.2.1 Criação de insetos	44
3.2.2 Obtenção e extração do óleo essencial	44
3.2.3 Bioensaios de toxicidade por contato em superfície contaminada	46
3.2.4 Bioensaios de sinergismo	47
3.2.5 Análises estatísticas	48
3.3 RESULTADOS	49
3.3.1 Toxicidade do OEPA	49
3.3.2 Toxicidade do inseticida sintético	50
3.3.3 Ação sinergista do OEPA	53
3.4 DISCUSSÃO	56
3.5 CONCLUSÕES	60

REFERÊNCIAS	61
4 CAPÍTULO II	66
ESTABILIDADE TOXICOLÓGICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Piper aduncum</i> L. NO CONTROLE DE INSETOS-PRAGA DE GRÃOS ARMAZENADOS	66
RESUMO	67
ABSTRACT	68
4.1 INTRODUÇÃO	69
4.2 MATERIAL E MÉTODOS	71
4.2.1 Criação de insetos	71
4.2.2 Obtenção e extração do óleo essencial	71
4.2.3 Estabilidade toxicológica do OEPA	72
4.2.4 Análises estatísticas	74
4.3 RESULTADOS	75
4.3.1 Estabilidade toxicológica do OEPA após 4 meses de armazenamento	75
4.3.2 Estabilidade toxicológica do OEPA após 8 meses de armazenamento	77
4.3.3 Estabilidade toxicológica do OEPA após 12 meses de armazenamento	79
4.4 DISCUSSÃO	82
4.5 CONCLUSÕES	85
REFERÊNCIAS	86
5 CAPÍTULO III	90
EFEITO SUBLETAL DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Piper aduncum</i> L. SOBRE O DESEMPENHO POPULACIONAL DE INSETOS-PRAGA DE GRÃOS ARMAZENADOS	90
RESUMO	91
ABSTRACT	92
5.1 INTRODUÇÃO	93
5.2 MATERIAL E MÉTODOS	95
5.2.1 Criação de insetos	95
5.2.2 Obtenção e extração do óleo essencial	95
5.2.3 Taxa de desenvolvimento populacional	96
5.2.4 Número total de insetos emergidos e perda de massa de grãos	97
5.2.5 Análises estatísticas	98
5.3 RESULTADOS	99
5.3.1 Taxa de desenvolvimento populacional	99

5.3.2 Número total de insetos emergidos e perda de massa de grãos	102
5.4 DISCUSSÃO	104
5.5 CONCLUSÕES	107
REFERÊNCIAS	108
6 CONCLUSÕES FINAIS	112
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	113

1 INTRODUÇÃO GERAL

A preservação eficaz de grãos armazenados contribui para a garantia da segurança alimentar mundial, e o controle de insetos pragas é um componente essencial desse processo. Os insetos são capazes de causar danos consideráveis aos estoques de grãos, resultando em perdas quantitativas e qualitativas irreversíveis. Sua proliferação rápida compromete a qualidade nutricional e favorece a contaminação por microrganismos produtores de toxinas (TADDESE et al., 2020).

Dentre as pragas de grãos armazenados, se destaca o *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1855 (Coleoptera: Curculionidae), que apresenta hábito primário, se alimentando de grãos sadios, com alto potencial reprodutivo e capacidade de infestar desde o campo até a fase de armazenamento. As pragas secundárias, são aquelas, que atacam grãos quebrados, trincados ou aqueles danificados pelas pragas primárias. Entre essas espécies, destacam-se *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae), *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera: Silvanidae) e *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) (Coleoptera: Cucujidae) (LORINI, 2018).

Para mitigar esses riscos, diversas estratégias são empregadas, incluindo métodos físicos, como aeração e resfriamento, que reduzem a temperatura e umidade dos grãos, inibindo o desenvolvimento de pragas (SANTOS, 2018). Além disso, a aplicação de inseticidas sintéticos preventivos (piretróides e organofosforados) e a fumigação com fosfina, são métodos amplamente utilizados em unidades de armazenamento (AGROFIT, 2024; LORINI et al., 2015). No entanto, o uso contínuo de inseticidas químicos apresenta desvantagens, como persistência ambiental, toxicidade para organismos não alvos, riscos à saúde humana e desenvolvimento de resistência (SOUSA; FARONI, 2018; SPLETOZER et al., 2021).

Nesse contexto, a utilização de inseticidas botânicos surge como uma alternativa promissora em comparação aos pesticidas convencionais (ISMAN; GRIENEISEN, 2014), destacando-se pelo baixo impacto ambiental e pela redução dos resíduos nos grãos. Estes inseticidas são derivados de diferentes partes das plantas e compostos por metabolitos secundários com propriedades defensivas contra agentes bióticos (ISMAN, 2020a). Assim, a rica flora brasileira oferece um vasto potencial para a produção de metabólitos secundários com propriedades biocidas, capazes de substituir ou minimizar o uso de inseticidas sintéticos, especialmente na região Amazônica.

Os óleos essenciais e seus componentes voláteis apresentam comprovação de bioatividade em relação a diferentes ordens de insetos, agindo por meio de contato, fumigação ou ingestão (RAJENDRAN; SRIANJINI, 2008). Além de atuarem como repelentes e inibidores de alimentação, os óleos essenciais exercem uma influência direta na reprodução e no desenvolvimento populacional dessas pragas (ISMAN, 2020b). Por fim, sua utilização em combinação com inseticidas sintéticos é viável devido à ação sinérgica, que potencializa os efeitos tóxicos sobre os insetos-praga (BRITO *et al.*, 2021).

A *Piper aduncum* L., pertencente à família Piperaceae e conhecida popularmente como pimenta de macaco, possui uma distribuição abrangente em países tropicais e subtropicais. O óleo essencial extraído das folhas dessa planta aromática é rico em fenilpropanoides e monoterpenos (DUROFIL *et al.*, 2021), sendo reconhecido pelas suas propriedades antimicrobianas (VALADARES *et al.*, 2018; SCALVENZI *et al.*, 2016), acaricidas (ARAÚJO *et al.*, 2012), inseticidas (ESTRELA *et al.*, 2006; MARTÍNEZ *et al.*, 2013) e sinergistas (FAZOLIN *et al.*, 2016). Apesar de diversos estudos indicarem a toxicidade do óleo essencial de *Piper aduncum* (OEPA) sobre insetos-praga (OLIVEIRA *et al.*, 2023; NASCIMENTO *et al.*, 2023), poucos abordam de maneira abrangente suas potencialidades no manejo integrado de pragas.

Nesse sentido, esta pesquisa tem como objetivos (i) determinar a toxicidade do óleo essencial de *P. aduncum*, por via de contato em superfície contaminada, sobre *S. zeamais*, *T. castaneum*, *O. surinamensis* e *C. ferrugineus*; (ii) estudar o potencial sinérgico do OEPA em misturas binárias com inseticida deltametrina; (iii) determinar a estabilidade toxicológica do OEPA armazenado por 12 meses, em diferentes condições de luminosidade e temperatura e (iv) avaliar os efeitos subletais do OEPA sobre o desempenho populacional das quatro espécies de insetos-praga de grãos armazenados.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Durante o armazenamento, os grãos e seus subprodutos estão sujeitos à deterioração provocada pela interação de fatores bióticos e abióticos, como as condições do ambiente, o manejo inadequado e a infestação por pragas (BEZABIH *et al.*, 2022; TADDESE *et al.*, 2020). Nesse sentido, em resposta à crescente demanda global por alimentos, torna-se essencial a busca por novas tecnologias que assegurem a preservação da massa de grãos ao longo do armazenamento, evitando perdas e garantindo a segurança alimentar (LORINI *et al.*, 2015).

2.1 INSETOS-PRAGA DE GRÃOS ARMAZENADOS

Diferentes grupos de insetos-praga infestam produtos armazenados, dentre eles, destacam-se as espécies *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1855 (Coleoptera: Curculionidae), *Tribolium castaneum* (Herbst), 1797 (Coleoptera: Tenebrionidae), *Oryzaephilus surinamensis* Linnaeus, 1758 (Coleoptera: Silvanidae) e *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens), 1831 (Coleoptera: Cucujidae), presentes na maioria das unidades armazenadoras do país (LORINI, 2018). Essas espécies são cosmopolitas e apresentam características comuns, como o tamanho reduzido e a adaptação a ambientes secos e escuros (FARONI; SOUSA, 2006).

2.1.1 *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae)

O gorgulho-do-milho, *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae), é uma praga primária interna do milho, que ataca diretamente o produto comercializado e apresenta hábitos de polifagia, infestando outros grãos, cereais e produtos processados. Além disso, se caracteriza pela infestação cruzada, com ataque desde a fase de campo até o armazenamento (FARONI; SOUSA, 2006; LORINI *et al.* 2015).

O *S. zeamais* é capaz de penetrar os grãos e as sementes, para completar seu ciclo de desenvolvimento, levando à destruição e o esvaziamento do endosperma, resultando em perda de massa e do poder germinativo. Além disso, sua presença possibilita a contaminação por outras pragas secundárias, ácaros e fungos,

provocando perda de qualidade e queda no valor de mercado (ABEBE et al 2009; DEVI et al., 2017; NWOSU, 2018; TREMATERRA et al., 2007).

Os adultos de *S. zeamais* medem cerca de 3 mm comprimento, e possuem coloração castanho-escuro com quatro machas mais claras em seus élitros estriados, visíveis logo após a emergência. Apresenta cabeça projetada à frente e com rostro recurvado, onde estão inseridas as peças bucais. As larvas são de coloração amarelo-claro com pontas escuras na cabeça e as pupas esbranquiçadas (DEVI et al., 2017).

Segundo Faroni e Sousa (2006) cada fêmea é capaz de ovipositar 150 ovos em pequenas cavidades nos grãos. Após a oviposição, essas cavidades são fechadas com uma substância mucilaginosa secretada pela fêmea. 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 7 a 10 dias, em condições laboratoriais (30 °C e 60-75%). As larvas eclodem no interior dos grãos, onde se alimentam e completam seu estágio larval, passando por quatro instares. Em seguida, elas pupam até a emergência e saída do adulto (KUMARI et al., 2022).

De acordo com Faroni e Sousa (2006), existe um comportamento de canibalismo dos indivíduos fracos ou pequenos, o que faz com que raramente emerja mais de um adulto em grãos pequenos, como trigo ou arroz. Em grãos maiores como o milho, onde a probabilidade de duas larvas se encontrarem é menor, dois ou três insetos podem emergir de um mesmo grão. O desenvolvimento completo do inseto é possível em temperaturas entre 15 a 35 °C, com um período de 35 dias (FARONI; SOUSA, 2006). Essa duração do ciclo pode variar de 31 a 37 dias, dependendo das condições ambientais e os adultos podem viver de 4 a 5 meses, podendo até chegar a 1 ano, se alimentando dos produtos atacados (REES, 1996).

2.1.2 *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae)

Tribolium castaneum (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae), popularmente conhecido como besouro das farinhas, é uma praga cosmopolita de hábito alimentar secundário de reconhecida importância econômica. Tem sido encontrado com maior frequência nos trópicos, em regiões de temperatura moderada (FARONI; SOUSA, 2006; PACHECO; PAULA, 1995). Esta espécie provoca prejuízos a produtos moídos,

como farinhas, rações e aos grãos armazenados danificados ou atacados por pragas primárias (LORINI *et al.*, 2015).

Os adultos de *T. castaneum* são achatados, com coloração castanho avermelhada, medindo entre 2,3 a 4,4 mm de comprimento, possuem duas depressões transversais na cabeça e pronoto retangular (GALLO *et al.*, 2002). Podem viver até quatro anos, apresentando alta capacidade reprodutiva e alta tolerância a fatores abióticos (CAMPOS; ZORZENON, 2006; GALLO *et al.*, 2002; LORINI, 2008; PACHECO; PAULA, 1995). Os grãos e cereais infestados por essa praga apresentam odores e cores desagradáveis devido à secreção de benzoquinonas pelas glândulas abdominais e pela grande quantidade de exúvias que o inseto libera em sua metamorfose (PHANKAEN *et al.*, 2017).

As fêmeas ovipositam em média 400 a 500 ovos nas fendas das paredes dos armazéns, na sacaria e sobre os grãos. Os ovos são pequenos e claros, e as larvas apresentam coloração branco-amarelada, podendo medir cerca de 7 mm de comprimento (GALLO *et al.*, 2002). O ciclo de vida desta espécie pode ser completado em aproximadamente 21 dias em condições de temperatura de 35° C e umidade relativa de 70% (REES, 1996).

2.1.3 *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera: Silvanidae)

A espécie *Oryzaephilus surinamensis* possui hábito secundário e importância econômica reconhecida, atacando principalmente cereais e seus subprodutos armazenados (FARONI; SOUSA, 2006). É uma espécie cosmopolita que ocorre em praticamente todas as regiões do mundo (KOUSAR *et al.*, 2021), principalmente as de clima quente, infestando diversas culturas como milho, trigo, soja, entre outras. Além disso, essa praga infesta estruturas e equipamentos de unidades de armazenamento, como moegas, máquinas de limpeza, fundos de silos e transportadores mecânicos (LORINI *et al.*, 2015).

Os adultos apresentam o corpo achatado, alongado e de coloração vermelho-escura, com comprimento variando entre 1,7 a 3,3 mm. Apresentam três carenas longitudinais no pronoto e seis projeções em forma de dentes laterais (BOOTH *et al.*, 1990; LORINI, 2002). Pode ser diferenciado de *Oryzaephillus mercator* (Fauv.) (Coleoptera: Silvanidae) pelo tamanho dos olhos, sendo que em *O. surinamensis* estes são menores, além disso a região posterior é equivalente a 2/3 de seu

comprimento e a cabeça apresenta formato quase triangular (FARONI; SOUSA, 2006; PACHECO; PAULA, 1995).

As fêmeas ovipositam de 45 a 285 ovos, e as larvas são alongadas, branco-amarelas, com pelos revestindo o corpo, medindo até 6 mm. O ciclo de vida tem duração de 22 dias, sob temperaturas ideais entre 30 a 35 °C e 70 a 90% de umidade relativa do ar (REES, 1996). No entanto, essa espécie é capaz de resistir a condições climáticas adversas, como inverno, sem proteção ou refúgio, possibilitando sua ocorrência tanto em regiões temperadas e tropicais (HOWE, 1956; REES, 1996).

2.1.4 *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) (Coleoptera: Cucujidae)

A espécie *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) (Coleoptera: Cucujidae) destaca-se como uma das pragas secundárias de maior importância no armazenamento de grãos no mundo, uma vez que consegue se adaptar a diferentes condições climáticas (BHARATHI *et al.*, 2023).

Os adultos em geral, apresentam corpo achatado e são pequenos, com comprimento variando entre 1,5 e 2,5 mm. As antenas são longas e filiformes, formadas por onze segmentos, e geralmente medem a metade ou mais do comprimento do corpo. Possuem coloração marrom-avermelhada-pálida e grande facilidade de deslocamento. Cada fêmea oviposita cerca de 200 ovos, soltos entre os grãos ou material farináceo (LORINI, 2008). As larvas passam por quatro instares e se alimentam de grãos quebrados, resíduos de grãos e farinhas (LORINI, 2012).

O ataque dessa praga ocasiona aumento da temperatura da massa de grãos e conseqüentemente, sua deterioração. A condição ideal para o seu desenvolvimento é a temperatura de 33°C e umidade relativa de 70%, quando o seu ciclo se completa em 23 dias (FARONI; SOUSA, 2006; LORINI, 2008). A longevidade dos adultos varia de 12 a 32 semanas, dependendo da densidade, alimentação e proporção sexual (WHITE; BELL, 1995).

2.2 CONTROLE DE INSETOS-PRAGA DE GRÃOS ARMAZENADOS

O controle químico é o método mais utilizado no manejo destas pragas, sendo realizado a partir da aplicação de inseticidas líquidos protetores, como os piretróides e organofosforados, bem como pela fumigação com fosfina. Além desses produtos,

são utilizados pós inertes à base de terra de diatomácea, atmosfera modificada e métodos físicos (LORINI *et al.*, 2015). No entanto, o uso indiscriminado de agrotóxicos tem causado danos à saúde humana e ao meio ambiente (BARROS *et al.*, 2022), além de contribuir para o surgimento de populações de insetos resistentes (BOYER *et al.*, 2012).

Os inseticidas líquidos são aplicados preventivamente na correia transportadora, das unidades de armazenamento, no momento de armazenar ou ensacar os grãos e as sementes. Para isso são instalados pulverizadores e tombadores para distribuição homogênea dos inseticidas em toda massa de grãos. Como método curativo, a aplicação é realizada quando os grãos já apresentarem infestação do inseto-praga. Sendo assim, é realizada a fumigação (expurgo) dos grãos, mantendo-os em local bem vedado, para evitar o escape do produto para que o tratamento seja mais eficaz e sem falhas (LORINI *et al.*, 2015).

Devido ao baixo custo de aplicação e rápida difusão, a fosfina (PH₃) é empregada constantemente em armazéns ou silos de armazenamento. É um gás altamente tóxico, liberado na presença de umidade do ar, sendo eficaz no controle de todas as fases de ovo, larva, pupa e adultos das pragas de grãos e sementes armazenadas (LORINI, 2012; LORINI *et al.*, 2013). Apesar da sua eficiência, a intensa pressão de seleção, fez surgir ao longo do tempo, o surgimento de resistência a fosfina em populações de insetos-praga (OPIT *et al.*, 2012).

Para o controle de pragas de grãos armazenados, há uma escassez de princípios ativos comerciais recomendados para essa finalidade (AGROFIT, 2024). Em consequência, observa-se uma prática frequente de utilização do mesmo produto químico no tratamento de grãos e sementes em silos e armazéns, resultando na redução da toxicidade para os insetos-alvo ao longo do tempo (DUTRA; FERREIRA, 2019), devido à alta pressão de seleção (LORINI *et al.*, 2015).

2.3 INSETICIDAS BOTÂNICOS

A busca por alternativas ao controle químico, como o uso de inseticidas botânicos, tem sido impulsionada nas últimas décadas, principalmente em decorrência das exigências de consumidores (SPLETOZER *et al.* 2021). Essas investigações têm por objetivo identificar novos compostos eficazes para o controle de insetos-praga, e que sejam menos agressivos ao meio ambiente, que não tenham ação sobre

organismos não alvos e ainda, que não deixem resíduos nos alimentos (CHAUDHARI *et al.*, 2021; GARIBA *et al.*, 2021; KRINSKI *et al.*, 2014).

As plantas e os insetos coexistem há mais de 350 milhões de anos, resultando no desenvolvimento de interações bióticas que afetam diversos aspectos desses organismos, sendo mutuamente benéficas, como a polinização, ou prejudiciais para pelo menos um dos grupos, como a herbivoria (SÃO JOÃO; RAGA, 2016; WAR *et al.*, 2012). Sendo assim, em decorrência da característica sésil das plantas e a impossibilidade de escapar de pressões bióticas, é notável que ao longo do tempo, ocorreu a seleção de mecanismos de defesa contra o ataque de insetos herbívoros (SANTOS, 2015).

A ampla diversidade produzida de produtos químicos pelas plantas pode ser classificada como metabólitos primários e secundários. Os metabólitos primários estão diretamente envolvidos no crescimento e desenvolvimento das plantas, e englobam os açúcares, aminoácidos, ácidos graxos, lipídeos, nucleotídeos, proteínas, membranas, DNA e RNA (GARCÍA; CARRIL, 2009). Diferentes dos primários, os metabólitos secundários não estão diretamente ligados aos processos de fotossíntese, respiração e crescimento vegetal (SANTOS, 2004).

No entanto, os metabólitos secundários desempenham um papel crucial como mecanismos de defesa e podem ser constitutivos e intrínsecos de cada genótipo, ou induzidos em resposta ao ataque de insetos herbívoros e microrganismos patogênicos (TAIZ *et al.*, 2017; WAR *et al.*, 2012). A eficácia dos inseticidas botânicos é influenciada pela proporção dos constituintes químicos que apresentam e pelo efeito sinérgico entre os componentes (ABBASSY *et al.*, 2009; HUMMELBRUNNER; ISMAN, 2001; MESBAH *et al.*, 2006).

A toxicidade provocada pelos inseticidas botânicos, pode ser provocada pela penetração das moléculas no corpo do inseto via sistema respiratório (efeito fumigante), através da cutícula ou exoesqueleto (efeito de contato) ou ainda pelo aparelho digestivo (efeito de ingestão) (CORRÊA; SALGADO, 2011; PRATES; SANTOS, 2000). O uso de plantas inseticidas vem sendo empregado como método alternativo para o controle de pragas de grãos armazenados, podendo ser aplicadas na forma de extratos, óleos e pós vegetais (KIM *et al.*, 2003; OLIVEIRA, 1999).

Há muitos anos os óleos essenciais têm sido propostos como alternativas sustentáveis no controle de pragas (ACHIMÓN *et al.*, 2022; PATIÑO-BAYONA *et al.*, 2021). Os óleos essenciais são complexas misturas de compostos orgânicos e

voláteis, 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). Os óleos essenciais apresentam diversas atividades biológicas, incluindo toxicidade aguda e crônica, repelência, inibição da oviposição, crescimento, alimentação e desenvolvimento populacional de espécies de insetos-praga (YANG *et al.*, 2020).

2.4 GÊNERO PIPER

O gênero Piper é composto por cerca de 2000 espécies, sendo considerado o mais abundante da família Piperaceae (THE PLANT LIST, 2023). Possui como centros de diversidade as regiões neotropicais, principalmente na Ásia e nas Américas, com notório decréscimo do número de espécies de acordo com o aumento da altitude e diminuição da precipitação (DYER; PALMER, 2004; JARAMILLO *et al.*, 2008; SILVA *et al.*, 2014).

A principal característica que distingue o gênero Piper dos demais é o hábito arbóreo arbustivo, enquanto o gênero Peperomia engloba espécies herbáceas ornamentais (SOUZA; LORENZI, 2012) e o gênero Manekia compreende as trepadeiras volúveis (SCHUBERT *et al.*, 2012). São plantas pioneiras, comuns em clareiras de matas de galeria e bordas de mata, como espécie predominante (SILVA JUNIOR *et al.*, 2001).

Além do uso alimentar, como a pimenta do reino (*Piper nigrum* L.), várias espécies do gênero *Piper* são utilizadas na medicina popular e na produção de óleos essenciais com atividades inseticida e repelente (BRASIL, 2016; NUNES *et al.*, 2007). Na literatura, diversas atividades biológicas, tais como antifúngica (OLIVEIRA *et al.*, 2020), antitumoral (BROHEM *et al.*, 2009), antioxidante (OLIVEIRA *et al.*, 2019), antiplasmodial (PORTET *et al.*, 2007) e tripanocidal (BATISTA *et al.*, 2008) também já foram reportadas.

As propriedades biológicas estão relacionadas ao versátil metabolismo secundário dessas plantas, que se dá pelas vias biossintéticas do chiquimato e do acetato (FAZOLIN *et al.*, 2006) que produzem amidas ou compostos aromáticos, principalmente fenilpropanoides do tipo lignanas ou neolignanas (BODIWALA, *et al.*, 2007; PESSINI, *et al.*, 2005), terpenos (SOUZA, *et al.*, 2014), flavonoides (BALDOQUI

et al., 2009; QUEIROZ, *et al.*, 2014) e outras classes de metabolitos secundários bioativos.

2.4.1 Aspectos gerais de *Piper aduncum* L.

A *Piper aduncum* L., conhecida como pimenta de macaco, jaborandi ou apertação, é uma espécie nativa do Brasil, porém não endêmica, com distribuição pela América Central, Antilhas e América do Sul (FAZOLIN *et al.*, 2006). Pode ser encontrada em todas as regiões e domínios fitogeográficos do território brasileiro (GUIMARÃES *et al.*, 2020). No estado do Acre, está distribuída em todos os municípios, porém com maior abundância no Vale do Juruá, nos municípios de Cruzeiro do Sul e Rodrigues Alves (NEGREIROS; MIQUELONI, 2013).

Vem despertando o interesse econômico por ser fonte de matéria prima com propriedades bioativas, passível de ser cultivada e industrializada, tanto em pequena quanto em larga escala. A demanda por sua utilização é impulsionada pela sua característica espontânea, sendo considerada invasora em áreas antropizadas, como as margens de estradas e terrenos recém desmatados (FAZOLIN *et al.*, 2006).

São arbustos ou arvoretas que podem atingir até 8 metros de altura, moderadamente pubescentes a glabrescentes, com tricomas menores que 0,5 mm de comprimento. Os pecíolos das folhas podem apresentar de 0,3 a 0,8 cm de comprimento. As lâminas foliares podem ser elípticas, ovado-elípticas ou lanceoladas, com base assimétrica, arredondada-cordada, ápice agudo ou acuminado, escabrosas e ásperas ao tato nas faces abaxiais e adaxiais. As nervuras secundárias medem de 6 a 8 cm, dispostas até ou pouco acima da porção mediana. As espigas curvas medem de 7 a 14 cm de comprimento e 0,2 a 0,3 cm de diâmetro, com pedúnculos pubescentes (FAZOLIN *et al.*, 2006).

Há uma ampla divergência entre pesquisadores em relação a taxonomia das espécies *Piper aduncum* e *Piper hisperdinevum*, existindo a hipótese de que se trata da mesma espécie. De acordo com Nunes *et al.* (2007), a similaridade cariotípica, apesar de não ser conclusiva, pode contribuir com esse prognóstico, sendo possivelmente *P. aduncum* uma variedade de *P. hisperdinevum*, de distribuição geográfica restrita. No entanto, em estudos com marcadores moleculares do tipo RPD em coleção de germoplasma da Embrapa Acre, os autores defendem que são espécies distintas (WADT *et al.*, 2004).

No campo, estes arbustos são geralmente confundidos, e segundo Fazolin *et al.* (2006) a principal diferença morfológica concentra-se nas folhas, uma vez que a *P. aduncum* apresenta folhas elípticas ou lanceoladas com bases arredondadas ou cardulata, e ásperas e pubescentes nas faces abaxial e adaxial, enquanto em *Piper hisperdinevum* não são observadas essas características.

A *P. hisperdinevum*, conhecida como pimenta longa, é amplamente encontrada no bioma Amazônico, particularmente nos estados do Acre e Rondônia, sendo explorada para produção de óleo essencial rico em safrol, composto majoritário, cujo subprodutos são utilizados na indústria de fragrâncias e cosméticos (heliotropina), e como sinergista em mistura com inseticidas piretróides (butóxido de piperonila) (ANDRADE; GUIMARÃES; MAIA, 2009; MAIA *et al.*, 1998).

Diferentemente de *P. hisperdinevum*, o óleo essencial *P. aduncum* (OEPA) possui como composto majoritário, o fenilpropanoide dilapiol (31,5% a 97,3%) (MAIA *et al.*, 1998; POTZERNHEIM *et al.*, 2012). Também são encontradas outras substâncias em menor quantidade, como sarisan, apiol, safrol, com bioatividade comprovada e apresentando em suas estruturas químicas o grupo metilendioxifenil (FAZOLIN *et al.*, 2006). Além disso, é formado por compostos pertencentes aos grupos químicos dos monoterpenos e sesquiterpenos (DUROFIL *et al.*, 2021).

2.4.2 Bioatividade do óleo essencial de *Piper aduncum* no controle de pragas

O óleo essencial de *P. aduncum* rico em dilapiol possui ação inseticida sobre diversos insetos-praga, como os coleópteros *Sitophilus zeamais* (ESTRELA *et al.*, 2006), *Ceratomyxa tingomarianus* Bechyne (FAZOLIN *et al.*, 2005), *Tenebrio molitor* L. (FAZOLIN *et al.*, 2007) e dípteros transmissores de doenças humanas, como dengue e malária (ALMEIDA *et al.*, 2009). No entanto, os demais constituintes do OEPA também podem estar envolvidos nas suas atividades biológicas ou atuar como sinergistas em misturas com inseticidas sintéticos (FAZOLIN *et al.*, 2015).

Acrescenta-se ainda que o OEPA contém compostos voláteis que atuam de forma sinérgica entre si, como os monoterpenos, sesquiterpenos e fenilpropanoides, que possuem múltiplos modos de ação sobre os insetos (PACHECO *et al.*, 2016). De acordo com Afshar *et al.* (2017), o dilapiol, pode agir inibindo as vias enzimáticas de detoxificação, enquanto os terpenos, causam a neurotoxicidade em artrópodes.

A composição do OEPA é variável, e esses perfis fitoquímicos têm sido atribuídos tanto as diferenças genéticas quanto as condições ambientais (SALEHI *et al.*, 2019). Em diversos estudos, o dilapiol é apontado como composto majoritário (DUROFIL *et al.*, 2021). No entanto, outros trabalhos que avaliaram a composição química de óleos essenciais extraídos de folhas de *P. aduncum* identificaram o fenilpropanóide apiol, como composto majoritário, com teores variando entre 28,62% a 90% (MENDONÇA, 2019, NASCIMENTO, 2020; SANTANA *et al.*, 2015).

Em relação as atividades biológicas do OEPA, já foram relatadas na literatura a toxicidade sobre insetos-praga de grãos armazenados (ESTRELA *et al.*, 2006; FAZOLIN *et al.*, 2007; MARTÍNEZ *et al.*, 2013; OLIVEIRA *et al.*, 2023; NASCIMENTO *et al.*, 2023), bem como o efeito repelente sobre *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) (Coleoptera: Chrysomelidae) (OLIVEIRA *et al.*, 2017) e atrativo para *S. zeamais* e *S. oryzae* (NASCIMENTO *et al.*, 2023). Também foi relatada a redução das taxas de desempenho populacional em populações de *S. zeamais* (OLIVEIRA, 2023) e a redução da atividade de voo em adultos de *S. oryzae*, *S. zeamais* e *C. ferrugineus* submetidos a concentrações subletais do OEPA (NASCIMENTO *et al.*, 2023),

O efeito sinérgico do OEPA em misturas com inseticidas sintéticos, como piretróides e organofosforados, já foi documentado em estudos recentes envolvendo a *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) (FAZOLIN *et al.*, 2017; FAZOLIN *et al.*, 2016) e *S. zeamais* (OLIVEIRA *et al.*, 2023). Portanto, o OEPA surge como uma alternativa aos sinergistas comerciais, como o butóxido de piperonila (BPO), uma vez que apresentam lignanas ligadas a um grupo metilenodioxifenil, capazes de inibir enzimas envolvidas em mecanismos de resistência, como as monoxigenases do citocromo P450 e as esterases (BERNARD *et al.*, 1995; SHANKARGANESH *et al.* 2009).

2.4.3 Extração e armazenamento do OEPA

O óleo essencial de *Piper aduncum* pode ser obtido por meio da técnica de arraste a vapor ou hidrodestilação, utilizando as folhas e os ramos da planta como matéria-prima (FAZOLIN *et al.*, 2006). A pimenta de macaco é adaptada a diversas condições edafoclimáticas, resultando em considerável variabilidade no rendimento e composição química do OEPA, dependendo da região de coleta e do método de extração (GAIA *et al.*, 2010; NASCIMENTO *et al.*, 2020).

De acordo com Almeida *et al.* (2009), o OEPA obtido a partir de folhas coletadas no estado do Pará apresentou um rendimento médio de 2,8%, enquanto o OEPA extraído de folhas coletadas em Brasília (DF) exibiu um rendimento de 1,3% (POTZERNHEIM *et al.*, 2012). Maia *et al.* (1988), ao avaliarem espécimes de diferentes locais da região Norte, observaram rendimentos, variando de 1,2 a 3,4%, sendo o valor máximo observado em amostras obtidas em Manaus (AM). Destaca-se o Vale do Juruá, no estado do Acre, especialmente no município de Cruzeiro do Sul, pelos elevados rendimentos de OEPA (3,2 a 3,8%) e pelos altos teores de dilapiol (84 a 88%) (NEGREIROS; MIQUELONI, 2015), evidenciando a viabilidade de integração dessas populações em programas de melhoramento genético (GAIA *et al.*, 2011).

As características do dossel das plantas exercem um impacto significativo na produção de biomassa aérea, influenciando diretamente no rendimento do óleo essencial e no conteúdo dos compostos majoritários (NEGREIROS; MIQUELONI, 2013). A idade e o estágio fenológico da planta no momento da coleta também afetam a produção da biomassa aérea e, conseqüentemente, a produção de OEPA. Para obtenção de maiores rendimentos, é recomendado o corte das plantas com aproximadamente 12 meses de idade (SILVA *et al.*, 2013), na fase reprodutiva (COSTA *et al.*, 2008).

O conteúdo de água na biomassa também possui um impacto significativo no rendimento do óleo essencial de populações de *Piper aduncum* L., sendo a biomassa seca mais eficaz (NEGREIROS; MIQUELONI, 2013). Em espécies da família Piperaceae, os óleos essenciais geralmente são armazenados em células parenquimáticas especializadas chamadas idioblastos (GOGOSZ *et al.*, 2012), e a secagem das folhas promove o pré-rompimento das membranas celulares, contribuindo para um maior extravasamento do óleo (ROSADO *et al.*, 2011). Assim, é necessário reduzir o teor de água após a coleta, uma etapa indispensável para garantir a qualidade do produto e evitar a fermentação da biomassa antes do processo de destilação (MACHADO *et al.*, 2013; PINTO *et al.*, 2014).

Após a extração de óleos essenciais, Tisserand e Young (2014) recomendam um armazenamento adequado, pois todos os compostos orgânicos estão sujeitos à degradação química, resultando na perda de propriedades biológicas. A disponibilidade de luz, oxigênio e altas temperaturas afetam negativamente a estabilidade dos óleos essenciais durante o armazenamento, estimulando reações de conversão, como isomerização, oxidação, desidrogenação, polimerização e

rearranjos térmicos (TUREK; STINTZING, 2013). Essas mudanças podem levar a alterações de cor, sabor, aroma e aumento da viscosidade dos óleos essenciais (NGUYEN *et al.*, 2009). Além disso, o armazenamento inadequado pode reduzir o efeito tóxico dos óleos essenciais sobre os insetos-praga, ao longo do tempo (MOURA *et al.*, 2021).

REFERÊNCIAS

- ABBASSY, M. A.; ABDELGALEIL, S. A. M.; RABIE, R. Y. A. Insecticidal and synergistic effects of *Majorana hortensis* essential oil and some of its major constituents. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 131, n. 3, p. 225-232, 2009.
- ABEBE, F.; TEFERA, T.; MUGO, S.; BEYENE, Y.; VIDAL, S. Resistance of maize varieties to the maize weevil *Sitophilus zeamais* (Motsch.) (Coleoptera: Curculionidae). **African Journal of Biotechnology**, v. 8, n. 21, p. 5937-5943, 2009.
- 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.
- AFSHAR, F. H.; MAGGI, F.; LANNARELLI, R.; CIANFAGLIONE, K.; ISMAN, M. B. Comparative toxicity of *Helosciadium nodiflorum* essential oils and combinations of their main constituents against the cabbage looper, *Trichoplusia ni* (Lepidoptera). **Industrial Crops and Products**, v. 98, p. 46-52, 2017.
- AGROFIT. **Sistema de agrotóxicos fitossanitários**. Disponível em: <https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 05 jan. 2024.
- ALMEIDA, R. R. P.; SOUTO, R. N. P.; BASTOS, C. N.; SILVA, M. H. L. da; MAIA, J. G. S. Chemical Variation in *Piper aduncum* and biological properties of itres Dillapiole-Rich Essential Oil. **Chemistry & Biodiversity**, v. 6, n. 9, p. 1427-34, 2009.
- ANDRADE, E. H. de A.; GUIMARÃES, E. F.; MAIA, J. G. S. **Variabilidade química em óleos essenciais de espécies de Piper da Amazônia**. Belém: FEQ/UFPA, 2009.
- ARAÚJO, M. J. C.; CÂMARA, C. A. G.; BORN, F. S.; MORAES, M. M.; BADJI, C. A. Acaricidal activity and repellency of essential oil from *Piper aduncum* and its components against *Tetranychus urticae*. **Experimental and Applied Acarology**, v. 57, n. 2, p. 139-155, 2012.
- BALDOQUI, D. C.; BOLZANI, V. D. S.; FURLAN, M.; KATO, M. J.; MARQUES, M. O. Flavones, lignans and terpene from *Piper umbellata* (piperaceae). **Química Nova**, v. 32, n. 5, p.1107-1109, 2009.
- BARROS, F. A. P.; RADUNZ, M.; SCARIOT, M. A.; CAMARGO, T. M.; NUNES, C. F. P.; SOUZA, R. de R.; GILSON, I. K.; HACKBART, H. C. S.; RADUNZ, L. L.; OLIVEIRA, V.; TRAMONTIN, M. A.; RADUNZ, A.; MAGRO, J. D. 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.
- BATISTA, J. M.; LOES, A. A.; AMBROSIO, D. L.; REGASINE, L. O.; KATO, M. J.; BOLZANI, V. S.; CICCARELLI, R. M. B.; FURLAN, M. Natural chromenes and

chromene derivatives as potential anti-trypanosomal agents. **Biological Pharmaceutical Bulletin**, v. 31, p 538-540, 2008.

BERNARD, C. B.; KRISHANMURTY, H. G.; CHAURET, D.; DURST, T.; PHILOGÈNE, B. J. R.; SÁNCHEZ-VINDAS, P.; HASBUN, C.; POVEDA, L.; SAN ROMÁN, L.; ARNASON, J. T. Insecticidal defenses of Piperaceae from the neotropics. **Journal of Chemical Ecology**, v. 21, p. 801-814, 1995.

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.

BHARATHI, V. S. K.; JIAN, F.; JAYAS, D. S. Biology, ecology, and behavior of rusty grain beetle (*Cryptolestes ferrugineus* (Stephens)). **Insects**, v. 14, n. 7, 590, 2023.

BODIWALA, H. S.; SINGH, G.; SINGH, R.; DEY, C. S.; SHARMA, S. S.; BUTANI, K. K.; SINGH, I. Antileishmanial amides and lignans from *Piper cubeba* and *Piper retrofractum*. **Journal of Natural Medicines**, v. 61, n. 4, p. 418-421, 2007.

BOOTH, R. G.; COX, M. L.; MADGE, R. B. **IIE Guides to insects of importance to man: 3, Coleoptera**, London: CAB International, 1990. 384p.

BOYER, S.; ZHANG, H.; LEMPERIÈRE, G. A review of control methods and resistance mechanisms in stored-product insects. **Bulletin of Entomological Research**, v. 102, n. 2, p. 213-229, 2012.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: Plantas para o Futuro: Região Centro-Oeste** / Ministério do Meio Ambiente. Secretaria de Biodiversidade. VIEIRA, R. F.; CAMILLO, J.; CORADIN, L. (Eds.) Brasília, DF: MMA, 2016. 1160 p. (Série Biodiversidade, 44).

BRITO, V. D.; ACHIMÓN, F.; PIZZOLITTO, R. P.; SÁNCHEZ, A. R.; TORRES, E. A. G.; 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.

BROHEM, C. A.; SAWADA, T. C. H.; MASSARO, R. R.; ALMEIDA, R. L.; RIVELLI, D. P.; POPKE, C. D.; SILVA, V. V.; LIMA T. M. de; CURI R.; BARROS, S. B. M.; MARIA-ENGLER, S. S. Apoptosis induction by 4-nerolidylcatechol in melanoma cell lines. **Toxicology in vitro**, v. 23, p. 111-119, 2009.

CAMPOS, T. B.; ZORZENON, F. J. **Pragas dos grãos e produtos armazenados**. São Paulo: Instituto Biológico/Apta, 2006. 1-19p. (Boletim Técnico 17).

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.

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

COSTA, I. O. V.; CHAVES, F. C.; SOARES, J. V. C.; LAMEIRA, R. das C.; PENA, E. de A.; PINTO, A. C. da S.; POHLIT, A. M. Produção de biomassa (folhas e caules) e rendimento de óleo essencial de *Piper aduncum* L., em função de épocas de colheita, nas condições de Manaus-AM. In: III JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA AMAZÔNIA OCIDENTAL, 3., 2008, Manaus. **Anais...** Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2008. p. 89-97. (Embrapa Amazônia Ocidental. Documentos, 57).

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.

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.

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

DYER, L. A.; PALMER, A. D. N. **Piper**: a model genus for studies of phytochemistry, ecology and evolution. New York: Kluwer Academic: Plenum Publishers, p. 228. 2004.

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

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. 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.

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J. L. V.; CATANI, V.; COSTA, C. R. da. **Potencialidades da Pimenta-de-macaco (*Piper aduncum* L.):** Características Gerais e Resultados de Pesquisa. Rio Branco, AO: Embrapa Acre, 2006. 53 p. ii. color. (Embrapa Acre, Documentos, 103).

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J. L. V.; CATANI, V.; LIMA, M. S. D.; ALÉCIO, M. R.; Toxicidade do Óleo de *Piper aduncum* L. adultos de *Cerotoma tingomarianus* Bechyné (Coleoptera: Chrysomelidae). **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 5, p. 485-489, May-Jun 2005.

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. L. V.; MONTEIRO, A. F. M.; GOMES, L. P.; SILVA, I. M. da; SILVA, M. S. de F. Sinérgico alternativo para o manejo da resistência da lagarta-docartucho do milho a piretróides. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 14, n. 3, p. 316-325, 2015.

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J. L. V.; MONTEIRO, A. F. M.; SILVA, I. M. da; GOMES, L. P. Sinérgico alternativo para inseticidas inibidores de acetilcolinesterase. **Revista Agro@ambiente On-line**, v. 11, n. 3, p. 232-240, jul./set., 2017.

GAIA, J. M. D.; MOTA, M. G. C.; CONCEIÇÃO, C. C. C.; MAIA, J. G. S. Spiked pepper: selection of clones toward cropping on the edaphoclimatic conditions from Belém, Brasil. **Horticultura Brasileira**, v. 28, n. 4, p. 418-421, 2010.

GAIA, J. M. D.; MOTA, M. G. C.; CONCEIÇÃO, C. C. C.; MAIA, J. G. S. Morphologic characterization of spiked pepper's germplasm. **Horticultura Brasileira**, v. 29, n. 2, p. 162-167, 2011.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BATISTA, G. C. de; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J.R.S.; OMOTO, C. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920p.

GARCÍA, A. Á.; CARRIL, E. P. U. Metabolismo secundário de plantas. **Reduca (Biología)**, v. 2, n. 3, p. 119-145, 2009.

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, 1918426, 2021.

GOGOSZ, A. M.; BOEGER, M. R. T.; NEGRELLE, R. B.; BERGO, C. Anatomia foliar comparativa de nove espécies do gênero Piper (Piperaceae). **Rodriguésia**, v. 63, n. 2, p. 405-417, 2012.

GUIMARÃES, E. F.; MEDEIROS, E. V. S. S.; QUEIROZ, G. A. **Piper in Flora e Funga do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB12738>>. Acesso em: 21 jan. 2024.

HOWE, R. W. The biology of the two common storage species of *Oryzaephilus* (Coleoptera: Cucujidae). **Annual Applied Biology**, v. 44, n. 2, p. 341-355, 1956.

HUMMELBRUNNER, L. A.; ISMAN, M. B. Acute, sublethal, antifeedant, and synergistic effects of monoterpene essential oil compounds on the tobacco cutworm, *Spodoptera litura* (Lep., Noctuidae). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 2, p. 715-720, 2001.

ISMAN, M. B. Bioinsecticides based on plant essential oils: a short overview. **Zeitschrift für Naturforschung C: A Journal of Biosciences**, v. 75, n. 7-8, p. 179-182. 2020a.

ISMAN, M. B. Commercial development of plant essential oils and their constituents as active ingredients in bioinsecticides. **Phytochemistry Reviews**, v. 19, p. 235–241. 2020b.

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

JARAMILLO, A.; CALEJJAS, R.; DAVIDSON, C.; SMITH, J.; STEVENS, A. C.; TEPE, E. J. A phylogeny of the tropical genus *Piper* using ITS and the chloroplast intron psbJ–petA. **Systematic Botany**, v. 33, n. 4, p. 647-660, 2008.

KIM, S. I.; ROH, J. Y.; KIM, D. H.; LEE, H. S.; AHN, Y. J. Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. **Journal of Stored Products Research**, v. 39, p. 293-303, 2003.

KOUSAR, T.; MEMON, Z.; SAHITO, H. A.; MANGRIO, W. M.; JATOI, F. A.; HUSSAIN, Z.; JATOI, A. Biology, morphology, and varietal distribution of Saw-toothed grain beetle, *Oryzaephilus surinamensis* (L) on date palm dry and semi-dry dates at district: Khairpur, Sindh-Pakistan. **Pure and Applied Biology**, v. 10, n. 3, p. 539-548, 2021.

KRINSKI, D.; MASSAROLI, A.; MACHADO, M. Potencial inseticida de plantas da família Annonaceae. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 36, p. 224-243, jan. 2014.

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.; MIIKE, L. H.; SCUSSEL, V. M.; FARONI, L. R. D. (Eds). **Armazenagem de grãos**. Jundiaí: Instituto Bio Geneziz, 2018. p. 363-381.

LORINI, I. Descrição, biologia e danos das principais pragas de grãos armazenados. In: LORINI, I.; MIIKE, L. H.; SCUSSEL, V. M. **Armazenagem de grãos**, Campinas: IBG, 2002. p. 381-397.

LORINI, I. Insetos que atacam grãos de soja armazenados. In: HOFFMANN-CAMPO, C. B., CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. **Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga**. Brasília, DF: Embrapa, 2012. p. 421-444.

LORINI, I. **Manejo Integrado de Pragas de Grãos de Cereais Armazenados**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2008. 72p.

LORINI, I.; KRZYŻANOWSKI, F. C.; FRANÇA-NETO, J. de B.; HENNING, A. A.; HENNING, F. A. **Manejo Integrado de pragas de grãos e sementes armazenadas**. Brasília, DF: Embrapa, 2015. 84 p.

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

MACHADO, M. P.; BERGO, C. L.; DESCHAMPS, C.; BIZZO, H. R.; BIASI, L. A. Efeito da secagem natural e artificial da biomassa foliar de *Piper hispidinervum* na composição química do óleo essencial. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 1, p. 265-270, 2013.

MAIA, J. G. S.; ZOGHBI, M. G. S.; ANDRADE, E. H. A.; SANTOS, A. S.; SILVA, M. L.; LUZ, A. I. R.; BASTOS, C. N. Constituintes of the essential oil of *Piper aduncum* L. growing in the Amazon Region. **Flavour and Fragrance Journal**, Scotland, v. 13, p. 269-272, 1998.

MARTÍNEZ J. A.; FARONI, L. R. D'A.; 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.

MENDONÇA, J. F.; **Óleos essenciais de piperáceas como alternativa para o controle de pragas**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Acre, Programa de Pós - Graduação em Ciência Florestal, Mestrado em Ciência Florestal, Rio Branco, 2019. 67 f.

MESBAH, H. A.; MOURA, D, A. K.; ROKAIA, A. Z. Efficacy of some plant oils alone and/or combined with different insecticides on the cotton leaf-worm *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lepidoptera: Noctuidae) in Egypt. **Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences**, v. 71, p. 305-328, 2006.

MOURA, E. da S.; FARONI, L. R. D' A. HELENO, F. F.; RODRIGUES, A. A. Z. toxicological stability of *ocimum basilicum* essential oil and its major components in the control of *Sitophilus zeamais*. **Molecules**, v. 26, n. 21, 6483. Oct. 2021.

NASCIMENTO, J. M do; SOUSA, A. H. de; LOPES, L. M.; MENDONÇA, J. F.; SANTOS, A. C. V. dos. Bioactivity of *Piper aduncum* L. essential oil for insect pests of stored products. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 53, e77482, 2023.

NASCIMENTO, J. M. do. **Bioatividade do óleo essencial de *Piper aduncum* L. para diferentes espécies de carunchos (Insecta: Coleoptera) de grãos armazenados**. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Acre, Programa de Pós - Graduação em Produção Vegetal, Doutorado em Agronomia, Rio Branco, 2020. 61 f.

NASCIMENTO, L. D.; do; ALMEIDA, L. Q.; SOUSA, E. M. P. de; COSTA, C. M. L.; COSTA, K. S. da; ANDRADE, E. H. de A.; FARIA, L. J. G. de. Microwave-assisted extraction: an alternative to extract *Piper aduncum* essential oil. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 6, n. 6, p.40619-40638, jun. 2020.sch

NEGREIROS, J. R. da S.; MIQUELONI, D. P. Morphological and phytochemical characterization of *Piper hispidinervum* DC. and *Piper aduncum* L. populations in the state of Acre. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 62, n. 1, p. 078-086, jan/fev, 2015.

NEGREIROS, J. R. da S.; MIQUELONI, D. P. Teor de dilapiol em função do tipo de biomassa aérea em populações de *Piper aduncum* L. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 56, n. 1, p. 73-79, jan./mar. 2013.

NGUYEN, H.; CAMPI, E. M.; JACKSON, W. R.; PATTI, A. F. Effect of oxidative deterioration on flavor and aroma components of lemon oil. **Food Chemistry**, v. 112, p. 388-393. 2009.

NUNES, J. D.; TORRES, G. A.; DAVIDE, L. C.; SALGADO, C. C. Citogenética de *Piper hispidinervum* e *Piper aduncum*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.42, n.7, p.1049-1052, jul. 2007.

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.

OLIVEIRA, J. V.; VENDRAMIM, J. D.; HADDAD, M. L. Bioatividade de pós vegetais sobre o caruncho do feijão em grãos armazenados. **Revista de Agricultura**, v. 74, n. 2, p. 217-227, 1999.

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.

OLIVEIRA, K. G. de; BATISTA, E. A.; KRALJIC, P. da S.; MATTA, R. A. da; BATISTA, R. M.; LUCAS, V. A. S.; FERNANDES, S. H. Desenvolvimento de um fungicida natural à partir de piperina. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 6, n. 7, p. 46433-46447, jul. 2020.

OLIVEIRA, M. S. de; CRUZ, J. N. da.; SILVA, S. G.; COSTA, W. A. da; SOUSA, S. H. B. de; BEZERRA, F. W. F.; TEIXEIRA, E.; SILVA, N. J. N. da; ANDRADE, E. H. de A.; CHAVES NETO, A. M. de J.; CARVALHO JÚNIOR, R. N. de Phytochemical profile, antioxidant activity, inhibition of acetylcholinesterase and interaction mechanism of the major components of the *Piper divaricatum* essential oil obtained by supercritical CO₂. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 145, p. 74-84. 2019.

OLIVEIRA, R. V. **Toxicidade, sinergismo e efeitos subletais do óleo essencial de pimenta-de-macaco (*Piper aduncum* L.) para *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae)**. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Acre, Programa de Pós - Graduação em Produção Vegetal, Doutorado em Agronomia, Rio Branco, 2023. 76f.

OLIVEIRA, R. V.; SOUSA, A. H. de; TAMWING, G. da S.; MOTA, B. B.; SILVA, M. C. da. Toxicidade e sinergismo de óleo essencial de *Piper aduncum* L. em populações de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 53, p. e76287, 2023.

OPIT, G. P.; PHILLIPS, T. W.; AIKINS, M. J.; HASAN, M. M. Phosphine resistance in *Tribolium castaneum* and *Rhyzopertha dominica* from stored wheat in Oklahoma. **Journal of Economic Entomology**, v. 105, n. 4, p. 1107-1114. 2012.

PACHECO, F. V.; AVELAR, R. de P.; 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.

PACHECO, I. A.; PAULA, D. C. **Insetos de grãos armazenados - identificação e biologia**, Campinas: Fundação Cargil, 1995. 228p.

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. Effects of essential oils from 24 plant species on *Sitophilus zeamais* Motsch (Coleoptera, Curculionidae). **Insects**, v. 12, n. 6, p. 532, 2021.

PESSINI, G.; L.; DIAS FILHO, B. P.; NAKAMURA, C. V.; CORTEZ, D. A. G. Antifungal activity of the extracts and neolignans from *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. var. *pallescens* (C. DC.) Yunck. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 16, n. 6, p. 1130-1133, 2005.

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

PINTO, M. V.; NOGUEIRA, J. C. M.; TRESVENZOL, L. M. F.; FIUZA, T. S. Botanical, Phytochemical and physicochemical study of *Euphorbia hirta* L. (Euphorbiaceae). **Revisa Brasileira de Plantas Mediciniais**, (Online), v. 16, n. 3, p. 649-656, 2014.

PORTET, B.; FABRE, N.; ROUMY, V.; GORNITZKA, H.; BOURDY, G., CHEVALLEY, S.; SAUVAIN, M.; VALENTIM, A.; MOULIS, C. Activity-guided isolation of antiplasmodial dihydrochalcones and flavonones from *Piper hostmannianum* var. *berbicense*. **Phytochemistry**, v. 68, p. 1312-1320, 2007.

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, jun. 2012.

PRATES, H. T.; SANTOS, J. P. P. Óleos essenciais no controle de pragas de grãos armazenados. In: LORINI, I.; MIIKE, L. H.; SCUSSEL, V. M. **Armazenagem de Grãos**. Campinas: Instituto Bio Geneziz, 2000. p. 443-461.

QUEIROZ, A. C. de; ALVES, H. da S.; CAVALCANTE-SILVA, L. H. A.; DIAS, T. de L. M. F.; SANTOS, M. da S.; MELO, G. M. de A.; CAMPESATTO, E. A.; CHAVES, M. C. de O.; MOREIRA, M. S. A. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of flavonoids PMT1 and PMT2 isolated from *Piper montealegreanum* Yuncker (Piperaceae) in mice. **Natural Product Research**, v. 28, n. 6, p. 403-406, 2014.

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

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.

ROSADO, L. D. S.; PINTO, J. E. B.; BROTEL, P. P.; BERTOLUCCI, S. K. V.; NICULAU, E. dos S.; ALVES, P. B. Influência do processamento da folha e tipo de secagem no teor e composição química do óleo essencial de manjeriço cv. Maria Bonita. **Ciência e agrotecnologia**, v. 35, n. 2, p. 291-296, 2011.

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.

SANTANA, H. T.; TRINDADE, F. T. T.; STABELI, R. G.; SILVA, A. A. E.; MILITÃO, J. S. T. L.; FACUNDO, V. A. Óleo essencial da folha de espécies de *Piper* exibem atividade larvicida contra o vetor da dengue *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 1, Jan./Mar. 2015.

SANTOS, D. Y. A. C. dos. **Botânica Aplicada**: Metabólitos secundários na interação planta-ambiente. São Paulo: Universidade de São Paulo. Instituto de Biociências. 2015. 142 p.

SANTOS, J. P. dos. Métodos preventivos de controle de insetos-pragas de grãos armazenados. In: LORINI, I.; MIKE, L. H.; SCUSSEL, V. M.; FARONI, L. R. D'A. (Eds). **Armazenagem de grãos**. Jundiaí, SP: Instituto Bio Geneziz, 2018. p. 383-420.

SANTOS, R. I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P. de; MENTZ, L. A.; PRETROVICK, P. R. **Farmacognisia**: da planta ao medicamento. 5 ed. Porto Alegre: UFRGS, Florianópolis: UFSC, 2004. p. 403-434.

SÃO JOÃO, R. E.; RAGA, A. Mecanismo de defesa das plantas contra o ataque de insetos sugadores. São Paulo: Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, **Instituto Biológico**, p. 1-13, abr. 2016. (Documento técnico, 23).

SCALVENZI, L.; YAGUACHE-CAMACHO, B.; MARTÍNEZ, P. C.; GUERRINI, A. Actividad antifungica in vitro de aceites esenciales de *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm. y *Piper aduncum* L. **Bioagro**, p. 39-46, 2016.

SCHUBERT, H. K.; TAYLOR, M. S.; SMITH, J. F.; BORNSTEIN, A. J. A systematic revision of the genus *Manekia* (Piperaceae). **Systematic Botany**, v. 37, p. 587-598, 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.

SILVA JUNIOR, M. C.; WALTER, B. M. T; NOGUEIRA, P. E.; REZENDE, A. V.; MORAIS, R. O.; NÓ-BREGA, M. G. G. Análise arbórea de matas de galeria no Distrito Federal: 21 Levantamentos. In: RIBEIRO, J. F.; FONSECA, C. E. L.; SILVA, J. C. S. (Ed). **Cerrado: Caracterização e Recuperação de Matas de Galeria**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2001. 899 p.

SILVA, A. L. CHAVES, F. C. M.; LAMEIRA, R. C.; BIZZO, H. R. Rendimento e composição do óleo essencial de *Piper aduncum* L. cultivado em Manaus, AM, em função da densidade de plantas e épocas de corte. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, 2013.

SILVA, J. A.; OLIVEIRA, F. F.; GUEDES, E. S.; BITTENCOURT, M. A. L.; OLIVEIRA, R. A. Antioxidant activity of *Piper arboreum*, *Piper dilatatum*, and *Piper divaricatum*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, Botucatu**, v. 16, n. 3, p. 700-706, 2014.

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. 100-127, 2021.

SOUSA, A. H.; FARONI, L. R. D. Atmosfera modificada como alternativa de controle de insetos-pragas de produtos armazenados. In: LORINI, I.; MIKE, L. H.; SCUSSEL, V. M.; FARONI, L. R. A. (Org.). **Armazenagem de Grãos**. 2 ed. Jundiaí: Instituto Bio Geneziz, v. 27, p. 423-454, 2018.

SOUZA, S.P. de; VALVERDE, S. S.; COSTA, N. F.; CALHEIROS, A. S. Chemical composition and antinociceptive activity of the essential oil of *Piper mollicomum* and *Piper rivinoides*. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 8, n. 22, p. 788-793, 2014.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática**. Guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG III. 3. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2012.

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

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.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. MOLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 888 p.

THE PLANT LIST. **Version 1.1. 2013**. Disponível em: <<http://www.theplantlist.org/>> Acesso em: 12 nov 2023.

TISSERAND, R.; YOUNG, R. **Essential oil safety. A guide for health care professionals**. 2ed. London, UK: Churchill Livingstone Elsevier, 2014.

TREMATERRA, P.; VALENTE, A.; ATHANASSIOU, C. G.; KAVALLIERATOS, N. G.; Kernel-kernel interactions and behavioral responses of *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). **Applied Entomology and Zoology**, v. 42, n. 1, p. 129-135, 2007.

TUREK, C.; STINTZING, F. C. Stability of Essential Oils: A Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 12, 2013.

VALADARES, A. C. F.; ALVES, C. C. F.; ALVES, J. M.; DEUS, I. P. B. de; OLIVEIRA FILHO, J. G.; SANTOS, T. C. L. dos; JUNIOR DIAS, H.; CROTTI, A. E. M.; MIRANDA, M. L. D. Essential oils from *Piper aduncum* in florescences and leaves: chemical composition and antifungal activity against *Sclerotinia sclerotiorum*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, n. 3, p. 2691-2699, 2018.

WADT, L. H. de O.; EHRINGHAUS, C.; KAGEYAMA, P. Y. Genetic diversity of "Pimenta Longa" genotypes (*Piper* spp., Piperaceae) of the Embrapa Acre germplasm collection. **Genetics and Molecular Biology**, v. 27, n. 1, p. 74-82, 2004.

WAR, A. R.; PAULRAJ, M. G.; AHMAD, T.; BUHROO, A. A.; HUSSAIN, B.; IGNACIMUTHU, S.; SHARMA, H. C. Mechanisms of plant defense against insect herbivores. **Plant Signaling & Behavior**, v. 7, n. 10, p. 1306-1320, Oct. 2012.

WHITE, G. N. D; BELL, R. J. Effects of mating status, sex ratio and population density on longevity and offspring production of *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) (Coleoptera: Cucujidae). **Experimental Gerontology**, v. 28, p. 617-631, 1993.

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.

3 CAPÍTULO I

**TOXICIDADE E SINERGISMO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Piper
aduncum* L. SOBRE INSETOS-PRAGA DE GRÃOS ARMAZENADOS**

RIO BRANCO - AC

2024

RESUMO

A Amazônia é considerada a maior floresta tropical do mundo e concentra enorme biodiversidade com potencial para investigações acerca de inseticidas botânicos. O controle de pragas de grãos armazenados é majoritariamente realizado por inseticidas sintéticos, o que torna imprescindível a busca por métodos alternativos. O objetivo do trabalho foi avaliar a toxicidade do óleo essencial de *Piper aduncum* (OEPA) e seu efeito sinérgico em misturas binárias com deltametrina sobre *Sitophilus zeamais*, *Oryzaephilus surinamensis*, *Cryptolestes ferrugineus* e *Tribolium castaneum*. Para isso, foram realizados bioensaios de toxicidade por contato em superfície contaminada para cada espécie, para gerar as curvas de concentração-mortalidade e estabelecer as CL_{50} e CL_{95} do OEPA e da deltametrina. Posteriormente, foram preparadas misturas binárias dos inseticidas botânico e sintético, para serem utilizadas em bioensaios de concentração-mortalidade, para determinar o fator de sinergismo (FS). O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC), com quatro repetições, contendo 50 insetos adultos não sexados, expostos a concentrações definidas em testes preliminares. Como esperado, foram observadas diferentes respostas toxicológicas das quatro espécies avaliadas à exposição ao OEPA e a deltametrina, aplicados isoladamente. O inseticida sintético se mostrou mais tóxico do que o OEPA, com exceção da espécie *C. ferrugineus* que se mostrou mais suscetível ao OEPA, com as menores concentrações letais (CL_{50} de $0,007 \mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$ e CL_{95} de $0,017 \mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$). A espécie *T. castaneum* apresentou tolerância tanto ao OEPA, como ao inseticida comercial, com altas razões de toxicidade (RT) para as CL_{50} e CL_{95} , variando de 4,16 a 261,46 vezes maior que a espécie *C. ferrugineus*. Adicionalmente, foi observado que o OEPA potencializou a toxicidade da deltametrina para as espécies avaliadas, com fatores de sinergismo variando de 1,42 a 6,30. A partir dos resultados observados, conclui-se que o OEPA é uma opção promissora para o manejo integrado de pragas de grãos armazenados, devido a sua atividade inseticida e ação sinergista em misturas com inseticidas comerciais.

Palavras-chave: Carunchos. Inseticidas botânicos. Piperaceae. Potencialização.

ABSTRACT

The Amazon is considered the largest tropical forest in the world and contains enormous biodiversity with potential for research into botanical insecticides. Pest control of stored grains is mostly carried out using synthetic insecticides, which makes the search for alternative methods essential. The objective of the work was to evaluate the toxicity of *Piper aduncum* essential oil (OEPA) and its synergistic effect in binary mixtures with deltamethrin on *Sitophilus zeamais*, *Oryzaephilus surinamensis*, *Cryptolestes ferrugineus* and *Tribolium castaneum*. To this end, contact toxicity bioassays were carried out on a contaminated surface for each species, to generate concentration-mortality curves and establish the LC₅₀ and LC₉₅ of OEPA and deltamethrin. Subsequently, binary mixtures of botanical and synthetic insecticides were prepared to be used in concentration-mortality bioassays to determine the synergism factor (FS). The experimental design used was completely randomized (DIC), with four replications, containing 50 unsexed adult insects, exposed to concentrations defined in preliminary tests. As expected, different toxicological responses were observed from the four species evaluated to the exposure of OEPA and deltamethrin, applied alone. The synthetic insecticide proved to be more toxic than OEPA, with the exception of the species *C. ferrugineus*, which was more susceptible to OEPA, with the lowest lethal concentrations (LC₅₀ of 0.007 $\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$ and LC₉₅ of 0.017 $\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$). The species *T. castaneum* showed tolerance to both OEPA and the commercial insecticide, with high toxicity ratios (RT) for LC₅₀ and LC₉₅, ranging from 4.16 to 261.46 times higher than the species *C. ferrugineus*. Additionally, it was observed that OEPA increased the toxicity of deltamethrin for the species evaluated, with synergism factors ranging from 1.42 to 6.30. From the results observed, it is concluded that OEPA is a promising option for the integrated management of stored grain pests, due to its insecticidal activity and synergistic action in mixtures with commercial insecticides.

Keywords: Botanical insecticides. Piperaceae. Potentiation. Woodworms.

3.1 INTRODUÇÃO

As perdas de pós-colheita causadas por insetos-praga em grãos armazenados são significativas e não devem ser subestimadas, uma vez, que atingem diretamente o produto pronto para a comercialização. No ambiente de armazenamento, ocorre a infestação de pragas primárias e secundárias que, simultaneamente, afetam a massa de grãos, causando danos irreversíveis e promovendo o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis (BETT *et al.*, 2016; SOUZA *et al.*, 2018).

Entre as pragas primárias internas, destaca-se o *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae), que ataca desde o campo até o armazenamento, uma vez que as larvas e os adultos se alimentam de grãos inteiros e sadios. Por outro lado, pragas secundárias, como o *Oryzaephilus surinamensis* L. (Coleoptera: Silvanidae), *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens, 1831) (Coleoptera: Laemophloeidae) e o *Tribolium castaneum* (H.) (Coleoptera: Tenebrionidae), atacam grãos que estão quebrados, trincados ou danificados pelas pragas primárias (LORINI *et al.*, 2015).

Nas unidades de armazenamento, o controle dessas pragas é predominantemente realizado por meio da aplicação de inseticidas preventivos, pertencentes ao grupo dos piretróides e organofosforados, juntamente com a fumigação usando fosfina (SOUSA *et al.*, 2008; PIMENTEL *et al.*, 2012). No entanto, devido ao uso contínuo das mesmas substâncias ativas, sem o devido manejo, tem sido relatada a ocorrência de populações resistentes a inseticidas sintéticos (MOTA-SANCHEZ; WISE, 2023).

Uma alternativa promissora para o manejo integrado de pragas é o uso de óleos essenciais extraídos de plantas aromáticas, que se destacam por serem mais seletivos e biodegradáveis (WALIA *et al.*, 2017). A extração de óleos essenciais é realizada por métodos físicos, como a destilação a vapor ou a seco (ISO, 2021), utilizando diversas partes das plantas, como sementes, caules, folhas e flores (ALEXANDRE *et al.*, 2018).

O gênero *Piper*, pertencente à família *Piperaceae*, destaca-se por seu reconhecido potencial na produção de metabolitos secundários com propriedades bioativas, utilizadas na medicina popular (PEREIRA *et al.*, 2020), no controle de vetores de doenças humanas (OLIVEIRA *et al.*, 2013) e agricultura (RODRIGUES; OLIVEIRA, 2021). Entre os representantes desse gênero, a espécie *Piper aduncum*

L., originária da Floresta Amazônica, tem sido objeto de estudo devido à complexa composição do seu óleo essencial, composto por terpenoides e fenilpropanoides, com o dilapiol identificado como o componente majoritário (DUROFIL *et al.*, 2021).

O óleo essencial de *Piper aduncum* (OEPA) demonstrou eficácia comprovada contra diversas espécies de insetos-praga, incluindo *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) (LIMA *et al.*, 2009), *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae) (TURCHEN *et al.*, 2016) e *Cerotoma tingomarianus* Bechyné (Coleoptera: Chrysomelidae) (FAZOLIN *et al.*, 2005). Além disso, sua toxicidade para o *S. zeamais* (ESTRELA *et al.*, 2006), *T. castaneum* (JARAMILLO-COLORADO *et al.*, 2015); *Cryptolestes ferrugineus* (NASCIMENTO, *et al.*, 2023), *Callosobruchus maculatus* (F.) (Chrysomelidae: Bruchinae) (OLIVEIRA *et al.*, 2017) e *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) (FAZOLIN *et al.*, 2007) tem se mostrado eficaz para a proteção de grãos armazenados.

A atividade sinérgica do OEPA também foi documentada em pesquisas envolvendo *S. frugiperda*, o que está associado à presença de lignanas ligadas a um grupo metilenodioxifenil. Essas substâncias inibem enzimas detoxificantes envolvidas no mecanismo de resistência a inseticidas (LIU, 2015), em particular, os piretróides (FAZOLIN *et al.*, 2016). Portanto, o OEPA tem sido sugerido como uma alternativa ao sinergista comercial butóxido de piperonila, com o propósito de potencializar a ação de inseticidas sintéticos (OLIVEIRA *et al.*, 2023).

Nesse contexto, é crucial continuar pesquisas com inseticidas botânicos compatíveis com o manejo integrado de pragas, visando a redução de efeitos indesejáveis e a diminuição do uso indiscriminado de inseticidas sintéticos (COITINHO *et al.*, 2011). Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar a toxicidade do OEPA e da deltametrina quando aplicados de forma isolada, bem como o efeito sinérgico das combinações binárias (OEPA + deltametrina) sobre o gorgulho-do-milho (*S. zeamais*) e as pragas secundárias *O. surinamensis*, *C. ferrugineus* e *T. castaneum*.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

A extração do OEPA foi realizada no Laboratório de Produtos Naturais da Fundação de Tecnologia do Estado do Acre (FUNTAC) e os bioensaios de toxicidade e sinergismo foram conduzidos no laboratório de Manejo Integrado de Pragas da Universidade Federal do Acre (UFAC), Campus Rio Branco.

3.2.1 Criação de insetos

Foram estabelecidas criações de *S. zeamais*, *T. castaneum*, *O. surinamensis* e *C. ferrugineus*, a partir de insetos coletados em unidades armazenadoras no entorno de Rio Branco, Acre. Os insetos foram criados em frascos de vidro de 1,5 L, fechados com tampas plásticas perfuradas e revestidas internamente com tecido organza, para permitir as trocas gasosas, sob condições constantes de temperatura (27 ± 2 °C), umidade relativa ($70\pm 5\%$) e ecotofase de 24 h.

Como substrato alimentar, foram utilizados 250 g grãos de milho com teor de água de 13% em base úmida (b.u.), previamente expurgados com fosfina (PH_3) e mantidos sob refrigeração para evitar a reinfestação. Para *S. demais* foram utilizados grãos íntegros e para as pragas secundárias (*T. castaneum*, *O. surinamensis* e *C. ferrugineus*) foram fornecidos grãos triturados, após 30 dias da realização do expurgo.

3.2.2 Obtenção e extração do óleo essencial

A coleta do material vegetal foi realizada em plantas adultas, com cerca de cinco anos de idade, de *P. aduncum* localizadas no campus da Universidade Federal do Acre, no município de Rio Branco, capital do estado do Acre, sob as coordenadas geográficas $9^\circ 57' 34,9''$ S e $67^\circ 51' 30,6''$ W, no período da manhã, durante o mês de agosto de 2021.

Inicialmente foi efetuado o corte das plantas a partir de 0,4 m do solo, em seguida foi realizada a triagem do material a fim de separar as folhas e ramos. Posteriormente, as folhas foram secas parcialmente sob condição ambiente e levadas para a estufa a 45 °C, até atingir massa constante.

A identificação do material vegetal foi realizada pela Dra. Elsie Franklin Guimarães, do Herbário do Jardim Botânico do Rio de Janeiro (Herbário RJ). A exsicata de *P. aduncum* foi depositada no Herbário UFACPZ da Universidade Federal do Acre, sob o número de registro: UFACPZ 20.646.

Para a extração do OEPA, utilizou-se o método de extração por hidrodestilação (Figura 1), em um aparelho Clevenger, conectado a um sistema de refrigeração e a um balão de fundo redondo com capacidade de 5 L, sobre manta aquecedora em cerâmica. Para cada extração, foi utilizado 150 g da biomassa seca misturada a 2 L de água destilada no balão volumétrico.

Inicialmente a manta térmica aquecedora foi ligada e regulada à temperatura de ebulição de aproximadamente 120 °C, sendo o tempo médio de extração de 240 minutos. Após o processo de ebulição e condensação, o OEPA foi coletado juntamente com o hidrolato em frascos Erlenmeyer. Em seguida, foi obtida a separação das amostras de óleo essencial, por decantação em um funil de separação e a secagem com uso de sulfato de sódio anidro (Synth, 99%, Brasil). Por fim, cada amostra de óleo essencial foi armazenada em frascos do tipo âmbar, mantidos sob refrigeração em câmaras do tipo B.O.D. a 4 °C.

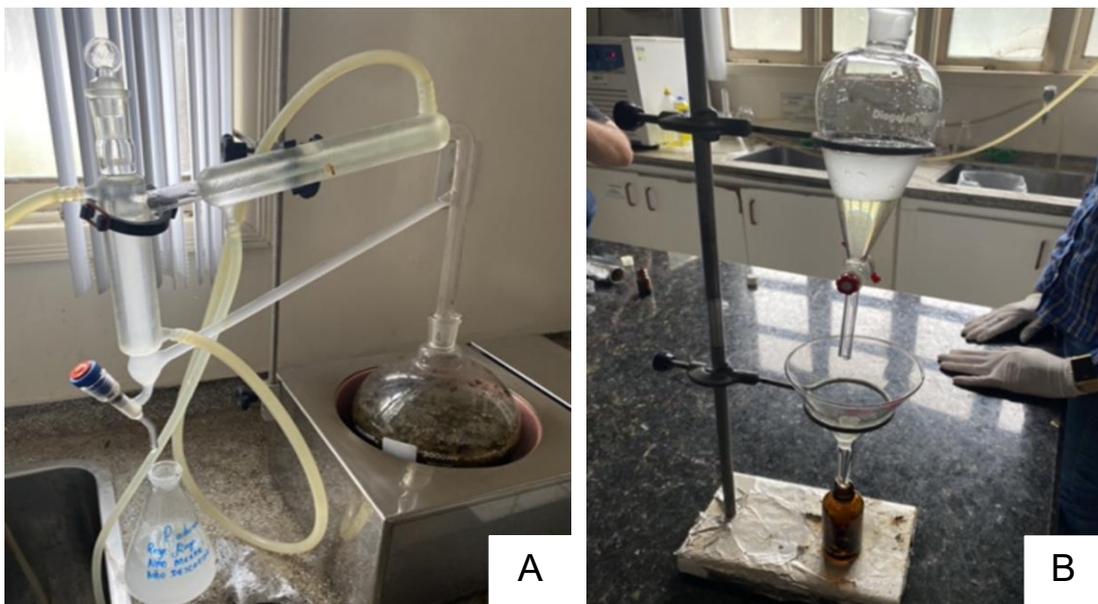


Figura 1 - Obtenção do óleo essencial de *Piper aduncum* L. (OEPA). (A) Extração pelo método de hidrodestilação utilizando aparelho Clevenger (B) Separação e secagem do OEPA

3.2.3 Bioensaios de toxicidade por contato em superfície contaminada

Os bioensaios de toxicidade por contato em superfície contaminada, das quatro espécies de carunchos, foram realizados separadamente, com o OEPA e o inseticida sintético deltametrina (K-Obiol® 25 EC), gerando curvas de concentração-mortalidade para estabelecer as CL₅₀ e CL₉₅.

Para os bioensaios de toxicidade com inseticida sintético, utilizou-se um piretróide à base de ingrediente ativo deltametrina, nome comercial K-Obiol® 25 EC, pertencente a classe toxicológica 4 - Produto pouco tóxico.

Previamente foram realizados testes preliminares para estabelecer as concentrações mínimas e máximas, que causam mortalidade superior a zero e inferior a 100%. Com base nestas informações foram determinados pelo menos cinco intervalos de concentrações de OEPA e deltametrina, a serem utilizados nos bioensaios definitivos para cada espécie avaliada (Tabelas 1 e 2). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), com quatro repetições.

Tabela 1 - Concentrações de OEPA utilizadas nos bioensaios de toxicidade por contato em superfície contaminada para insetos-praga de grãos armazenados

Espécies	Concentrações (µL.cm ⁻²)					
<i>Sitophilus zeamais</i>	0,079	0,156	0,458	0,692	0,973	1,834
<i>Oryzaephilus surinamensis</i>	0,005	0,010	0,039	0,079	0,244	0,708
<i>Cryptolestes ferrugineus</i>	0,003	0,005	0,006	0,009	0,012	0,013
<i>Tribolium castaneum</i>	-	0,458	0,701	1,165	1,768	2,835

Tabela 2- Concentrações de deltametrina (K-Obiol® 25 EC) utilizadas nos bioensaios de toxicidade por contato em superfície contaminada para insetos-praga de grãos armazenados

Espécies	Concentrações (µL.cm ⁻²)					
<i>Sitophilus zeamais</i>	0,001	0,003	0,005	0,010	0,020	0,079
<i>Oryzaephilus surinamensis</i>	-	0,003	0,005	0,010	0,020	0,079
<i>Cryptolestes ferrugineus</i>	0,001	0,005	0,010	0,039	0,079	0,156
<i>Tribolium castaneum</i>	0,001	0,004	0,010	0,039	0,156	0,236

As unidades experimentais foram constituídas por placas de Petri de 9 cm de diâmetro e 1,5 cm de altura, com o fundo recoberto com papel filtro umedecido com 1000 μL de cada concentração do óleo essencial ou inseticida sintético (Figura 2). A aplicação da calda foi efetuada com pipetador automático, e a diluição para obtenção das concentrações foi realizada em solvente acetona. Após a evaporação total do solvente (cerca de 5 minutos), foram acondicionados 50 insetos adultos não sexados em cada placa. No tratamento controle, os insetos foram acondicionados em placas de Petri, umedecidos apenas com acetona.

A mortalidade dos insetos foi avaliada após 24 horas de exposição. Foram considerados mortos quando não apresentavam nenhum movimento ao serem estimulados com pincel, ou quando não conseguiam se locomover.



Figura 2 - Bioensaios de toxicidade por contato em superfície contaminada utilizando placas de Petri com fundo recoberto com papel filtro

3.2.4 Bioensaios de sinergismo

Para avaliar o potencial sinérgico do OEPA, foram realizados testes preliminares, utilizando a concentração subletal do OEPA (1/4 da CL_{50} do OEPA) obtida para cada espécie (*S. zeamais* - 0,052 $\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$; *T. castaneum* 0,796 $\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$; *O. surinamensis* - 0,011 $\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$ e *C. ferrugineus* - 0,004 $\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$), combinada com concentrações de deltametrina, para estimar as concentrações máximas e mínimas,

dentro do intervalo de 5% a 95%, conforme metodologia adaptada de Almeida *et al.* (2017).

Para cada espécie, foram estabelecidas cinco concentrações definitivas de combinações de OEPA + deltametrina (K-Obiol® 25 EC), apresentados na tabela 3. As misturas binárias foram realizadas a partir da combinação da concentração subletal de OEPA e das concentrações de inseticida sintético. Para a realização e avaliação dos bioensaios de sinergismo, foram adotados os mesmos procedimentos metodológicos em superfície contaminada, descritos na subseção 3.2.3.

Tabela 3 - Concentrações das misturas binárias de OEPA ($\frac{1}{4}$ da CL₅₀) e deltametrina utilizadas nos bioensaios de toxicidade por contato em superfície contaminada

Espécies	Concentrações ($\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$)					
<i>Sitophilus zeamais</i>	0,001	0,002	0,005	0,010	0,019	0,039
<i>Oryzaephilus surinamensis</i>	0,002	0,005	0,008	0,016	0,039	0,079
<i>Cryptolestes ferrugineus</i>	0,0008	0,0013	0,003	0,005	0,009	0,019
<i>Tribolium castaneum</i>	0,001	0,004	0,009	0,038	0,050	0,156

3.2.5 Análises estatísticas

Para todos os bioensaios, os valores de mortalidade dos insetos submetidos aos tratamentos foram corrigidos pela fórmula de Abbott (1925), levando-se em consideração a mortalidade ocorrida no controle. Os dados de concentração-mortalidade foram submetidos a análise de Probit (PROC PROBIT, SAS Institute 2011), para gerar curvas e estimar as CL₅₀ e CL₉₅ tanto das misturas binárias, como do inseticida químico e do OEPA. Os intervalos de confiança para as razões de toxicidade (RT) foram calculados conforme Robertson e Preisler (1992).

Para avaliar o efeito sinérgico, um fator de sinergismo (FS) foi calculado de acordo com Guedes *et al.* (1995), usando a seguinte equação: FS = CL₅₀ do inseticida sintético/CL₅₀ da mistura binária entre OEPA e o inseticida sintético), na qual valores de FS acima de 1 indicam efeito sinérgico; aqueles iguais a 1 efeito aditivo; e aqueles abaixo de 1, uma resposta antagonista, em relação ao inseticida sintético puro (ABBASSY *et al.*, 2009).

3.3 RESULTADOS

O modelo Probit se mostrou adequado para analisar os dados de concentração-mortalidade, pois foram observados baixos valores de χ^2 e altos valores de P para cada curva gerada ($\chi^2 < 6,80$; $P > 0,05$).

3.3.1 Toxicidade do OEPA

A toxicidade do OEPA para as espécies de insetos-praga de produtos armazenados foi determinada por meio de curvas de concentração-mortalidade. Como esperado, observou-se uma variação nas inclinações das curvas, que variaram de 1,32 a 4,08, evidenciando uma heterogeneidade toxicológica entre as quatro espécies analisadas, conforme apresentado na tabela 4. A variação toxicológica do OEPA para essas espécies também pode ser observada nas razões de toxicidade (RT), que variaram de 5,99 a 261,45.

Destaca-se que a praga secundária *Cryptolestes ferrugineus* apresentou as menores concentrações letais (CL_{50} de $0,007 \mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$ e CL_{95} de $0,017 \mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$), o que a qualifica como a espécie padrão de suscetibilidade ao inseticida botânico. Analisando a tabela, é possível verificar que a inclinação da curva para essa espécie foi alta ($4,08 \pm 0,30$), indicando uma rápida resposta de mortalidade sob pequenas variações de concentrações do OEPA.

Quanto às CL_{50} e CL_{95} do OEPA para insetos adultos de *Oryzaephilus surinamensis* foram estimados valores de $0,041 \mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$ e $0,728 \mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$, indicando uma moderada toxicidade do bioinseticida. No caso de *Sitophilus zeamais*, observou-se uma menor toxicidade do OEPA, com CL_{50} de $0,186 \mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$ e CL_{95} de $2,462 \mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$.

Por outro lado, a espécie *Tribolium castaneum* demonstrou notável tolerância ao inseticida botânico, com altas razões de toxicidade, com CL_{50} e CL_{95} de 225,99 e 261,46 vezes maiores que *C. ferrugineus*. Além disso, suas concentrações letais foram estatisticamente superiores aos das demais espécies, conforme o intervalo de confiança ao nível de 95% de probabilidade. Nesse contexto, em termos práticos, a toxicidade para *T. castaneum* deve ser considerada no estabelecimento de concentrações, em condições de armazenamento, uma vez que as CL's efetivas para esta espécie também são eficazes para as demais.

3.3.2 Toxicidade do inseticida sintético

Ao contrário do OEPA, as espécies de carunchos exibiram uma resposta mais homogênea à deltametrina, com inclinações das curvas variando de 1,03 a 1,62 (Tabela 5). De forma geral, com exceção da espécie *C. ferrugineus*, as concentrações letais (CL₅₀ e CL₉₅) do inseticida sintético foram menores do que as obtidas para o inseticida botânico.

Especificamente, a espécie *S. zeamais* apresentou as menores CL₅₀ e CL₉₅, sendo considerada a espécie padrão de suscetibilidade. No caso de *O. surinamensis*, foram observadas razões de toxicidade relativamente baixas (RT₅₀ de 1,165 e RT₉₅ de 1,77). Em relação a *C. ferrugineus*, a deltametrina demonstrou baixa toxicidade, com RT₉₅ 5,04 vezes maior do que a espécie *S. zeamais*. Importante destacar que as CL₅₀ e CL₉₅ do OEPA (0,007 e 0,017 $\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$) para *C. ferrugineus* foram inferiores as estimadas para a deltametrina (0,021 e 0,477 $\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$), demonstrando que o inseticida botânico foi mais tóxico e eficaz para essa espécie. Conforme observado nos bioensaios com OEPA, *T. castaneum* demonstrou ser a espécie mais tolerante à deltametrina, apresentando as maiores CL₅₀ (0,038 $\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$) e CL₉₅ (1,531 $\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$).

Tabela 4 - Toxicidade residual relativa de OEPA em adultos de *Cryptolestes ferrugineus*, *Oryzaephilus surinamensis*, *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum*, após 24 h de exposição

Espécies	Inclinação \pm E.P.M.	CL ₅₀ (IF 95%) ($\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$)	RT (IC 95%) CL ₅₀	CL ₉₅ (IF 95%) ($\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$)	RT (IC 95%) CL ₉₅	χ^2	P
<i>Cryptolestes ferrugineus</i>	4,08 \pm 0,30	0,007 (0,0069-0,0073)	-	0,017 (0,015-0,020)	-	6,73	0,15
<i>Oryzaephilus surinamensis</i>	1,32 \pm 0,09	0,041 (0,034-0,051)	5,99 (4,81-7,47)	0,728 (0,496-1,192)	41,90 (26,32-66,68)	6,54	0,16
<i>Sitophilus zeamais</i>	1,46 \pm 0,13	0,185 (0,146-0,225)	26,72 (19,78-36,09)	2,462 (1,762-3,891)	141,49 (78,30-255,67)	5,96	0,20
<i>Tribolium castaneum</i>	3,53 \pm 0,28	1,565 (1,435-1,718)	225,99 (178,99-285,33)	4,572 (3,801-5,832)	261,46 (167,00-409,34)	5,66	0,13

E.P.M = Erro padrão da media; CL₅₀ e CL₉₅ = Concentrações letais; RT = Razão de toxicidade da CL₅₀ e CL₉₅; χ^2 = Qui-quadrado; P= Probabilidade.

Tabela 5 - Toxicidade residual relativa de deltametrina (K-Obiol® 25 EC) em adultos de *Sitophilus zeamais*, *Oryzaephilus surinamensis*, *Cryptolestes ferrugineus* e *Tribolium castaneum*, após 24 horas de exposição.

Espécies	Inclinação ± E.P.M.	CL ₅₀ (IF 95%) (µL.cm ⁻²)	RT (IC 95%) CL ₅₀	CL ₉₅ (IF 95%) (µL.cm ⁻²)	RT (IC 95%) CL ₉₅	χ ²	P
<i>Sitophilus zeamais</i>	1,62±0,12	0,009 (0,008-0,011)	-	0,095 (0,067-0,150)	-	6,80	0,15
<i>Oryzaephilus surinamensis</i>	1,57±0,14	0,015 (0,013-0,018)	1,65 (1,28-2,12)	0,168 (0,110-0,301)	1,77 (0,93-3,37)	5,74	0,12
<i>Cryptolestes ferrugineus</i>	1,21±0,09	0,021 (0,017-0,026)	2,29 (1,72-3,07)	0,477 (0,304-0,863)	5,04 (2,45-10,40)	6,74	0,15
<i>Tribolium castaneum</i>	1,03±0,08	0,038 (0,030-0,050)	4,16 (2,95-5,88)	1,531 (0,862-3,260)	16,20 (6,94-37,80)	6,07	0,19

E.P.M = Erro padrão da media; CL₅₀ e CL₉₅ = Concentrações letais; RT = Razão de toxicidade da CL₅₀ e CL₉₅; χ² = Qui-quadrado; P= Probabilidade.

3.3.3 Ação sinergista do OEPA

Para os bioensaios de sinergismo, ocorreu ajuste dos dados ao modelo Probit, com χ^2 variando de 6,07 a 6,55 e p-valor de 0,16 a 0,19. Misturas binárias entre concentrações subletais de OEPA (equivalentes a 1/4 da CL₅₀ do OEPA para cada espécie) e concentrações de deltametrina, foram preparadas e submetidas a avaliações em bioensaios de concentração-mortalidade. Os resultados, incluindo os valores de CL₅₀ e CL₉₅ para cada espécie, estão apresentados na tabela 6.

As curvas de concentração-mortalidade, apresentaram variações de 0,99 a 1,99, indicando homogeneidade nas respostas entre as espécies avaliadas. Para todas as quatro espécies investigadas, o OEPA promoveu um aumento na toxicidade da deltametrina, evidenciado pelas baixas concentrações letais estimadas para as misturas binárias, em comparação ao uso isolado do OEPA e do inseticida químico (Tabela 6). A melhor combinação foi observada para a espécie *C. ferrugineus*, que apresentou baixos valores de CL₅₀ (0,003 $\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$) e CL₉₅ (0,024 $\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$).

Na figura 3, são apresentados os fatores de sinergismo das misturas binárias entre o inseticida sintético e o OEPA. Em todas as espécies avaliadas, foram observados valores superiores a 1, indicando um efeito sinérgico do OEPA sobre a deltametrina. O maior fator de sinergismo observado (6,30) ocorreu na espécie *Cryptolestes ferrugineus*, seguido por *Tribolium castaneum* (3,04), *Sitophilus zeamais* (2,94) e *Oryzaephilus surinamensis* (1,42).

Tabela 6 - Toxicidade residual relativa das combinações de OEPA + deltametrina (K-Obiol® 25 EC) em adultos de *Sitophilus zeamais*, *Cryptolestes ferrugineus*, *Oryzaephilus surinamensis* e *Tribolium castaneum*, após 24 horas de exposição.

Espécies	Inclinação ± E.P.M.	CL ₅₀ (IF 95%) (µL.cm ⁻²)	RT (IC 95%) CL ₅₀	CL ₉₅ (IF 95%) (µL.cm ⁻²)	RT (IC 95%) CL ₉₅	χ ²	P
<i>Sitophilus zeamais</i>	1,24±0,11	0,003 (0,002-0,004)	-	0,065 (0,043-0,115)	2,73 (1,53-4,88)	6,55	0,16
<i>Cryptolestes ferrugineus</i>	1,92±0,14	0,003 (0,003-0,004)	1,07 (0,82-1,41)	0,024 (0,018-0,034)	-	6,46	0,17
<i>Oryzaephilus surinamensis</i>	1,99±0,14	0,011 (0,009-0,012)	3,42 (2,79-4,18)	0,071 (0,055-0,099)	2,97 (1,68-5,25)	6,55	0,16
<i>Tribolium castaneum</i>	0,99±0,08	0,013 (0,010-0,016)	4,04 (3,00-5,44)	0,577 (0,325-1,267)	24,15 (11,52-50,62)	6,07	0,19

E.P.M = Erro padrão da media; CL₅₀ e CL₉₅ = Concentrações letais; RT = Razão de toxicidade da CL₅₀ e CL₉₅; χ² = Qui-quadrado; P= Probabilidade.

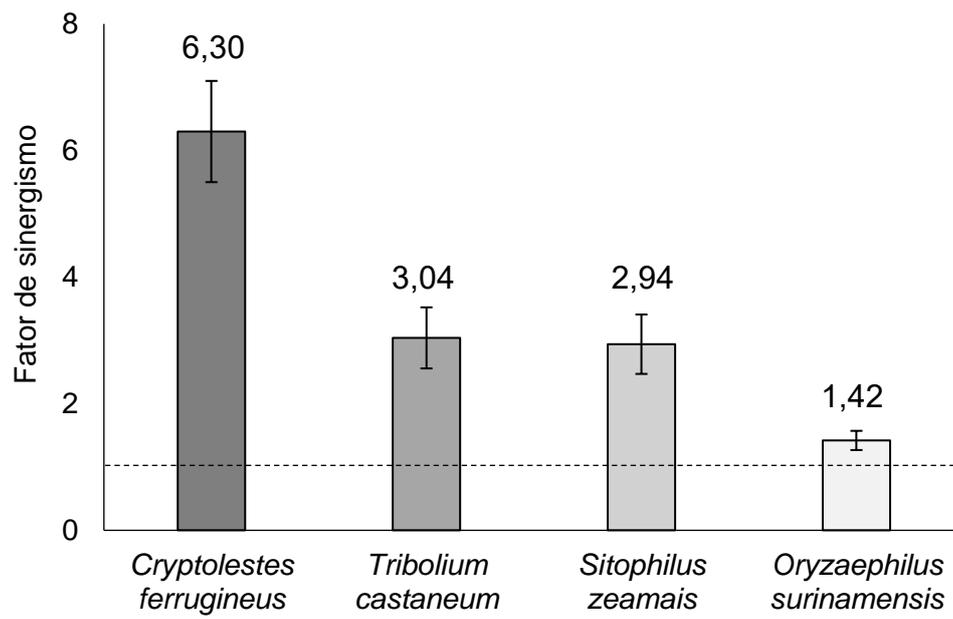


Figura 3 - Fatores de sinergismo das misturas binárias (OEPA + K-Obiol® 25 EC) contra pragas de grãos armazenados. As barras representam os intervalos de confiança com 95% de probabilidade e a linha pontilhada como FS= 1, define o efeito das combinações como sinérgico (FS>1)

3.4 DISCUSSÃO

No armazenamento de grãos, é comum a coexistência de mais de uma espécie de insetos-praga, o que torna crucial conhecer as diferenças de suscetibilidade para auxiliar no planejamento das estratégias de controle. O OEPA foi tóxico para as quatro pragas de grãos armazenados, que como esperado, exibiram respostas toxicológicas heterogêneas, refletindo-se nas razões de toxicidade e nas inclinações das curvas.

Cryptolestes ferrugineus destacou-se como a espécie mais suscetível ao OEPA. É importante notar que a curva de resposta para essa espécie foi acentuada, o que indica que pequenos aumentos na concentração do OEPA resultaram em maiores taxas de mortalidade (CARVALHO *et al.*, 2017) e conseqüentemente, houve homogeneidade de resposta dentro da população avaliada. A maior toxicidade do OEPA para essa espécie também foi corroborada por Nascimento *et al.* (2023), que obtiveram CL₅₀ de 0,0005 µL cm⁻², utilizando o o mesmo método de intoxicação.

Por outro lado, *Tribolium castaneum* demonstrou maior tolerância ao OEPA, apresentando razões de toxicidade elevadas, em comparação a *C. ferrugineus*, indicando que são necessárias maiores concentrações do inseticida botânico para causar a mortalidade de 50% e 95% da população. Essa menor toxicidade observada para *T. castaneum* já foi relatada na literatura, em bioensaios com óleos essenciais de *Cupressus lusitanica* e *Eucalyptus saligna* (BETT *et al.*, 2016) e de fumigação com cumarina (RAJASHEKAR, 2016).

Os adultos de *C. ferrugineus* são pequenos coleópteros (1,5-2,0 mm), com antenas longas que representam até 2/3 do comprimento do corpo (REES, 1996). Em contraste, *T. castaneum* são insetos maiores, podendo atingir até 4 mm de comprimento (PACHECO; PAULA, 1995). Assim, é possível que a diferença de tamanho e massa corporal dessas espécies esteja relacionada à tolerância de *T. castaneum* e à suscetibilidade de *C. ferrugineus* ao OEPA.

A espécie *Oryzaephilus surinamensis* mostrou-se suscetível ao OEPA, enquanto *Sitophilus zeamais*, apresentou razões de toxicidade elevadas para CL₅₀ e CL₉₅. Como era esperado, houve uma variação nas respostas das quatro espécies avaliadas, o que enfatiza a importância de determinar adequadamente a concentração letal do OEPA, especialmente porque essas espécies frequentemente colonizam a mesma massa de grãos.

Ao analisar as concentrações elevadas do OEPA por meio da exposição de insetos adultos à superfície contaminada, observou-se intensa agitação, seguida de perda de mobilidade e, finalmente, mortalidade em um período de 24 horas. De acordo com Afshar *et al.* (2017), o dilapiol age inibindo vias enzimáticas envolvidas na detoxificação de moléculas tóxicas, enquanto os terpenos presentes no óleo essencial causam neurotoxicidade ou auxiliam na ação de outros constituintes que penetram na cutícula dos insetos devido à sua lipofilicidade. Portanto, o efeito inseticida do OEPA é influenciado pela proporção dos compostos químicos e pela sinergia entre eles (ABBASSY *et al.*, 2009; HUMMELBRUNNER; ISMAN, 2001; MESBAH *et al.*, 2006).

Uma vez que o uso de inseticidas botânicos ainda não é comum no controle de pragas de grãos armazenados, a toxicidade do OEPA tende a ser favorável, especialmente na ausência de pressão de seleção e resistência cruzada com outros inseticidas. A toxicidade do OEPA por contato em superfície contaminada, contato tópico e fumigação para insetos-praga de grãos armazenados já foi documentada na literatura (ESTRELA *et al.*, 2006).

No que se refere à deltametrina, as respostas toxicológicas das espécies foram relativamente homogêneas, com exceção da espécie *Tribolium castaneum*, que apresentou as maiores razões de toxicidade. No entanto, mesmo para essa espécie, os valores de CL₅₀ e CL₉₅ foram inferiores aos obtidos nos bioensaios com o OEPA. A espécie *Sitophilus zeamais* mostrou-se a mais suscetível ao inseticida sintético, com concentrações letais inferiores as relatadas para exposição à permetrina (27 a 127,7 $\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$) (SILVA *et al.*, 2013).

Em contraste com o que foi observado para o OEPA, a deltametrina demonstrou baixa toxicidade para *Cryptolestes ferrugineus*. Na literatura, já foram relatadas populações de *C. ferrugineus* com resistência à fosfina (NAYAK *et al.*, 2012) e ao malation (WILSON, 1993), sugerindo a possibilidade de resistência cruzada ou múltipla da população avaliada à deltametrina.

A aplicação de inseticidas do grupo dos piretróides e organofosforados tem sido comum na proteção de grãos armazenados nos últimos anos. No entanto, o uso indiscriminado desses produtos, sem um manejo adequado, resultou no desenvolvimento de populações resistentes. Para as quatro espécies avaliadas, já foram relatados casos de resistência à fosfina e aos inseticidas líquidos de contato (MOTA-SANCHEZ; WISE, 2023; RIBEIRO *et al.*, 2003; PIMENTEL *et al.*, 2009).

Com base nos resultados obtidos, observou-se que *Tribolium castaneum* apresentou maior tolerância à deltametrina. Em vários países, foram relatados casos de resistência a inseticidas sintéticos em populações de *T. castaneum* (MOTA-SANCHEZ; WISE, 2023), incluindo ingredientes ativos do grupo dos piretróides. Ahmad *et al.* (2012) sugerem a ocorrência de resistência cruzada entre espinosades e deltametrina em populações de *T. castaneum*, principalmente devido à desintoxicação metabólica por várias enzimas.

É importante ressaltar que o OEPA aumentou a toxicidade da deltametrina para todas as espécies avaliadas. A utilização da concentração subletal do OEPA ($\frac{1}{4}$ da CL_{50}) resultou em menores razões de toxicidade, mesmo para as espécies *C. ferrugineus* e *T. castaneum*, como evidenciado pelos fatores de sinergismo de 6,30 e 3,40 em relação ao uso isolado da deltametrina. Isso sugere que é possível reduzir as concentrações de deltametrina na presença do OEPA, suprimindo possíveis mecanismos de resistência e aumentando o contato residual do inseticida no corpo do inseto.

Em formulações comerciais de inseticidas, como o K-Obiol 25 EC, o butóxido de piperonila tem sido adicionado como agente sinergista à deltametrina na proporção de 10:1. A menor toxicidade da deltametrina para as espécies *C. ferrugineus* e *T. castaneum* sugere que as populações utilizadas neste experimento podem já ter adquirido resistência a essa combinação, conforme indicado por Beckel *et al.* (2006). Portanto, o OEPA emerge como uma ferramenta promissora para aumentar a eficácia de inseticidas sintéticos e retardar o desenvolvimento da resistência.

Uma vez que o OEPA potencializa a toxicidade do inseticida sintético e é conhecido por ser rico em dilapiol, que apresenta lignanas associadas ao grupo metilenodioxifenil que inibem monoxigenases dependentes do citocromo P450 (BERNARD *et al.*, 1995) e de esterases (FAZOLIN *et al.*, 2015; SHANKARGANESH *et al.* 2009), pode-se concluir que essas enzimas estão envolvidas no mecanismo de resistência.

Estudos recentes têm explorado a eficácia de combinações de produtos naturais e sintéticos para o controle de insetos. A combinação de cipermetrina e dilapiol reduziu o tempo letal necessário para causar a mortalidade de 50% e 90% da população de dípteros (*Aedes aegypti* e *Anopheles albitarsis*), em comparação com o uso de piretróides ou dilapiol isoladamente (GOMES *et al.*, 2016). Da mesma forma, Fazolin *et al.* (2016) observaram efeitos sinérgicos ao combinar o OEPA com

piretróides no controle das lagartas *S. frugiperda*. Em trabalho recente (OLIVEIRA *et al.*, 2023), a mistura binária entre OEPA e deltametrina inibiu os mecanismos de resistência em cinco populações brasileiras de *S. zeamais*, devido à ação sinérgica do bioinseticida.

Esses resultados demonstram o potencial do OEPA e de seu componente majoritário como agentes sinérgicos, com capacidade de reduzir a quantidade de inseticida aplicado e, conseqüentemente, o impacto ambiental, além de retardar o desenvolvimento da resistência (GAIRE *et al.*, 2021). A adoção de abordagens alternativas, que incluem a incorporação de óleos essenciais é de extrema importância, particularmente para pequenos e médios produtores familiares.

Neste estudo, observou-se que o OEPA potencializou a eficácia do inseticida sintético, mostrando-se promissor no controle de pragas de grãos armazenados, além de ser uma estratégia adicional ao manejo de resistência, podendo substituir o sinérgico comercial. Entretanto, são necessárias investigações adicionais para explorar outras vias de intoxicação, como a fumigação ou o contato tóxico, a fim de confirmar a viabilidade do uso de combinações de compostos naturais e sintéticos no manejo integrado de pragas. Além disso, é importante, estudar em termos práticos, a eficácia da aplicação e distribuição do óleo essencial no interior da massa de grãos.

3.5 CONCLUSÕES

As respostas toxicológicas ao OEPA e a deltametrina são diferentes para cada espécie avaliada;

A deltametrina apresenta maior toxicidade sobre os insetos-praga, quando comparada ao OEPA, exceto para a espécie *Cryptolestes ferrugineus*, que apresenta maior suscetibilidade ao inseticida botânico;

A espécie *Tribolium castaneum* possui tolerância tanto a deltametrina como ao OEPA;

Por contato residual, o OEPA potencializa o efeito tóxico do inseticida sintético sobre as quatro espécies pragas de grãos armazenados, inclusive para *Tribolium castaneum*;

A significância dos fatores de sinergismo das misturas binárias entre o OEPA e a deltametrina, indica que o óleo essencial pode ser utilizado como sinergista no controle de pragas de grãos armazenados.

REFERÊNCIAS

- ABBASSY, M. A.; ABDELGALEIL, S. A. M.; RABIE, R. Y. A. Insecticidal and synergistic effects of *Majorana hortensis* essential oil and some of its major constituents. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 131, n. 3, p. 225-232, 2009.
- ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v. 18, p. 265-267, 1925.
- AFHAR, F. H.; MAGGI, F.; LANNARELLI, R.; CIANFAGLIONE, K.; ISMAN, M. B. Comparative toxicity of *Helosciadium nodiflorum* essential oils and combinations of their main constituents against the cabbage looper, *Trichoplusia ni* (Lepidoptera). **Industrial Crops and Products**, v. 98, p. 46-52, 2017.
- AHMAD, D.; SALEEM, D. R. M. A.; NADEEM, M. S.; SHAKOORI, A. R. Toxicological and biochemical studies on spinosad and synergism with piperonyl butoxide in susceptible and resistant strains of *Tribolium castaneum*. **Pakistan journal of zoology**, v. 44, n. 3, p. 649-662, 2012.
- ALEXANDRE, P.; SANTOS, A. A.; LIMA, A. P. S.; MELO, C. R.; SANTANA, E. D. R.; SAMPAIO, T. S.; BLANK, A. F.; ARAÚJO, A. P. A.; CRISTALDO, P. F.; 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, October 2018.
- 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.
- BECKEL, H. dos S.; LORINI, I.; LAZZARI, S. M. N. Efeito do sinergista butóxido de piperonila na resistência de *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera, Silvanidae) a deltametrina e fenitrotiom. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 50, n. 1, p. 110-114, mar. 2006.
- BERNARD, C. B.; KRISHANMURTY, H. G.; CHAURET, D.; DURST, T.; PHILOGÈNE, B.J. R.; SÁNCHEZ-VINDAS, P.; HASBUN, C.; POVEDA, L.; SAN ROMÁN, L.; ARNASON, J. T. Insecticidal defenses of Piperaceae from the neotropics. **Journal of Chemical Ecology**, v. 21, p. 801-814, 1995.
- BETT, P. K.; DENG, A. L.; OGENDO, J. O.; KARIUKI, S. T.; KAMATENESI-MUGISHA, M.; MIHALE, J. M.; TORTO, B. Chemical composition of *Cupressus lusitanica* and Eucalyptus saligna leaf essential oils and bioactivity against major insect pests of stored food grains. **Industrial Crops and Products**, n. 82, p. 51-62, 2016.
- CARVALHO, J. R. de; PRATISSOLI, D.; VIANNA, U. R.; HOLTZ, A. M. **Análise de Probit aplicada a bioensaios com insetos**. 1 ed. Colatina, ES: IFEZ, 2017. 102 p.
- COITINHO, R. L. B. D. C.; OLIVEIRA, J. V. D.; GONDIM JUNIOR, M. G. C.; CÂMARA, C. A. G. D. 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.

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.

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.

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. L. V.; CATANI, V.; LIMA, M. S. D.; ALÉCIO, M. R. Toxicidade do Óleo de *Piper aduncum* L. a Adultos de *Cerotoma tingomarianus* Bechyné (Coleoptera: Chrysomelidae). **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 3, p. 485-489, 2005.

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J. L. V.; MONTEIRO, A. F. M.; GOMES, L. P.; SILVA, I. M. da; SILVA, M. S. de F. Sinérgico alternativo para o manejo da resistência da lagarta-do-cartucho do milho a piretróides. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 14, n. 3, p. 316-325, 2015.

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. 175:104829, 2021.

GOMES, E. O.; NUNOMURA, S. M.; MARINOTTI, O.; TADEI, W. P. Synergistic potential of dillapiole combined with pyrethroids against mosquitoes. **Vector Biology Journal**, v. 1, 2016. 3p.

GUEDES, R. N.; PICANÇO, M. C.; GUEDES, N. M. P.; MADEIRA, N. R. Sinergismo do óleo mineral sobre a toxicidade de inseticidas para *Scrobipalpula absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 30, n. 3, p. 313-318. 1995.

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.

HUMMELBRUNNER, L. A.; ISMAN, M. B. Acute, sublethal, antifeedant, and synergistic effects of monoterpenoid essential oil compounds on the tobacco cutworm, *Spodoptera litura* (Lep., Noctuidae). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 2, p. 715-720, 2001.

LIMA, R. K.; CARDOSO, M. G.; MORAES, J. C.; MELO, B. A.; RODRIGUES, V. G.; GUIMARÃES, P. L. Atividade inseticida do óleo essencial de pimenta longa (*Piper hispidinervum* C. DC.) sobre lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Acta Amazonica**, v. 39, n. 2, p. 377-382, 2009.

LIU, S. Q. **The Activity of Analogs of the Natural Product Dillapiol and Sesamol as Detoxification Enzyme Inhibitors and Insecticide Synergists**. Ph.D. Thesis, University of Ottawa, Ottawa, ON, USA, 2015.

LORINI, I.; KRZYŻANOWSKI, F. C.; FRANÇA-NETO, J. de B.; HENNING, A. A.; HENNING, F. A. **Manejo Integrado de pragas de grãos e sementes armazenadas**. Brasília, DF: Embrapa, 2015. 84 p.

MESBAH, H. A.; MOURAD, A. K.; ROKAIA, A. Z. Efficacy of some plant oils alone and/or combined with different insecticides on the cotton leaf-worm *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lepidoptera: Noctuidae) in Egypt. **Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences**, v. 71, p. 305-328, 2006.

MOTA-SANCHEZ, D.; WISE, J. C. **The Arthropod Pesticide Resistance Database. Michigan State University**. 2023. Acesso em: 30 out. 2023. Disponível em: <http://www.pesticideresistance.org>

NASCIMENTO, J. M do; SOUSA, A. H. de; LOPES, L. M.; MENDONÇA, J. F.; SANTOS, A. C. V. dos. Bioactivity of *Piper aduncum* L. essential oil for insect pests of stored products. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 53, e77482, 2023.

NAYAK, M.; HOLLOWAY, J.; EMERY, R., PAVIC, H.; BARTLET, J.; COLLINS, P. Strong resistance to phosphine in the rusty grain beetle, *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) (Coleoptera: Laemophloeidae): its characterisation, a rapid assay for diagnosis and its distribution in Australia. **Pest Management Science**, v. 69, p. 48-53. 2012.

OLIVEIRA, G. L.; CARDOSO, S. K.; LARA JÚNIOR, C. R.; VIEIRA, T. M.; GUIMARÃES, E. F.; FIGUEIREDO, L. S.; MARTINS, E. R.; MOREIRA, D. L.; 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, n. 4, p. 1227-1234, 2013.

OLIVEIRA, R. V.; SOUSA, A. H. de; TAMWING, G. da S.; MOTA, B. B.; SILVA, M. C. da. Toxicidade e sinergismo de óleo essencial de *Piper aduncum* L. em populações de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 53, p. e76287, 2023.

PACHECO, I. A.; PAULA, D. C. **Insetos de grãos armazenados - identificação e biologia**. Campinas: Fundação Cargil, 1995. 228p.

PEREIRA, L. A.; SANTOS, D. C. dos; RODRIGUES, P. F. A.; ANDRADE, E. H. de A.; GUIMARÃES, E. F. Valor de uso, indicações terapêuticas e perfil farmacológico e etnofarmacológico de duas espécies do gênero *Piper* L. em uma comunidade quilombola na Amazônia Oriental Brasileira. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 7, p. 52027-52039, 2020.

PIMENTEL, M. A. G.; FARONI, L. R. A.; CORREA, A. S.; GUEDES, R. N. C. Phosphine-induced walking response of the lesser grain borer (*Rhyzoperta dominica*). **Pest Management Science**, v. 68, n. 10, p. 1368-1373, 2012.

PIMENTEL, M. A. G.; FARONI, L. R. A.; GUEDES, R. N. C.; SOUSA, A. H.; TÓTOLA M. R. Phosphine resistance in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* Motschusky (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 45, p.71-74, 2009.

RAJASHEKAR, Y. Toxicity of coumaran to stored products beetles. **Journal of Stored Products Research**, (Online), v. 69, n. 1, p. 172-174, 2016.

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

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, p. 21-31, 2003.

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

RODRIGUES, D. W.; OLIVEIRA, J. A. dos. Óleos essenciais de *Piper* L. (Piperaceae) e sua aplicação biotecnológica na agricultura: Uma revisão de literatura. **Arquivos do Mudi**, v. 25, n. 2, p. 100-110, 2021.

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.

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.

SILVA, L. B.; SILVA, L. S.; MANCIN, A. C.; CARVALHO, G. S.; SILVA, J. C.; ANDRADE, L. H. Comportamento do gorgulho-do-milho frente às doses de permetrina. **Comunicata Scientiae**, v. 4, n. 1, p. 26-34, 2013.

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

SOUZA, L. P.; de; FARONI, L. R. D'A.; LOPES, L. M.; SOUSA, A. H. de; 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, p. 761-770. 2018.

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.

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.

WALIA, S.; F SAHA, S.; TRIPATHY, V.; SHARMAN, K. K. Phytochemical biopesticides: some recent developments. **Phytochemistry Reviews**, v. 16, n. 6, p. 989-1007, 2017.

WILSON, M. Malathion - Specific Resistance in the Flat Grain Beetle. **Resistant Pest Management Newsletter**, v. 5, p. 8-9.1993.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO 9235:2021 **Aromatic Natural Raw Materials**, Vocabulary, 3rd ed.; Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization, 2021.

4 CAPÍTULO II

**ESTABILIDADE TOXICOLÓGICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Piper
aduncum* L. NO CONTROLE DE INSETOS-PRAGA DE GRÃOS
ARMAZENADOS**

RIO BRANCO - AC

2024

RESUMO

O óleo essencial extraído de folhas de *Piper aduncum* L. apresentam compostos bioativos com potencial inseticida para diversas pragas agrícolas. No entanto, são escassos os trabalhos que avaliem a estabilidade toxicológica dos inseticidas botânicos em grãos armazenados, a fim de estabelecer critérios de seu uso prático e garantir sua eficiência. Nesse sentido, o objetivo deste estudo foi avaliar a estabilidade toxicológica do OEPA armazenado por 12 meses sobre quatro espécies de insetos-praga de grãos armazenados (*Sitophilus zeamais*, *Oryzaephilus surinamensis*, *Cryptolestes ferrugineus* e *Tribolium castaneum*). Amostras do OEPA foram mantidas durante este período em diferentes condições de temperatura (5 °C, 20 °C e 35 °C) e luminosidade (com e sem exposição à luz). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), com quatro repetições. Foram realizados bioensaios de toxicidade por contato em superfície contaminada a cada quatro meses e a mortalidade dos insetos foi avaliada após 24 horas de exposição. Os resultados demonstram que as CL₅₀ e CL₉₅ do OEPA para as espécies *S. zeamais*, *O. surinamensis* e *C. ferrugineus* foram menores aos 12 meses de armazenamento. A exceção foi observada para *T. castaneum*, que demonstrou ser a espécie mais tolerante ao OEPA armazenado ao longo do tempo. Em relação as condições de armazenamento, a temperatura de 35 °C e a presença de luz reduziram a toxicidade do OEPA para as espécies *S. zeamais* e *O. surinamensis*, evidenciada pelas maiores CL₅₀ e CL₉₅. Nesse sentido, conclui-se que para manter a estabilidade toxicológica do OEPA, os frascos tipo âmbar devem ser mantidos na ausência de luz e em temperaturas abaixo ou igual a 20 °C.

Palavras-chave: Armazenamento. Degradação. Manejo integrado de pragas. Toxicidade.

ABSTRACT

The essential oil extracted from the leaves of *Piper aduncum* L. contains bioactive compounds with proven insecticidal potential against various agricultural pests. However, there is a scarcity of studies assessing the toxicological stability of botanical insecticides in stored grains to establish criteria for practical use and ensure their effectiveness. In this regard, the objective of this study was to evaluate the toxicological stability of *P. aduncum* essential oil (EOPA) stored for 12 months against four species of stored grain insect pests (*Sitophilus zeamais*, *Oryzaephilus surinamensis*, *Cryptolestes ferrugineus*, and *Tribolium castaneum*). The experimental design was completely randomized (DIC), with four replications. Samples of EOPA were maintained during this period under different temperature conditions (5 °C, 20 °C and 35 °C) and light exposure conditions (with and without exposure to light). Toxicity bioassays were conducted through contact on contaminated surfaces every four months, and insect mortality was assessed after 24 hours of exposure. The results demonstrate that the LC₅₀ and LC₉₅ of EOPA for *S. zeamais*, *O. surinamensis*, and *C. ferrugineus* species were reduced after 12 months of storage. An exception was observed for *T. castaneum*, which proved to be the most tolerant species to stored OEPA over time. Regarding storage conditions, the temperature of 35 °C and the presence of light reduced the toxicity of OEPA to the species *S. zeamais* and *O. surinamensis*, evidenced by the higher LC₅₀ and LC₉₅. In this sense, it is concluded that to maintain the toxicological stability of OEPA, amber bottles must be closed in the absence of light and at temperatures below or equal to 20 °C.

Keywords: Degradation. Integrated pest management. Storage. Toxicity.

4.1 INTRODUÇÃO

Os óleos essenciais, formados por compostos lipofílicos altamente voláteis e frequentemente líquidos e aromáticos, são metabólitos secundários extraídos de plantas (ASBAHANI *et al.*, 2015; GRASSMANN; ELSTNER, 2003; SCHMIDT, 2010). Devido à sua rica diversidade química, esses óleos têm sido utilizados ao longo dos séculos na medicina, perfumaria e indústria de cosméticos (MEHDIZADEH *et al.*, 2017). Além disso, destacam-se por suas propriedades biológicas, como atividades antifúngicas (TIAN *et al.*, 2022), antibacterianas (OLIVEIRA *et al.*, 2022), antiparasitárias (BAILÉN *et al.*, 2023) e inseticidas (COSTA *et al.*, 2024).

A atividade inseticida do óleo essencial de *Piper aduncum* L. (OEPA) tem sido objeto de estudo nas últimas duas décadas como uma alternativa eficaz no controle de insetos-praga (ESTRELA *et al.*, 2006; FAZOLIN *et al.*, 2007; OLIVEIRA *et al.*, 2017; OLIVEIRA *et al.*, 2023; TURCHEN *et al.*, 2016; NASCIMENTO *et al.*, 2023). O efeito toxicológico está intrinsecamente relacionado à composição química do OEPA, caracterizada pela presença de terpenóides e fenilpropanóides (DUROFIL *et al.*, 2021).

Apesar de ser geneticamente controlado, o rendimento e a composição química dos óleos essenciais podem ser influenciados por diversos fatores, como a origem e as condições edafoclimáticas, a época de coleta do material, o estágio fenológico da planta (FIGUEIREDO *et al.*, 2008; MORAIS, 2009; SCHMIDT, 2010) e os métodos de secagem e extração (LI *et al.*, 2012, MACHADO *et al.*, 2013; OLIVEIRA *et al.*, 2016).

As condições e o tempo de armazenamento do óleo essencial, após a extração (destilação), exercem influência direta em sua estabilidade química (TUREK; STINTZING, 2013) e toxicológica (MOURA *et al.*, 2021). Fatores como temperatura, luminosidade, umidade e disponibilidade de oxigênio aceleram a degradação dos compostos durante o armazenamento (LOPES *et al.*, 2016; TUREK; STINTZING, 2012; ROWSHAN *et al.*, 2013), interferindo, conseqüentemente, em seu efeito tóxico sobre artrópodes (AMER; MEHLHORN, 2006).

Em geral, há escassez de informações consistentes sobre o armazenamento de óleos essenciais e sua vida útil (prazo de validade). Dados prévios sugerem que o dilapiol é sensível à degradação durante o armazenamento (TISSERAND; YOUNG, 2014). Negreiros *et al.* (2017) observaram o teor máximo de dilapiol após nove meses

de armazenamento em recipientes transparentes em ambiente externo, com incidência de luz e oscilações de temperatura.

Em um estudo mais recente conduzido por Fazolin *et al.* (2022), foi avaliada a influência de diferentes condições de armazenamento sobre a estabilidade química e toxicológica do óleo essencial de *P. aduncum* ao longo de quatro anos. O OEPA mostrou-se estável, tanto em relação ao teor de dilapiol, que manteve-se acima de 70%, quanto ao efeito toxicológico contra *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae).

As propriedades aromáticas e biológicas de óleos essenciais são determinadas não apenas pelos componentes majoritários, mas também pelo sinergismo entre os componentes. O mesmo princípio vale para a estabilidade dos óleos essenciais, pois alterações que ocorram em um composto específico podem afetar substancialmente o comportamento de outras moléculas (ODAK *et al.*, 2021).

Diante do exposto, torna-se evidente que as alterações nos óleos essenciais ou em compostos individuais são resultado da interação de vários fatores, e as pesquisas geralmente não abordam de forma sistemática as condições e fatores determinantes da estabilidade durante o armazenamento. Dada a importância do óleo essencial de *Piper aduncum* L. e seu potencial inseticida no controle de pragas de grãos armazenados, o objetivo deste estudo foi avaliar a estabilidade toxicológica do OEPA armazenado por 12 meses sobre quatro espécies de insetos-praga de grãos armazenados, considerando diferentes condições de temperatura e luminosidade.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

A extração do OEPA foi realizada no Laboratório de Produtos Naturais da Fundação de Tecnologia do Estado do Acre (FUNTAC) e os bioensaios de toxicidade e sinergismo foram conduzidos no laboratório de Manejo Integrado de Pragas da Universidade Federal do Acre (UFAC), Campus Rio Branco.

4.2.1 Criação de insetos

As criações das espécies *S. zeamais*, *T. castaneum*, *O. surinamensis* e *C. ferrugineus*, foram obtidas a partir de insetos coletados em unidades armazenadoras no entorno de Rio Branco, Acre. Os insetos foram criados em frascos de vidro de 1,5 L, fechados com tampas plásticas perfuradas e revestidas internamente com tecido organza, sob condições constantes de temperatura (27 ± 2 °C), umidade relativa ($70\pm 5\%$) e ecotofase de 24 h.

Como substrato alimentar, foram utilizados grãos de milho com teor de água de 13% em base úmida (b.u.), previamente expurgados com fosfina (PH_3) e mantidos sob refrigeração para evitar a reinfestação. Para *S. zeamais* foram utilizados grãos íntegros e para as pragas secundárias (*T. castaneum*, *O. surinamensis* e *C. ferrugineus*) foram fornecidos grãos triturados.

4.2.2 Obtenção e extração do óleo essencial

A coleta do material vegetal foi realizada em plantas adultas de *P. aduncum*, com cerca de cinco anos, localizadas no Campus da UFAC, no município de Rio Branco, Acre, sob as coordenadas geográficas $9^\circ 57' 34,9''$ S e $67^\circ 51' 30,6''$ W, no período da manhã. 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).

Inicialmente, foi efetuado o corte das plantas a partir de 0,4 m do solo, separando-se em seguidas as folhas, que posteriormente foram secas a 45° C em estufa, até atingir umidade constante. Após a secagem, as folhas secas foram

quebradas manualmente em partículas menores, e colocadas em sacos plásticos com capacidade de 10 kg.

Para a extração do OEPA, utilizou-se a técnica de extração por hidrodestilação, em um aparelho Clevenger, conectado a um sistema de refrigeração e a um balão de fundo redondo com capacidade de 5 L, sobre manta aquecedora em cerâmica. Para cada extração, foi utilizado 150 g da biomassa seca misturada a 2 L de água destilada no balão volumétrico. Posteriormente, a manta térmica aquecedora foi ligada e regulada à temperatura de ebulição de aproximadamente 120 °C, sendo o tempo médio de extração de 240 minutos. Após o processo de ebulição e condensação, o OEPA foi coletado juntamente com o hidrolato em frascos Erlenmeyer.

Em seguida, a separação das amostras de óleo essencial foi obtida por decantação em um funil de separação e a secagem com uso de sulfato de sódio anidro (Synth, 99%, Brasil). Cada amostra de óleo essencial foi armazenada em frascos do tipo âmbar, mantidos nas condições de armazenamento pré-estabelecidas para os bioensaios de estabilidade toxicológica.

4.2.3 Estabilidade toxicológica do OEPA

Para a avaliação do efeito da temperatura sobre a estabilidade toxicológica do OEPA, 50 ml do inseticida botânico foi acondicionado em embalagens de vidro âmbar, devidamente vedados e envolvidos por papel alumínio para proteção contra a luz. Em seguida, os frascos foram divididos em três lotes e acondicionados nos seguintes ambientes: Geladeira sob temperatura de $5,0 \pm 1$ °C (temperatura baixa); câmara climática sob temperatura de 20 ± 2 °C (temperatura média) e câmara climática sob temperatura de 35 ± 2 °C (temperatura alta) (Figura 4).

Para a avaliação da estabilidade toxicológica perante a luz, os frascos de vidro, contendo 50 mL óleo essencial, foram mantidos em câmara climática do tipo B.O.D. (modelo 347 CD, Fanem, São Paulo, SP, Brasil), à temperatura de 20 ± 2 °C e sujeitos a luz de lâmpadas brancas e frias (100 W cada). Para isso foram estabelecidas duas condições, frascos tipo âmbar envolvidos por papel-alumínio para proteção contra a luz e frascos de vidro transparente sem proteção a luz (Figura 4).



Figura 4 - Armazenamento do óleo essencial de *Piper aduncum* L. em diferentes condições de temperatura e luminosidade

Para avaliar a estabilidade toxicológica do OEPA foram realizados bioensaios de concentração-mortalidade para cada espécie, realizados a cada 4 meses, após o acondicionamento nas diferentes temperaturas (5 °C, 20 °C e 35 °C) e na ausência ou presença de luz. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições. As unidades experimentais foram constituídas por placas de Petri de 9 cm de diâmetro e 1,5 cm de altura, com o fundo recoberto com papel filtro umedecido com 1000 µL de cada concentração do óleo essencial (Tabela 7).

Tabela 7 - Concentrações de OEPA utilizadas nos bioensaios de toxicidade por contato em superfície contaminada realizados a cada quatro meses

Espécies	Concentrações (µL.cm ⁻²)					
<i>Sitophilus zeamais</i>	0,079	0,156	0,458	0,994	1,834	2,889
<i>Oryzaephilus surinamensis</i>	0,005	0,010	0,039	0,079	0,232	0,713
<i>Cryptolestes ferrugineus</i>	0,006	0,007	0,009	0,010	0,012	0,013
<i>Tribolium castaneum</i>	0,458	0,713	1,165	1,778	2,888	3,968

A aplicação da calda foi realizada com pipetador automático, e a diluição para obtenção das concentrações foi realizada em solvente acetona. No tratamento controle, foi utilizado a acetona pura. Após a aplicação das caldas, as placas foram abertas para a evaporação total do solvente (cerca de 5 minutos), e em seguida foram

aconicionados 50 insetos adultos não sexados, com idade de 1 a 15 dias, em cada placa.

A mortalidade dos adultos foi avaliada após 24 horas de exposição. Considerou-se a mortalidade dos insetos quando não apresentavam mais nenhum movimento ao ser tocado com pincel, ou quando não conseguiam mais se locomover.

4.2.4 Análises estatísticas

Os dados de concentração-mortalidade foram submetidos a análise de Probit (PROC PROBIT, SAS Institute 2011), para gerar curvas e estimar as CL_{50} e CL_{95} . A sobreposição entre os intervalos de confiança (IC 95%) para CL_{50} e CL_{95} foi utilizada para definir a significância das diferenças entre os tratamentos de acordo com Van Frankenhuyzen (2009). A sobreposição dos intervalos de confiança foi determinada visualmente e comparando os valores máximos e mínimos de cada IC dentro de cada experimento. As razões de toxicidade (RT) e seus respectivos intervalos de confiança foram calculadas conforme Robertson e Preisler (1992).

4.3 RESULTADOS

4.3.1 Estabilidade toxicológica do OEPA após 4 meses de armazenamento

Aos quatro meses após o armazenamento do OEPA, sob as diferentes condições de luz e temperatura, observou-se que o modelo Probit foi adequado para os dados de concentração-mortalidade para todas as espécies de pragas de grãos armazenados, com base nos baixos valores de X^2 e altos de P valor (Tabela 8).

A espécie *C. ferrugineus* apresentou as menores CL_{50} (0,008 a 0,009 $\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$) e CL_{95} (0,015 a 0,018 $\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$), com inclinações de curvas variando de 6,00 a 6,56, indicando uma rápida resposta de mortalidade em função de pequenas variações das concentrações. Em relação as condições de armazenamento, não foi observada variação significativa, com base nos intervalos de confiança a 95% de probabilidade e dos RT's variando de 1,01 a 1,17, demonstrando que o OEPA manteve sua toxicidade para essa espécie, após 4 meses de armazenamento.

Para a espécie *O. surinamensis*, foram obtidas as maiores CL_{50} e CL_{95} no OEPA acondicionado em frascos transparentes expostos a luz (CL_{50} 0,079 $\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$ e CL_{95} 2,601 $\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$) e em frascos armazenados a 35 °C (CL_{50} 0,062 $\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$ e CL_{95} 2,241 $\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$). Por outro lado, o OEPA armazenado em temperatura de 5 °C após 4 meses de armazenamento, se mostrou o mais tóxico para a espécie, fato evidenciado pelas menores CL_{50} (0,033 $\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$) e CL_{95} (0,978 $\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$)

A CL_{50} do OEPA armazenado por quatro meses a 20 °C de temperatura, sobre adultos de *S. zeamais* foi de 0,265 $\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$, sendo considerado o mais tóxico para espécie. Para CL_{95} , houve inversão, pois o OEPA armazenado em frascos protegidos da luz, apresentou a maior toxicidade (CL_{95} 5,722 $\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$), no entanto, vale ressaltar que nesta condição, a temperatura de armazenamento utilizada também foi de 20 °C. As maiores CL_{95} foram observadas no óleo armazenado em alta temperatura (RT 2,21 vezes) e exposto a luz (RT 1,85 vezes).

Apesar que para a espécie *Tribolium castaneum*, as inclinações das curvas foram altas (3,27 a 3,47), foi observado certa tolerância ao OEPA, que apresentou baixa toxicidade, evidenciada pelas altas CL_{50} (1,514 a 1,899 $\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$) e CL_{95} (4,730 a 6,053 $\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$). Não foi verificada diferenças de toxicidade em função das condições de armazenamento do OEPA, uma vez, que as RT variaram de 1,08 a 1,25.

Tabela 8 - Toxicidade residual relativa de OEPA armazenado durante quatro meses, sob diferentes condições de temperatura e luminosidade, em adultos de *C. ferrugineus*, *O. surinamensis*, *S. zeamais* e *T. castaneum*

Espécies	Condição de armazenamento	Inclinação ± E.P.M. ¹	CL ₅₀ (IF 95%) (µL.cm ⁻²)	RT (IC 95%) CL ₅₀	CL ₉₅ (IF 95%) (µL.cm ⁻²)	RT (IC 95%) CL ₉₅	χ ²	P
<i>C. ferrugineus</i>	OEPA a 5 °C	6,00±0,48	0,008 (0,008-0,009)	1,01 (0,94-1,07)	0,015 (0,014-0,017)	1,03 (0,90-1,18)	5,74	0,22
	OEPA a 20 °C	6,60±0,50	0,009 (0,008-0,009)	1,05 (0,98-1,11)	0,015 (0,014-0,017)	1,01 (0,89-1,16)	5,79	0,22
	OEPA a 35 °C	6,06±0,49	0,009 (0,009-0,010)	1,15 (1,08-1,22)	0,018 (0,016-0,020)	1,17 (1,01-1,36)	7,04	0,13
	OEPA protegido da luz	6,26±0,49	0,008 (0,008-0,009)	-	0,015 (0,014-0,017)	-	5,63	0,23
	OEPA exposto a luz	6,56±0,51	0,009 (0,009-0,010)	1,16 (1,09-1,23)	0,017 (0,015-0,019)	1,13 (0,98-1,30)	7,03	0,13
<i>O. surinamensis</i>	OEPA a 5 °C	1,12 ± 0,09	0,033 (0,026-0,042)	-	0,978 (0,612-1,817)	-	6,10	0,19
	OEPA a 20 °C	1,12 ± 0,09	0,040 (0,032-0,051)	1,22 (0,87-1,72)	1,194 (0,738-2,257)	1,22 (0,57-2,62)	6,24	0,18
	OEPA a 35 °C	1,05 ± 0,08	0,062 (0,048-0,079)	1,87 (1,34-2,62)	2,241 (1,300-4,636)	2,29 (0,98-5,35)	6,46	0,17
	OEPA protegido da luz	1,18±0,09	0,042 (0,033-0,052)	1,26 (0,91-1,76)	1,017 (0,650-1,825)	1,04 (0,49-2,20)	6,26	0,18
	OEPA exposto a luz	1,08±0,09	0,079 (0,062-0,101)	2,40 (1,69-3,40)	2,601 (1,512-5,359)	2,66 (1,09-6,53)	5,96	0,20
<i>S. zeamais</i>	OEPA a 5 °C	1,24±0,11	0,277 (0,218-0,343)	1,03 (0,74-1,44)	5,921 (3,904-10,436)	1,03 (0,57-2,42)	6,13	0,19
	OEPA a 20 °C	1,17±0,11	0,265 (0,204-0,332)	-	6,725 (4,293-12,508)	1,18 (0,52-2,06)	6,93	0,14
	OEPA a 35 °C	1,08±0,10	0,389 (0,303-0,488)	1,47 (1,05-2,05)	12,632 (7,381-27,002)	2,21 (0,92-5,30)	5,19	0,27
	OEPA protegido da luz	1,24±0,11	0,272 (0,214-0,337)	1,03 (0,74-1,44)	5,722 (3,788-10,022)	-	6,90	0,14
	OEPA exposto a luz	1,13±0,10	0,373 (0,293-0,465)	1,41 (1,05-2,05)	10,557 (6,404-21,198)	1,85 (0,83-4,10)	5,87	0,21
<i>T. castaneum</i>	OEPA a 5 °C	3,47±0,23	1,589 (1,462-1,725)	1,05 (0,93-1,18)	4,730 (4,073-5,709)	-	5,69	0,22
	OEPA a 20 °C	3,31±0,23	1,632 (1,500-1,778)	1,08 (0,96-1,22)	5,114 (4,361-6,255)	1,08 (0,84-1,40)	5,56	0,23
	OEPA a 35 °C	3,33±0,23	1,789(1,644-1,951)	1,18 (1,05-1,34)	5,587 (4,741-6,889)	1,18 (0,91-1,53)	6,24	0,18
	OEPA protegido da luz	3,29±0,22	1,514 (1,390-1,649)	-	4,790 (4,095-5,839)	1,01 (0,79-1,30)	5,53	0,24
	OEPA exposto a luz	3,27±0,24	1,899 (1,743-2,076)	1,25 (1,11-1,42)	6,053 (5,096-7,552)	1,28 (0,97-1,68)	6,56	0,16

4.3.2 Estabilidade toxicológica do OEPA após 8 meses de armazenamento

Os dados de concentração-mortalidade das quatro espécies de carunchos, expostas ao OEPA armazenado durante 8 meses, sob diferentes condições ambientais de temperatura e luminosidade, apresentaram baixos valores de X^2 e altos valores de P , indicando adequação ao modelo Probit para a estimativa das CL_{50} e CL_{95} (Tabela 9).

De forma geral, foi observada estabilidade toxicológica do OEPA para as quatro espécies avaliadas, com pouca variação nas concentrações letais, quando comparado as avaliações realizadas aos 4 meses de armazenamento. A espécie *C. ferrugineus* permaneceu como a espécie mais suscetível ao inseticida botânico, com as menores CL_{50} (0,008 a 0,010 $\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$) e CL_{95} (0,015 a 0,017 $\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$), não sendo observada variação significativa em função das condições de armazenamento, evidenciada pelas baixas razões de toxicidade ($RT \leq 1,15$).

Para *Oryzaephilus surinamensis*, foram observadas maiores CL_{50} e CL_{95} quando o OEPA foi armazenado durante os oito meses sob temperatura alta de 35°C (0,092 $\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$ e 1,364 $\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$) e na presença de luz em frascos transparentes (0,096 $\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$ e 1,292 $\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$). A maior toxicidade observada foi no OEPA armazenado em temperaturas mais baixas de 5 °C (CL_{50} de 0,059 e CL_{95} de 0,819 $\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$) e 20 °C (CL_{50} de 0,060 $\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$ e CL_{95} de 0,802 $\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$).

O OEPA para *S. zeamais* se mostrou moderadamente tóxico, com CL_{50} variando de 0,348 a 0,575 $\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$. As maiores concentrações letais foram do óleo essencial armazenado a 35 °C e na presença de luz, com CL_{95} de 19,222 e 12,404 10 $\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$) e RT 's de 2,48 e 1,60 vezes. O armazenamento do OEPA em frascos protegidos da luz (CL_{50} de 0,330 $\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$) e em baixa temperatura de 5 °C (CL_{95} de 7,749 $\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$) proporcionou a maior toxicidade, após oito meses.

A espécie *T. castaneum* se manteve como a espécie mais tolerante ao OEPA, com as maiores CL_{50} (1,571 a 2,008 $\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$) e CL_{95} (4,965 a 6,325 $\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$). Não foram observadas diferenças entre a toxicidade do OEPA armazenado sob diferentes condições de luminosidade e temperatura.

Tabela 9 - Toxicidade residual relativa de OEPA armazenado durante oito meses, sob diferentes condições de temperatura e luminosidade, em adultos de *C. ferrugineus*, *O. surinamensis*, *S. zeamais* e *T. castaneum*

Espécies	Condição de armazenamento	Inclinação \pm E.P.M. ¹	CL ₅₀ (IF 95%) (μ L.cm ⁻²)	RT (IC 95%) CL ₅₀	CL ₉₅ (IF 95%) (μ L.cm ⁻²)	RT (IC 95%) CL ₉₅	χ^2	P
<i>C. ferrugineus</i>	OEPA a 5 °C	6,36 \pm 0,49	0,009 (0,008-0,009)	1,02 (0,96-1,08)	0,015 (0,014-0,017)	0,98 (0,86-1,12)	5,89	0,21
	OEPA a 20 °C	6,40 \pm 0,49	0,009 (0,008-0,009)	1,04 (0,98-1,11)	0,016 (0,015-0,018)	1,04 (0,91-1,19)	5,90	0,21
	OEPA a 35 °C	6,34 \pm 0,50	0,010 (0,009-0,010)	1,14 (1,08-1,21)	0,017 (0,016-0,020)	1,15 (1,00-1,33)	7,36	0,12
	OEPA protegido da luz	6,40 \pm 0,49	0,008 (0,008-0,009)	-	0,015 (0,014-0,017)	-	6,73	0,15
	OEPA exposto a luz	6,75 \pm 0,52	0,010 (0,009-0,010)	1,15 (1,09-1,22)	0,017 (0,016-0,019)	1,12 (0,97-1,28)	7,51	0,11
<i>O. surinamensis</i>	OEPA a 5 °C	1,44 \pm 0,10	0,059 (0,048-0,071)	-	0,819 (0,570-1,297)	1,02 (0,57-1,82)	7,38	0,12
	OEPA a 20 °C	1,46 \pm 0,10	0,060 (0,050-0,073)	1,02 (0,77-1,35)	0,802 (0,562-1,260)	-	6,28	0,18
	OEPA a 35 °C	1,40 \pm 0,10	0,092 (0,075-0,113)	1,56 (1,18-2,06)	1,364 (0,917-2,272)	1,70 (0,90-3,20)	6,06	0,20
	OEPA protegido da luz	1,50 \pm 0,10	0,066 (0,055-0,080)	1,12 (0,85-1,48)	0,824 (0,580-1,282)	1,03 (0,58-1,82)	7,21	0,13
	OEPA exposto a luz	1,46 \pm 0,10	0,096 (0,079-0,117)	1,63 (1,23-2,17)	1,292 (0,881-2,109)	1,61 (0,89-2,91)	6,97	0,14
<i>S. zeamais</i>	OEPA a 5 °C	1,22 \pm 0,11	0,348 (0,277-0,429)	1,05 (0,77-1,45)	7,749 (4,983-14,161)	-	7,24	0,12
	OEPA a 20 °C	1,15 \pm 0,10	0,360 (0,283-0,448)	1,09 (0,79-1,50)	9,714 (5,973-19,098)	1,25 (0,56-2,80)	6,04	0,20
	OEPA a 35 °C	1,08 \pm 0,10	0,575 (0,456-0,725)	1,74 (1,27-2,39)	19,222 (10,680-44,402)	2,48 (1,00-6,19)	5,70	0,22
	OEPA protegido da luz	1,16 \pm 0,10	0,330 (0,258-0,411)	-	8,541 (5,342-16,355)	1,10 (0,51-2,36)	6,32	0,18
	OEPA exposto a luz	1,20 \pm 0,10	0,527 (0,426-0,650)	1,60 (1,17-2,19)	12,404 (7,599-24,371)	1,60 (0,71-3,63)	5,81	0,21
<i>T. castaneum</i>	OEPA a 5 °C	3,47 \pm 0,24	1,672 (1,540-1,817)	1,06 (0,84-1,35)	4,976 (4,274-6,030)	1,00 (0,78-1,29)	5,85	0,21
	OEPA a 20 °C	3,30 \pm 0,23	1,672 (1,536-1,823)	1,06 (0,84-1,35)	5,261 (4,784-7,023)	1,06 (0,82-1,36)	6,20	0,18
	OEPA a 35 °C	3,40 \pm 0,24	1,842 (1,694-2,006)	1,17 (1,04-1,32)	5,611 (4,773-6,899)	1,13 (0,87-1,47)	7,15	0,13
	OEPA protegido da luz	3,29 \pm 0,22	1,571(1,443-1,712)	-	4,965 (4,238-6,066)	-	5,82	0,21
	OEPA exposto a luz	3,30 \pm 0,24	2,008 (1,843-2,197)	1,28 (1,13-1,45)	6,325 (5,311-7,930)	1,27 (0,97-1,67)	5,50	0,24

4.3.3 Estabilidade toxicológica do OEPA após 12 meses de armazenamento

Após 12 meses de armazenamento, os dados de concentração-mortalidade do OEPA foram ajustados ao modelo Probit ($X^2 \leq 7,74$ e P valor $> 0,05$) e as CL_{50} e CL_{95} foram estimadas (Tabela 10). No geral, com exceção da espécie *T. castaneum*, as CL_{50} e as CL_{95} do inseticida botânico foram menores do que as obtidas aos 4 e 8 meses de armazenamento (Figura 5).

Cryptolestes ferrugineus apresentou as menores concentrações letais (CL_{50} de 0,004 a 0,005 $\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$ e CL_{95} de 0,011 a 0,013 $\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$) e as maiores inclinações de curvas (3,82 a 4,08), apresentando homogeneidade de respostas dentro da população avaliada. As razões de toxicidade foram baixas ($RT < 1,18$) e os intervalos de confiança das CL_{50} e CL_{95} foram sobrepostos entre os tratamentos.

Para *O. surinamensis*, foi observada que o OEPA armazenado durante 12 meses, sob temperatura de 35 °C apresentou as maiores CL_{50} (0,018 $\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$) e CL_{95} (0,606 $\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$), com RT 1,96 e 3,23 vezes maiores que o OEPA armazenado em frascos protegidos da luz (0,009 e 0,188 $\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$). Para *S. zeamais*, as CL_{50} e CL_{95} não sofreram influência significativa pela condição de armazenamento do OEPA ($RT < 2,0$), com evidente sobreposição dos intervalos de confiança (Figura 5).

Aos 12 meses após o armazenamento do OEPA, observou-se que o *T. castaneum* permaneceu como a espécie mais tolerante ao inseticida botânico, apresentando as maiores CL_{50} (1,836 a 2,038 $\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$) e C_{95} (6,098 a 7,264 $\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$). As razões de toxicidade foram baixas (1,01 a 1,19), não sendo verificado, portanto, variação entre as diferentes condições de armazenamento do OEPA (Figura 5).

Na figura 5, estão apresentadas as CL_{50} e os intervalos de confiança ($IC_{95\%}$) do OEPA avaliados aos 4, 8 e 12 meses de armazenamento, sob diferentes condições de temperatura e luminosidade. Observou-se que para as espécies *C. ferrugineus*, *O. surinamensis* e *S. zeamais*, as CL_{50} foram reduzidas após 12 meses de armazenamento, enquanto que para *T. castaneum* o OEPA manteve a menor toxicidade, ao longo do tempo (Figura 5D). Em relação as condições de armazenamento, o OEPA demonstrou-se instável, dentro de cada época de avaliação, apresentando as maiores CL_{50} quando armazenados em temperatura de 35 °C e sob exposição a luz.

Tabela 10 - Toxicidade residual relativa de OEPA armazenado durante doze meses, sob diferentes condições de temperatura e luminosidade, em adultos de *C. ferrugineus*, *O. surinamensis*, *S. zeamais* e *T. castaneum*

Espécies	Condição de armazenamento	Inclinação ± E.P.M. ¹	CL ₅₀ (IF 95%) ($\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$)	RT (IC 95%) CL ₅₀	CL ₉₅ (IF 95%) ($\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$)	RT (IC 95%) CL ₉₅	χ^2	P
<i>C. ferrugineus</i>	OEPA a 5 °C	3,89 ± 0,26	0,005 (0,004-0,005)	1,05 (0,99-0,12)	0,012 (0,011-0,014)	1,06 (0,92-1,21)	5,92	0,20
	OEPA a 20 °C	4,08±0,28	0,005 (0,005-0,006)	1,17 (1,06-1,30)	0,013 (0,012-0,015)	1,13 (0,98-1,30)	5,43	0,25
	OEPA a 35 °C	3,88 ± 0,26	0,005 (0,004-0,005)	1,04 (0,98-1,10)	0,012 (0,011-0,014)	1,04 (0,91-1,19)	5,79	0,22
	OEPA protegido da luz	3,91±0,27	0,004 (0,004-0,005)	-	0,011 (0,010-0,013)	-	5,16	0,27
	OEPA exposto a luz	3,82±0,26	0,004 (0,004-0,005)	1,00 (0,90-1,11)	0,012 (0,010-0,013)	1,02 (0,84-1,25)	7,66	0,11
<i>O. surinamensis</i>	OEPA a 5 °C	1,30 ± 0,11	0,012 (0,009-0,015)	1,24 (0,83-1,85)	0,214 (0,148-0,349)	1,14 (0,62-2,11)	5,24	0,26
	OEPA a 20 °C	1,14±0,10	0,010 (0,007-0,013)	1,04 (0,67-1,64)	0,267 (0,176-0,467)	1,42 (0,74-2,72)	6,71	0,15
	OEPA a 35 °C	1,08±0,09	0,018 (0,014-0,024)	1,96 (1,34-2,85)	0,606 (0,381-1,131)	3,23 (1,52-6,87)	5,12	0,28
	OEPA protegido da luz	1,26±0,11	0,009 (0,007-0,012)	-	0,188 (0,129-0,311)	-	6,97	0,14
	OEPA exposto a luz	1,07±0,010	0,009 (0,007-0,013)	1,01 (0,66-1,56)	0,324 (0,208-0,594)	1,73 (0,85-3,53)	7,61	0,11
<i>S. zeamais</i>	OEPA a 5 °C	1,20 ± 0,11	0,163 (0,120-0,209)	1,15 (0,81-1,64)	3,832 (2,559-6,689)	1,14 (0,59-2,23)	4,15	0,39
	OEPA a 20 °C	1,21 ± 0,11	0,147 (0,107-0,189)	1,04 (0,70-1,56)	3,349 (2,257-5,770)	-	7,09	0,13
	OEPA a 35 °C	1,23 ± 0,11	0,201 (0,153-0,253)	1,42 (0,98-2,07)	4,326 (2,908-7,430)	1,29 (0,66-2,52)	5,88	0,21
	OEPA protegido da luz	1,04 ± 0,11	0,141 (0,096-0,190)	-	5,410 (3,317-10,965)	1,62 (0,74-3,56)	6,76	0,15
	OEPA exposto a luz	1,14 ± 0,11	0,175 (0,128-0,227)	1,24 (0,85-1,82)	4,924 (3,171-9,113)	1,47 (0,73-2,97)	7,37	0,12
<i>T. castaneum</i>	OEPA a 5 °C	3,03±0,21	1,836 (1,671-2,009)	-	6,419 (5,455-7,900)	1,05 (0,81-1,36)	7,74	0,10
	OEPA a 20 °C	3,07±0,22	1,884 (1,718-2,060)	1,03 (0,81-1,30)	6,465 (5,503-7,939)	1,06 (0,82-1,38)	7,52	0,11
	OEPA a 35 °C	2,99±0,22	1,991 (1,814-2,179)	1,08 (0,95-1,23)	7,064 (5,958-8,792)	1,16 (0,89-1,52)	5,87	0,21
	OEPA protegido da luz	3,17±0,22	1,846 (1,685-2,014)	1,01 (0,79-1,28)	6,098 (5,227-7,412)	-	7,55	0,11
	OEPA exposto a luz	2,98±0,22	2,038 (1,857-2,231)	1,11 (0,97-1,27)	7,264 (6,113-9,071)	1,19 (0,90-1,57)	6,86	0,14

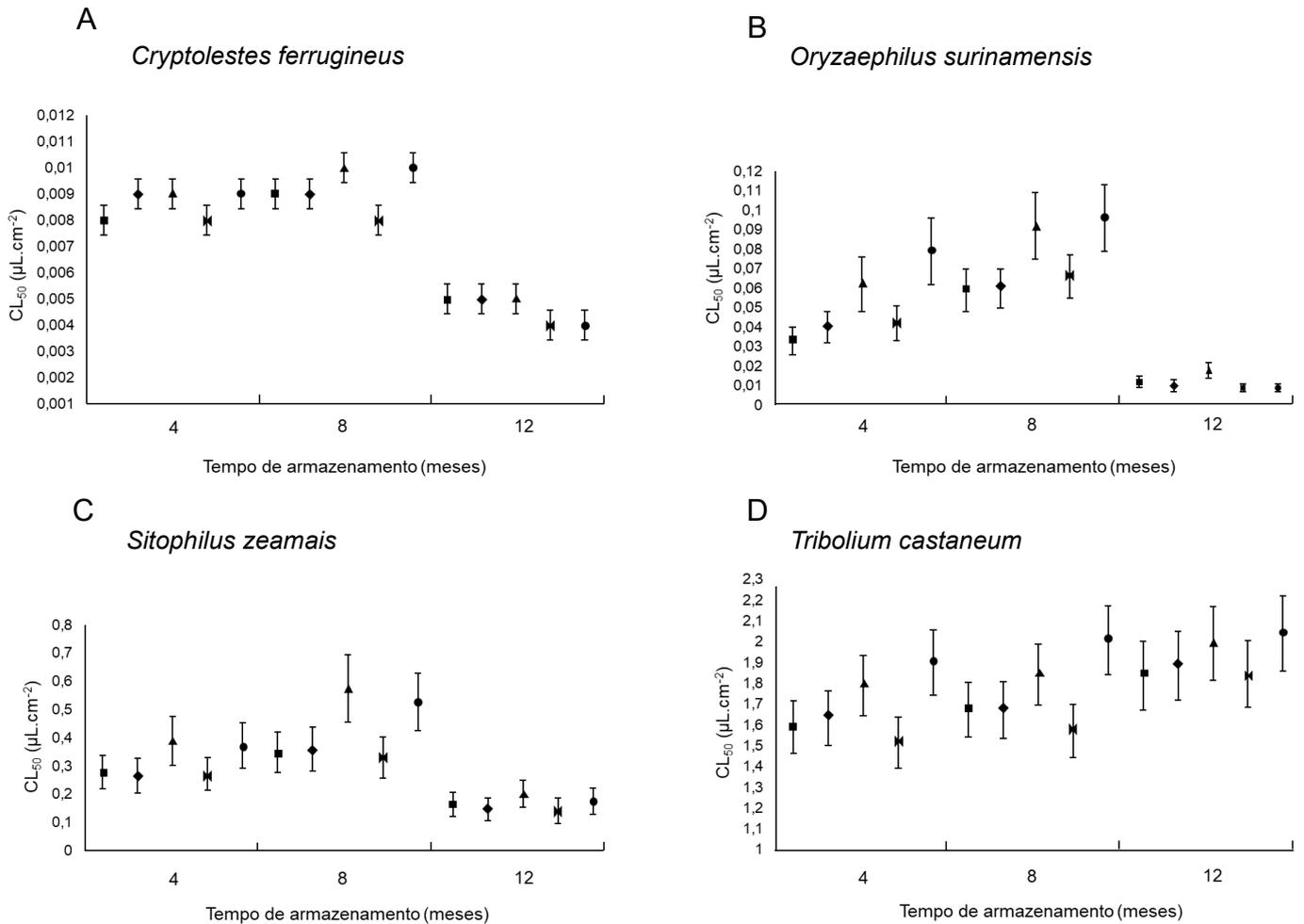


Figura 5 - Concentração letal (CL_{50}) do OEPA submetido a diferentes condições de armazenamento, por via de contato em superfície contaminada em adultos de (A) *Cryptolestes ferrugineus*, (B) *Oryzaephilus surinamensis*, (C) *Sitophilus zeamais* e (D) *Tribolium castaneum*. Os símbolos são as médias de quatro repetições e as barras os intervalos de confiança ($IC_{95\%}$) obtidos pela análise Probit. (■) Temperatura 5 °C, (◆) 20 °C, (▲) 35 °C, (◼) Protegido da luz e (●) Exposto à luz

4.4 DISCUSSÃO

A toxicidade do óleo essencial de *Piper aduncum* L. em relação aos insetos-praga de grãos armazenados, demonstrou ser influenciada pelo tempo e condições de armazenamento. Em geral, as menores concentrações letais foram registradas após 12 meses de armazenamento. A exceção foi observada para *T. castaneum*, que demonstrou ser a espécie mais tolerante ao óleo armazenado ao longo do tempo. No que diz respeito a condições de armazenamento, foi observada menor toxicidade quando o OEPA foi armazenado em altas temperaturas (35 °C) e em frascos transparentes expostos à luz.

Comparando esses resultados com estudos anteriores, foi observada perda de eficácia de óleos essenciais expostos a luz, com redução do efeito tóxico contra larvas de *Aedes aegypti*, após duas semanas de armazenamento (AMER; MEHLHORN, 2006). Este impacto negativo na estabilidade toxicológica também foi corroborado por Moura *et al.* (2021), que observaram uma redução na toxicidade do óleo essencial de manjerição (*Ocimum basilicum*) sobre adultos de *Sitophilus zeamais* quando armazenado em frascos transparentes, sob exposição à luz por seis meses.

A fotossensibilidade tem um papel importante na estabilidade química e toxicológica de óleos essenciais, muitas vezes superando os efeitos da temperatura. O óleo de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) é sensível à luz, com alterações significativas em sua qualidade, caracterizadas pelo aumento da quantidade de compostos oxidantes, acréscimo da condutividade elétrica e redução do pH. Além disso, a exposição à luz acarretou mudanças na composição química desse óleo, marcado pela degradação de hidrocarbonetos poli-insaturados, como α -terpineno e α -felandreno. Por outro lado, o óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris* L.), apresentou-se estável, não sendo influenciado pela temperatura e presença de luz, indicando ser um produto resistente ao armazenamento prolongado (TUREK; STINTZING, 2012).

A exposição à luz durante o processamento e armazenamento de óleos pode resultar na formação de diversos compostos indesejáveis, alguns dos quais são considerados prejudiciais à saúde devido à sua elevada toxicidade, o que, por sua vez, compromete a estabilidade desses óleos (WALALLAWITA *et al.*, 2016). Notavelmente, entre os constituintes dos óleos essenciais, os monoterpenos têm sido

identificados como suscetíveis à degradação rápida quando expostos à luz visível (MISHARINA *et al.*, 2003).

A temperatura durante o armazenamento também desempenha um papel crítico na estabilidade dos óleos essenciais, alinhando-se ao princípio da regra de Van't Hoff, que afirma que um aumento de 10 °C dobra a velocidade de uma reação química (GLASL, 1975). O aumento da temperatura acelera processos como auto-oxidação e decomposição de hidroperóxidos, contribuindo significativamente para a formação inicial de radicais livres (CHOE; MIN, 2006).

Os óleos essenciais variam em sua susceptibilidade à auto oxidação a diferentes temperaturas de armazenamento. Em geral, o monitoramento de extratos de plantas voláteis e composição de óleos essenciais demonstra que a estabilidade diminui com o tempo de armazenamento prolongado, bem como uma elevação de temperatura (TUREK; STINTZING, 2012; ROWSHAN *et al.*, 2013).

Resultados anteriores que avaliaram a estabilidade dos óleos essenciais, destacaram que temperaturas mais baixas, como as obtidas por refrigeração ou congelamento, estão associadas a taxas de degradação mais lentas dos compostos voláteis (JESUS *et al.*, 2016). Enquanto maiores temperaturas aceleram a degradação, provocando mudanças na composição volátil, bem como redução da atividade antioxidante de óleos essenciais (DEDEBAS *et al.*, 2022).

Contrariando os resultados observados na presente pesquisa, o estudo de Fazolin *et al.* (2022) constatou que pequenas alterações na composição química do OEPA ao longo de quatro anos, sob diferentes condições de armazenamento, não impactaram negativamente sua toxicidade em relação a *Spodoptera frugiperda*. Durante o período de armazenamento, os monoterpenos sofreram perdas nas diferentes condições, sendo identificados em maior quantidade nas amostras do óleo sob refrigeração. Por outro lado, o dilapiol, componente majoritário, manteve-se estável após quatro anos, independentemente das condições adversas, sugerindo uma notável resistência à degradação.

Além das condições de armazenamento do óleo, o tempo de armazenamento teve alta influência sobre a toxicidade do OEPA. Com exceção de *Tribolium castanaeum*, a CL₅₀ diminuiu após 12 meses de armazenamento do OEPA, para as espécies *C. ferrugineus*, *O. surinamensis* e *S. zeamais*. Esse comportamento toxicológico, pode estar associado a mudanças na composição do óleo essencial, durante esse período, sob as diferentes condições de armazenamento.

Negreiros *et al.* (2017), observaram aumento do teor do dilapiol em óleo essencial de *Piper aduncum* L., com concentração máxima de 79,22%, aos 9 meses de armazenamento em recipientes transparentes expostos a ambiente externo, com oscilações de temperatura e incidência direta de luz solar. Não foi realizada a análise química após os 12 meses de armazenamento, portanto, não se pode afirmar que o aumento da toxicidade foi influenciado pelo aumento do teor de dilapiol ou de outros compostos.

Poucos são os trabalhos que avaliam a estabilidade toxicológica de óleos essenciais, uma vez que a maioria se concentra em entender as mudanças na composição química, sob diferentes condições ao longo do tempo. Essas observações ressaltam a importância de considerar as características específicas de cada óleo essencial ao planejar as condições ideais de armazenamento, para definir a vida útil do produto quanto ao seu efeito tóxico.

4.5 CONCLUSÕES

O OEPA armazenado durante 12 meses apresenta maior toxicidade para *C. ferrugineus*, *O. surinamensis* e *S. zeamais*, enquanto a espécie *Tribolium castaneum* se mantém como a mais tolerante ao longo do tempo;

A temperatura elevada (35 °C) e a exposição a luz durante o armazenamento afetam negativamente a estabilidade toxicológica do OEPA;

Para manter a eficácia do OEPA, o ideal é acondicioná-lo em frascos tipo âmbar, na ausência de luz e sob refrigeração (5 °C a 20 °C).

REFERÊNCIAS

- AMER, A.; MEHLHORN, H. Persistency of larvicidal effects of plant oil extracts under different storage conditions. **Parasitology Research**, v. 99, p. 473-477, 2006.
- ASBAHANI, A. E.; MILADI, K.; BADRI, W.; SALA, M.; ADDI, E. H. A.; CASABIANCA, H.; MOUSADIK, A. E.; HARTMANN, D.; JILALE, A.; RENAUD, F. N. R.; ELAISSARI, A. Essential oils: From extraction to encapsulation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 483, n. 1-2, p. 220-243, abr. 2015.
- BAILÉN, M.; ILLESCAS, C.; QUIJADA, M.; MARTÍNEZ-DÍAZ, R. A.; OCHOA, E.; GÓMEZ-MUÑOZ, M. T.; NAVARRO-ROCHA, J.; GONZÁLEZ-COLOMA, A. Anti-Trypanosomatidae activity of essential oils and their main components from selected medicinal plants. **Molecules**, v. 28, n. 3, p. 1467, 2023.
- CHOE, E.; MIN, D. B. Mechanisms and factors for edible oil oxidation. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safet**, v. 5, p. 169-86. 2006.
- COSTA, W. K.; CRUZ, R. C. D. da; CARVALHO, K. da S.; SOUZA, I. A. de; CORREIA, M. T. dos S.; OLIVEIRA, A. M. de O.; SILVA, M. V. da. Insecticidal activity of essential oil from leaves of *Eugenia stipitata* McVaugh against *Aedes aegypti*. **Parasitology International**, v. 98, e102820, February 2024.
- DEDEBAS, T.; EKICI, L.; SAGDIC, O. Influence of heating on thermal stability of essential oils during storage. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 25, p. 611-625, 2022.
- DUROFIL, A.; RADICE, M.; BLANCO-SALAS, J.; TÉLLEZ, T. R. *Piper aduncum* essential oil: a promising insecticide, acaricide and antiparasitic. A review. **Parasite**, v. 28, n. 42, 2021.
- ESTRELA, J. L. V.; FAZOLIN, M.; CATANI, V.; ALÉCIO, M. R.; LIMA, M. S. Toxicidade de óleos essenciais de *Piper aduncum* e *Piper hispidinervum* em *Sitophilus zeamais*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 2, p. 217-222, fev. 2006.
- FAZOLIN, M.; ESTRELA, J. L. V.; ALÉCIO, M. R.; LIMA, M. S. de. Propriedade inseticida dos óleos essenciais de *Piper hispidinervum* C. DC.; *Piper aduncum* L. e *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. & K. Shum K. sobre *Tenebrio molitor* L. 1758. **Ciência e Agrotecnologia, Lavras**, v. 31, n. 1, p. 113-120, 2007.
- FAZOLIN, M.; MONTEIRO, A. F. M.; BIZZO, H. R.; GAMA, P. E.; VIANA, L. de O.; LIMA, M. É. C. de. Insecticidal activity of *Piper aduncum* oil: variation in dillapiole content and chemical and toxicological stability during storage. **Acta Amazonica**, v. 52, n. 3, p. 179-188. 2022.
- FIGUEIREDO, A. C.; BARROSO J. G.; PEDRO L. G.; SCHEFFER J. J. C. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 23, p. 213-26. 2008.

GLASL, H. Über die Haltbarkeit von Terpenoiden in Extrakten und Lösungen mit unterschiedlichem Alkoholgehalt. **Archiv der Pharmazie**, v. 308, p. 88-93. 1975.

GRASSMANN, J.; ELSTNER, E. F. Essential oils. Properties and uses. In: CABALLERO, B.; TRUGO, L.; FINGLAS, P. (Ed.). **Encyclopedia of food science and nutrition**. 2. ed. Amsterdam, London, New York: Elsevier. p. 2177-84. 2003.

JESUS, A. S.; BLANK, A. F.; ALVES, M. F.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; LIMA, R. N.; ALVES, P. B. Influence of storage time and temperature on the chemical composition of the essential oil of *Hyptis pectinata* L. Poit. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v. 18, n. 1, supl. I, p. 336-340, 2016.

LI, X. J.; WANG, W.; LUO, M.; PAN, S. M. Solvent-free microwave extraction of essential oil from *Dryopteris fragrans* and evaluation of antioxidante activity. **Food Chemistry**, v.133, p.437-44, 2012.

LOPES, A.; FERNANDEZ, C. M.; GONÇALVEZ, J. E.; BASTIAN, L. F.; ROSA, M. F. da R.; FROHLICH, P. C.; COSTA, S. I. G.; LOBO, V. da S. Estudo da qualidade e da fotodegradação dos óleos essenciais comerciais de capim limão (*Cymbopogon citratus*). **Revista de Química Industrial**, v. 84, n. 752, 2016.

MACHADO, M. P.; BERGO, C. L.; DESCHAMPS, C.; BIZZO, H. R.; BIASI, L. A. Efeito da secagem natural e artificial da biomassa foliar de *Piper hispidinervum* na composição química do óleo essencial. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 1, p. 265-270, jan./fev. 2013.

MEHDIZADEH, L.; PIRBALOUTI, G.; MOGHADDAM, M. Storage stability of essential oil of cumin (*Cuminum cyminum* L.) as a function of temperature. **International Journal of Food Properties**, v. 20, 2017.

MISHARINA, T. A.; POLSHKOV, A. N.; RUCHKINA, E. L.; MEDVEDEVA, I. B. Changes in the composition of the essential oil of marjoram during storage. **Applied Biochemistry Microbiology**, v. 39, p. 311-6, 2003.

MORAIS, L. A. S. de. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**, v. 27. n. 2, S4050-S4063. v. 27, n. 2 (Suplemento - CD Rom), agosto 2009.

MOURA, E. da S.; FARONI, L. R. D'A. HELENO, F. F.; RODRIGUES, A. A. Z. Toxicological stability of *Ocimum basilicum* essential oil and its major components in the control of *Sitophilus zeamais*. **Molecules**, v. 26, n. 21, 6483. Oct. 2021.

NEGREIROS, J. R. da S.; MIQUELONI, D. P.; ÁLVARES, V. de S. Comportamento do composto majoritário de óleos essenciais de espécies de Piper da Amazônia sob armazenamento. **Caderno de Ciências Agrárias**, v. 9, n. 2, p. 63-68, 2017.

ODAK, I.; SKORIC, I.; TALIC, S.; SKOBIC, D. Thermal stability and photostability of *Satureja montana* and *Lavandula angustifolia* essential oils. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 32, n. 11, p. 2078-2085, 2021.

OLIVEIRA, A. F. M.; SILVA, F. L. da.; MORAIS, F. M.; SILVA, R. T. da.; SANTOS, R. R. L. dos.; SILVA, L. L. W. V. da.; OLIVEIRA, J. M.; MORAIS, C. C.; CESAR, K. K. F. A. Antimicrobial activity of essential oils against pathogenic bacteria of clinical importance. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 13, p. e448111335639, 2022.

OLIVEIRA, J. D.; ALVES, C. C. F.; MIRANDA, M. L. D.; MARTINS, C. H. G.; SILVA, T. S.; AMBROSIO, M. A. L. V.; ALVES, J. M.; SILVA, J. P. Rendimento, composição química e atividades antimicrobiana e antioxidante do óleo essencial de folhas de *Campomanesia adamantium* submetidas a diferentes métodos de secagem. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 18, n. 2, p. 502-510, 2016.

OLIVEIRA, J. V. D.; FRANÇA, S. M. D.; DUTRA, K. D. A.; ARAÚJO, 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, n. 1, p. 10-17, 2017.

OLIVEIRA, R. V.; SOUSA, A. H. de; TAMWING, G. da S.; MOTA, B. B.; SILVA, M. C. da. Toxicity and synergism of the essential oil of *Piper aduncum* L. in populations of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 53, p. e76287, 2023.

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

ROWSHAN, V.; BAHMANZADEGANA, A.; SAHARKHIZ, M. J. Influence of storage conditions on the essential oil composition of *Thymus daenensis* Celak. **Industrial Crops and Products**, v. 49, p. 97-101. 2013.

SCHMIDT, E. Production of essential oils. In: BASER, K. H.; BUCHBAUER, G., (Ed.) Handbook of essential oils. **Science, technology, and applications**. Boca Raton, Fla.: CRC Press. p 83-119. 2010.

TIAN, F.; WOO, S. Y.; LEE, S. Y.; PARK, S. B.; ZHENG, Y.; CHUN, H. S. Antifungal activity of essential oil and plant-derived natural compounds against *Aspergillus flavus*. **Antibiotics**, v. 11, n. 12, p. 1727, 2022.

TISSERAND, R.; YOUNG, R. **Essential Oil Safety-e-Book: A Guide for Healthcare Professionals**. 2nd ed. Elsevier Health Sciences, Amsterdam, 780p. 2013.

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

TUREK, C.; STINTZING, F. C. Impact of different storage conditions on the quality of selected essential oils. **Food Research International**, v. 46, p. 341–353. 2012.

TUREK, C.; STINTZING, F. C. Stability of essential oils: a review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 12. 2013.

VAN FRANKENHUYZEN, K. Insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* crystal proteins. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 101, n. 1, p. 1-16. 2009.

WALALLAWITA, W. K. U. S.; BOPITIYA, D.; SIVAKANTHAN, S.; JAYAWARDANA, N. W. I. A.; MADHUJITH, T. Comparison of oxidative stability of sesame (*Sesamum indicum*), soybean (*Glycine max*) and mahua (mee) (*Madhuca longifolia*) oils against photo-oxidation and autoxidation. **Procedia Food Science**, v. 6, p. 204-207, 2016.

CAPÍTULO III

**EFEITOS SUBLETAIS DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Piper aduncum* L.
SOBRE O DESEMPENHO POPULACIONAL DE INSETOS-PRAGA DE
GRÃOS ARMAZENADOS**

RIO BRANCO - AC

2024

RESUMO

O interesse em inseticidas botânicos, especialmente os óleos essenciais, para o controle de pragas tem crescido nas últimas décadas. Contudo, os riscos ecotoxicológicos, como os efeitos subletais na geração-alvo e sua descendência, muitas vezes são negligenciados. Os impactos subletais dos inseticidas podem resultar em efeitos nocivos, neutros ou até benéficos no comportamento e na aptidão sexual dos insetos expostos. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar as taxas de desenvolvimento populacional de *S. zeamais*, *C. ferrugineus*, *O. surinamensis*, *T. castaneum* em massa de grãos de milho expostas as concentrações subletais (1/3 e 2/3 da CL_{50}) do óleo essencial de *Piper aduncum* L. As taxas de desenvolvimento populacional foram determinadas através de curvas de emergência diária e número total de insetos emergidos, contabilizados em dias alternados, até o final da emergência. A perda de massa de grãos ao final da emergência também foi aferida. A exposição subletal ao OEPA reduziu e retardou o desenvolvimento populacional de *S. zeamais*, *C. ferrugineus* e *T. castaneum*, em comparação ao controle. As espécies *T. castaneum* e *S. zeamais* apresentaram maior número de insetos emergidos e conseqüentemente provocaram maior perda de massa de grãos. Curiosamente, as concentrações subletais do OEPA aceleraram e aumentaram a emergência diária da progênie de *O. surinamensis*, sugerindo que este inseticida botânico provoca hormese nessa espécie, o que pode comprometer a eficácia do controle, quando não aplicado da maneira correta. Sendo assim, estudos adicionais devem ser realizados para compreender esse comportamento.

Palavras-chave: Controle alternativo. Hormese. Inseticidas botânicos. Reprodução.

ABSTRACT

Interest in botanical insecticides, especially essential oils, for pest control has grown in recent decades. However, ecotoxicological risks, such as sublethal effects on the target generation and their offspring, are often overlooked. The sublethal effects of insecticides can result in contradictory, neutral or even beneficial effects on the behavior and sexual demand of exposed insects. In this sense, the objective of this work was to evaluate the population development rates of *S. zeamais*, *C. ferrugineus*, *O. surinamensis* and *T. castaneum* in the mass of corn grains exposed to sublethal concentrations (1/3 and 2/3 of the LC₅₀) of the essential oil of *Piper aduncum* L. Population development rates were determined through daily emergence curves and the total number of insects emerged, counted every other day, until the end of emergence. The loss of grain mass at the end of the emergence was also affected. Sublethal exposure to EOPA was impaired and delayed the population development of *S. zeamais*, *C. ferrugineus* and *T. castaneum*, compared to control. The species *T. castaneum* and *S. zeamais* presented a greater number of insects emerged and consequently caused greater loss of grain mass. Interestingly, the sublethal concentration of EOPA accelerated and increased the daily and accumulated emergence of *O. surinamensis* progeny, indicating that this botanical insecticide causes hormones in this species, which can compromise the effectiveness of the control, when not applied correctly. Therefore, additional studies must be carried out to understand this behavior.

Keywords: Alternative control. Hormesis. Botanical insecticides. Reproduction.

5.1 INTRODUÇÃO

O controle de insetos pragas em grãos armazenados representa um desafio crucial no cenário agrícola, onde a preservação da qualidade dos produtos é fundamental para a segurança alimentar e a sustentabilidade econômica (TADDESE *et al.*, 2020). O armazenamento de grãos é suscetível à infestação de diversos insetos pragas, dentre eles destacam-se as espécies *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae), *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera: Silvanidae), *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) (Coleoptera: Cucujidae) e *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae), que causam danos significativos, resultando em perdas quantitativas e qualitativas irreversíveis (LORINI *et al.*, 2015).

Nas unidades de armazenamento, o controle dessas pragas é realizado por meio da aplicação de inseticidas sintéticos, que são considerados rápidos e eficientes (SOUSA *et al.*, 2008; PIMENTEL *et al.*, 2012). No entanto, o uso irracional de agrotóxicos, tem causado preocupações devido aos problemas relacionados à saúde, impactos ambientais e o desenvolvimento de populações resistentes. Nesse sentido, a busca por inseticidas botânicos, como extratos vegetais ou óleos essenciais, torna-se uma alternativa promissora para o controle das pragas de grãos armazenados (HADDI *et al.*, 2020; JUMBO *et al.*, 2022; SPLETOZER *et al.* 2021).

Os inseticidas botânicos, além de provocarem a mortalidade de insetos, também podem causar alterações no seu comportamento (FERNANDES; FAVERO, 2014). Essas mudanças comportamentais dos insetos na presença de inseticidas podem auxiliar na sua adaptação e sobrevivência em ambientes tratados com compostos tóxicos (GUEDES *et al.*, 2016; SOUSA *et al.*, 2017), contribuindo para a seleção ao longo do tempo de populações resistentes (PIMENTEL *et al.*, 2012; SOUZA *et al.*, 2018).

Embora a letalidade dos óleos essenciais, como o óleo essencial de *Piper aduncum* (OEPA), seja amplamente documentada (DUROFIL *et al.*, 2021), são escassas as pesquisas que investigam seus efeitos subletais sobre os parâmetros fisiológicos e comportamentais dos insetos (ARAÚJO *et al.*, 2017). Em trabalho recente de Nascimento *et al.* (2023), adultos de *S. zeamais*, *S. oryzae* e *C. ferrugineus* reduziram sua atividade de voo quando expostos a concentrações subletais do óleo essencial de *Piper aduncum* L. A exposição a concentrações subletais do OEPA

reduziram as taxas de crescimento instantâneo e a emergência de diferentes populações de *Sitophilus zeamais* (OLIVEIRA, 2023).

Essas informações evidenciam que indivíduos expostos a concentrações subletais de inseticidas manifestam alterações em características relevantes, como tempo de desenvolvimento, longevidade, fertilidade, fecundidade, oviposição, locomoção e alimentação (DESNEUX *et al.*, 2007; GUEDES *et al.*, 2010; GUEDES; CUTLER, 2014; MARTINS *et al.*, 2022; VILCA MALLQUI *et al.*, 2014). A compreensão desses efeitos desempenha um papel fundamental no manejo da resistência de pragas (GUEDES *et al.*, 2009; SOUSA *et al.*, 2017).

Portanto, é fundamental investigar os efeitos subletais de inseticidas botânicos, sobre os padrões reprodutivos para evitar falhas no controle de pragas de grãos armazenados que resultam no surgimento de populações resistentes ou surtos de pragas secundárias (CUTLER; GUEDES, 2017). Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito subletal do óleo essencial de *Piper aduncum* (OEPA) sobre as taxas de desenvolvimento populacional de *Sitophilus zeamais*, *Oryzaephilus surinamensis*, *Cryptolestes ferrugineus* e *Tribolium castaneum*.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

A criação de insetos e a execução dos bioensaios, foram realizados no Laboratório de Manejo Integrado de Pragas da Universidade Federal do Acre (UFAC). A extração do OEPA foi realizada no Laboratório de Produtos Naturais da Fundação de Tecnologia do Estado do Acre (FUNTAC).

5.2.1 Criação de insetos

Para realização dos bioensaios, foram criadas populações de *Sitophilus zeamais*, *Oryzaephilus surinamensis*, *Cryptolestes ferrugineus* e *Tribolium castaneum*, coletados no município de Rio Branco, Acre. As criações foram realizadas em frascos de vidro de 1,5 L, fechados com tampas plásticas perfuradas e revestidas com tecido organza, sob temperatura constante (27 ± 2 °C), umidade relativa ($70\pm 5\%$) e ecotofase (24 h).

Foi utilizado como substrato alimentar, grãos de milho (13% de umidade em base úmida) inteiros para a praga primária (*S. zeamais*) e triturados para as secundárias (*C. ferrugineus*, *O. surinamensis* e *T. castaneum*). Os grãos foram previamente fumigados com fosfina (PH₃) e mantidos sob refrigeração, para evitar a reinfestação.

5.2.2 Obtenção e extração do óleo essencial

Para a obtenção das folhas, foi realizada a coleta em plantas adultas de *P. aduncum*, localizadas no Campus da UFAC, no município de Rio Branco sob as coordenadas 9° 57' 34,9" S e 67° 51' 30,6" W. 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).

A coleta do material vegetal foi efetuada no período da manhã durante o mês de agosto de 2021. Inicialmente, as amostras botânicas foram coletadas a partir de 0,4 m do solo, posteriormente secas a 45 °C, até atingir massa constante. Após a secagem, o material foi quebrado manualmente em partículas menores e armazenados em sacos plásticos (10 kg) até o momento da extração.

A extração do OEPA foi realizada por meio da técnica de hidrodestilação, utilizando-se uma manta aquecedora, balão volumétrico de 5 L e aparelho tipo Clevegener. Cada extração foi realizada com 150 g de folhas secas misturadas com 2 L de água destilada. Após a extração, foi realizada a separação das amostras utilizando funil de separação, seguida da secagem com sulfato de sódio anidro (Synth, 99%, Brasil). Por fim, o OEPA foi armazenado em frascos do tipo âmbar, mantidos sob refrigeração em câmara do tipo B.O.D a 4 °C.

5.2.3 Taxa de desenvolvimento populacional

Os experimentos foram realizados separadamente para cada espécie, em frascos plásticos com capacidade de 1,0 L, contendo 200 g de grãos de milho, com teor de umidade de 13% b.u., tratados com concentrações subletais do óleo essencial de *P. aduncum*, correspondentes a 1/3 e 2/3 da CL₅₀ (Tabela 11) de cada espécie, obtidas nos bioensaios de toxicidade realizados anteriormente no capítulo I. O tratamento controle consistiu em acetona pura. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições.

Tabela 11 - Concentrações subletais de OEPA utilizadas nos bioensaios de taxa de desenvolvimento populacional

Espécies	Concentrações subletais do OEPA ($\mu\text{L}\cdot\text{kg}^{-1}$)	
	1/3 CL ₅₀	2/3 CL ₅₀
<i>Sitophilus zeamais</i>	7,84	15,68
<i>Oryzaephilus surinamensis</i>	1,76	3,52
<i>Tribolium castaneum</i>	66,34	132,66
<i>Cryptolestes ferrugineus</i>	0,30	0,58

As caldas foram pulverizadas na massa de grãos através de um aerógrafo de dupla ação, com sistema de mistura interna e depósito por gravidade (modelo BC 60, Steula, São Paulo, Brazil). 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, conforme Ferraz (2018).

Posteriormente, os grãos de milho foram infestados com 50 insetos adultos não-sexados (com idade variando de 1 a 15 dias), para a oviposição. Posteriormente, os frascos foram armazenados em câmaras climáticas tipo B.O.D., sob condições constantes de temperatura de 35 ± 2 °C para *Tribolium castaneum*, 29 ± 1 °C para *C. ferrugineus* e *O. surinamensis* e $27\pm 0,9$ °C para *S. zeamais* e umidade relativa ($70\pm 5\%$).

Após 11 dias, os insetos foram removidos dos frascos, conforme o método descrito por Trematerra *et al.* (1996). A progênie adulta obtida no substrato de alimentação foi contabilizada e removida em dias alternados a partir da primeira emergência, até o final do período de emergência, considerando as três últimas contagens iguais à zero. 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).



Figura 6 - Bioensaios da taxa de desenvolvimento populacional

5.2.4 Número total de insetos emergidos e perda de massa de grãos

O total de insetos emergidos foi contabilizado ao final do período de emergência. Adicionalmente, a perda de massa dos grãos foi aferida em balança ao final do período de emergência, utilizando a seguinte equação:

$$\text{Perda de massa (\%)} = \frac{M_i - M_f}{M_i} \times 100$$

Mi = Massa inicial (g) e Mf = Massa final (g)

5.2.5 Análises estatísticas

Os dados de emergência diária e acumulada normalizada 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). As variáveis número total de insetos emergidos e perda de massa de grãos foram submetidos à análise de variância (PROC GLM; SAS Institute 2011). O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso (DIC), com quatro repetições. Posteriormente, foi realizada a análise de variância e testes comparação de médias entre as espécies ($P < 0,05$) (TUKEY, 1949) e entre as duas concentrações subletais da OEPA e controle ($P < 0,05$) (Software SISVAR).

5.3 RESULTADOS

5.3.1 Taxa de desenvolvimento populacional

O modelo gaussiano de pico com três parâmetros $f=a\exp(-0,5((x-b)/c)^2)$, foi o que melhor se ajustou à emergência diária das quatro espécies de pragas de grãos armazenados (*S. zeamais*, *O. surinamensis*, *C. ferrugineus* e *T. castaneum*). As variações nos parâmetros estimados foram influenciadas pela exposição ou não a concentrações subletais do óleo essencial de *Piper aduncum* (OEPA), e as curvas de regressão da emergência diária destacaram diferenças nas taxas de desenvolvimento populacional entre as espécies (Figura 7; Tabela 12).

Observou-se que a exposição da massa de grãos de milho a concentrações subletais do OEPA resultou no retardamento do pico de emergência de adultos de *S. zeamais*, *T. castaneum* e *C. ferrugineus* (Figuras 7A, 7C e 7D), sem sobreposição significativa em relação ao controle. No entanto, para *O. surinamensis*, um padrão distinto foi identificado, onde a concentração subletal equivalente a 2/3 da CL₅₀ acelerou o pico de emergência dos insetos adultos. Notavelmente, a partir do ponto de inflexão da curva, ocorreu uma queda na emergência, culminando na extinção da prole aproximadamente sete dias após a primeira emergência (Figura 7B).

As estimativas para o pico máximo da emergência diária (parâmetro 'a') foram menores para as espécies *S. zeamais*, *T. castaneum* e *C. ferrugineus* quando expostas a concentrações subletais do OEPA, indicando uma redução na emergência de insetos adultos. Contrariamente às expectativas, *Oryzapehilus surinamensis* apresentou um pico populacional máximo significativamente maior ($10,67 \pm 1,24$ adultos emergidos/dia) na concentração correspondente a 2/3 da CL₅₀, evidenciando um aumento na emergência de adultos na exposição subletal do bioinseticida, aproximadamente 174,29% a mais que o controle (Tabela 12).

As estimativas relacionadas aos dias necessários para atingir o pico máximo de emergência (parâmetro 'b') foram maiores para todas as espécies expostas a concentrações subletais do OEPA, indicando um atraso na emergência dos insetos, com exceção de *O. surinamensis*, que atingiu o pico populacional máximo em apenas três dias após a primeira emergência, quando os grãos foram tratados com 2/3 da CL₅₀ (Tabela 12).

Tabela 12 - Sumário das análises de regressão não-lineares das curvas de desenvolvimento populacional das espécies *Sitophilus zeamais*, *Oryzaephilus surinamensis*, *Cryptolestes ferrugineus* e *Tribolium castaneum*

Variável	Modelo	Espécie	Tratamento	Parâmetros estimados (\pm E.P.M.)			G.I erro	F	R ²
				a	b	c			
Emergência diária	$f=a \exp(-0,5((x-b)/c)^2)$	<i>S. zeamais</i>	Controle	6,16 \pm 0,33	18,59 \pm 0,92	13,79 \pm 1,03	26	74,69	0,92
			1/3 CL ₅₀	4,83 \pm 0,25	20,62 \pm 0,95	14,87 \pm 1,07	26	68,28	0,92
			2/3 CL ₅₀	3,99 \pm 0,21	23,30 \pm 0,70	11,68 \pm 0,73	26	30,08	0,94
		<i>O. surinamensis</i>	Controle	3,89 \pm 0,30	6,93 \pm 0,52	5,32 \pm 0,59	12	56,97	0,95
			1/3 CL ₅₀	6,86 \pm 0,80	4,87 \pm 1,13	5,52 \pm 1,19	12	27,43	0,91
			2/3 CL ₅₀	10,67 \pm 1,24	3,12 \pm 0,22	1,31 \pm 0,16	12	30,08	0,91
		<i>C. ferrugineus</i>	Controle	3,16 \pm 0,14	26,68 \pm 0,58	11,17 \pm 0,59	23	96,32	0,95
			1/3 CL ₅₀	2,66 \pm 0,14	28,11 \pm 0,55	8,95 \pm 0,55	23	100,53	0,95
			2/3 CL ₅₀	2,26 \pm 0,15	28,16 \pm 0,76	10,27 \pm 0,78	23	55,76	0,91
		<i>T. castaneum</i>	Controle	10,82 \pm 0,61	15,65 \pm 0,40	6,05 \pm 0,40	21	118,62	0,96
			1/3 CL ₅₀	6,44 \pm 0,43	16,48 \pm 0,52	6,80 \pm 0,53	21	75,74	0,94
			2/3 CL ₅₀	7,29 \pm 0,28	18,82 \pm 0,24	5,33 \pm 0,24	21	281,93	0,98

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.

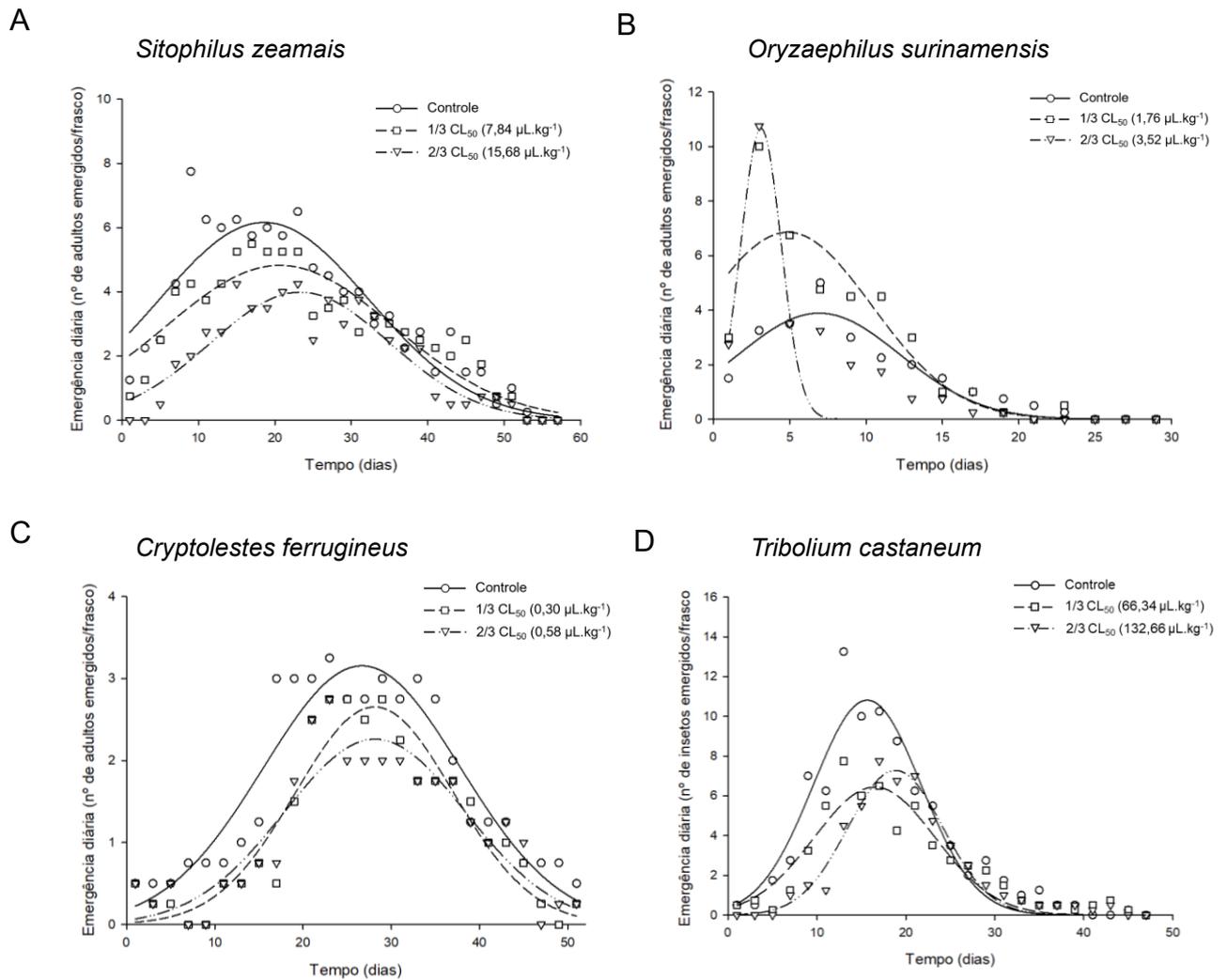


Figura 7 - Emergência diária de insetos adultos de (A) *Sitophilus zeamais*, (B) *Oryzaephilus surinamensis*, (C) *Cryptolestes ferrugineus* e (D) *Tribolium castaneum* não expostos (controle) e expostos a concentrações subletais do OEPA. Os símbolos representam as médias de quatro repetições

5.3.2 Número total de insetos emergidos e perda de massa de grãos

Foram observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) para o número total de insetos emergidos entre as espécies e as concentrações subletais do OEPA. As espécies *Sitophilus zeamais* e *Tribolium castaneum* apresentaram o maior número de insetos emergidos ($78,75 \pm 11,02$ e $65,08 \pm 5,16$ respectivamente), quando comparado a *C. ferrugineus* ($38,17 \pm 2,79$) e *O. surinamensis* ($28,33 \pm 6,09$).

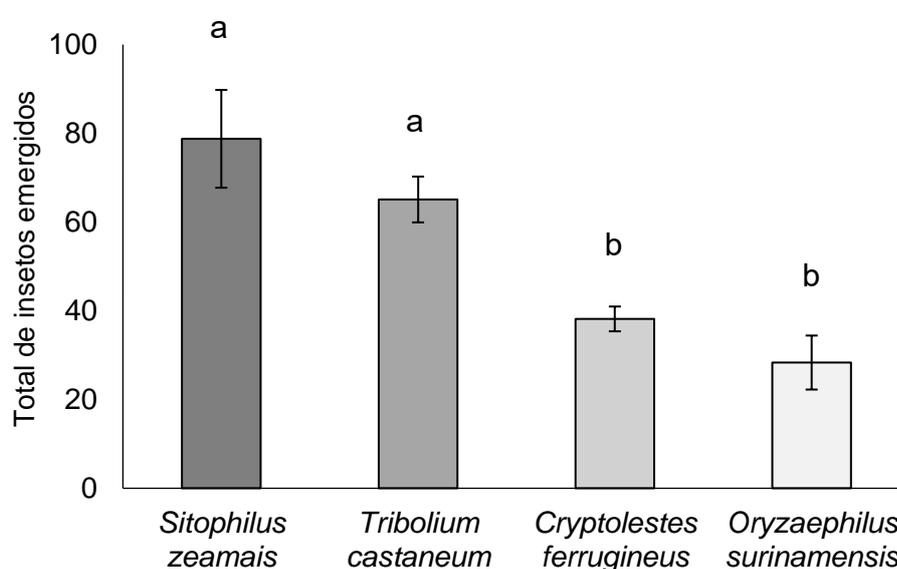


Figura 8 - Número total de insetos emergidos de *Sitophilus zeamais*, *Tribolium castaneum*, *Cryptolestes ferrugineus* e *Oryzaephilus surinamensis*. Barras seguidas com letras distintas são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

Observou-se efeito significativo para o total de adultos emergidos entre as concentrações subletais de OEPA para as espécies *S. zeamais* e *T. castaneum*. A exposição subletal ao OEPA (2/3 da CL_{50}) reduziu o número de insetos emergidos em 42,6% para *S. zeamais* e 40,2% para *T. castaneum*. Para as espécies *C. ferrugineus* e *O. surinamensis*, não foi observada diferença entre as concentrações e o controle. Para a variável perda de massa de grãos, não foi observada efeito significativo das concentrações subletais de OEPA para nenhuma das espécies. Foi observada perda de massa de grãos apenas nos frascos infestados com *S. zeamais* (3,42%) e *T. castaneum* (1,58%).

Tabela 13 - Total de insetos emergidos em resposta a exposição ou não (controle) de concentrações subletais de OEPA

Espécie	Concentração subletal do OEPA ($\mu\text{L.kg}^{-1}$)	Número total de insetos emergidos
<i>S. zeamais</i>	Controle	98 a
	1/3 CL ₅₀ (7,84 $\mu\text{L.kg}^{-1}$)	82 ab
	2/3 CL ₅₀ (15,68 $\mu\text{L.kg}^{-1}$)	56,25 b
<i>T. castaneum</i>	Controle	86,25 a
	1/3 CL ₅₀ (66,34 $\mu\text{L.kg}^{-1}$)	57,50 b
	2/3 CL ₅₀ (132,66 $\mu\text{L.kg}^{-1}$)	51,50 b
<i>C. ferrugineus</i>	Controle	42 a
	1/3 CL ₅₀ (0,30 $\mu\text{L.kg}^{-1}$)	30,50 a
	2/3 CL ₅₀ (0,58 $\mu\text{L.kg}^{-1}$)	42 a
<i>O. surinamensis</i>	Controle	23 a
	1/3 CL ₅₀ (1,76 $\mu\text{L.kg}^{-1}$)	37,50 a
	2/3 CL ₅₀ (3,52 $\mu\text{L.kg}^{-1}$)	26 a

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna são estatisticamente iguais ($p < 0,05$).

5.4 DISCUSSÃO

A exposição subletal ao OEPA teve impactos negativos nas taxas de desenvolvimento populacional das espécies *S. zeamais*, *C. ferrugineus* e *T. castaneum*. A influência da exposição subletal de óleos essenciais e/ou seus componentes, sobre a emergência de populações de insetos pragas de grãos armazenados já foi reportada em outros trabalhos (FREITAS *et al.*, 2016; SOUZA *et al.*, 2018; JUMBO *et al.*, 2018). O efeito subletal do OEPA sobre *S. zeamais*, *C. ferrugineus* e *T. castaneum* pode ter sido ocasionado pela redução da oviposição pelas fêmeas (JUMBO *et al.*, 2018), ou ainda, pela ação ovicida ou larvicida do bioinseticida, como observado para os óleos essenciais de *Croton pulegioidorus* Baill, *C. heliotropiifolius* Kunth (Euphorbiaceae), *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae) sobre *T. castaneum* (MAGALHÃES *et al.*, 2015).

Os insetos expostos a concentrações subletais de inseticidas tanto sintéticos como botânicos, apresentam alterações comportamentais e fisiológicas, como redução do número de ovos viáveis, período de oviposição, peso larval e pupal, emergência de adultos, longevidade e fertilidade. Essas perturbações no sistema reprodutivo mesmo em níveis subletais, podem ter consequências significativas na dinâmica populacional ao longo das gerações (FRANÇA *et al.*, 2017).

Embora a exposição subletal ao OEPA tenha causado uma redução significativa no desenvolvimento das populações de *S. zeamais*, *C. ferrugineus* e *T. castaneum*, essas concentrações não foram capazes de erradicá-las completamente. Assim, é crucial compreender os efeitos subletais de inseticidas, pois os insetos estão constantemente expostos a concentrações subletais, especialmente em grãos armazenados (GUEDES *et al.*, 2016). No entanto, estudos relacionados ao tema ainda são incipientes, especialmente para compostos recentemente introduzidos.

A exposição a inseticidas pode alterar potencialmente a mortalidade, a emergência, a imigração e a emigração dos insetos, e esta interrupção interfere, portanto, a dinâmica populacional, com a magnitude desses efeitos variando com o genótipo (GUEDES *et al.*, 2011). Nesse sentido, através dos resultados foi possível observar que as concentrações subletais do OEPA estimularam o desempenho populacional da espécie *O. surinamensis*, em relação ao controle, evidenciado pelas maiores taxas de emergência diária e menor tempo necessário para atingir o pico

populacional. As diferenças comportamentais da espécie verificada entre os grãos de milho expostos e não expostos ao OEPA, levaram a diferenças na emergência diária, levando a uma progênie mais abundante sob as concentrações subletais do inseticida botânico.

O comportamento observado em *O. surinamensis* pode estar relacionado ao fenômeno conhecido como hormese, caracterizado pelo efeito benéfico de baixas concentrações de compostos que são tóxicos em concentrações mais elevadas (GUEDES; CUTLER, 2014; GUEDES *et al.*, 2016). Os impactos dessas respostas podem resultar em falhas no controle de pragas agrícolas, promovendo o ressurgimento e/ou surtos de pragas secundárias (CUTLER *et al.*, 2009; CORDEIRO *et al.*, 2013; GUEDES *et al.*, 2010).

Os mecanismos que regulam os efeitos estimulatórios, ou seja, a hormese, aos inseticidas tradicionais ainda não são completamente compreendidos (YU *et al.*, 2010; GUEDES; CUTLER, 2014). Entretanto, as respostas observadas à exposição subletal parecem resultar de processos biológicos compensatórios, nos quais casais expostos redirecionam seus recursos energéticos para a produção de descendentes, em detrimento da automanutenção (CALABRESE, 1999; GUEDES; CUTLER, 2014).

Em trabalho recente (VÉLEZ *et al.*, 2018), foi observado que concentrações subletais de deltametrina e espinosade favoreceram a emergência de adultos de *S. zeamais*. Da mesma forma, avaliando o efeito de óleos essenciais sobre *S. zeamais*, Silva *et al.* (2017), verificaram que as concentrações subletais desses bioinseticidas promoveram a emergência precoce dos insetos adultos, maior consumo de grãos e conseqüentemente maior massa corporal dos indivíduos.

Sendo assim, entender os efeitos subletais de inseticidas sintéticos ou naturais, sempre deve ser o foco em estudos toxicológicos, pois as exposições subletais dos insetos são provavelmente mais frequentes do que as letais em ambientes de armazenamento, seja pela degradação natural ou pela aplicação não uniforme (GUEDES *et al.*, 2011). Independentemente do tipo de inseticida usado, os efeitos letais e subletais devem ser totalmente explorados, e essas informações devem ser utilizadas nas tomadas de decisão de manejo integrado de pragas.

Importante destacar que as espécies *S. zeamais* e *T. castaneum* apresentaram maior número de insetos adultos emergidos, ao final dos 57 e 47 dias após a primeira emergência, resultando em maior consumo de grãos, evidenciado pela perda de

massa. No entanto, mesmo para essas espécies, foi observada a influência significativa da exposição subletal ao OEPA, reduzindo o número total de insetos emergidos.

Diante dos resultados observados, o presente estudo sugere que o OEPA mesmo em concentrações subletais foram capazes de retardar e reduzir as taxas de desenvolvimento populacional de indivíduos das espécies *S. zeamais*, *C. ferrugineus* e *T. castaneum*. Por outro lado, o uso da exposição subletal ao OEPA pode ter induzido hormese em *O. surinamensis*, o que pode comprometer a eficácia do bioinseticida, pois além de aumentar a população dessa praga, pode impulsionar o aumento da frequência de alelos de resistência (GUEDES *et al.*, 2010). No entanto, estudos adicionais mais aprofundados devem ser realizados antes de qualquer declaração conclusiva.

5.5 CONCLUSÕES

A exposição subletal ao óleo essencial de *P. aduncum* reduz e retarda as taxas de desenvolvimento populacional de *S. zeamais*, *C. ferrugineus* e *T. castaneum*;

As espécies *S. zeamais* e *T. castaneum* apresentam maior emergência de insetos e conseqüentemente maior consumo de grãos. Porém, a exposição subletal ao OEPA, reduz o número de insetos emergidos;

As concentrações subletais do OEPA ($1,76 \mu\text{L.kg}^{-1}$ e $3,52 \mu\text{L.kg}^{-1}$) estimulam as taxas de desenvolvimento de *O. surinamensis*, o que pode comprometer a eficácia do bioinseticida e ainda promover ganho de resistência ao longo do tempo.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, A. M. N.; FARONI, L. R. D.; OLIVEIRA, J. V.; NAVARRO, D. M. A. F.; BARBOSA, D. R. S.; BRENDA, M. O.; FRANÇA, S. M. Lethal and sublethal responses of *Sitophilus zeamais* populations to essential oils. **Journal Pest Science**, v. 90, p. 589- 600, 2017.
- CALABRESE, E. J. Evidence that hormesis represents an “overcompensation” response to a disruption in homeostasis. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 42, p. 135-137, 1999.
- CORDEIRO, E. M. G.; MOURA, I. L. T. de; FADINI, M. A. M.; GUEDES, R. N. C. Beyond selectivity: are behavioral avoidance and hormesis likely causes of pyrethroid-induced outbreaks of the southern red mite *Oligonychus ilicis*? **Chemosphere**, v. 93, p. 1111-1116, 2013.
- CUTLER, G. C.; GUEDES, R. N. C. Occurrence and significance of insecticide-induced hormesis in insects. In: DUKE, S. O., KUDESK, P., SOLOMON, K. (Eds), **Pesticide dose: effects on the environment and target and non-target organisms**. Washington: American Chemical Society, p. 101-119, 2017.
- CUTLER, G. C.; RAMANAIDU, K.; ASTATKIE, T.; ISMAN, M. B. Green peach aphid, *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae), reproduction during exposure to sublethal concentrations of imidacloprid and azadirachtin. **Pest Management Science**, v. 65, p. 205-209, 2009.
- DESNEUX, N.; DECOURTYE, A.; DELPUECH, J-M. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. **Annual Review of Entomology**, v. 52, p. 81-106, 2007.
- DUROFIL, A.; RADICE, M.; BLANCO-SALAS, J.; TÉLLEZ, T. R. *Piper aduncum* essential oil: a promising insecticide, acaricide and antiparasitic. A review. **Parasite**, v. 28, n. 42, 2021.
- FERNANDES, E. T.; FAVERO, S. Óleo essencial de *Schinus molle* L. para o controle de *Sitophilus zeamais* Most.1855 (Coleoptera:Curculionidae) em milho. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 9, n. 1, p. 225-231, 2014.
- 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.
- FREITAS, R. C. P.; FARONI, L. R. D.; HADDI, K.; JUMBO, L. O. V.; OLIVEIRA, E.E. Allyl isothiocyanate actions on populations of *Sitophilus zeamais* resistant to phosphine: Toxicity, emergence inhibition and repellency. **Journal of Stored Products Research**, Amsterdam, v. 69, p. 257-264, 2016.
- FRANÇA, S. M. de; BRENDA, M. A.; BARBOSA, D. R. S.; ARAUJO, A. M. N.; GUEDES, C. A. The sublethal effects of insecticides in insects. In: SHIELDS, V. D. C. (Ed). **Biological control of pest and vector insects**. InTech, Rijeka, p. 23-39, 2017.

GUEDES, N. M. P.; GUEDES, R. N. C.; FERREIRA, G. H.; SILVA, L. B. Flight take-off and walking behavior of insecticide-susceptible and - resistant strains of *Sitophilus zeamais* exposed to deltamethrin. **Bulletin of Entomological Research**, v. 99, p. 393-400, 2009.

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. 3, p. 1-5, 2011.

GUEDES, N. M. P.; TOLLEDO, J.; CORRÊA, A. S.; GUEDES, R. N. C. Insecticide-induced hormesis in an insecticide-resistant strain of the maize weevil. **Journal of Applied Entomology**, v.134, p. 142-148, 2010.

GUEDES, R. N. C., SMAGGHE, G.; STARK, J. D.; DESNEUX, N. Pesticide induced stress in arthropod pest for optimized integrated pest management programs. **Annual Review of Entomology**, v.61, p. 43-62. 2016.

GUEDES, R. N. C.; CUTLER, G. C. Insecticide-induced hormesis and arthropod pest management. **Pest Management Science**, v. 70, p. 690-697, 2014.

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.

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.

JUMBO, L. O. V.; HADDI, K.; FARONI, L. R. D.; HELENO, F. F.; PINTO, F. G.; OLIVEIRA, E. E. Toxicity to, oviposition and population growth impairments of *Callosobruchus maculatus* exposed to clove and cinnamon essential oils. **PloS one**, v. 13, p. 1-15, 2018.

LORINI, I.; KRZYZANOWSKI, F. C.; FRANÇA-NETO, J. de B.; HENNING, A. A.; HENNING, F. A. Manejo integrado de pragas de grãos e sementes armazenadas. Brasília, DF: Embrapa, 2015. 81 p.

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.

MARTINS, J. C.; SILVA, E. M.; SILVA, R. S.; FERREIRA, S. R.; PICANÇO, M. C. Copaiba oil and Neem extract can be a potential alternative for the behavioral control of *Sitophilus zeamais*. **Brazilian Journal of Biology**, v. 84, e254628. 2022.

NASCIMENTO, J. M. do; SOUSA, A. H. de; LOPES, L. M.; MENDONÇA, J. F.; SANTOS, A. C. V. dos. Bioactivity of *Piper aduncum* L. essential oil for insect pests of stored products. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 53, e77482, 2023.

OLIVEIRA, R. V. **Toxicidade, sinergismo e efeitos subletais do óleo essencial de pimenta-de-macaco (*Piper aduncum* L.) para *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae)**. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Acre, Programa de Pós - Graduação em Produção Vegetal, Doutorado em Agronomia, Rio Branco, 2023. 76f.

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.

SILVA, S. M.; HADDI, K.; VITERI JUMBO, L. O.; OLIVEIRA, E. E. Progeny of the maize weevil, *Sitophilus zeamais*, is affected by parental exposure to clove and cinnamon essential oils. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.163, p. 220-228, 2017.

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.; FARONI, L. R. A.; GUEDES, R. N. C. Locomotor behavior of *Sitophilus zeamais* populations under sublethal ozone exposure. **Journal of Pest Science**, v. 90, n. 1, p. 239-247, 2017.

SOUSA, A. H.; FARONI, L. R. 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**, Amsterdam, v. 45, p. 241-246, 2009.

SOUZA, L. P.; FARONI, L. R. 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 (Online)**, v. 91, n.2, p. 761-770, 2018.

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

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.

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.

VÉLEZ, M.; BOTINA, L. L.; TURCHEN, L. M.; BARBOSA, W. F.; GUEDES, R. N. C. Spinosad and deltamethrin-induced impact on mating and reproductive output of the maize weevil *Sitophilus zeamais*. **Journal of Economic Entomology**, p. 1-9. 2018.

VILCA MALLQUI, K. S.; VIEIRA, J. L.; GUEDES, R. N. C.; GONTIJO, L. M. Azadirachtin-induced hormesis mediating shift in fecundity-longevity trade-off in the mexican bean weevil (Chrysomelidae: Bruchinae). **Journal of Economic Entomology**, v. 107, p. 860-866, 2014.

YU, Y.; SHEN, G. Q.; ZHU, H.; LU, Y. Imidacloprid-induced hormesis on the fecundity and juvenile hormone levels of the green peach aphid *Myzus persicae* (Sulzer). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 98, p. 238-242. 2010.

6 CONCLUSÕES FINAIS

As espécies *Sitophilus zeamais*, *Cryptolestes ferrugineus*, *Tribolium castaneum* e *Oryzaephilus surinamensis* podem colonizar simultaneamente a mesma massa de grãos e apresentam respostas toxicológicas distintas em relação a exposição a deltametrina e ao óleo essencial de *Piper aduncum* L.;

Cryptolestes ferrugineus apresenta maior suscetibilidade ao OEPA em comparação as demais espécies, enquanto *T. castaneum* se mostra tolerante tanto ao OEPA, quanto ao inseticida sintético, com as maiores CL₅₀ e CL₉₅;

O OEPA potencializa o efeito tóxico da deltametrina para todas as espécies, inclusive *T. castaneum*, tornando-se uma opção de sinergista em misturas com inseticidas comerciais;

Para manter a estabilidade toxicológica do OEPA armazenado durante 12 meses, o inseticida botânico deve ser mantido em frascos protegidos da luz e sob refrigeração, em temperaturas iguais ou abaixo a 20 °C;

A exposição subletal do OEPA reduz as taxas de desenvolvimento populacional das espécies *S. zeamais*, *C. ferrugineus* e *T. castaneum*. Enquanto para *O. surinamensis*, as concentrações subletais do inseticida botânico estimulam a emergência da prole, sugerindo uma resposta hormética, o qual pode comprometer a eficácia no controle desses insetos-praga, a longo prazo.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O óleo essencial de *Piper aduncum* L. como inseticida botânico tem potencial de ser utilizado em programas de manejo integrado de pragas, devido seus benefícios sociais, econômicos e ambientais, especialmente para pequenos e médios produtores.

Em termos sociais, reduz os riscos à saúde dos produtores e garantem alimentos mais seguros para o consumo humano. No entanto, salienta-se que apesar dos resultados promissores, são necessários estudos que avaliem os riscos toxicológicos do OEPA sobre mamíferos e outros organismos não-alvos, uma vez que apesar de biodegradáveis seu uso incorreto pode se tornar nocivo.

Uma das principais vantagens do OEPA é a sua atividade sinergista, podendo ser empregado em misturas com inseticidas químicos, como a deltametrina, reduzindo a quantidade do produto a ser aplicado e aumentando a sua toxicidade. Conseqüentemente, se configura como uma importante ferramenta para superar mecanismos de resistência a inseticidas, devido a maior disponibilidade das moléculas tóxicas no corpo do inseto.

Economicamente, os custos de produção para os produtores são reduzidos, em comparação ao uso isolado de inseticidas sintéticos, em virtude da possibilidade de cultivo da espécie e obtenção do óleo essencial em suas propriedades. Além disso, a crescente demanda por alimentos saudáveis e sustentáveis pode abrir novas oportunidades de mercado para os produtores, principalmente na região Amazônica, onde a matéria-prima para obtenção do OEPA é facilmente encontrada e/ou produzida.

Para que seu uso prático na proteção de grãos armazenados seja implementado, são necessários estudos adicionais, que abordem a tecnologia de aplicação em unidades de armazenamento, para verificar sua difusão e estabilidade na massa de grãos. Além disso, estudos que explorem de forma mais aprofundada possíveis riscos de ganho de resistência em populações de insetos submetidos a efeitos subletais do OEPA.