

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA  
TROPICAL



ASPECTOS BIOLÓGICOS E COMPORTAMENTAIS DE  
*Conotrachelus humeropictus* Fiedler, 1940 (Coleoptera:  
Curculionidae) E AVALIAÇÃO DA BIOATIVIDADE DE  
EXTRATOS BOTÂNICOS

ALEXANDRA PRISCILLA TREGUE COSTA

MANAUS  
2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA  
TROPICAL

ALEXANDRA PRISCILLA TREGUE COSTA

ASPECTOS BIOLÓGICOS E COMPORTAMENTAIS DE  
*Conotrachelus humeropictus* Fiedler, 1940 (Coleoptera:  
Curculionidae) E AVALIAÇÃO DA BIOATIVIDADE DE  
EXTRATOS BOTÂNICOS

Tese apresentada ao Programa de Pós  
Graduação em Agronomia Tropical da  
Universidade Federal do Amazonas, como  
requisito parcial para obtenção do título de  
Doutor em Agronomia Tropical, área de  
concentração em Produção Vegetal.

Orientador: Dr. Neliton Marques da Silva FCA/UFAM  
Co-Orientadora: Dra. Márcia Reis Pena ICET/UFAM

MANAUS  
2018

### Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

T786a Tregue Costa, Alexandra Priscilla  
ASPECTOS BIOLÓGICOS E COMPORTAMENTAIS DE  
Conotrachelus humeropictus Fiedler, 1940 (Coleoptera:  
Curculionidae) E AVALIAÇÃO DA BIOATIVIDADE DE EXTRATOS  
BOTÂNICOS / Alexandra Priscilla Tregue Costa. 2018  
128 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Neliton Marques da Silva  
Coorientadora: Márcia Reis Pena  
Tese (Doutorado em Agronomia Tropical) - Universidade Federal  
do Amazonas.

1. Broca-do-cupuaçu. 2. Plantas Bioativas. 3. Controle alternativo  
de pragas. 4. Comportamento. 5. Parâmetros biológicos. I. Silva,  
Neliton Marques da II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

ALEXANDRA PRISCILLA TREGUE COSTA

ASPECTOS BIOLÓGICOS E COMPORTAMENTAIS DE  
*Conotrachelus humeropictus* Fiedler, 1940 (Coleoptera:  
Curculionidae) E AVALIAÇÃO DA BIOATIVIDADE DE  
EXTRATOS BOTÂNICOS

Tese apresentada ao Programa de Pós  
Graduação em Agronomia Tropical da  
Universidade Federal do Amazonas, como  
requisito parcial para obtenção do título de  
Doutor em Agronomia Tropical, área de  
concentração em Produção Vegetal.

Aprovado em 21 de Março de 2018

BANCA EXAMINADORA

Dr. Neliton Marques da Silva  
Universidade Federal do Amazonas/UFAM

Dr. Agno Nonato Serrão Acioli  
Universidade Federal do Amazonas/UFAM

Dra. Gilcélia Melo Lourido  
Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/INPA

Dra. Ana Paula Coelho Marques  
Universidade Federal do Amazonas/UFAM

Dra. Francimeire Gomes Pinheiro  
Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/INPA

MANAUS  
2018

## **DEDICO**

Ao meu filho Rafael Tregue, razão da minha vida.

## OFEREÇO

À minha família, que me permitiu simplesmente viver.

## AGRADECIMENTOS

Ao meu querido orientador Neliton Marques da Silva por toda confiança depositada em mim nesses anos. Vim para Manaus em 2002 para fazer o mestrado com ele, mas infelizmente não foi possível. Nesses anos todos sempre estivemos próximos e até escrevemos um capítulo de livro juntos e finalmente no doutorado tive a honra de sua orientação.

A minha co-orientadora Márcia Reis Pena que mesmo de longe sempre me deu total apoio. Obrigada por sua ajuda e ensinamentos, principalmente sobre extratos vegetais.

À CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Programa PPGATR na figura dos coordenadores Jania Lilian e José Ferreira.

Ao Nascimento, secretário do PPGATR, por toda sua dedicação ao curso e seus alunos, pelo acolhimento e preocupação com o andamento dos trabalhos.

Ao bolsista de Iniciação Científica Patrick Onias pelo apoio na parte de execução das atividades com extratos vegetais.

A EMBRAPA por ter me aberto as portas para as coletas e pelos ensinamentos passados por diversos pesquisadores da broca-do-cupuaçu com que pude conviver, Maria Aparecida, Ana Pamplona, Flávia e Cristiane Krueger.

Ao Sr. Neca, a cara da Embrapa. Pessoa incansável e que foi fundamental na fase de coletas, conhecedor exímio da broca e que de sol a chuva sempre com seu bom humor fez os momentos mais pesados se tornarem leves.

Ao Francisco Clóvis, técnico da UFAM, por toda disponibilidade.

Aos meus colegas de Pós-graduação Eneida Alice, João Silva, Eriene Romeiro e Terezila Castro pelo convívio e trocas na fase de disciplinas.

Aos meus amigos Nilberto Dias, Alysson Guimarães e Priscilla Baggio pelas farras gastronômicas e momentos de descontração.

Ao meu querido Agacis Alves de Oliveira a quem eu defino de uma maneira bem simples: um anjo em minha vida. Obrigada por cuidar e amar meu filho, me incentivar, me cobrar e me animar para que essa tese acontecesse.

E a todos que direta ou indiretamente contribuíram para que este objetivo se cumprisse.

Falar sem aspas, amar sem interrogação, sonhar com reticências, viver sem ponto final.  
Charles Chaplin.

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	xiii
LISTA DE TABELAS.....	xvi
LISTA DE QUADROS.....	xvii
ANEXOS.....	xvii
OBJETIVOS.....	xviii
Geral.....	xviii
Específicos.....	xviii
RESUMO.....	xiv
ABSTRACT.....	xx
1 INTRODUÇÃO.....	21
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	24
2.1 O Cupuaçuzeiro.....	24
2.2 Broca do Cupuaçu.....	26
2.2.1 Classificação Taxonômica.....	26
2.2.2 Distribuição Geográfica.....	27
2.2.3 Biologia e Comportamento.....	28
2.2.4 Danos Econômicos.....	30
2.2.5. Controle.....	31
2.3 O uso de extratos vegetais no controle de insetos.....	32
2.3.1 Família Meliaceae.....	33
2.3.1.1 <i>Azadirachta indica</i> (“Nim”).....	34
2.3.2 Família Piperaceae.....	36
2.3.2.1 <i>Piper aduncum</i> L.....	37
2.3.2.2 <i>Piper hispidum</i> Sw.....	37

2.3.3 Família Fabaceae.....	38
<b>3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>40</b>
<b>CAPÍTULO 1- ASPECTOS BIOLÓGICOS DE <i>Conotrachelus humeropictus</i> FIEDLER, 1940 (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) NA REGIÃO DE MANAUS.....</b>	<b>47</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>48</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>49</b>
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>50</b>
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>51</b>
2.1 Locais de estudo.....	51
2.2 Coleta dos frutos e obtenção dos insetos.....	52
2.3 Estabelecimento e Manutenção da criação estoque de <i>C. humeropictus</i> .....	54
2.4 Infestação dos frutos.....	55
2.5 Parâmetros biológicos.....	55
2.5.1. Fase ovo.....	56
2.5.2 Fase larval.....	56
2.5.3 Fase de pupa.....	57
2.5.4. Fase adulta .....	58
2.5.4.1. Longevidade.....	59
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>60</b>
3.1 Infestação dos frutos.....	60
3.2 Fase ovo.....	62
3.3 Fase larval.....	63
3.4 Fase de pupa.....	65
3.5 Fase adulta .....	68

3.5.1. Longevidade.....	69
4 CONCLUSÃO.....	71
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	72

**CAPÍTULO 2- ASPECTOS COMPORTAMENTAIS DE *Conotrachelus humeropictus* FIEDLER, 1940 (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) NA REGIÃO DE MANAUS.....**

RESUMO.....	75
ABSTRACT.....	76
1 INTRODUÇÃO.....	77
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	78
2.1 Ritmo de atividade.....	80
2.2 Comportamento de acasalamento.....	81
2.3 Comportamento de oviposição.....	81
2.4 Tempo de tanatose.....	82
2.5 Preferência alimentar.....	82
2.6 Análise dos dados.....	82
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	83
4 CONCLUSÃO.....	96
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	97

**CAPÍTULO 3- AVALIAÇÃO DA BIOATIVIDADE DE EXTRATOS BOTÂNICOS NO CONTROLE DE *Conotrachelus humeropictus* FIEDLER, 1940 (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE).....**

RESUMO.....	101
ABSTRACT.....	102

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>103</b>
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>105</b>
<b>2.1 Coleta e processamento do material vegetal.....</b>	<b>105</b>
<b>2.2 Preparo dos extratos brutos e soluções para aplicação.....</b>	<b>108</b>
<b>2.3 Bioensaios em laboratório.....</b>	<b>109</b>
<b>2.3.1 Teste por contato com superfície contaminada.....</b>	<b>109</b>
<b>2.3.2 Teste por aplicação tópica.....</b>	<b>111</b>
<b>2.3.3 Teste por repelência com chance de escolha.....</b>	<b>111</b>
<b>2.6 Análise dos dados.....</b>	<b>113</b>
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>113</b>
<b>3.1 Teste por contato com superfície contaminada.....</b>	<b>113</b>
<b>3.2 Teste por aplicação tópica.....</b>	<b>119</b>
<b>3.3 Teste de repelência.....</b>	<b>121</b>
<b>4 CONCLUSÃO.....</b>	<b>124</b>
<b>5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>125</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Planta (A), flor (B) e fruto (C) de <i>Theobroma grandiflorum</i> (Willd. ex Spreng.) Schum.....	25
<b>Figura 1.1</b> - Área de plantio de Cupuaçu da Embrapa Amazônia Ocidental, Km 29 AM-010, Manaus, Amazonas.....	51
<b>Figura 1.2</b> - Área de plantio de Cupuaçu do Sítio do “Mentiroso”, AM 254, Km 32, Autazes, Amazonas.....	52
<b>Figura 1.3</b> - A) Frutos acondicionados em bandejas plásticas (contendo terriço e cobertos com filó para obtenção de adultos; B) Orifícios de saída de insetos adultos.....	53
<b>Figura 1.4</b> – A) Coleta de larvas para acompanhamento de dados biológicos; B) Presença de larva na semente do fruto de cupuaçu.....	53
<b>Figura 1.5</b> - Frutos danificados pela broca-do-fruto-do-cupuaçu.....	55
<b>Figura 1.6</b> - Larvas de <i>C. humeropictus</i> medidas e pesadas para determinação da fase larval.....	57
<b>Figura 1.7</b> - Larvas de quarto instar acondicionadas em recipientes para pupação.....	57
<b>Figura 1.8</b> - Recipiente contendo solo úmido para avaliação da profundidade de pupação de <i>C. humeropictus</i> .....	58
<b>Figura 1.9</b> - Adulto recém-emergido e adultos agrupados em placas contendo cana-de-açúcar como substrato para alimentação.....	59
<b>Figura 1.10</b> - Diagrama de Dispersão da relação entre o número de larvas de <i>C. humeropictus</i> e o peso dos frutos de cupuaçu.....	61
<b>Figura 1.11</b> – Pupa de <i>C. humeropictus</i> .....	66
<b>Figura 1.12</b> – Fêmea adulta de <i>C. humeropictus</i> .....	68

<b>Figura 2.1</b> - Imagens da tela principal de filmagem do programa SYSM monitor.....	80
<b>Figura 2.2</b> - Relação entre atividade e repouso na fotofase para <i>C. humeropictus</i> em condições controladas de temperatura e umidade (27° C±2° C, UR 70% ±5%).....	85
<b>Figura 2.3</b> - Relação entre atividade e repouso na escotofase para <i>C. humeropictus</i> em condições controladas de temperatura e umidade (27° C±2° C, UR 70% ±5%).....	86
<b>Figura 2.4</b> - Frequência de observação de comportamentos de alimentação, repouso e exploração para <i>C. humeropictus</i> em condições controladas de temperatura e umidade (27° C±2° C, UR 70% ±5%).....	88
<b>Figura 2.5</b> - Atividade de alimentação e repouso em <i>C. humeropictus</i> em condições controladas de temperatura e umidade (27° C±2° C, UR 70% ±5%).....	89
<b>Figura 2.6</b> - Atividade de monta de <i>C. humeropitus</i> em condições controladas de temperatura e umidade (27° C±2° C, UR 70% ±5%).....	91
<b>Figura 2.7</b> – Adultos (macho e fêmea) de <i>C. humeropictus</i> em estado de tanatose.....	93
<b>Figura 2.8</b> - Adultos de <i>C. humeropictus</i> liberados em placa de petri para teste de preferência alimentar com diferentes substratos: cana-de-açúcar ( <i>S. officinarum</i> ), banana ( <i>M. paradisiaca</i> ), cenoura ( <i>D. carota</i> ) e beterraba ( <i>B. vulgaris</i> ) em condições controladas de temperatura e umidade (27° C±2° C, UR 70% ±5%).....	94
<b>Figura 2.9</b> - Preferência alimentar em <i>C. humeropictus</i> de acordo com o tempo de oferta (8 horas e 24 horas) utilizando quatro substratos de alimentação.....	95
<b>Figura 3.1</b> – Folhas de <i>P. aduncum</i> e <i>P. hispidum</i> coletadas no campus da UFAM.....	107
<b>Figura 3.2</b> Esquema do procedimento para obtenção dos extratos de plantas inseticidas.....	107
<b>Figura 3.3</b> Preparação dos extratos etanólicos em aparelho rotavapor.....	109
<b>Figura 3.4</b> - Preparo e aplicação dos extratos vegetais em papel filtro com auxílio da Torre de Potter em laboratório.....	110

<b>Figura 3.5</b> Olfatômetro Y para teste de repelência de <i>C. humeropictus</i> com chance de escolha para dois extratos vegetais sob condições controladas de laboratório.....	112
<b>Figura 3.6</b> Mortalidade (%) total de adultos da broca-do-cupuaçu, <i>C. Humeropictus</i> , com o uso de extratos etanólicos de <i>P. aduncum</i> L., <i>P. hispidum</i> Sw., <i>A. indica</i> A. Juss. e <i>D. rariflora</i> Benth. em superfície contaminada, sob condições de laboratório ( $27^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , UR $70\% \pm 5\%$ ).....	115
<b>Figura 3.7</b> Mortalidade (%) total de adultos da broca-do-cupuaçu, <i>C. humeropictus</i> , com o uso de extratos etanólicos de <i>P. aduncum</i> L., <i>P. hispidum</i> Sw., <i>A. indica</i> A. Juss. e <i>D. rariflora</i> Benth. por aplicação tópica, sob condições de laboratório ( $27^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , UR $70\% \pm 5\%$ ).....	121
<b>Figura 3.8</b> Índice de repelência sobre adultos de <i>C. humeropictus</i> , em teste de chance de escolha, após uma hora de contato com o uso de extratos etanólicos de <i>P. aduncum</i> L., <i>P. hispidum</i> Sw., <i>A. indica</i> A. Juss. e <i>D. rariflora</i> Benth. na concentração de 10%.....	122

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.1</b> – Largura das cápsulas cefálicas para larvas de primeiro a quarto instar de <i>C. humeropictus</i> .....	64
<b>Tabela 1.2</b> – Período médio (dias) ( $\pm$ DP) da fase de pupa no solo para <i>C. humeropictus</i> sob condições de laboratório.....	65
<b>Tabela 1.3</b> – Profundidade de pupação de larvas de <i>C. humeropictus</i> .....	67
<b>Tabela 1.4</b> – Longevidade média de adultos de <i>C. humeropictus</i> em diferentes substratos de alimentação.....	70
<b>Tabela 2.1</b> – Tempo de permanência em minutos em tanatose de adultos de <i>C. humeropictus</i> , Manaus, Amazonas.....	92
<b>Tabela 2.2</b> – ANOVA dos dados de preferência alimentar para <i>C. humeropictus</i> .....	94
<b>Tabela 3.1</b> Mortalidade (%) de adultos da broca-do-cupuaçu, <i>C. humeropictus</i> , com o uso de extratos etanólicos de <i>P. aduncum</i> L., <i>P. hispidum</i> Sw., <i>A. indica</i> A. Juss. e <i>D. rariflora</i> Benth. em superfície contaminada, durante 1, 24 e 48 horas sob condições de laboratório ( $27^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , UR $70\% \pm 5\%$ ).....	114
<b>Tabela 3.2</b> Mortalidade (%) de adultos da broca-do-cupuaçu, <i>C. humeropictus</i> , com o uso de extratos etanólicos de <i>P. aduncum</i> L., <i>P. hispidum</i> Sw., <i>A. indica</i> A. Juss. e <i>D. rariflora</i> Benth. por aplicação tópica, durante 1, 24 e 48 horas sob condições de laboratório ( $27^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , UR $70\% \pm 5\%$ ).....	120

## LISTA DE QUADROS

**Quadro 2.1** - Descrição dos atos comportamentais de *C. humeropictus* obtidos em 96 horas de filmagens.....83

**Quadro 3.1** – Espécies de plantas e partes vegetais utilizadas para o preparo dos extratos em pó e posteriormente extratos etanólicos.....104

## ANEXOS

**ANEXO 1.** Coordenadas das espécies de plantas coletadas utilizadas nos bioensaios.....128

## OBJETIVOS

### Geral

- Estudar aspectos da biologia e do comportamento de *Conotrachelus humeropictus* em suas diferentes fases de desenvolvimento e a bioatividade de extratos botânicos para o seu controle.

### Específicos

- Descrever aspectos biológicos das fases de ovo, larva, pupa e adulto de *Conotrachelus humeropictus* em laboratório;

- Descrever o comportamento de acasalamento e oviposição de adultos de *Conotrachelus humeropictus* em condições de laboratório;

- Avaliar os efeitos na mortalidade, repelência e atratividade em adultos de *Conotrachelus humeropictus* provocados por exposição a extratos botânicos etanólicos de quatro espécies vegetais.

ASPECTOS BIOLÓGICOS E COMPORTAMENTAIS DE *Conotrachelus humeropictus*  
Fiedler, 1940 (Coleoptera: Curculionidae) E AVALIAÇÃO DA BIOATIVIDADE DE  
EXTRATOS BOTÂNICOS

Autor: Alexandra Priscilla Tregue Costa  
Orientadores: Neliton Marques da Silva  
Marcia Reis Pena

## RESUMO

O cenário da fruticultura nacional tem tomado grandes proporções dentre os vários segmentos produtivos do agronegócio no Brasil, decorrentes principalmente de novos hábitos de consumo na busca de uma vida mais saudável. A Região Norte tem se tornado um polo importante frente a este cenário, com sua rica diversidade de frutas de elevado potencial econômico. O fruto do cupuaçu se destaca pelo seu sabor sendo bastante consumido localmente e em vários estados do Brasil e no exterior. Um dos maiores problemas desta planta é a broca-do-fruto-do-cupuaçu, *Conotrachelus humeropictus* Fiedler (1940), um curculionídeo que pode causar perda total na produção. Este estudo objetivou avaliar aspectos biológicos e comportamentais do inseto e detectar extratos botânicos que possam ser utilizados em seu controle. As larvas foram medidas e pesadas para determinação do número de instares. Para descrição dos aspectos comportamentais os adultos foram monitorados por meio de filmagens e as imagens analisadas. Foram preparados extratos etanólicos por meio de maceração a frio. Os bioensaios foram realizados em laboratório e os testes seguiram com aplicações dos extratos sobre superfície de contato e teste com chance de escolha nas concentrações de 1%, 5% e 10% (m/v). O período de larva de quarto instar a pré-pupa durou seis dias. Na fase de pupa, a profundidade de pupação foi de 10 a 15 cm do solo e o período médio desta fase foi de 60 ( $\pm 11,34$ ) dias para machos e 63 ( $\pm 9,65$ ) dias para fêmeas. Nos estudos com adultos foi observado de 395 insetos adultos a partir das 680 larvas de quarto instar e viabilidade de 58,08%. A razão sexual foi de 0,51, com proporção de 1:1, de machos e fêmeas. A longevidade média dos adultos foi de 427 dias. O período de maior atividade de *C. humeropictus* foi durante a noite, a partir de 18:00, principalmente para exploração e caminhamento. O repouso foi o mais frequente durante a fotofase. O acasalamento ocorreu sem seguir uma sequencia fixa de eventos, como acontece com a maioria dos curculionídeos. Fêmeas de *C. humeropictus* permaneceram mais tempo em tanatose quando comparadas com machos, com média máxima de 7 min e 59 s enquanto machos possuem média máxima de 2 min e 40 s. Para alimentação houve predileção pela cana-de-açúcar. Para os demais substratos, beterraba, cenoura e banana, não houve diferença significativa. Para avaliar o efeito de extratos vegetais de quatro espécies botânicas conhecidas com potencial inseticida *Piper aduncum* L., *Piper hispidum* Sw., *Derris rariflora* Benth., e *Azadirachta indica* A. Juss., popularmente conhecido como pimenta de macaco, jaborandi, timbó e Nim, respectivamente foram preparados extratos etanólicos. Os bioensaios foram realizados em laboratório e os testes seguidos com aplicações dos extratos na superfície de contato, ação tóxica e repelência com escolha de 1%, 5% e 10% (m/v). As espécies de Piperaceae não foram eficientes como inseticidas para *C. humeropictus* como *A. indica* A. Juss e *D. rariflora* Benth. que apresentaram resultados positivos, com taxas de mortalidade superiores a 50% para a concentração de 5% e 10% após 48 horas.

**PALAVRAS-CHAVE:** Broca-do-cupuaçu; plantas bioativas; controle alternativo de pragas.

BIOLOGICAL AND BEHAVIORAL ASPECTS OF *Conotrachelus humeropictus* Fiedler, 1940 (Coleoptera: Curculionidae) AND EVALUATION OF BIOACTIVITY OF BOTANICAL EXTRACTS

Autor: Alexandra Priscilla Tregue Costa

Orientadores: Neliton Marques da Silva

Marcia Reis Pena

**ABSTRACT**

The Brazilian fruit industry scenario has taken on a large scale among the various agrobusiness productive segments in Brazil, mainly due to new consumption habits in the search for a healthier life. The North Region has become an important pole in this scenario, with fruits with promising economic potential such as *açaí*, *graviola* and *cupuaçu*, among others. The fruit of cupuaçu stands out for its flavor being quite consumed locally and in several states of Brazil and abroad. One of the major problems of this plant is the cupuaçu fruit borer, *Conotrachelus humeropictus* Fiedler (1940), a curculionid that can cause total loss in production. This study aimed to evaluate the biological and behavioral aspects of the insect and to detect botanical extracts that can be used in its control. The larvae were measured and weighed to determine the number of instars. To describe the behavioral aspects, the adults were monitored by means of filming and the analyzed images. Ethanolic extracts were prepared by cold maceration. The bioassays were performed in the laboratory and the tests followed with applications of the extracts on contact surface and test with a choice of 1%, 5% and 10% (m / v). The period of fourth instar larvae pre-pupae lasted for six days. In the pupae phase, pupation preference occurred in the 10 to 15 cm soil layer and the mean period of this phase was 60 ( $\pm 11,34$ ) days for males and 63 ( $\pm 9,65$ ) days for females. In adult studies, 395 adult insects were observed from 680 instar larvae and 58.08% viability. The sex ratio was 0.51, with a ratio of 1: 1, of males and females. The mean longevity was 427 days. To determine the rhythm of activity, mating, oviposition, time of tanatosis and feeding preference of the insect. The adult specimens were observed by means of filming and the images were analyzed for the description of the behavioral aspects by means of an etogram. The period of greatest activity of *C. humeropictus* was during the night, from 18:00, mainly for exploration and hiking. The resting act was the most frequent during the photophase. Mating occurred without following a careful sequence, as with most curculionids. No oviposition activity was observed on any of the tested substrates at any time. Females of *C. humeropictus* remained longer in tanatus when compared to males, with maximum average of 7 min and 59 s while males have a maximum average of 2 min and 40 s. For food preference with different substrates there was predilection for sugarcane, for the other substrates, beet, carrot and banana, there was no significant difference. When evaluating the effect of plant extracts of four known botanical species with potential insecticide *Piper aduncum* L., *Piper hispidum* Sw., *Derris rariflora* Benth., and *Azadirachta indica* A. Juss., popularly known as monkey pepper, jaborandi, timbó and nim, respectively. Ethanolic extracts were prepared. The bioassays were performed in the laboratory and the tests followed with applications of the extracts on contact surface, topical application and repellent with a choice of 1%, 5% and 10% (m / v). The species of piperaceae were not efficient as insecticides for *C. humeropictus* like *A. indica* A. Juss. and *D. rariflora* Benth. which presented positive results, with mortality rate superior than 50% for the concentration of 5% and 10% concentration after 48 hours.

**KEY-WORDS:** Cupuaçu fruit borer; bioactive plants; alternative pest control.

## 1. INTRODUÇÃO

O cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) Schum., é uma das mais importantes frutíferas da região Norte do Brasil. A exploração comercial do fruto do cupuaçu ocorre devido às características do fruto, como sabor e aromas agradáveis, além da possível utilização da sua polpa para sucos, doces, licores e as amêndoas para produção de chocolate. Esses atributos fizeram com que se elevasse o valor comercial dos frutos, e o grande consumo regional e a boa aceitação no mercado externo levaram à expansão do cultivo na Região Amazônica nos últimos anos (VENTURIERI, 1993).

A maioria das frutíferas de cultivo comercial está susceptível a ataques de pragas e doenças que causam danos levando a perda de produção. Lopes e Silva (1998a) destacaram que na cultura do cupuaçu, além do problema fitossanitário da doença causada pelo fungo “vassoura-de-bruxa”, *Crinipellis pernicioso* (Stahel), há também a preocupação com a broca-do-fruto, *Conotrachelus humeropictus* Fiedler, 1940, que desde então assume a posição de praga devido à severidade dos seus danos.

*C. humeropictus* é um curculionídeo que possui hábitos e comportamento pouco estudados, talvez pelo fato dos adultos apresentarem preferência por atividade no período noturno e as formas imaturas se desenvolverem dentro dos frutos (larvas) e no solo (pupa).

Aguilar e Gasparotto (1999) relataram que devido ao desconhecimento de algumas fases desta praga, em face da escassez de pesquisas, praticamente não existe um método de controle de impacto imediato, ou seja, um tratamento curativo e eficiente. Dessa forma, alguns produtores tem recorrido ao uso de agrotóxicos para controle do adulto, o que não tem se mostrado uma tática muito eficiente. Thomazini (2000) e

Tavares et al. (2002) atribuem essa prática ao fato de não haver nenhuma técnica de controle disponível para esta praga.

Informações básicas da biologia e comportamento de insetos são essenciais para o desenvolvimento de certos tipos de controle. Zucchi et al. (1992) destacam que a primeira etapa para o controle de insetos além da identificação do mesmo envolve o conhecimento dos seus principais aspectos biológicos. Gullan e Cranston (2008) ressaltam a necessidade do conhecimento de processos populacionais, como: crescimento, capacidade reprodutiva e competição e afirmaram que o conhecimento completo sobre a biologia dos insetos pragas permitem o controle sob diferentes circunstâncias.

Ao longo dos anos o homem intensificou o uso de defensivos químicos como alternativa no controle de insetos. Mas o uso excessivo dessas substâncias durante um longo período colabora para a seleção de populações resistentes, morte de inimigos naturais, pode levar pragas consideradas secundárias ao *status* de praga-chave, ou seja, acarretam um desequilíbrio no ecossistema, além de aumentar o custo da produção (GALLO et al., 2002).

Com o progresso da ciência e surgimento de novas tecnologias criaram-se novas técnicas para o controle de insetos baseadas no Manejo Integrado de Pragas (MIP). Esse sistema usa métodos sustentáveis e eficientes com o objetivo de controlar os organismos causadores de danos (GALLO et al., 2002).

Para diminuir os prejuízos na produção decorrentes do ataque de insetos existem métodos físicos e biológicos que constituem alternativas viáveis e desejáveis em relação aos produtos químicos tradicionais. Dentre essas alternativas está o uso de extratos vegetais, que têm como vantagem não deixar resíduos tóxicos nos alimentos, não acumulação destes no meio ambiente, o baixo risco à saúde e a alta seletividade.

Embora, na literatura, vários trabalhos reportem o uso de espécies vegetais no controle de insetos considerados pragas na agricultura, poucos deles foram realizados com espécies da Região Amazônica (SILVA et al., 2007).

Tendo em vista o déficit de informações e a necessidade de suprir esta lacuna de conhecimento sobre aspectos básicos da broca do cupuaçu e possíveis alternativas de controle, objetivamos com este trabalho descrever os aspectos biológicos de *C. humeropictus* inseto em laboratório desde a fase de ovo até a fase adulta, descrever aspectos do comportamento de adultos em condições de laboratório, avaliar a bioatividade de extratos botânicos para o seu controle com relação aos efeitos de repelência e mortalidade sobre adultos provocados por exposição a extratos botânicos de quatro espécies vegetais, *Piper aduncum* L.; *Piper hispidum* Sw.; *Derris rariiflora* Benth.; e *Azadirachta indica* A. Juss., e determinar qual extrato é o mais eficiente para repelência e mortalidade de *C. humeropictus*.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. O cupuaçuzeiro

O cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) Schum.) é um fruto nativo da Região Amazônica, que pertence à família Malvaceae. Dentro de *Theobroma*, com 22 espécies descritas, se destaca outro fruto de importância econômica, *T. cacao*, utilizado para produção de chocolate. São muito procurados pelo sabor típico de seus frutos, em que há o aproveitamento da polpa e sementes pelas indústrias alimentícias e de cosméticos (RIBEIRO et al., 1999).

Diniz et al. (1984) indica que o cupuaçuzeiro se desenvolve em temperaturas elevadas e umidade relativa anual acima de 70% e precipitações na faixa de 1.900 mm a 3.100 mm, e encontra-se disseminado por toda a bacia amazônica, principalmente nos estados do Pará, Amazonas, Rondônia e Acre, além do Norte do Maranhão, chegando a atingir também os Estados de São Paulo, Rio de Janeiro e Bahia, além de ser encontrado em países como Equador, Guiana, Martinica, Costa Rica, São Tomé, Trinidad e Tobago, Gana, Venezuela, Peru e Colômbia (CAVALCANTE, 1988; VENTURIERI, 1993; AGUILAR; GASPAROTTO, 1999).

O cupuaçuzeiro é uma espécie arbórea de floresta tropical úmida, podendo atingir até 20 m de altura, mas em espécies cultivadas a altura média é de 6m.

As folhas variam de rubra quando jovens a verdes quando madura e medem em média 30 cm de comprimento, com vários pares de nervuras e pelos ferrugíneos abundantes (VENTURIERI, 1993).

As flores estão dispostas em grupos de três a cinco em inflorescências axilares, possuem coloração vermelha e ficam localizadas em ramos plagiotrópicos. Na Região Amazônica, a floração ocorre no período menos chuvoso e a safra abrange os meses de novembro a julho (AGUILAR; GASPAROTTO, 1999; LOPES; SILVA, 1998a).



**Figura 1.** Planta (A), flor (B) e fruto (C) de *Theobroma. grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) Schum.

O tamanho e formato dos frutos determinam a classificação das variedades, tendo de 12 a 15 cm de comprimento e 10 a 12 cm de diâmetro. O peso varia de 1,0 a 4,0 kg, sendo em média 30% de polpa e com 35 sementes, embora exista a variedade sem sementes que pode render até 70% de polpa (VENTURIERI, 1993).

A colheita é feita manualmente, coletando-se os frutos maduros após a queda. A partir das primeiras safras, as plantas começam a produzir em escala crescente, até a estabilização, que ocorre no quinto ano após o plantio.

É uma cultura que se desenvolve melhor com sombreamento, sendo muito cultivada em sistemas agroflorestais (SAF's) na Região Amazônica, mas pode ser cultivado a pleno sol ou em sombreamento pouco denso, adaptando-se a capoeiras ou em sistemas de consórcio com outras espécies. Existem aproximadamente 35 mil hectares plantados de cupuaçu nos principais estados produtores: Pará, seguido do Amazonas, Rondônia e Acre. No Amazonas, são cerca de dez mil hectares (OLIVEIRA, 2003).

## **2.2. Broca do cupuaçu**

### **2.2.1. Classificação taxonômica**

A broca-do-fruto do cupuaçuzeiro pertence à ordem Coleoptera, Superfamília Curculionoidea, Família Curculionidae, gênero *Conotrachelus*, espécie *C. humeropictus* (FIEDLER, 1940).

Os curculionídeos possuem cabeça prolongando-se em um rostro e aparelho bucal mastigador. Antenas genículo-clavadas ou capitadas, articulando-se no meio do rostro. São insetos, geralmente, fitófagos tanto na forma adulta como na larval. A maioria das espécies faz postura endofítica. É considerada a família mais numerosa do Reino Animal, com cerca de 40.000 espécies descritas onde estão inseridas várias pragas agrícolas (GALLO et al., 2002).

A taxonomia de *C. humeropictus* foi estudada por Fiedler (1940) com base em dois exemplares procedentes do Amazonas; e outro da Guiana, sem registro das plantas hospedeiras (TREVISAN; MENDES, 1991).

Lopes (2000) sugeriu ser a broca-do-fruto do cupuaçu uma nova espécie, próxima ao *C. humeropictus* que ataca o cacau, com base em exemplares coletados de cupuaçuzeiros em Manaus/AM.

Moura et al (2013) realizaram a caracterização genética de três populações de *C. humeropictus* coletadas em cacau e cupuaçu oriundas de diferentes municípios do estado de Rondônia e observaram que há variação genética entre as espécies, entretanto a população 1, proveniente do cacau e a população 4 proveniente do cupuaçu estiveram muito próximas em todas as análises.

### **2.2.2. Distribuição geográfica**

*Conotrachelus* possui mais de 1000 espécies, de ocorrência no continente americano, com mais de 600 espécies ocorrendo na América do Sul. No Brasil, existem cerca de 70 espécies registradas (O'BRIEN; COUTURIER, 1995).

Esses gorgulhos em clima temperado podem atacar diferentes partes das plantas como sementes, *Conotrachelus aguacatae* Barber; caules e galhos, *Conotrachelus schoofi* Papp e *Conotrachelus bondari* Marshall (BONDAR, 1944; CORIA-ÁVALOS, 1999; TEDDERS; PAYNE, 1986). Algumas espécies são consideradas praga de frutos como *Conotrachelus nenuphar* Herbst em pêssego (HOFFMANN et al., 2004). Em regiões de clima tropical, as principais espécies são *C. humeropictus* em cupuaçu, *Conotrachelus eugeniae* O'brian em araçá, *Conotrachelus dubiae* O'brien em camu-camu e *C. psidii* Marshall em goiabeira (BOSCÁN de MARTINEZ; CÁSAIRES, 1980; CAVALCANTE, 1988; O'BRIEN; COUTURIER, 1995; LOPES, 2000).

Segundo Trevisan e Mendes (1991) a espécie *C. humeropictus* ocorre em frutos de *Theobroma cacao* L., o cacau, no estado de Rondônia. Mas esta espécie está disseminada de forma endêmica em vários municípios produtores de cacau e cupuaçu

nos Estados do Amazonas, Mato Grosso, Acre e Pará, embora seja menos importante nos dois últimos (MENDES et al., 1988).

No Amazonas, os municípios com maior incidência são Autazes, Careiro-Castanho, Iranduba, Itacoatiara, Manacapuru, Manaquiri e Manicoré (LOPES, 2000).

Ainda que exista o registro de vários insetos associados ao cupuaçuzeiro, a broca-do-fruto é a espécie que se destaca como causadora de danos econômicos (PAMPLONA, 1992; THOMAZINI, 1998).

### **2.2.3. Biologia e comportamento**

A broca do cupuaçuzeiro é um inseto de desenvolvimento holometabólico passando pelas fases de ovo, larva, pupa até chegar à forma adulta.

As fêmeas apresentam comportamento de preferência para oviposição em relação à idade do fruto, que começam a ser atacados a partir de dois meses de desenvolvimento e aumenta gradativamente a medida que os frutos envelhecem (TAVARES et al., 2002).

As fêmeas adultas fecundadas realizam postura endofítica na casca dos frutos após várias perfurações para alimentação. Tanto as perfurações para alimentação quanto para oviposição ocorrem próximas, em grupos de 2 a 4 furos, localizados na parte mediana dos frutos (LOPES, 2000).

Os ovos tem formato elíptico, com  $0,26 \pm 0,01$  mm de comprimento e  $0,16 \pm 0,01$  mm de largura, com coloração branco-leitosa, passando a amarelo palha no final do desenvolvimento embrionário de quatro a seis dias (LOPES, 2000).

As larvas são ápodas de cor branco-leitosa, ao atingir o máximo desenvolvimento larval a coloração passa a amarelada com cabeça de cor castanho-avermelhada e mandíbulas bem desenvolvidas (MENDES; MAGALHÃES, 1997).

Ao eclodirem, as larvas se deslocam lentamente ao centro do fruto e alojam-se no fio placentário, onde permanecem até o terceiro estágio. No quarto estágio migram em direção às sementes, as quais perfuram e usam como substrato para alimentação até a queda dos frutos, ocasião em que abrem galerias para saírem e empuparem no solo (LOPES, 2000).

No solo a larva desenvolvida prepara a câmara pupal, cessa seus movimentos e entra na fase de pré-pupa a uma profundidade entre 5 e 15 cm. A pupa é do tipo exarada de cor branco-creme, tornando-se castanho-claro à medida que se aproxima a eclosão do adulto (LOPES, 2000; TAVARES et al., 2002). O período de pupação dura em média 65 dias para machos e 73 dias para fêmeas (SILVA; ALFAIA, 2004).

Após a emergência são de cor marrom claro e depois de algumas horas passam a marrom escuro, com tamanho médio de 8 mm (TAVARES et al., 2002).

Oliveira (2003) destaca que as diferenças morfológicas entre machos e fêmeas da broca do fruto não são facilmente visíveis. Segundo Silva; Alfaia (2004), as fêmeas, de um modo geral, são ligeiramente maiores e mais largas que os machos. Destacam que a forma mais segura para diferenciação é observar na face inferior do inseto, pois os machos tem seis segmentos, sendo que o quinto é bem destacado, apresentando uma pequena depressão no meio e a fêmea tem cinco segmentos, sendo que o último apresenta duas depressões de cada lado.

Os adultos são de difícil observação no campo, pois possuem hábito noturno, embora se acasalem tanto de noite quanto de dia, preferencialmente pela parte da manhã. Podem voar a curta distância, mas o principal meio de locomoção é o caminhar. Passam a maior parte do tempo parados sob folhas caídas no chão e em galhos do próprio cupuaçu e de plantas próximas com comportamento de agregação, provavelmente devido à liberação de feromônio de agregação, característico nos

curculionídeos. Alimentam-se de botões florais, folhas e da casca do fruto do cupuaçu, e em toletes de cana-de-açúcar (OLIVEIRA, 1998; OLIVEIRA, 2003). Nery (2002) observou que o padrão de dispersão da broca ocorre na planta do estrato inferior para o superior, com valores médios de infestação maiores nos frutos localizados no estrato basal das plantas. Assim como plantas localizadas próximas a mata são mais infestadas que aquelas localizadas dentro do pomar (OLIVEIRA, 1998; SILVA et al., 2016; SOUZA et al., 2016).

Os adultos de *C. humeropictus* apresentam comportamento de *dropping* (queda brusca) e tanatose (fingem-se de mortos) quando ameaçados, dificultando assim sua localização entre a folhagem seca do cupuaçuzeiro (OLIVEIRA, 1998; OLIVEIRA, 2003; SILVA; ALFAIA, 2004; SILVA et al., 2016).

*C. humeropictus* possui alguns inimigos naturais já relatados, dípteros de Tachinidae e microhimenópteros de Braconidae (LOPES; SILVA, 1998b).

#### **2.2.4. Danos econômicos**

Os frutos são danificados diretamente pelas larvas da broca, através de galerias formadas na casca, na polpa, deposição de fezes e destruição de sementes. Mas também podem danificar indiretamente através da entrada, pelos orifícios, de insetos oportunistas e micro-organismos que contribuem para acelerar o processo de fermentação dos frutos (SILVA; ALFAIA, 2004).

Lopes; Silva (1998a) constataram que ao longo de três safras consecutivas de cupuaçu houve aumento gradativo dos níveis de infestação da broca e ressaltaram o aumento da expressão econômica deste inseto para a cultura, sobretudo nas áreas de sistemas agroflorestais. As perdas para o produtor podem chegar a 100% da produção, principalmente após o segundo e terceiro ano do seu aparecimento (SILVA et al., 2016).

### 2.2.5. Controle

O controle de insetos-praga pode ser feito de diferentes maneiras, sendo o controle químico o mais usual. Entretanto, ainda não existe tratamento químico eficiente para controlar *C. humeropictus*. Diversos autores relatam que este método é pouco eficiente e muito oneroso (GALLO et al., 2002; MENDES; GARCIA, 1989; THOMAZINI, 1998).

Outros métodos como o controle mecânico e cultural têm surtido mais efeitos. Algumas ações de controle da broca *C. humeropictus* foram realizadas em uma lavoura de cacau em Rondônia com alta infestação, que resultou na redução do ataque da praga. Essas ações seguiram com a construção de aceiros entre a mata e a lavoura, redução no sombreamento definitivo da área, aumento da intensidade de colheita, quebra dos frutos fora da área de cultivo, podas de formação e condução (TREVISAN, 1989).

Thomazini (2000) e Silva; Alfaia (2004) sugeriram que essas medidas também podem ser realizadas em cupuaçuzeiros e complementaram com a recomendação de se realizar a colheita nas primeiras horas da manhã, de todos os frutos brocados, com posterior queima ou enterro em valas de no mínimo, 1m de profundidade ou afogando em água durante três dias; limpeza periódica dos veículos de transporte dos frutos; e inspeções na plantação a cada 15 dias para verificar a presença de frutos atacados.

O isolamento dos frutos com o uso de invólucros mostrou-se uma alternativa eficiente por Ribeiro; Silva (2004) ao usar quatro tipos de materiais identificando o saco plástico perfurado como o tratamento mais eficaz.

O uso do controle biológico também já foi aplicado para esta praga. Estudos sobre a ação de fungos entomopatógenos *Metharhizium anisopliae* Metsch. e *Beauveria bassiana* Vuill. foram aplicados por Mendes e Magalhães (1997) com cerca de 50% de eficiência. Garcia et al. (1997) e Lopes (2000) destacaram que o controle da broca por

fungos ou parasitóides tem potencial, uma vez que as larvas da broca penetram no solo para pupar não completam o ciclo e morrem devido ao ataque desses organismos.

### **2.3. O uso de extratos vegetais no controle de insetos**

A utilização de plantas inseticidas para o controle de pragas não é uma técnica recente, sendo seu uso bastante comum em países tropicais antes do advento dos inseticidas sintéticos (GALLO et al., 2002). Os primeiros inseticidas vegetais utilizados foram a nicotina (extraída de folhas de *Nicotiana tabaci* L.), rotenona (extraídas das raízes e rizomas de *Lonchocarpus* sp. e *Derris* sp.), as piretrinas (extraído de flores de *Chrysanthemum cinerariaefolium* Trev.), e a sabadina e outros alcalóides (extraídos de *Rhynchospora speciosa* Vahl.) as quais deixaram de ser utilizados com o surgimento dos inseticidas organossintéticos, que se mostraram mais eficientes e baratos (MARTINEZ, 2002). O ressurgimento dos estudos com inseticidas botânicos deveu-se à necessidade de dispor de novos compostos para o uso no controle de pragas sem os problemas de contaminação ambiental, resíduos nos alimentos, efeitos prejudiciais sobre organismos benéficos e aparecimento de insetos resistentes (GALLO et al., 2002).

Silva et al. (2007) destacam que o uso de extratos de plantas, em grande parte ainda inexplorado na Amazônia, constitui uma alternativa para o controle de insetos fitófagos, devido ao baixo custo operacional, facilidade de preparação, utilização e segurança para o meio ambiente.

Fazolin et al. (2002) citam que a diversidade da flora brasileira apresenta um imenso potencial para a produção de compostos secundários, podendo ser utilizados como inseticidas e/ou repelentes de insetos, que, de acordo com Cardoso et al. (2001), são aqueles compostos produzidos pelas plantas para sua sobrevivência como

alcalóides, flavonóides, taninos, quinonas, óleos essenciais, saponinas, heterosídeos cardioativos.

Porém a toxicidade de uma substância química em insetos não a qualifica necessariamente como um inseticida. Diversas propriedades devem estar associadas à atividade, tais como eficácia mesmo em baixas concentrações, ausência de toxicidade frente a mamíferos, ausência de fitotoxicidade, fácil obtenção, manipulação e aplicação, viabilidade econômica e não ser cumulativa no tecido adiposo humano e de animais domésticos (VIEGAS JÚNIOR, 2003).

Um grande número de diferentes espécies de plantas representando diferentes áreas geográficas ao redor do mundo tem se mostrado capaz de causar efeitos letais e subletais sobre insetos, principalmente os causadores de danos (MACIEL et al., 2010). Várias famílias botânicas têm sido estudadas com esse propósito, como Annonaceae, Asteraceae, Canellaceae, Fabaceae, Meliaceae, Piperaceae, Rutaceae, Verbenaceae (MACHADO et al., 2007; BEZERRA, 2009; SILVA, 2010; OLIVEIRA, 2010; PENA, 2012; ALECIO, 2012).

### **2.3.1. Família Meliaceae**

A família Meliaceae é muito investigada por possuir muitas espécies que são fontes de princípios ativos com propriedades inseticidas e diferentes modos de ação em relação a muitas espécies de insetos (RODRIGUES, 1995). Isso se deve a presença de compostos secundários, chamados compostos terpênicos ou limonóides, que apresentam efeito sobre a ingestão, a muda, o desenvolvimento e o comportamento dos insetos (VIEGAS JÚNIOR, 2003).

As meliáceas pertencem à ordem Rutales, com 51 gêneros e 550 espécies distribuídas principalmente na Região Neotropical. Dentre as espécies de meliáceas que

vêm sendo pesquisadas como fontes de extratos inseticidas destacam-se o nim *Azadirachta indica* A. Juss., o cinamomo *Melia azedarach* L. e ainda espécies de *Trichilia* Spp. (VENDRAMIM, 1997).

#### **2.3.1.1. *Azadirachta indica* (“Nim”)**

Entre as espécies vegetais de meliáceas com potencial inseticida e/ou insetistáticos mais estudadas está o nim (*Azadirachta indica* A. Juss.), de origem asiática, com relatos de ação sobre mais de 400 espécies de insetos. O nim surgiu como promessa de equacionar o problema de resíduos de inseticida e ao mesmo tempo reduzir a população de insetos praga a um nível aceitável. Atua sobre ovos, larvas, além de atrasar o crescimento, reduzir a fecundidade e fertilidade de machos e fêmeas e repelir. Extratos de folhas, frutos e cascas são usados, porém o óleo da semente é o mais empregado no controle de insetos causadores de danos (ROEL, 2001; MARTINEZ, 2002).

A azadiractina constitui o mais importante princípio ativo do nim, do ponto de vista entomológico, é um tetranotriterpenóide isolado da semente (JACOBSON, 1989). Esta substância tem efeito repelente, intoxicante, regula o crescimento e a metamorfose dos insetos, causa deterrência alimentar, afeta a biologia, a oviposição e a viabilidade dos ovos (SCHMUTTERER, 1988; JACOBSON, 1989), entretanto outros compostos secundários presentes no nim, como azadiractina B, nimbina e salanina apresentam efeitos sinérgicos aos efeitos inseticidas da azadiractina (MORDUE (LUNTZ); NISBET, 2000, *apud* PITTA, 2010).

A metabolização desses compostos secundários nas plantas pode variar de acordo com os fatores ambientais e podem estar em diversas partes da planta (raiz, caule, folha, flores, frutos e semente). Assim, é importante considerar a espécie-alvo e

sua fase de desenvolvimento (MESQUITA, 1991). Além disso, o modo de preparo dos extratos, o tipo de solvente, a via de exposição e a fase do inseto são fatores que podem interferir na eficiência do produto a ser utilizado.

Schmutterer (1987) relatou que o local de origem, idade das sementes e solvente utilizado na extração, podem ocasionar variações nos teores do princípio ativo e na sua atividade biológica. Esse fato pôde ser observado por Forim (2006) que investigou diversas estruturas da planta (sementes em diferentes estágios de maturação, casca, ramo, flor e folha) e registrou a presença de azadiractina em diferentes quantidades, exceto nas folhas.

Dentre os compostos bioativos presentes no nim, que podem ser encontrados em toda a planta, aqueles presentes primeiramente nas sementes e folhas são os que possuem compostos mais concentrados e acessíveis, facilmente obtidos por meio de processos de extração em água e solventes orgânicos como hidrocarbonetos, álcoois, cetonas ou éteres (MOSSINI; KEMMELMEIER, 2005).

Pena (2012) ao determinar o melhor método de extração, visando o uso de extratos de amêndoas de nim para o controle da mosca-negra-dos-citros, *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Hemiptera: Aleyrodidae), verificou bom rendimento de extração em todos os solventes utilizados, com destaque para o hexano e diclorometano que mostraram maior atividade inseticida devido à alta taxa de mortalidade dos insetos.

Stein; Parrella (1985) observaram a inibição da alimentação e da oviposição de adultos de *Liriomyza trifolli* (Diptera: Agromyzidae), em plantas de crisântemo pulverizadas com extrato etanólico de sementes de nim. Trindade et al. (2000) estudaram o efeito tóxico de extrato metanólico de semente de nim sobre ovos e lagartas de *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) e verificaram alta mortalidade sobre

lagartas, entretanto não observaram efeito sobre a viabilidade dos ovos da traça do tomateiro.

Souza; Vendramim (2001) avaliaram o efeito inseticida de extratos aquosos de diferentes estruturas vegetais de *T. pallida* e de *M. azedarach* e de sementes de nim sobre ovos e ninfas de *Bemisia tabaci* e observaram que as duas primeiras espécies tiveram efeitos sobre a fase ninfal ressaltando que a fase de ovo foi mais afetada por *T. pallida*, superando até o extrato de nim. Esses mesmos autores no ano de 2004 verificaram que todos os extratos aquosos e orgânicos (metanólico, etanólico, clorofórmico e hexânico) de ramos de *T. pallida* e aquosos de sementes de nim, *A. indica* têm bioatividade contra a mosca-branca, *Bemisia tabaci* biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae), sendo o extrato aquoso de sementes de nim mais eficiente que os demais.

### **2.3.2. Família Piperaceae**

Piperaceae pertence à ordem das Piperales, é considerada uma das famílias mais primitivas entre as angiospermas. É composta por aproximadamente 14 gêneros e cerca de 2000 espécies (RIBEIRO et al., 1999). É uma família tropical que se encontra distribuída desde o México até a Argentina, com plantas de porte arbustivo, herbáceo e arbóreo com mais de três metros de altura (PARMAR et al., 1997).

Desta família, *Piper* é um dos mais abundantes e mais estudados quimicamente. A atividade biológica de espécies de *Piper* é bastante diversificada e também muito utilizada na medicina popular para o tratamento de inúmeras doenças. Economicamente são importantes pela pimenta como condimento nos mercados em todo o mundo. São plantas produtoras de óleos essenciais de baixa toxicidade aos mamíferos, sendo consideradas como alternativa promissora do controle de pragas (PARMAR et al., 1997; MAIA et al. 1998; FAZOLIN et al., 2007).

### **2.3.2.1. *Piper aduncum* L.**

*Piper aduncum* L., conhecida como pimenta de macaco, é muito comum na Região Amazônica, encontrada inclusive em áreas alteradas da cidade de Manaus (AM). É facilmente reconhecida pelos ramos avermelhados (principalmente nos nós e próximo deles), pela pubescência áspera e principalmente pelas veias secundárias paralelas (RIBEIRO et al., 1999).

É uma espécie, popularmente, utilizada como repelente de insetos, tem potencial fungicida e bactericida (BERNARD et al., 1995; BALDOQUI et al., 1999; BASTOS; ALBUQUERQUE, 2004).

Bernard et al. (1995) compararam o extrato alcoólico de folhas de dezesseis espécies de *Piper*, apontando *P. aduncum* como a de maior atividade inseticida para larvas de segundo ínstar de *Aedes atropalpus*. Nesse ensaio, o extrato aquoso de plantas frescas de *P. aduncum* aplicado diretamente na água, na concentração de 10 ppm, causaram a mortalidade de 50% das larvas.

Fazolin et al. (2005) avaliaram o efeito da aplicação tópica e da ação por contato de diferentes concentrações do óleo de *P. aduncum*, por meio da mortalidade e consumo foliar de *Cerotoma tingomarianus* em plantas de feijão. Esses autores verificaram que a mortalidade dos insetos alcançou praticamente 100% nas concentrações de 1% do óleo na avaliação por contato e de 5% a 30% nas concentrações aplicadas topicamente, havendo redução significativa no consumo foliar dos insetos nas concentrações de 2,5% e 5%.

### **2.3.2.2. *Piper hispidum* Sw.**

*Piper hispidum* Sw., conhecida como jaborandi ou falso-jaborandi, é uma planta de porte arbustivo que pode ser facilmente confundida com outras espécies do gênero.

esta planta possui porte arbustivo, medindo cerca de 1,8 a 2,0 m de altura, caule cilíndrico, de coloração verde-clara, nodoso, áspero, com lenticelas e ramos mais jovens pubescentes (ALBIERO et al., 2006).

Esta espécie possui amidas de ação anti-fúngica e é utilizada popularmente para fins cosmético (Navickiene et al. 2000).

No controle de insetos, Santos et al. (2010) estudaram a atividade inseticida de folhas de *P. hispidum* sobre a broca do café *Hypothenemus hampei* e observaram mortalidade de 100% na diluição 25,0 mg mL<sup>-1</sup>, quando os insetos ficaram expostos em superfície de contaminação e 60 a 65% de mortalidade por ação tóxica, entretanto não detectaram ação repelente.

### **2.3.3. Família Fabaceae**

A família Fabaceae é considerada a terceira maior família de angiospermas com ampla distribuição mundial (GUNN, 1981).

Jacobson (1989) destaca Fabaceae (antes Leguminosae) por possuir espécies importantes que podem ser utilizadas como inseticida natural. Entre essas espécies o timbó (*Derris* sp.) é o mais importante, principalmente pela presença da rotenona nas raízes.

Há muitas décadas os indígenas utilizam o timbó para a pescaria e a rotenona era utilizada como inseticida nas lavouras contra vários tipos de insetos como borboletas e pulgões. A Amazônia exportava o pó de raízes de timbó que era utilizado para a extração de rotenona, entretanto com o advento dos inseticidas sintéticos essa importância começou a declinar. Mas com o despertar do uso de controle alternativo de insetos com produtos que não poluam o meio e não afete a saúde da população vários estudos com o uso de timbó têm sido realizados para controle de insetos, além do uso

contra ectoparasitas como piolho e carrapatos (COSTA et al., 1986; LIMA, 1987; COSTA; ALVES; BÉLO, 1999; CORRÊA, 2011; MACHADO, 2012).

Mariconi (1981) relatou que em raízes de timbó existem seis tipos de substâncias rotenóides, todas com estrutura química semelhantes a rotenona, porém esta última pode chegar a ser dez vezes mais tóxica para insetos que as demais.

#### 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUILAR, J.A.D.A.; GASPAROTTO, L. Aspectos cronológicos e biológicos da broca-do-fruto *Conotrachelus* sp. Fiedler, 1940 (Coleoptera: Curculionidae) do cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum* Schum.) e seu controle. Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus/AM. (Documentos, 3). 1999 . 17pp.

ALBIERO, A.L.M.; PAOLI, A.A.S.; SOUZA, L.A.; MOURÃO, K.S.M. Morfoanatomia dos órgãos vegetativos de *Piper hispidum* Sw. (Piperaceae). Brazilian Journal of Pharmacognosy 16(3): 379-391. 2006.

ALÉCIO, M.R. Atividade Biológica de extratos de timbó (*Derris scandens* Aubl. E *Deguelia floribundus* Benth) sobre *Cerotoma tingomarianus* Bechyné (Coleoptera: Chrysomleidae) e *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). 2012. 201f. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus/AM. 2012.

BALDOQUI, D. C.; KATO, M. J.; CAVALHEIRO, A. J.; BOLZANI, V. S.; YOUNG, M. C. M.; FURLAN, M.; New chromene and prenylated benzoic acid from *Piper aduncum*. *Phytochemistry*. 51: 899-902. 1999.

BASTOS, N.B.; ALBUQUERQUE, P.S.B. Efeito do óleo de *Piper aduncum* no controle de pós-colheita de *Colletotrichum musae* em banana. *Fitopatologia Brasileira*. 29(4): 555–557. 2004.

BERNARD, C.B.; KRISHANMURTY, H.G.; CHAURET, D.; DURST, T.; PHILOGÉNE, 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* 21(6): 801-814. 1995.

BEZERRA, G.C.D. Efeito de extratos brutos e frações de meliáceas (Rutales: Meliaceae) na sobrevivência e no comportamento de *Bemisia tabaci* (Gennadius) biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae) em tomateiro. 2009. 136f. Tese de Doutorado. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo. ESALQ/USP. Piracicaba. 2009.

BONDAR, G. Notas Entomológicas da Bahia XIV. *Revista de Entomologia* 15(2): 91-204. 1944.

BORROR, D.J.; De LONG, D.M. *Introdução ao estudo dos insetos*. USAID, Programa de Publicações Didáticas. 1969. 653p.

BOSCÁN DE MARTÍNEZ, N.; CÁSAIRES, R. El gorgojo de la guayaba *Conotrachelus psidii* Marshall (Coleoptera: Curculionidae). I. Evaluación de daños. *Agronomía Tropical*. 30:77-83. 1980.

CARDOSO, M. das G.; SHAN, A. Y. K. V. & SOUZA, J. A. de. *Fitoquímica e química de produtos naturais*. Lavras – MG: UFLA/FAEPE (Textos Acadêmicos). 2001, 67 p.

CAVALCANTE, P. B. Frutos Comestíveis da Amazônia. 4º Ed. Coleção Adolpho Ducke, Museu Emílio Goeldi/Souza Cruz. Belém, PA, Brasil. 1988.

CORIA-ÀVALOS, V.M. Ciclo de vida, flutuación poblacional y control del barrenador de la semilla del aguacate (*Conotrachelus perseae* Barber, *C. aguacatae* B.) (Coleoptera: Curculionidae) en ziracuaretiro, michoacan, Mexico. Revista Chap. Série Horticultura, 5: 313-318. 1999.

CORRÊA, R.S. Toxicidade de extratos de timbós (*Derris* spp.) sobre *Tetranychus desertorum* (Acari: Tetranychidae) em folhas de pimentão. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Amazonas – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. 72p. 2011.

COSTA, N.A. de; NASCIMENTO, C.N.B. do; MOURA CARVALHO, L.O. de; OUTRA, S.; PIMENTEL, E.S. Uso do timbó urucu (*Derris urucu*) no controle do piolho (*Haematopinus tuberculatus*) em Bubalinos. Belém, EMBRAPA/CPATU, 15p. (EMBRAPA-CPATU. Boletim de Pesquisa, 78). 1986.

COSTA, J.P.C.; ALVES, S.M.; BÉLO, M. Teores de rotenona em clones de timbo (*derris* spp. Fabaceae) de diferentes regiões da Amazônia e os seus efeitos na emergência de imagos de *Musca domestica* L. Acta Amazonica 29(4): 563-573. 1999.

DINIZ, T. D. A. S.; BASTOS, T. X.; RODRIGUES, I. A.; MULLER, C. H.; KATO, A. K.; SILVA, M. M. M. Condições climáticas em áreas de ocorrência natural e de cultivo de guaraná, cupuaçu, bacuri e castanha-do-brasil. Belém: Embrapa-CPATU, 1984. (Embrapa-CPATU. Pesquisa em Andamento, 133).

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J. L. V.; LIMA, A. P. de & ARGOLO, V. M. Avaliação de plantas com potencial inseticida no controle da vaquinha-do-feijoeiro (*Cerotoma tingomarianus* Bechyné). *Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento*: Embrapa, Rio Branco – Acre. 37: 1-42. 2002.

FAZOLIN, M.; ESTRELA.; J.L.V.; CATANI, V.; LIMA, M.S.; ALÉCIO, M.R. Toxicidade do óleo de *Piper aduncum* L. a adultos de *Cerotoma tingomarianus* Bechyné (Coleoptera: Chrysomelidae). *Neotropical Entomology* 34(3) 485-489. 2005.

FAZOLIN, M.; ESTRELA.; J.L.V.; CATANI, V.; ALÉCIO, M.R.; LIMA, M.S. 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. *Ciênc. agrotec.* Lavras. 31(1): 113-120. 2007.

FORIM, M.R. Estudo fitoquímico do enxerto de *Azadirachta indica* sobre *Melia azedarach*: quantificação de substâncias inseticidas. 2006. 320f. Tese (Doutorado em Química Orgânica) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos. 2006.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BAPTISTA, G.C.; 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/SP v.10, ed. FEALQ. 2002. 920p.

- GULLAN, P.J.; CRANSTON, P.S. *Os insetos: um resumo de entomologia*. São Paulo: Roca, 3<sup>a</sup> ed. 2008. 440p.
- GUNN, C.R. Seeds of Leguminosae. In *Advances in legume systematics* (R.M. Polhill & P.H. Raven, eds.). Royal Botanical Gardens, Kew, p.913-926. 1981.
- HOFFMANN, E.J.; COOMBS, A.B.; WHALON, M.E. Reproductive development of northern and southern strains of plum curculio (Coleoptera: Curculionidae). *Journal Econ. Entomology* 97(1): 27-32. 2004.
- JACOBSON, M. Botanical Pesticides: past, present and future. In: Arnason, J.T.; Philogène, B.J.R.; Morand, P. *Insecticides of plant origin*. Washington: ACS, cap.1, p.1-7. 1989.
- LIMA, R. R. Informações sobre duas espécies de timbó *Derris urucu* (Killip et Smith) Macbr. e *Derris nicou*(Killip et Smith) Macbr., como plantas inseticidas. Belém, EMBRAPA-CPATU, 23p. il. (EMBRAPA-CPATU. Documentos, 42). 1987.
- LOPES, C.M.D.; SILVA, N.M. Impacto econômico da broca do cupuaçu, *Conotrachelus humeropictus* Field (Coleoptera: Curculionidae) nos estados do Amazonas e Rondônia. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 27(3): 481-483. 1998a.
- LOPES, C.M.D.; SILVA, N.M. Ocorrência de parasitóides de *Conotrachelus humeropictus* (Coleoptera: Curculionidae) no Amazonas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 17., Rio de Janeiro. 1998. Resumos. Rio de Janeiro: SEB. 1998b. p. 265.
- LOPES, C. de M. D. A. Biologia, Comportamento e flutuação populacional da broca-do-fruto do cupuaçuzeiro *Conotrachelus* sp. próximo *humeropictus* (Coleoptera: Curculionidae). 2000. 88f. Tese de doutorado. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Manaus/AM. 2000.
- MACHADO, L.A.; BARBOZA e SILVA, V.; OLIVEIRA, M.M. Uso de extratos vegetais no controle de pragas em horticultura. *Biológico*, São Paulo. 69(2): 103-106. 2007.
- MACHADO, A.F. Atividade biológica de timbó (*Lonchocarpus floribundus*) sobre carrapato bovino. Dissertação (Mestrado) - Universidade do Estado Amazonas - Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Recursos Naturais da Amazônia, 47p. 2012.
- MACIEL, M.V.; MORAIS, S.M.; BEVILAQUA, C.M.L.; AMÓRA, S.S.A. Extratos vegetais usados no controle de dípteros vetores de zoonoses. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* 12(1). 2010.
- MAIA, J.G.S.; ZOHBI, M.G.B.; ANDRADE, E.H.A.; SANTOS, A.S.; SILVA, M.H.L.; LUZ, A.I.R.; BASTOS, C.N. Constituents of the essential oil of *Piper aduncum* L. growing wild in the Amazon region. *Flavour and Fragrance Journal*, 13: 269-272. 1998.

- MARICONI, F.A.M. Inseticidas e seu emprego no combate às pragas: com uma introdução sobre o estudo dos insetos. 7 ed. São Paulo: Nobel. 466p. 1981.
- MARTINEZ, S.S. (Ed.) *O nim – Azadirachta indica: natureza, usos, múltiplos, produção*. Londrina. Instituto Agrônômico do Paraná. 2002. 142p.
- MENDES, A.C. de B.; RIBEIRO, N.C.; GARCIA, J. de J.; TREVISAN, O. Danos de *Conotrachelus humeropictus*, Fiedler, 1940 (Coleoptera: Curculionidae) nova praga de cacaueteiro (*Theobroma cacao* L.) na Amazônia brasileira. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*. 17: 19-28. 1988.
- MENDES, A.C.B.; MAGALHÃES, B.P.; Ohashi, O.S. Biologia de *Conotrachelus humeropictus*, Fiedler, 1940 (Coleoptera: Curculionidae) nova praga do cacaueteiro e do cupuaçuzeiro na Amazônia Brasileira. *Acta Amazonica*, 27(2): 135-144. 1997.
- MESQUITA, L.P. Princípios de resistência de plantas aos insetos. Ícone, São Paulo, Brasil. 1991. 336p.
- MOSSINI, S.A.G; KEMMELMEIER, C. A árvore Nim (*Azadirachta indica* A. Juss): Múltiplos Usos. *Acta Farm. Bonaerense*. 24: 139-148. 2005.
- MOURA, K.C.D.; SOUZA-FIRMINO, T.S.; TREVISAN, O.; ITOYAMA, M.M. Population analysis of *Conotrachelus humeropictus* (Curculionidae: Coleoptera) from mitochondrial gene COI. 59º Congresso Brasileiro de Genética. Águas de Lindóia, São Paulo. 2013.
- NAVICKIENE, H.M.D.; ALÉCIO, A.C.; KATO, M.J.; Bolzani VS, Young MCM, Cavalheiro AJ, Furlan M 2000. Antifungal amides from *Piper hispidum* and *Piper tuberculatum*. *Phytochemistry* 55: 621-626.
- NERY, D.M.S. Estratificação vertical da infestação da broca-do-fruto do cupuaçuzeiro *Conotrachelus* aff. *humeropictus* (Coleoptera: Curculionidae) em sistemas agroflorestais, em Nova Califórnia Rondônia. INPA-Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/UFAM Universidade Federal do Amazonas. 86p. (Dissertação de Mestrado). 2002.
- O'BRIEN, C.W.; COUTURIER, G. Two New Agricultural Pest Species of *Conotrachelus* (Coleoptera: Curculionidae: Molytinae) In South America. *Ann. Soc. Entomol. Fr.* (N.S.), 31(3): 227-235. 1995.
- OLIVEIRA, S.P. de. Biologia reprodutiva de *Conotrachelus humeropictus* (Coleoptera: Curculionidae) broca do cupuaçuzeiro em diferentes substratos. 1998. 31f. Monografia, Universidade Federal do Amazonas (UFAM). Manaus/AM. 1998.
- OLIVEIRA, S.P. de. Dispersão horizontal da broca-do-fruto do cupuaçuzeiro *Conotrachelus humeropictus* Fiedler, 1940 (Coleoptera: Curculionidae) em sistemas agroflorestais de Nova Califórnia, Rondônia. 2003. 79f. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Amazonas (UFAM). Manaus/AM. 2003.

OLIVEIRA, T.A. Bioatividade de extratos vegetais de *Vitex cymosa* e *Eschweilera pedicellata* sobre adultos de *Sitophilus zeamais* MOTSCHULSKY, 1855 (Coleoptera; Curculionidae). 2010. 72f. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Entomologia). Instituto Nacional de pesquisas da Amazônia - INPA, Manaus/AM. 2010.

PAMPLONA, A. M. S. R. Levantamento da entomofauna do cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum* (Willd. Ex Spreng.) Schum) em áreas experimentais da Embrapa-CPAA e de produtores. Manaus: Embrapa-CPAA. 4 p. 1992.

PARMAR, V.S.; JAIN, S.C.; BISHT, K.S.; JAIN, R.; TANEJA, P.; JHA, A.; TYAGI, O.D.; PRASAD, A.K.; WENGEL, J.; OLSEN, C.E.; BOLL, P.M. Phytochemistry of the genus *Piper*. *Phytochemistry*. 46(4): 597-673. 1997.

PENA, M.R. Bioatividade de extratos aquosos e orgânicos de diferentes plantas inseticidas sobre a mosca-negra-dos-citros, *Aleurocanthus woglumi* ASHBY 1915 (Hemiptera: Aleyrodidae). 2012. 190f. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus/AM. 2012.

PITTA, R.M. Bioatividade de extratos orgânicos de meliáceas e óleos essenciais de piperáceas sobre *Rhopalosiphum maidis* (Hemiptera; Aphididae). 2010. 101f. Tese de Doutorado. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo. ESALQ/USP. Piracicaba. 2010.

RIBEIRO, J.E.L.S.; HOPKINS, M.J.G.; VICENTINI, A.; SOTHERS, C.A.; COSTA, M.A.S.; BRITO, J.M.; SOUZA, M.A.D.; MARTINS, L.H.P.; LOHMANN, L.G.; ASSUNÇÃO, P.A.C.L.; PEREIRA, E.C.; SILVA, C.F.; MESQUITA, M.R.; PROCÓPIO, L.C. Flora da Reserva Ducke: *Guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra-firme na Amazônia Central*. Manaus: INPA. 1999. 816 p.

RIBEIRO, F.V.; SILVA, N.M. Avaliação de 4 tipos de invólucros em frutos de cupuaçuzeiro no controle de *Conotrachelus humeropictus* (Coleoptera: Curculionidae) em sistemas agroflorestais em Nova Califórnia – RO. Anais do XX Congresso Brasileiro de Entomologia. Gramado/RS. 2004.

RODRÍGUEZ, H. C. Efeito de extratos aquosos de Meliaceae no desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). 1995. 100f. Tese de Doutorado. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo. ESALQ/USP. Piracicaba. 1995.

RODRÍGUEZ, H.C.; VENDRAMIM, J.D. Avaliação da bioatividade de extratos aquosos de Meliaceae sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). *Revista da Agricultura*, Piracicaba, 72: 305-318. 1996.

ROEL, A.R. Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o desenvolvimento rural sustentável. *Rev. Internacional de Desenvolvimento Local*. 1(2): 43-50. 2001.

ROEL, A.R.; VENDRAMIM, J.D.; FRIGHETTO, R.T.S.; FRIGHETTO, N. Efeito do extrato acetato de etila de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) no desenvolvimento e sobrevivência da lagarta-do-cartucho. *Bragantia*, Campinas. 59(1): 53-58. 2000.

- SANTOS, M.R.A.; SILVA, A.G.; LIMA, R.A.; LIMA, D.K.S.; SALLET, L.A.P.; TEIXEIRA, C.A.D.; POLLI, A.R.; FACUNDO, V.A. Atividade inseticida do extrato das folhas de *Piper hispidum* (Piperaceae) sobre a broca-do-café (*Hypothenemus hampei*). *Revista Brasil. Bot.*, 33(2): 319-324. 2010.
- SCHUMUTTERER, H. Insect growth-disrupting and fecundity-reducing ingredients from the neem and chynaberry trees. In: MORGAN, E.D.; MANDAVA, N.B.(Ed). *Handbook of natural pesticides*. Washington: CRC, p.119-167. 1987.
- SCHMUTTERER, H. Potential of azadirachtin-containing pesticides for integrated pest control in developing and industrialized countries. *Journal of Insect Physiology*, v.34, p.713-719, 1988.
- SILVA, M.A. Avaliação do potencial inseticida de *Azadirachta indica* (Meliaceae) visando o controle de moscas-das-frutas (Diptera; Tephritidae). 2010. 159f. Dissertação de Mestrado. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo. ESALQ/USP. Piracicaba. 2010.
- SILVA, N.M.; ALFAIA, S.S. Manejo integrado da broca-do-fruto do cupuaçuzeiro (Coleoptera: Curculionidae) em sistemas agroflorestais. INPA, Manaus/AM. 16pp. (Coleção Cartilhas Técnicas). 2004.
- SILVA, W.C.; RIBEIRO, J.D.; DE SOUZA, H.E.M.; CORREA, R.S. Atividade inseticida de *Piper aduncum* L. (Piperaceae) sobre *Aetalion* sp. (Hemiptera: Aetalionidae), praga de importância econômica no Amazonas. *Acta Amazonica*, 37(2): 293-298. 2007.
- SILVA, N.M.; LEMOS, W.P.; PAMPLONA, A.M.S.R.; LOURIDO, G.M.; TREVISAN, O. Cupuaçu. In: *Pragas Agrícolas e Florestais na Amazônia*. SILVA, N.M.; ADAIME, R.; ZUCCHI, R.A., editores técnicos – Brasília, DF: Embrapa. 608p. 2016.
- SOUZA, A.P.; VENDRAMIM, J.D. Efeito de extratos aquosos de meliáceas sobre *Bemisia tabaci* biótipo B em tomateiro. *Bragantia*, Campinas. 59(2): 173-179. 2000.
- SOUZA, A.P.; VENDRAMIM, J.D. Atividade inseticida de extratos aquosos de meliáceas sobre a mosca-branca *Bemisia Tabaci* (Gennadius) biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae). *Neotropical Entomology*, Londrina, 30: 133-137. 2001.
- SOUZA, A.P.; VENDRAMIM, J.D. Bioatividade de extratos orgânicos e aquosos de meliáceas sobre *Bemisia tabaci* (Genn.) biótipo B em tomateiro. *Arq. Inst. Biol.*, Campo Grande. 71(4): 493-497. 2004.
- SOUZA, A. das G. C. de; PAMPLONA, A. M. S. R.; COSTA, J. N. M. Estudo de caso: infestação da broca-do-cupuaçu (*Conotrachelus* sp.) em área adjacente à mata. In: Congresso Brasileiro de Sistemas Agroflorestais, 10, Cuiabá. SAF: aprendizados, desafios e perspectivas: anais. Cuiabá: SBSAF, 2016.
- STEIN, U.; PARRELLA, M.P. Seed extract shows promise in leafminer control. *California Agriculture*. 4: 19-20. 1985.

TAVARES, A.M.; SOUZA, A.G.C.; NUNES, A.B. Controle mecânico da broca do fruto do cupuaçuzeiro, *Conotrachelus* sp. (Coleoptera: Curculionidae). Embrapa Comunicado Técnico 15. 4p. 2002.

TEDDERS, W.L.; PAYNE, J.A. Biology, life history, and control of *Conotrachelus schoofi* (Coleoptera: Curculionidae) on pecans. J. Econ. Entomol. 79: 490-496. 1986.

THOMAZINI, J.M. Medidas para o controle da broca-dos-frutos do cupuaçuzeiro. Rio Branco: Embrapa-CPAF/AC. (Embrapa-CPAF/AC. Instruções técnicas, 11). 2p. 1998.

THOMAZZINI, M.J. A broca dos frutos do cupuaçuzeiro. *Conotrachelus humeropictus* Fiedler. Rio Branco: Embrapa Acre. Comunicado Técnico, 113. 4p. 2000.

TREVISAN, O. O comportamento da broca dos frutos de cacau, *Conotrachelus humeropictus*, Fiedler 1940 (Coleoptera: Curculionidae), em Rondônia. 1989. 57f. Dissertação Mestrado. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo. ESALQ/USP. Piracicaba. 1989.

TREVISAN, O.; MENDES, A.C.B. Ocorrência de *Conotrachelus humeropictus* Fiedler, 1940 (Coleoptera : Curculionidae) em frutos de cupuaçu *Theobroma grandiflorum* Schum (Sterculiaceae). In: Congresso Brasileiro de Entomologia, 13., 1991, Recife. 1: 137. 1991.

TRINDADE, R.C.P.; MARQUES, I.M.R.; XAVIER, H.S.; OLIVEIRA, J.V. Extrato metanólico da amêndoa da semente de nim e a mortalidade de ovos e lagartas da traça do tomateiro. *Scientia Agricola*. 57(3): 407-413. 2000.

VENDRAMIM, J.D. Plantas inseticidas. In: *Congresso Brasileiro de Entomologia*, 16. Salvador, 1997. Resumos: SEB. p.10. 1997.

VENDRAMIM, J.D.; TORRECILLAS, S.M. Efecto de extractos acuosos de *Trichilia pallida* (Meliaceae) y genótipos resistentes de maiz sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). In: Simposio Internacional sobre substancias vegetales y minerales em el combate de plagas. Acapulco. Memorias: Puebla, Colégio de Postgraduados. 133-144. 1998.

VENTURIERI, G.A. Cupuaçu: a espécie, sua cultura, uso e processamento. Belém, Clube do Cupu. 1993. 108p.

VIEGAS JUNIOR, C. Terpenos com atividade inseticida: an alternative to chemical control of insects. *Química Nova*. São Paulo: Araraquara, 26: 390-400. 2003.

XIE, Y.S.; ISMAN, M.B.; GUNNING, P.; MACKINNON, S.; ARNASON, J.T.; TAYLOR, D.R.; SÁNCHEZ, P.; HASBUN, C.; TOWERS, G.H.N. Biological activity of extracts of *Trichilia* species and the limonoid hirtin against lepidopteran larvae. *Biochem. Syst. Ecol.*, 22(2):129-136. 1994.

ZUCCHI, R.A.; VENDRAMIN, J.D.; BERTI-FILHO, E. Importância dos insetos e manejo de pragas. p. 1-30. In: Curso de entomologia aplicada à agricultura. Piracicaba, São Paulo; FEALQ. 1992. 760p.

## CAPÍTULO 1

**ASPECTOS BIOLÓGICOS DE *Conotrachelus humeropictus* FIEDLER, 1940  
(COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) NA REGIÃO DE MANAUS,  
AMAZONAS.**

## **RESUMO**

Alguns parâmetros biológicos de *Conotrachelus humeropictus* foram estudados sob condições de laboratório (temperatura de  $27 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidade relativa de  $80\% \pm 10\%$ , fotofase e escotofase de 12 horas). Para o estabelecimento e manutenção da criação estoque foram coletadas larvas a partir de frutos da área de plantio da Embrapa Amazônia Ocidental, localizada nas coordenadas geográficas  $2^\circ 53' 29,14''\text{S}$  e  $59^\circ 58' 39,90''\text{W}$ . Dentre os parâmetros estudados foram analisados os estágios de ovo, larva, pupa e adulto. Na busca por ovos em frutos de 6 a 9 cm, em média, de um total de 200 frutos analisados não foram encontrados ovos do inseto. Para a fase de larva, foram medidas e pesadas para determinação do número de ínstar larvais e o período de larva de quarto ínstar à pré-pupa durou em média seis dias. Na fase de pupa, a preferência por pupação aconteceu na camada de 10 a 15 cm de solo e o período médio desta fase foi de  $60 (\pm 11,34)$  dias para machos e  $63 (\pm 9,65)$  para fêmeas. Nos estudos com adultos foi observado de 395 insetos adultos a partir das 680 larvas de quarto ínstar e viabilidade larval de 58,08%. A razão sexual encontrada foi de 0,506, com proporção de 1:1, com 200 fêmeas e 195 machos. A longevidade média foi de 427 dias, com variância de 146 a 708 dias. O período de maior mortalidade foi a partir de 325 dias de vida para insetos alimentados com cana-de-açúcar. Em espécimes tendo como substrato outras fontes alimentares, a longevidade foi menor, 240 dias, 260 dias, 268 dias para banana, cenoura e beterraba, respectivamente. E quando privados de alimentação o tempo máximo de longevidade foi de 23 dias.

**PALAVRAS-CHAVE:** Parâmetros biológicos; longevidade; razão sexual

## **ABSTRACT**

Some biological parameters of *Conotrachelus humeropictus* were studied under laboratory conditions (temperature  $27 \pm 2^\circ\text{C}$ , umidity  $80\% \pm 10\%$ , photophase and scotophase of 12 hours). For establishment and maintenance of breeding larvae were collected from fruits of the Embrapa Western Amazon planting area located at geographical coordinates  $2^\circ 53' 29,14''\text{S}$  and  $59^\circ 58' 39,90''\text{W}$ . Among the studied parameters, the egg, larva, pupa and adults phases were analyzed. In the search for eggs in fruits of 6 to 9 centimeters, of a total of 200 fruits analyzed no eggs of the insect were found. For the larva stage, the larvae were measured and weighed to determine the number of larval instars and the larval period of fourth instar the pre-pupa lasted on average six days. In the pupae phase, pupation preference occurred in the 10 to 15 cm soil layer. The mean period of this phase was  $60 (\pm 11,34)$  days for male and  $63 (\pm 9,65)$  days for female. In adult studies, 395 adult insects were observed from the 680 instar larvae with a viability of 58.08%. The sex ratio was 0.506, with a ratio of 1: 1, with 200 females and 195 males. The mean longevity was 427 days, with a variance of 146 to 708 days. The period of greatest mortality was from 325 days of life for insects fed with sugarcane. For specimens having as substrate other foods sources, longevity was lower, 240 days, 260 days, 268 days for banana, carrot and beet, respectively. And when deprived of food the maximum longevity time was 23 days.

**KEY-WORDS:** Longevity, sex ratio, sexual reason

## 1. INTRODUÇÃO

*Conotrachelus humeropictus* Fiedler, 1940 é um curculionídeo considerado inseto praga para a cultura do cupuaçu na Região Norte do Brasil devido aos danos econômicos por perda de produção que provoca.

Estudos sobre sua criação, biologia, comportamento e ecologia propiciam conhecimentos imprescindíveis para a elaboração de métodos de controle eficientes e menos agressivos à cultura (KOYAMA et al., 2004).

Alguns estudos relacionados à biologia dessa praga já foram realizados, entretanto muitas das informações estão relacionadas à *C. humeropictus* em cacau e para os Estados do Acre e Rondônia (TREVISAN, 1989; MENDES et al., 1997; THOMAZINI, 2000; MAIA et al. 2009; TORRENS, 2015). Poucos são os estudos dessa praga para a cultura do cupuaçu no estado do Amazonas (AGUILAR; GASPAROTTO, 1999; LOPES, 2000; NERY, 2002; OLIVEIRA, 2003; PAMPLONA; OLIVEIRA, 2013).

Aguilar e Gasparoto (1999) relataram sobre o crescimento do cultivo de cupuaçu no Estado do Amazonas e os prejuízos que essa expansão trouxe, pois a interferência no meio propiciou o aparecimento de insetos pragas como *C. humeropictus*. E ressaltaram que as perdas de produção podem chegar a 100%. Apesar dos métodos mecânicos e alguns tratamentos culturais serem eficientes na diminuição da população do inseto, e alguns estudos sobre biologia e comportamento apontarem algumas formas alternativas de controle, ainda há falta de conhecimento sobre alguns parâmetros biológicos que podem ser importantes para um controle mais eficiente.

Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar o ciclo de vida da broca-do-cupuaçu, *C. humeropictus*, nas fases de ovo a adulto, em condições de laboratório.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Locais de estudo

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Entomologia e Acarologia Agrícola – LEA da FCA/UFAM e na área experimental da Embrapa Amazônia Ocidental, localizada na Rodovia AM 010 a 29 km da cidade de Manaus (AM), localizada nas coordenadas geográficas 2°53'29,14"S e 59°58'39,90"W (Figura 1.1) e no Sítio do “Mentiroso”, km 32 da estrada de Autazes (AM 254) localizada nas coordenadas geográficas 3°34'47"S e 59°07'50"W (Figura 1.2).

A área experimental da Embrapa, chamada de “Nagibão”, possui mais de 100 árvores de cupuaçu em um plantio de cerca de 20 anos. As plantas estão dispostas em espaçamento padrão recomendado para a espécie (10x10m) e estão localizadas em uma área cercada por vegetação natural.



**Figura 1.1.** Área de plantio de Cupuaçu da Embrapa Amazônia Ocidental, Km 29 AM-010, Manaus, Amazonas.



**Figura 1.2.** Área de plantio de Cupuaçu do Sítio do “Mentiroso”, AM 254, Km 32, Autazes, Amazonas.

A área de plantio do Sítio do “Mentiroso” é uma propriedade particular com 3000 plantas em um cultivo comercial. A área de frente da plantação encontra-se localizada próxima a estrada AM 254, entretanto as outras laterais encontram-se em contato com a mata primária.

## **2.2. Coleta dos frutos e obtenção dos insetos**

Os 430 frutos foram coletados, após a queda natural, na superfície do solo, acondicionados em sacos plásticos de 100 L e conduzidos a uma área coberta na área de plantio - Embrapa Amazônia Ocidental, em Manaus, AM onde foram pesados, medidos o comprimento e diâmetro e quantificados os orifícios de saída das larvas.

Um total de 100 frutos foram acondicionados em 20 bandejas plásticas (40cm x 80cm) contendo uma camada de 10 cm de terriço cobertos por tecido de filó para obtenção de insetos adultos (Figura 1.3). O terriço das bandejas foi umedecido com pulverizador manual a cada três dias para manutenção da umidade do substrato. As observações foram realizadas diariamente durante 60 dias a partir do acondicionamento dos frutos nas bandejas.

Os insetos adultos foram retirados das bandejas conforme eclodiam e foram acondicionados em placas de Petri e conduzidos ao laboratório.



**Figura 1.3.** A) Frutos acondicionados em bandejas plásticas (contendo terriço e cobertos com filó) para obtenção de adultos; B) Orifícios de saída de insetos adultos.

Outra parte dos frutos, após as medições, foram quebrados na própria área de plantio na busca por larvas de diferentes ínstares. As larvas obtidas foram alocadas em placas de Petri (15cm de diâmetro) forradas com papel filtro e umedecido com água destilada. As placas foram acondicionadas em caixas de isopor de três litros e conduzidas ao laboratório para os estudos de aspectos biológicos.



**Figura 1.4.** A) Coleta de larvas para acompanhamento de dados biológicos; B) Presença de larva na semente do fruto de cupuaçu.

### **2.3. Estabelecimento e manutenção da criação estoque de *C. humeropictus***

A criação estoque de *C. humeropictus* foi estabelecida a partir de insetos obtidos na área do Nagibão na Embrapa Amazônia Ocidental, em Manaus, AM.

Os adultos obtidos dos frutos das bandejas foram sexados, individualizados em placas de Petri tendo a data de emergência registrada. Foram obtidos 71 insetos adultos por este método.

As larvas de primeiro a quarto ínstar obtidas dos frutos foram acondicionadas em placas de Petri para medição da cápsula cefálica. Após as medições as larvas de primeiro a terceiro ínstar foram mantidas em frutos de cupuaçu, acondicionados em bandejas, contendo terriço até completarem o ciclo. As larvas de quarto ínstar foram colocadas em recipientes plásticos de 500 mL contendo solo estéril com umidade controlada de 30%, por meio do peso, até a emergência dos adultos. Estes recipientes foram mantidos em sala climatizada à temperatura de  $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , umidade relativa de  $80\% \pm 10\%$ , fotofase e escotofase de 12 horas. O solo foi umedecido diariamente.

Os adultos, recém-emergidos dos recipientes com solo, foram mantidos em placas de Petri de 9 cm de diâmetro e alimentados com discos de cana-de-açúcar, oriundas de plantio da Embrapa Amazônia Ocidental. A cada três dias as placas eram higienizadas e o alimento substituído.



**Figura 1.5.** Frutos danificados pela broca-do-fruto-do-cupuaçu.

#### **2.4. Infestação dos frutos**

Para avaliação da infestação dos frutos, os mesmos foram coletados caídos na superfície do solo, diariamente, de janeiro a fevereiro de 2015. As dimensões dos frutos foram registradas, com dados de peso, comprimento e diâmetro, além do número de furos e o número de larvas por fruto.

#### **2.5. Parâmetros biológicos**

Nos estudos conduzidos em laboratório os insetos avaliados foram acompanhados em sala climatizada à temperatura de  $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , umidade relativa de  $80\% \pm 10\%$ , fotofase e escotofase de 12 horas. Para as larvas mantidas em recipientes contendo solo estéril o acompanhamento foi realizado diariamente para manutenção da umidade do solo. Os adultos mantidos em placas de Petri foram alimentados com discos de cana-de-açúcar que foram trocados a cada três dias, conforme descrito no item 2.3.

### **2.5.1. Fase de ovo**

A busca por ovos foi realizada em frutos trazidos do campo na fase denominada de birro cujo tamanho é de 6 a 9 cm. Esses frutos foram coletados diretamente da planta, acondicionados em sacos plásticos e levados ao laboratório da Embrapa. Com o auxílio de um microscópio estereoscópio equipado com ocular micrométrica os frutos foram analisados e escarificados com um bisturi a procura de ovos para sua descrição morfológica.

Outro método de busca por ovos foi pela observação da postura, após o acasalamento, durante o experimento de comportamento de acasalamento e oviposição, a ser descrito no item 2.1.1 e 2.1.2.

### **2.5.2. Fase larval**

As larvas de quarto instar foram selecionadas e observadas para determinação da duração e viabilidade larval, além do número e descrição de cada ínstar.

A duração da fase larval foi determinada com base no período entre a eclosão das larvas e a transformação em pupa. A viabilidade desta fase foi obtida por meio da avaliação da quantidade de indivíduos que atingiram a fase de pupa.

Para determinação do número de ínstars e o que os caracteriza foram registrados a largura da cápsula cefálica e comprimento do corpo em microscópio estereoscópico na ocular 40x.



**Figura 1.6.** Larvas de *C. humeropictus* medidas e pesadas para determinação da fase larval.

### 2.5.3. Fase de pupa

Nesta fase foi avaliada a duração, com base no período entre a formação da pupa e a emergência do adulto e a viabilidade por meio da relação dos adultos que emergiram e a quantidade inicial de pupas, além da avaliação da profundidade de pupação.



**Figura 1.7.** Larvas de quarto ínstar acondicionadas em recipientes para pupação.

Para determinar a profundidade de pupação foram utilizadas 100 larvas distribuídas em 10 recipientes plásticos contendo 10 larvas em cada. Os recipientes

receberam marcações de 5 em 5 cm até 15 cm de altura de solo para que facilitasse a observação de profundidade.

O solo utilizado foi do tipo arenoargiloso obtido na área da Embrapa Amazônia Ocidental, a granulometria foi realizada por peneiramento para eliminação das porções mais grossas. E para o estabelecimento da umidade, o solo foi pesado seco e posteriormente úmido, para cada 100 gramas de solo foram burrifados 20 mL de água destilada e a manutenção da umidade foi dada com base de massa mantendo-se o peso úmido ao longo das observações. As pesagens foram realizadas diariamente.

Após 15 dias da instalação do experimento avaliou-se os recipientes para registrar profundidade de formação do pupário.



**Figura 1.8.** Recipiente contendo solo úmido para avaliação da profundidade de pupação de *C. humeropictus*.

#### 2.5.4. Fase adulta

Os adultos recém-emergidos foram sexados para determinar a razão sexual e, posteriormente individualizados em placas de Petri devidamente identificadas. Pedacos

em discos de cana-de-açúcar foram utilizados como substrato para alimentação dos adultos de *C. humeropictus* até a realização das observações de longevidade, comportamento de acasalamento e comportamento de oviposição.



**Figura 1.9.** Adulto recém-emergido e adultos agrupados em placas contendo cana-de-açúcar como substrato para alimentação.

#### 2.5.4.1. Longevidade

Para a determinação da longevidade os adultos recém-emergidos das pupas foram observados diariamente e o período de tempo em que os mesmos, tanto machos quanto fêmeas, permaneceram vivos caracterizou a longevidade destes.

No estudo de longevidade foi levado em consideração o tempo de vida do inseto com diferentes tipos de alimentos e sem alimentação.

Para os ensaios com alimento foram utilizados quatro substratos: cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.), banana (*Musa* spp.), beterraba (*Beta vulgaris esculenta* L.) e cenoura (*Daucus carota* L.).

Em cana-de-açúcar foram utilizados 100 insetos adultos, sendo 50 machos e 50 fêmeas individualizados em placas de Petri. Esses insetos foram mantidos em BOD com temperatura a  $27^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  e UR  $70\% \pm 5\%$ . Foram fornecidos discos de cana de 1 cm de

espessura e 2,5cm de diâmetro embebidos por 5 minutos em hipoclorito de sódio a 1% para desinfecção. Os discos foram trocados a cada três dias.

Para as avaliações com os outros substratos foram utilizados os mesmos procedimentos referidos para cana-de-açúcar, entretanto, o número de insetos observados foi menor, totalizando 50 espécimes sendo 25 machos e 25 fêmeas para cada substrato, inclusive sem alimentação.

### **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **3.1. Infestação dos frutos**

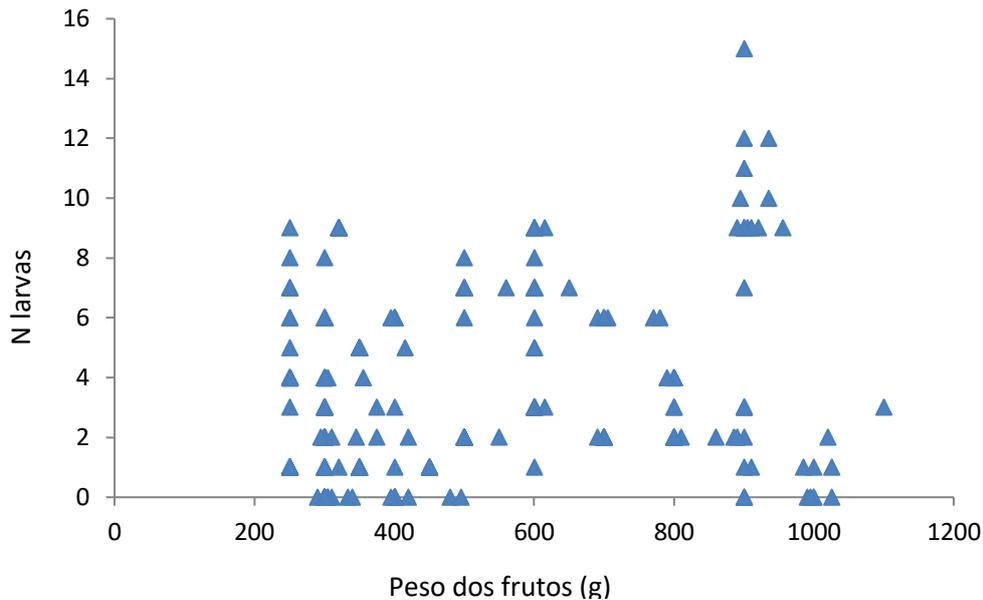
Foram coletados 330 frutos de cupuaçu a partir de coletas diárias nos meses de janeiro e fevereiro durante a safra de 2014/2015, de diferentes tamanhos e estágios de desenvolvimento, todos coletados diretamente sobre a superfície do solo.

As dimensões dos frutos foram registradas e o peso médio foi de 465,21 g ( $\pm 87,6$ g), com comprimento médio de 20 cm ( $\pm 3,0$ cm) e diâmetro médio de 23 cm ( $\pm 2,8$ cm). Foram encontrados 2,65 furos e uma média de 3,30 ( $\pm 0,90$ ) larvas por fruto. O maior número de larvas encontradas em um único fruto foi 15, todas de quarto ínstar, provavelmente originárias de uma única postura não necessariamente de uma única fêmea.

Aguilar e Gasparotto (1999) destacaram que um fruto pode apresentar até 33 larvas. Oliveira (2003) encontrou um número médio de larvas por fruto semelhante, 2,35, entretanto Lopes (2000) achou valores muito superiores, com médias de 6,96 a 7,63 em duas safras, respectivamente e chegou a retirar 58 larvas de um único fruto.

Para análise da correlação entre peso dos frutos e número de larvas o resultado do coeficiente de correlação de Pearson foi  $R^2 = 0,231584$ , o que mostra uma correlação

positiva, ou seja, o número de larvas aumenta de acordo com o peso dos frutos, entretanto, essa relação se mostrou fraca (Figura 1.10). O fruto constitui no único substrato de desenvolvimento das larvas onde competem, intraespecificamente, por espaço e alimento. Portanto, o número de larvas por fruto tende a ser proporcional à maior capacidade de suporte do mesmo.



**Figura 1.10.** Diagrama de dispersão da relação entre o número de larvas de *C. humeropictus* e o peso (g) dos frutos de cupuaçu.

Para análise da correlação entre o número de larvas e o número de furos nos frutos o coeficiente de correlação de Pearson foi  $R^2 = -0,2037$ , mostra uma correlação negativa fraca. Isto evidencia que não há uma relação direta entre o número de furos observados e o número de larvas encontradas no interior do fruto. A presença do(s) furo(s) na casca é um indicador de saída da larva, que busca o solo para pupar. Alguns frutos com furos não continham larvas, ao contrário dos frutos sem furos que registraram presença de larvas.

Vale destacar que o número de furos no fruto é proporcional ao número de larvas projetadas ao solo, já que cada furo significa a saída de uma larva (AGUILAR; GASPAROTO, 1999).

### **3.2. Fase ovo**

Nos estudos da fase ovo foram coletados 200 frutos com tamanho entre 6 a 9 cm (estágio de “birro”) de plantas reconhecidamente susceptíveis ao ataque da broca, localizadas na bordadura do pomar da área experimental da Embrapa, próximo à área de mata. A escolha de frutos nessas dimensões foi em função da preferência do inseto em realizar posturas em frutos jovens na fase de “birro”, onde os frutos tem de 6 a 9 cm (SILVA; ALFAIA, 2004).

Os frutos foram escarificados sob microscópio estereoscópio e não foi detectada a presença de ovos em nenhum dos frutos avaliados.

Estudos com *C. psiidi* Marshal (1922) (Coleoptera: Curculionidae) mostram que este método para busca de ovos é eficiente, embora também seja de fácil observação a realização de posturas pela fêmea em diferentes substratos (VALENTE; BENASSI, 2014; THOMAZINI, 2000).

Nas observações de acasalamento e oviposição também não foram detectadas a presença de ovos.

Mendes et al. (1997) ao determinar parâmetros biológicos de *C. humeropictus* no cacau obtiveram ovos a partir de postura em diferentes substratos como folhas e frutos novos, além da observação de ovos na superfície interna das gaiolas utilizadas pelos casais, sobre o papel filtro das placas e sob o tecido que servia de tampa.

### 3.3. Fase larval

Durante o período de coleta foram obtidos 330 frutos de cupuaçu, com cerca de quatro meses de desenvolvimento caídos no solo, de onde foram retirados 1.080 larvas do primeiro ao quarto ínstar de *C. humeropictus*.

As larvas foram coletadas diretamente dos frutos para determinação do ínstar de desenvolvimento e a viabilidade foi determinada com base no percentual de larvas de quarto ínstar que atingiram a fase de pupa.

As larvas de primeiro ao terceiro instar foram avaliadas e alocadas em polpa de cupuaçu para acompanhamento do desenvolvimento, entretanto nenhuma das larvas desses instares realizou ecdise, provavelmente por serem mais sensíveis e o excesso de manipulação desde a retirada do fruto até as medições de comprimento e cápsula cefálica podem ter afetado o desenvolvimento.

Foi observada presença de larvas em diferentes partes do fruto com predominância de larvas de segundo instar (5%) colonizando a região da polpa e larvas de quarto ínstar localizadas no pericarpo (47%) realizando perfurações de saída e na semente (53%). Muitos frutos aparentavam estar sadios por fora, entretanto na presença da broca era possível observar os danos, principalmente na semente. Silva et al. (2016) relatou que as larvas de último instar colonizam prioritariamente as sementes, possivelmente em busca de nutrientes que dêem suporte para a saída do fruto e o desenvolvimento da fase de pupa.

Entre os instares larvais observados nos frutos houve predominância de larvas de quarto instares (86%). Esse resultado corrobora com o encontrado por Oliveira (2003) que destacou a sincronização do período de desenvolvimento larval e a maturação dos frutos e sugeriu que a presença de diferentes instares larvais pode indicar que a fêmea não realiza a marcação nos frutos durante atividade de oviposição, permitindo que

outras fêmeas possam reinfestar o mesmo fruto, inclusive a própria fêmea que ovipositou.

Para determinação do número de ínstaes e o que caracteriza cada um foram registradas a medida da cápsula cefálica de 250 larvas e aplicado o índice de dyar adaptado de Parra; Hadad (1989) para determinação do número de ínstaes larvais (Tabela 1.1).

Mendes et al. (1997) e Lopes (2000) determinaram quatro ínstaes da broca-do-cupuaçu.

**Tabela 1.1.** Largura das cápsulas cefálicas para larvas de primeiro a quarto ínstar de *C. humeropictus*.

Ínstar	Larvas (N)	Cáp. Cefálica (média estimada mm)	Variância ( $\alpha=0,05$ )
1º	17	0,40	0,05
2º	50	0,80	0,10
3º	81	1,10	0,12
4º	102	1,50	0,18

Algumas espécies de insetos possuem ciclo anual, outras apresentam bivoltismo (duas gerações em um mesmo ano por uma única fêmea), enquanto outras possuem multivoltismo (quatro a cinco gerações no ano). Neste caso, como *C. humeropictus* depende da safra do cupuaçu, fica evidente que a observação de larvas de diferentes ínstaes pode acontecer por conta do multivoltismo nesta espécie com a ocorrência de superposição de gerações.

Outro fator importante que deve ser considerado é a relação de competição intraespecífica, que envolve indivíduos de uma mesma espécie, que além de disputarem os mesmos recursos do meio podem disputar o mesmo recurso alimentar, como é o caso de *C. humeropictus*.

### 3.4. Fase pupa

Foram obtidas 830 larvas de quarto ínstar, entretanto, houve perda de 50 larvas provavelmente devido o manuseio excessivo.

A partir de 680 larvas de quarto ínstar foram obtidos 395 adultos, com viabilidade de 58%. O período médio de pupação foi de 60 dias para machos (n= 195) e 63 dias para fêmeas (n= 200).

Observou-se que algumas larvas (42%) não formaram pupário por terem sido atacadas por fungos.

As pupas de *C. humeropictus*, como na maioria dos curculionídeos, tem o corpo alongado, tipo exarada (apêndices livres), são de coloração branco-creme e com os olhos de coloração castanha (Figura 1.11).

**Tabela 1.2.** Período médio (dias) ( $\pm$  DP) da fase de pupa no solo para *C. humeropictus* sob condições de laboratório.

	Período Mínimo	Período Máximo	Tempo Médio de pupação
Machos	13	87	60 $\pm$ 11,34
Fêmeas	25	93	63 $\pm$ 9,65

Alguns estudos mostram que a média de tempo da fase de pupa tem valores próximos aos encontrados neste estudo, e também observam a grande discrepância entre os valores mínimo e máximo (SILVA; ALFAIA, 2004; PAMPLONA; OLIVEIRA, 2013).

Para o experimento de profundidade de pupação, após 15 dias da instalação do experimento os recipientes foram desmontados para avaliação da profundidade de

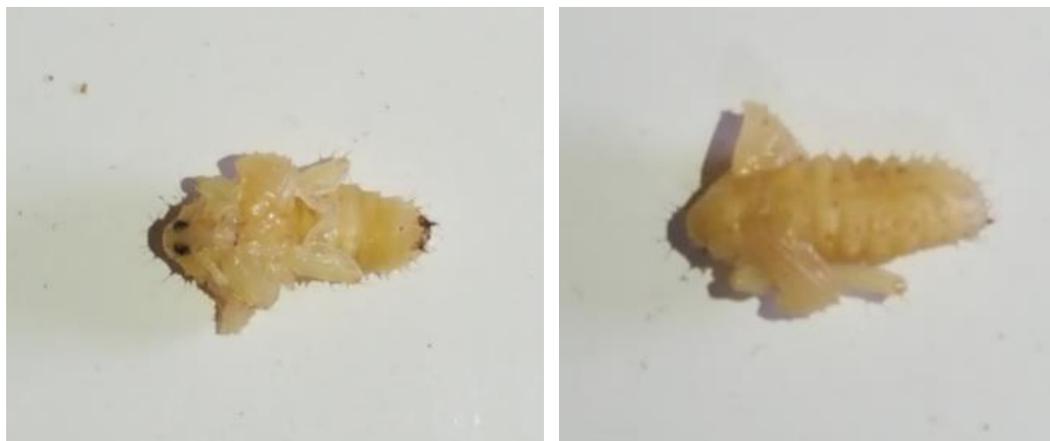
formação do pupário e foi verificado que 75% das larvas preferiram empupar na camada de 10-15cm de solo.

Alguns trabalhos com espécies de *Conotrachelus* mostram que há uma preferência de pupação nas camadas mais superficiais do solo e que pode haver influência do tipo de solo.

Martínez e Cásares (1981) observaram que larvas de *C. psidii* empupam de 6 a 12 cm de profundidade e que a textura e a umidade do solo certamente interferem. Lopes (2000) destacou que a duração do período pupal pode ser influenciada pelos fatores externos de temperatura e umidade, além do tipo e compactação do solo. Esse autor ainda ressaltou que solos molhados podem aumentar a sobrevivência dos insetos e facilitar a entrada do inseto no substrato para construir a câmara pupal.

Valente e Benassi (2014) destacaram que em solos com umidade muito elevada há o favorecimento de ataque de micro-organismos, pois além de precisarem de mais tempo para a construção das câmaras, estas eram menos elaboradas.

Garcia et al. (1997) e Nery (2002) observaram que as larvas de *C. humeropictus* enterraram-se em média a 5 cm de profundidade. Entretanto, Aguilar e Gasparotto (1999) e Pamplona e Oliveira (2013) observaram larvas empupando até 15 cm.



**Figura 1.11.** Pupa de *Conotrachelus humeropictus*.

**Tabela 1.3.** Profundidade de pupação de larvas de *Conotrachelus humeropictus*.

<b>Camada</b>	<b>Larvas</b>
<b>Solo</b>	<b>(N)</b>
0-5cm	03
5-10cm	15
10-15cm	69

De um total de 100 larvas colocadas na superfície do solo para a formação de pupas, foram observados 87 pupários sendo 69 na camada de 10 a 15 cm; 15 pupários na camada 5 a 10 cm e apenas 03 pupários na camada de 0 a 5 cm. Houve uma perda de 13 larvas que não formaram pupa, talvez pela ocorrência de fungos ou pela manipulação excessiva.

Perez; Iannacone (2008) ao avaliarem a profundidade de pupação em *Conotrachelus dubiae* verificaram que as larvas não se aprofundam a camadas abaixo de 5 cm e destacaram que em solos inundados há preferência pela profundidade de 1-3 cm. Em *C. humeropictus* houve preferência por camadas mais profundas, pois a umidade nesse nicho se mantém mais constante do que nas camadas mais superficiais.

Alguns autores relatam que além de avaliações sobre a profundidade de pupação aspectos gerais sobre a dispersão horizontal larval e formação de aglomerações no solo podem auxiliar nas medidas de controle de insetos nesta fase (BOLDRINI et al. (1997); GOMES; VON ZUBEN (2003); GOMES et al. (2007)).

Para a broca-do-cupuçu os estudos sobre a dispersão larval no solo podem contribuir para medidas de controle que atuem na fase de pupa quando o inseto ainda esta no solo, como o controle por micro-organismos a exemplo fungos e nematoides (LOPES, 2000; NERY, 2002).

É importante destacar que durante os estudos da fase de pupação foi observada a presença de uma larva de Braconidae (Hymenoptera: Ichneumonidae), que é considerado inimigo natural de *C. humeropictus* (LOPES; SILVA, 1998; TAVARES; NUNES, 2014). Porém, esta larva não chegou a completar o ciclo até adulto para a identificação específica. Em algumas câmaras pupais foi observada a emergência do inseto adulto, mas que não conseguiram chegar à superfície do solo, possivelmente por falta de vigor ou até mesmo por ataque de fungos ou bactérias como observado por Pamplona e Oliveira (2013).

### 3.5. Fase adulta

Os adultos de *C. humeropictus* são facilmente identificados com base na morfologia externa, pois possuem cor castanho-escuro e medem cerca de oito milímetros de comprimento por cinco milímetros de largura com estrias nos élitros. A sexagem é feita observando-se o final do abdômen, pois os machos possuem seis esternitos com o último ligeiramente côncavo e as fêmeas possuem os dois últimos esternitos soldados e levemente convexo.



**Figura 1.12.** Fêmea adulta de *Conotrachelus humeropictus*.

Através das coletas de frutos foram obtidos 395 insetos adultos a partir das 680 larvas de quarto ínstar observadas com uma viabilidade de 58,08%. Após a sexagem, a razão sexual encontrada foi de 0,506, com proporção de 1:1, com 200 fêmeas e 195 machos.

Esses resultados corroboram com os encontrados por Aguilar; Gasparoto (1999) e Pamplona; Oliveira (2013) que estudaram a manutenção de *C. humeropictus* provenientes de cupuaçu em laboratório.

### **3.5.1. Longevidade**

Nos estudos de longevidade foram utilizados 200 insetos adultos que foram mantidos com quatro tipos de substratos (cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*), banana (*Musa spp.*), beterraba (*Beta vulgaris esculenta*) e cenoura (*Daucus carota*) e sem alimentação.

Um grupo de 100 insetos individualizados, sendo 50 machos e 50 fêmeas, foi mantido em placas de Petri e alimentados com discos de cana-de-açúcar, trocados a cada três dias. A longevidade média foi de 427 dias, com amplitude de 146 a 708 dias (Tabela 1.3). O período de maior mortalidade foi a partir do trigésimo vigésimo quinto dia de vida.

Para as avaliações com os substratos de beterraba, cenoura e banana foram utilizados 50 insetos para cada tipo de alimento, sendo 25 machos e 25 fêmeas.

Pelo teste de comparação de médias os outros substratos não se mostraram diferentes quanto a eficiência na manutenção dos insetos, com 240, 260 e 268 dias para banana, cenoura, beterraba, respectivamente.

**Tabela 1.4.** Longevidade média de adultos de *C. humeropictus* em diferentes substratos de alimentação.

<b>Substrato</b>	<b>Longevidade (dias) (<math>\pm</math>DP)</b>	<b>Intervalo de Variação (dias)</b>
Cana-de-açúcar	427 ( $\pm$ 18)	146-708
Beterraba	268 ( $\pm$ 12)	188-349
Cenoura	260 ( $\pm$ 22)	181-340
Banana	240 ( $\pm$ 07)	144-286
Sem alimento	19 ( $\pm$ 2)	15-23

DP: desvio padrão.

Com esses resultados observamos que *C. humeropictus* pode permanecer na área de produção por mais de dois anos se tiverem condições adequadas de alimentação. Trevisan; Pereira; Oliveira (2013) relataram que essas observações devem ser levadas em consideração em programas de manejo.

As fontes de recursos alimentares existentes nas áreas de mata que ficam no entorno da área de plantio podem propiciar a manutenção da broca do cupuaçu. Algumas espécies tem papel fundamental na sobrevivência dos adultos na entressafra, como as citadas por Mendes et al. (1997) e Thomazini (2002) que ressaltaram que na natureza, o inseto possui além de folhas e frutos novos de cacau como opção, outras espécies vegetais como frutos maduros de bananeira (*Musa* sp.), de jaqueira (*Artocarpus integri*) e cacauí (*Theobroma speciosum*) e cacaarana (*Theobroma microcarpum*) sendo utilizados para a alimentação.

Alguns autores destacam que a destruição dos restos culturais do cupuaçuzeiro, ao final do ciclo de cultivo, é uma estratégia fundamental no manejo fitossanitário da cultura, principalmente no período da entressafra, mas que essa prática apenas diminui a infestação, uma vez que a broca está presente, mesmo que em menor intensidade, nesse

período por utilizar outros recursos alimentares (MENDES et al., 1997; SILVA; ALFAIA, 2004; TREVISAN, 2011).

Para estudos de técnicas de criação o uso de outros substratos não se mostrou eficiente para manutenção das colônias de laboratório de *C. humeropictus*.

#### **4. CONCLUSÃO**

A busca por ovos diretamente de frutos coletados no campo não se mostrou um método eficiente.

As larvas da broca do cupuaçu passam por quatro ínstares, com presença de larvas de diferentes ínstares em um único fruto, sendo encontradas em frutos de diferentes tamanhos.

Há preferência de pupação por camadas mais profundas de solo, fato que dificulta o estabelecimento de métodos de controle sobre a fase de pupa.

O adulto da broca do fruto do cupuaçu é um inseto que pode permanecer no campo por mais de dois anos passando de uma safra a outra.

O número de furos nos frutos não tem relação direta com o número de larvas encontradas, pois o quantitativo de larvas é bem maior que o número de furos.

Para manutenção de colônias de laboratório a utilização de beterraba e cenoura são fontes alternativas à cana-de-açúcar como substrato de alimentação.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUILAR, J.A.D.A.; GASPAROTTO, L. Aspectos cronológicos e biológicos da broca-do-fruto (*Conotrachelus* sp. Fiedler, 1940 (Coleoptera: Curculionidae) do cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum* Schum.) e seu controle. Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus/AM. (Documentos, 3). 17p. 1999.
- BOLDRINI, J.L.; BASSANEZI, R.C.; MORETTI, A.C.; VON ZUBEN, C.J.; GODOY, W.A.C.; VON ZUBEN, F.J.; REIS, F.J. Non-local interactions and the dynamics of dispersal in immature insects. *Journal of Theoretical Biology* 185: 523-551. 1997.
- GOMES, L.; VON ZUBEN, C.J. Distribuição larval radial pós-alimentar em *Chrysomya albiceps* (Wied.) (Diptera: Calliphoridae): profundidade, distância e peso para enterramento para pupação. *Entomologia y Vectores* 10: 201-210. 2003.
- GOMES, L.; GOMES, G.; OLIVEIRA, H.G.; MARLIN Jr., J.J.; ZUBEN, C.J.V.; SANCHES, M.R. Análise do efeito do tipo de substrato para pupação na dispersão larval pós-alimentar em *Chrysomya albiceps* (Wiedmann) (Diptera: Calliphoridae). *Revista Brasileira de Zoociências* 9(1): 67-73. 2007.
- KOYAMA, J.; KAKINOHANA, H.; MIYATAKE, T. Eradication of themelon fly, *Bactrocera cucurbitae*, in Japan: Importance of behavior, ecology, genetics, and evolution. *Annual Review of Entomology, Stanford*, 49: 331-349, 2004.
- LOPES, C.M.D. Biologia, comportamento e flutuação populacional da broca-do-fruto do cupuaçuzeiro *Conotrachelus* sp. próximo *humeropictus* (Coleoptera: Curculionidae). Tese de Doutorado – Manaus: UA/INPA. 90p. 2000.
- MAIA, D.S.; COLEN, B.O.; PEREIRA, F.F. Aspectos biológicos da broca-do-cupuaçuzeiro (*Conotrachelus humeropictus* FIEDLER) (Coleoptera: Curculionidae). *Biológico, São Paulo*, 71(2): 83-202. 2009.
- MARTÍNEZ, N. B.; CÁSARES, R. Distribución en el tiempo de las fases del gorgojo de la guayaba *Conotrachelus psidii* Marshall (Coleoptera: Curculionidae) en el campo. *Agronomía Tropical, Venezuela*, v.31, n. 1-6, p. 123-130, 1981.
- MENDES, A.C.B.; MAGALHÃES, B.P.; OHASHI, O.S. Biologia de *Conotrachelus humeropictus*, Fiedler, 1940 (Coleoptera: Curculionidae) nova praga do cacauzeiro e do cupuaçuzeiro na Amazônia Brasileira. *Acta Amazonica*, 27(2): 135-144. 1997.
- NERY, D.M.S. Estratificação vertical da infestação da broca-do-fruto do cupuaçuzeiro *Conotrachelus* aff. *humeropictus* (Coleoptera: Curculionidae) em sistemas agroflorestais, em Nova Califórnia Rondônia. INPA-Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/UFAM Universidade Federal do Amazonas. 86p. (Dissertação de Mestrado). 2002.
- OLIVEIRA, S.P. Dispersão horizontal da broca-do-fruto do cupuaçuzeiro (*Conotrachelus humeropictus* FIEDLER, 1940) (Coleoptera: Curculionidae) em

sistemas agroflorestais de Nova Califórnia, Rondônia. Dissertação de Mestrado. UFAM/FCA, Manaus/AM. 79p. 2003.

PAMPLONA, A.M.S.R.; OLIVEIRA, E.S. Obtenção e Manutenção de adultos de *Conotrachelus* sp. (Broca do Fruto de Cupuaçu) em condições de Laboratório. Manaus, Embrapa Amazônia Ocidental. Documentos: 109. 2013.

PARRA, J.R.P.; HADDAD, M. L. Determinação do número de ínstares de insetos. Piracicaba, Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, 49 p. 1989.

PEREZ, D.; IANNACONE, J. Ciclo biológico, comportamiento y censo del picudo del camu camu, *Conotrachelus dubiae* O'Brien 1995 (Coleoptera: Curculionidae) en Pucallpa, Perú. Acta Amazonica, 38(1): 145 – 152. 2008.

SILVA, N.M.; ALFAIA, S.S. Manejo integrado da broca-do-fruto do cupuaçuzeiro (Coleoptera: Curculionidae) em sistemas agroflorestais. INPA, Manaus/AM. 16pp. (Coleção Cartilhas Técnicas). 2004.

SILVA, N.M.; LEMOS, W.P.; PAMPLONA, A.M.S.R.; LOURIDO, G.M.; TREVISAN, O. Cupuaçu. In: Pragas Agrícolas e Florestais na Amazônia. SILVA, N.M.; ADAIME, R.; ZUCCHI, R.A., editores técnicos – Brasília, DF: Embrapa. 608p. 2016.

THOMAZINI, M.J. A broca dos frutos do cupuaçuzeiro, *Conotrachelus humeropictus* FIEDLER. Comunicado Técnico N° 113. Rio Branco. EMBRAPA, 2000.

THOMAZINI, M.J. Infestação da broca-dos-frutos do cupuaçu. *Scientia Agrícola*, 59(3): 463-468. 2002.

TREVISAN, O. O comportamento da broca dos frutos de cacau, *Conotrachelus humeropictus*, Fiedler 1940 (Coleoptera: Curculionidae), em Rondônia. 1989. 57f. Dissertação Mestrado. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo. ESALQ/USP. Piracicaba. 1989.

TREVISAN, O. et al. Manejo integrado das pragas do cacauzeiro do estado de Rondônia. CEPLAC. 2011. 38p.

TREVISAN, O.; PEREIRA, F.F.; OLIVEIRA, L.E. Longevidade e Comportamento de *Conotrachelus humeropictus* (Col.: Curculionidae) broca dos frutos do cacau e cupuaçu. 13° SICONBIOL. Mato Grosso do Sul. 2013.

VALENTE, F.I.; BENASSI, V.L.R.M.; Aspectos biológicos e técnicas de criação do Gorgulho-da-Goiaba, *Conotrachelus psidii* MARSHALL (Coleoptera: Curculionidae). Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal - SP, 36 (2): 339-345. 2014.

## **CAPÍTULO 2**

**ASPECTOS COMPORTAMENTAIS DE *Conotrachelus humeropictus* FIEDLER,  
1940 (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE) NA REGIÃO DE MANAUS**

## **RESUMO**

Estudos sobre o comportamento de *Conotrachelus humeropictus*, a broca do fruto de cupuaçu, foram desenvolvidos em laboratório com o objetivo de determinar o ritmo de atividade, acasalamento, oviposição, tempo de tanatose e preferência alimentar do inseto. Os espécimes adultos foram observados por meio de filmagens e as imagens foram analisadas para a descrição dos aspectos comportamentais. Foi montado um etograma com os principais atos comportamentais. O período de maior atividade de *C. humeropictus* foi durante a noite, a partir de 18:00, principalmente para exploração e caminhamento. A atividade de alimentação aconteceu preferencialmente à noite, entretanto ocorreu durante todo o dia. O ato de repouso foi o mais frequente durante a fotofase. O acasalamento ocorreu sem seguir uma sequência criteriosa, como acontece com a maioria dos curculionídeos. Não foi observada atividade de oviposição em nenhum dos substratos testados e em nenhum horário. Fêmeas de *C. humeropictus* permaneceram mais tempo em tanatose quando comparadas com machos. Para a preferência alimentar com diferentes substratos houve predileção pela cana-de-açúcar, para os demais substratos, beterraba, cenoura e banana, não houve diferença significativa. Essas informações podem subsidiar estudos mais aprimorados para o controle deste inseto.

**PALAVRAS-CHAVE:** Tanatose; preferência alimentar; acasalamento.

## **ABSTRACT**

Studies on the behavior of *Conotrachelus humeropictus*, the fruit borer of cupuaçu, were developed in the laboratory to determine the rhythm of activity, mating, oviposition, tannin time and insect feeding preference. The adult specimens were observed by means of filming and the images were analyzed for the description of the behavioral aspects. An etogram was set up with the main behavioral acts. The period of highest activity of *C. humeropictus* was during the night, from 18:00, mainly for exploration and hiking. The feeding activity happened preferably at night, however it occurred throughout the day. The resting act was the most frequent during the photophase. Mating occurred without following a careful sequence, as with most curculionids. No oviposition activity was observed on any of the tested substrates at any time. Females of *C. humeropictus* remained longer in thanatos when compared to males. For the preference of food with different substrates there was predilection for sugarcane, for the other substrates, beet, carrot and banana, there was no significant difference. This information can support better studies to control this insect.

**KEY-WORDS:** Thanatos; food preference; mating.

## 1. INTRODUÇÃO

Atualmente o mercado consumidor de frutas e vegetais tem exigido cada vez mais produtos livres de pesticidas. Este fato obriga a ciência a procurar formas alternativas para o controle de pragas. Entretanto, para se estabelecer métodos de controle de insetos é necessário conhecer suas características como biologia, ecologia e comportamento.

Os estudos de comportamento de insetos tem resultado no desenvolvimento de novos métodos que estão sendo usados em programas de manejo integrado de insetos-praga (MOREIRA; ZARBIN; CORACINI, 2005; HARARI et al., 2016).

Em comparação com vertebrados, os insetos apresentam padrões de comportamento simples e limitados, por terem um sistema nervoso mais simples. Entretanto, não são limitados a movimentos rígidos e pré-programados (TRIPLEHONI; JONNISON, 2011).

Nas análises de comportamento de insetos, os parâmetros mais essenciais nos estudos são padrões de deslocamento, migrações, orientação, comunicação, defesa, reprodução, seleção de hospedeiro e alimentação (ATKINS, 1980). Esses parâmetros podem ser agrupados em etogramas ou repertórios comportamentais que permitem de maneira clara por meio de tabulação compor uma lista de atos comportamentais seguida da descrição desses atos. Essas descrições são muito interessantes para conhecermos todas as possibilidades de um determinado animal, quais suas principais atividades, horário de pico, interações e como divide seu tempo ao longo do dia (DEL-CLARO, 2010).

Em *Conotrachelus*, *Conotrachelus nenuphar* e *Conotrachelus psidii*, que são consideradas pragas de culturas de importância econômica, alguns estudos sobre

comportamento de adultos e larvas foram conduzidos (MCGIFFEN *et al.*, 1987; CHOUINARD *et al.* 1992; HOFFMANN *et al.*, 2004; SILVA FILHO 2005).

Para várias espécies de curculionídeos, inclusive para *Conotrachelus humeropictus*, a insuficiência de estudos sobre características comportamentais, são as principais causas da dificuldade de seu controle. O fato das fases de ovo e larva ficarem protegidas dentro do fruto e a fase de pupa no solo, além dos adultos não serem observados facilmente no pomar durante o dia, e apresentarem intensa atividade noturna, faz com que a adoção de métodos tradicionais de controle, à exemplo do químico, sejam ineficientes. Sendo mais comum para este inseto praga, o uso de táticas de manejo e práticas culturais que diminuem sua ocorrência (SILVA; ALFAIA, 2004).

O conhecimento do comportamento de *C. humeropictus* pode subsidiar os estudos com semioquímicos ou outras técnicas para o controle do inseto. Assim, objetivou-se descrever aspectos do comportamento de adultos de *C. humeropictus* em condições de laboratório.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

Os estudos comportamentais foram realizados no Laboratório de Entomologia e Acarologia Agrícola da FCA/UFAM, pois *C. humeropictus* é um coleóptero de atividade noturna, o que torna difícil sua visualização no campo.

Os insetos foram obtidos a partir de coletas de frutos de cupuaçu no município de Autazes (Km32, Estrada Manaus-Autazes, AM).

Os frutos foram quebrados na própria área de plantio e as larvas de quarto instar foram acondicionadas em placas de Petri forradas com papel filtro umedecido, acondicionadas em caixa de isopor e conduzidas ao Laboratório de Entomologia e Acarologia Agrícola da UFAM.

No laboratório as larvas foram transferidas para recipientes de plástico de 500 mL contendo uma camada de 10 cm de solo esterilizado e foram monitoradas diariamente, para hidratação do solo por pulverização manual e foram acompanhadas até a eclosão dos adultos. A sala de testes foi mantida à temperatura e umidade controladas,  $27^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , UR  $70\% \pm 5\%$ .

Os adultos recém-emergidos foram sexados, individualizados em placas de Petri e alimentados com discos de cana-de-açúcar, que foram trocados a cada três dias, até o momento das observações, que ocorreram no máximo até três dias após a emergência dos adultos.

As observações foram realizadas com os insetos, machos e fêmeas recém emergidos, agrupados e/ou individualizados dependendo do parâmetro a ser observado, confinados em uma arena que consistia de uma placa de Petri de 15 cm de diâmetro.

Para as filmagens foi utilizada microcâmera de filmagem IP Camera, modelo IP02N da marca P2P Services com luz infra-vermelha. As imagens foram capturadas pelo programa SYSM monitor V8.E.3A.12 e armazenadas em computador processador AMD 4-4000, APUWITH RADEON (tm) HD Graphics 3,00 Ghz, memória RAM 4GB, sistema operacional de 64 Bits, para posterior análise de observação direta e pelo programa SACAM (Sistema de Análise Comportamental de Animais em Movimento) (Figura 2.1).

Os principais métodos de amostragem utilizados foram o de todas as ocorrências e a amostragem de sequências (DEL-CLARO, 2010).



**Figura 2.1.** Imagem da tela principal de filmagem do programa SYSM monitor.

### **2.1. Ritmo de atividade**

O ritmo atividade foi acompanhado em laboratório, sob condições controladas. A amostragem foi realizada *ad libitum*, registrando-se tudo o que acontece seguindo a metodologia proposta por Silva-Filho (2005).

Nos ensaios foram utilizados três grupos de seis insetos, machos e fêmeas, que foram mantidos na arena de observação. Os insetos foram acompanhados com filmagens por um período de 96 horas, quatro dias, para determinação do padrão de

comportamento e atividades no decorrer do dia (24 horas). Além dos insetos, as placas continham discos de cana-de-açúcar para alimentação.

## **2.2. Comportamento de acasalamento**

O comportamento de acasalamento foi observado nas mesmas condições controladas que as avaliações de ritmo de atividade.

Foram realizados dois tipos de observações: a primeira consistiu na avaliação de 10 casais virgens, com três dias de vida. Cada casal foi mantido em uma arena de observação e as filmagens aconteceram por 60 horas ininterruptas. O segundo tipo de observação foi realizada com seis grupos de três insetos, constituído de dois machos e uma fêmea, com três dia de vida.

A descrição do comportamento de chamamento, coorte e cópula foi realizada e nas observações com dois machos e uma fêmea foi observado se houve disputa entre os machos pela fêmea. Caso não fosse observado cópula por um período mínimo de duas horas após o início das observações, os casais eram substituídos. Em caso positivo de atividade de acasalamento, as observações foram dadas como encerradas no momento em que o macho liberava a fêmea.

## **2.3. Comportamento de oviposição**

O comportamento de oviposição foi descrito utilizando-se as fêmeas dos casais citados no item 2.1 imediatamente após a cópula. Nos casos positivos de postura foi descrita toda a sequência comportamental ligada à oviposição.

Na ausência de estudos sobre criação da broca do cupuaçu, foram testados diferentes substratos de oviposição, de modo a gerar informações que auxiliem na criação desse inseto em laboratório para estudos posteriores. Os substratos testados

foram: frutos jovens (bilro), polpa e folhas de cupuaçu. Cada tratamento teve cinco repetições.

#### **2.4. Tempo de tanatose**

Em razão da ocorrência de tanatose nos adultos realizou-se o experimento para determinação dos tempos mínimo e máximo em que o inseto permaneceria imóvel. Assim, foram montadas placas de petri de 9 cm de diâmetro com 10 repetições com 5 adultos cada. Os insetos foram forçados ao estado de tanatose por meio de agitações. Foi considerado como período de permanência em tanatose aquele compreendido entre o término das agitações e os primeiros movimentos dos insetos.

#### **2.5. Preferência alimentar**

A preferência alimentar em *C. humeropictus* foi avaliada em teste de chance de escolha, onde cinco insetos adultos, em jejum de 24 horas, foram liberados no centro de placas de Petri de 15cm de diâmetro contendo pedaços de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*), banana (*Musa paradisiaca*), cenoura (*Daucus carota*) e beterraba (*Beta vulgaris*) posicionados em quadrantes. Foram empregadas cinco repetições em delineamento de blocos casualizados.

Foi avaliado o número de adultos atraídos pelos diferentes substratos após 8 horas e 24 horas da liberação.

#### **2.6. Análise dos dados**

A média dos dados de cada atividade registrada foi avaliada por estatística descritiva ou foram submetidos a análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a sequência de observações foi montado um etograma (Quadro 2.1) descrevendo onze eventos comportamentais obtidos nas filmagens. A medida utilizada foi a frequência para avaliar o número de eventos na unidade de tempo.

**Quadro 2.1.** Descrição dos atos comportamentais de *C. humeropictus* obtidos em 96 horas de filmagens.

Atos Comportamentais	Descrição do Comportamento
Exploração	Os insetos (♀ e ♂) se locomovem sem orientação.
Repouso	Inseto estático, sem movimento.
Alimentação	Introdução do rostro no alimento.
Defecação	Momento de liberação das fezes.
Tentativa de vôo	Movimento de abertura dos élitros.
Agressão	Ato de um inseto empurrar outro inseto
Fuga	Distanciamento de um inseto na presença de outro
Defesa	Ato de não permitir a aproximação de outro inseto (acontece na fase de cópula).
Monta	Posicionamento de um inseto sobre outro.
Cópula	Macho introduz o edeago na genitália da fêmea.
Tanatose	Inseto finge-se de morto.

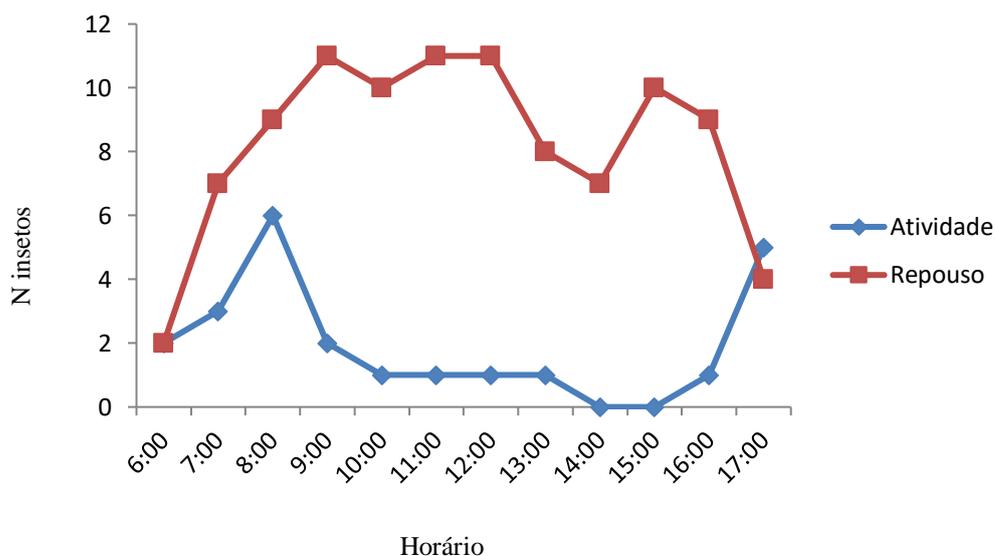
A principal atividade desenvolvida pelos insetos ao longo do dia foi de exploração, onde tanto machos quanto fêmeas se locomovem sem orientação. Entretanto, esta atividade foi muito mais intensa no período noturno. Chouinard et al. (1993) ressaltaram que o comportamento exploratório é o primeiro caminho para o

inseto localizar seu hospedeiro onde a curta distância o estímulo visual e tátil são utilizados para encontrar o local de alimentação e oviposição. Em *C. humeropictus* o caráter de exploração foi observado com o caminhar, embora algumas tentativas de voo tenham sido observadas.

O repouso foi o comportamento mais evidenciado durante o período diurno, entre 7:00 e 16:00. Alguns insetos demonstraram o comportamento de se alocar por baixo do papel filtro utilizando-o como abrigo, além de se manterem em repouso e agregados. Essa pode ser considerada uma característica da espécie uma vez que durante a fotofase, as temperaturas são mais elevadas e se manter em agregação ou sob o abrigo pode favorecer a manutenção da umidade no ambiente (Figura 2.2). Esses resultados corroboram com os encontrados por Chouinard (1993) e Lopes (2000) para *C. nenuphar* e *Conotrachelus* sp. próxima *humeropictus*, respectivamente.

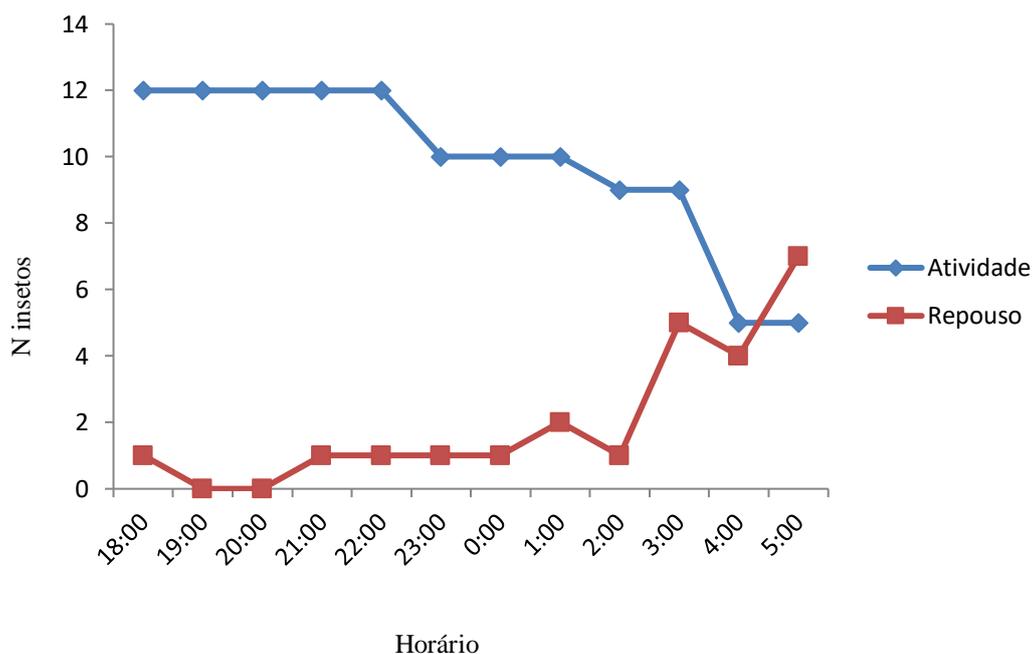
O comportamento de agregação é uma característica da família Curculionidae, vários autores relatam a presença de feromônio de agregação liberado, principalmente por machos, logo após encontrar a planta hospedeira para atrair as fêmeas para acasalamento (CROSS; MITCHEL, 1966; PHILIPS et al., 1984; SCHMUFF et al., 1984; ELLER et al., 1994). Já Eller; Bartlet (1996) isolaram feromônios de agregação em *C. nenuphar*, gorgulho da ameixa, que atrai ambos os sexos.

Em condições de campo, Oliveira (1998) observou que o comportamento de agregação em *C. humeropictus* ocorreu principalmente nas axilas dos ramos e nas folhas.



**Figura 2.2.** Relação entre atividade e repouso na fotofase para *C. humeropictus* em condições controladas de temperatura e umidade ( $27^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , UR  $70\% \pm 5\%$ ).

No período da noite a atividade foi maior entre 18:00 e 22:00, onde houve maior locomoção pelo comportamento de exploração (Figura 2.3). A alternância entre o dia e a noite atua sobre o ritmo dos animais ao período de 24h e em insetos é influenciado por vários fatores ecológicos, entre eles o fotoperíodo, levando-os a mudanças comportamentais e caracterizando os diferentes padrões relativos às suas atividades. (ARGOLO et al., 2002; ARRUDA, 2013). Em *C. humeropictus* a atividade noturna foi relatada por Lopes (2000) em estudos comportamentais e o comportamento exploratório foi considerado o mais frequente.



**Figura 2.3.** Relação entre atividade e repouso na escotofase para *C. humeropictus* em condições controladas de temperatura e umidade ( $27^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , UR  $70\% \pm 5\%$ ).

Vários estudos de comportamento animal, entre eles mamíferos, peixes e artrópodes, relatam que entre os principais atos comportamentais estão às atividades diárias particulares de locomoção, alimentação, cópula, oviposição, eclosão, entre outras, e têm importância fundamental na caracterização da biologia das espécies de inseto e, os métodos de amostragem de comportamento utilizados permitem a qualificação do comportamento e eventualmente buscar comportamentos raros ou dividido em fases ou etapas, como os observados nos etogramas (DEL-CLARO et al., 2002; DEL-CLARO, 2010; SOUZA, 2012; COLOMBO; ALENCAR, 2014).

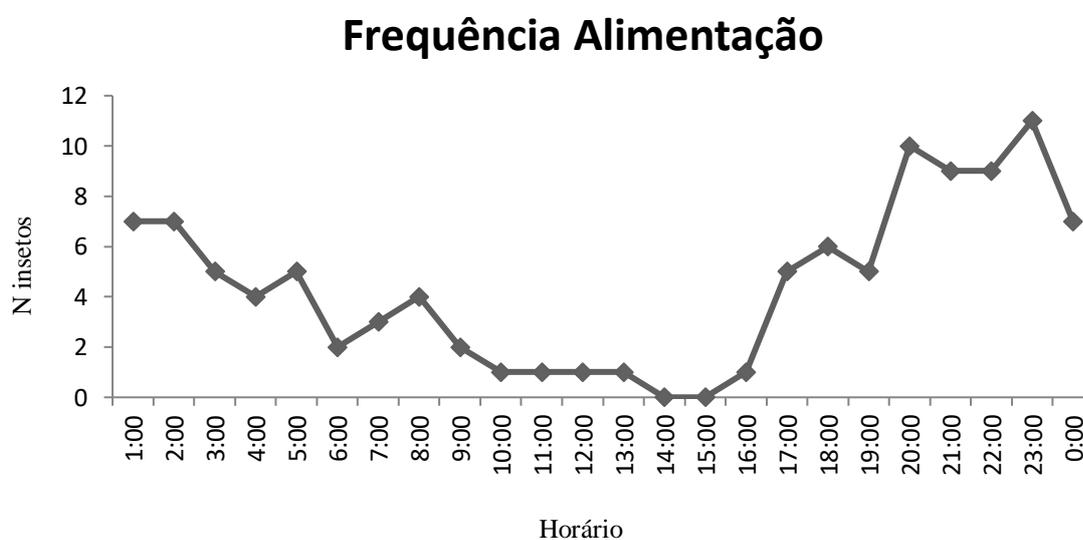
Em relação à alimentação os insetos se alimentaram em diferentes horários ao longo do dia com maior atividade no período da noite (Figura 2.4). É comum visualizar o inseto forragear o alimento de modo exploratório e buscar o melhor ponto para iniciar a sucção, para os discos de cana-de-açúcar que foi oferecido como substrato para alimentação isso aconteceu tanto na parte superior do alimento como nas laterais

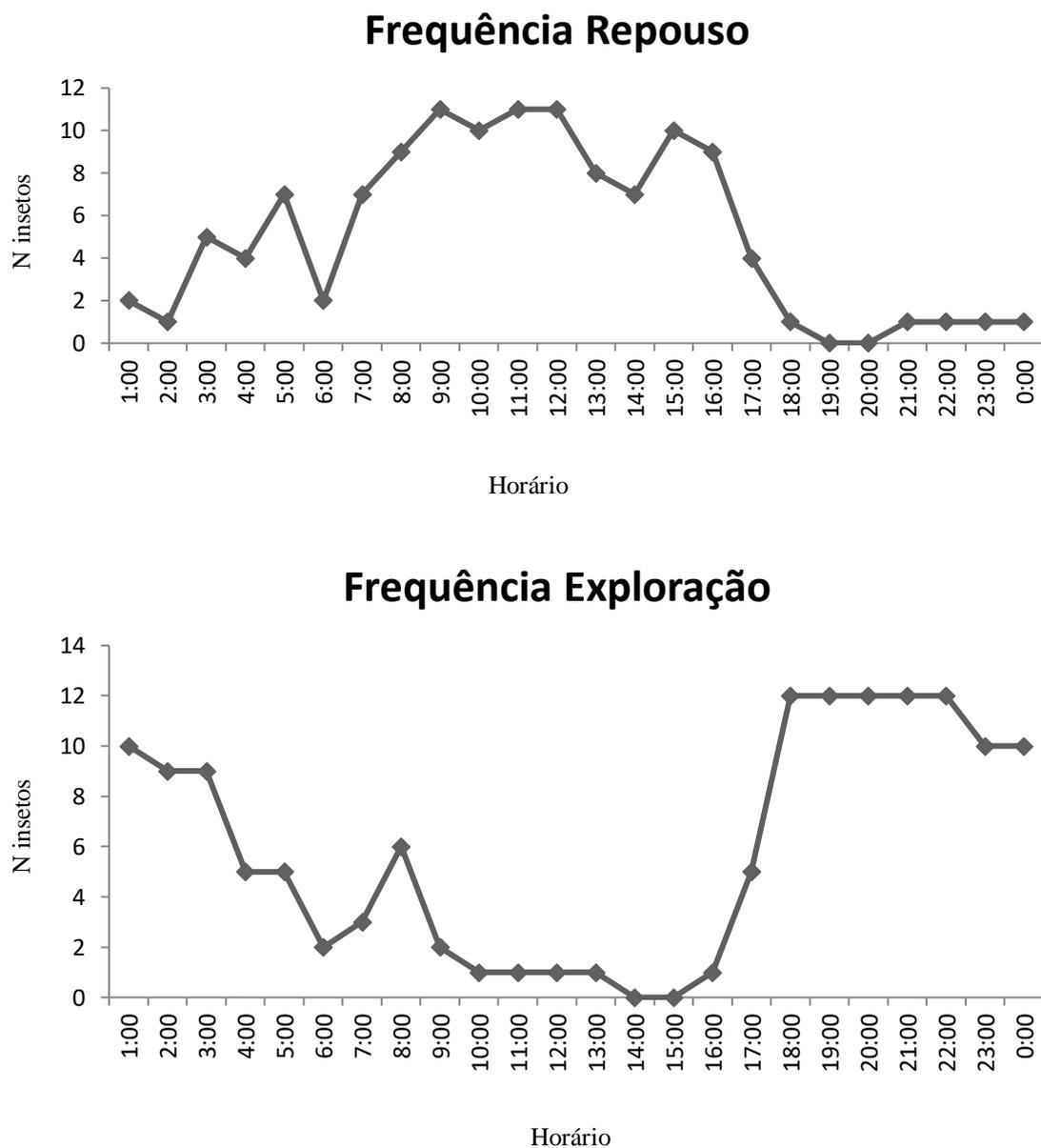
(Figura 2.5). Embora o espaço tenha sido limitado, comparado às condições naturais, não foi observada disputa pela área de alimentação. Após se alimentar foi observado que o inseto usa as pernas anteriores para limpeza do aparelho bucal em um movimento alternado entre as pernas no sentido frontal.

O forrageamento em insetos é um ato metódico para muitos grupos, e é considerado uma boa estratégia quando a energia e os nutrientes obtidos no alimento superam a energia despendida na sua busca. E para tal é importante possuir habilidade sensorial e comportamental para detectar as possíveis fontes alimentares (ZIMMERMAN, 1988; KEARNS et al., 1998; TRIPLEHORN; JONNISON, 2011).

O comportamento de alimentação da broca-do-cupuaçu é pouco conhecido, alguns autores relatam que a espécie pode se alimentar de botões florais do próprio fruto ou por espécies botânicas próximas que podem estar presentes na área de entorno do plantio (LOPES, 2000; SILVA; ALFAIA, 2002).

O ato de liberar as fezes foi quase que imediato ao término do ato de alimentar. Inclusive para insetos alimentados com beterraba e cenoura foram observadas fezes na coloração do alimento.





**Figura 2.4.** Frequência de observação de comportamentos de alimentação, repouso e exploração para *C. humeropictus* em condições controladas de temperatura e umidade ( $27^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , UR  $70\% \pm 5\%$ ).

O repertório comportamental executado está ligado às pressões seletivas impostas pelas características do ambiente ocupado. A arena de observação possui espaço limitado e este fator pode interferir em um possível padrão, como as limitações para tentativa de vôo, já que neste estudo a placa tem altura de 2,0 cm. Entretanto, no

momento de troca de alimento e limpeza das placas foi observado vôo, o inseto circundava a borda da placa, que por sua vez estava sem a parte superior, e alçava vôo abrindo o élitro e expondo as asas membranosas. Os vôos observados foram rápidos e de curta distância, fato que corrobora com os trabalhos que ressaltam que a broca-do-cupuaçu é um inseto caminhador. Ao término do vôo, os insetos recolhem rapidamente o segundo par de asas (LOPES, 2000; OLIVEIRA, 2003).



**Figura 2.5.** Atividade de alimentação e repouso em *C. humeropictus* em condições controladas de temperatura e umidade ( $27^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , UR  $70\% \pm 5\%$ ).

Segundo Saunders (2002) ritmos diários podem ser observados em uma ampla variedade de insetos que, geralmente, restringem suas atividades a determinados momentos do dia. Assim, sob condições naturais ou artificiais de luz e temperatura, os insetos podem apresentar atividades diurnas, noturnas ou crepusculares.

O hábito noturno observado nos adultos de *C. humeropictus* corrobora com os observados por Lopes (2000). Silva-Filho (2005) observa que a maior atividade noturna destes insetos pode ser uma estratégia para diminuir o risco de predação durante a exploração de um novo hospedeiro ou durante a procura de parceiro sexual.

No gênero *Conotrachelus* foi observado o comportamento sexual de *C. nenuphar*, por Johnson; Hays (1969) e em *C. psidii* por Silva-Filho (2005). Entretanto, para *C. humeropictus* houve uma breve descrição realizada por Lopes (2000).

O comportamento de acasalamento foi avaliado de duas maneiras com e sem competição pelas fêmeas e em ambos os casos seguiu três fases distintas, como na maioria dos curculionídeos, fase pré-copulatória, fase copulatória e fase pós-copulatória.

Em um teste piloto foi observado que casais recém-emergidos não realizam cópula nos dois primeiros dias. Portanto, os insetos foram agrupados após esse período. Essa resposta foi diferente da encontrada por Mendes et al. (1997) que observou *C. humeropictus* acasalando no primeiro dia após a emergência.

Nas observações, três casais tiveram que ser substituídos, pois nas duas primeiras horas não houve interação entre macho e fêmea.

Os casais ao serem colocados juntos na placa de petri para observação do ato de cópula apresentaram uma sequencia comportamental que iniciou, na primeira hora, para 40%, com o primeiro contato do macho se locomovendo e a fêmea em tanatose. Após uma hora de observação, em 80% dos casais houve procura do macho pela fêmea. Ao se aproximarem os machos encostavam as antenas nas laterais do corpo da fêmea e posteriormente houve a tentativa de monta que ocorreu pela lateral de trás (Figura 2.6). Na maioria a copula foi imediata à monta, ocorrendo o desequilíbrio de 20% dos machos. Das 60 horas de filmagem dos 10 casais virgens foi observada uma média de 1,1 vezes para cópula durante os três dias. Fatores como temperatura e umidade podem ter interferido na atividade de cópula, Lopes (2000) destacou uma correlação positiva desses fatores com o comportamento de acasalamento.

A movimentação de diferentes partes do corpo não teve frequência, pois variou entre os casais, com alguns espécimes movimentando a asa, perna, garras ou

rotacionando o corpo. A duração da cópula variou de 2 a 60 segundos com média de 25 segundos.

Para os seis grupos formados por dois machos e uma fêmea virgens de três dias, a sequencia de acasalamento aconteceu semelhante a que ocorreu com os casais. Não foi observado disputa entre os machos.



**Figura 2.6.** Atividade de monta de *C. humeropitus* em condições controladas de temperatura e umidade ( $27^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , UR  $70\% \pm 5\%$ ).

Nas observações sobre o tempo de tanatose foi observada diferença entre machos e fêmeas (Figura 2.7). Na Tabela 2.1 verifica-se que as fêmeas permanecem mais tempo em tanatose, média máxima de 7 min e 59 s enquanto machos possuem média máxima de 2 min e 40 s. Barreto e Dos Anjos (2002) ao estudar a biologia da fase adulta de *Spermologus rufus*, um curculionídeo que ataca sementes de araucária, observaram que as fêmeas permaneceram estáticas por mais tempo que os machos e justificam que este comportamento se deve a manutenção da sobrevivência da espécie, visto que as mesmas ficariam menos expostas ao ataque de inimigos.

**Tabela 2.1.** Tempo em minutos de permanência em tanatose de adultos de *C. humeropictus* Fiedler, Manaus, Amazonas.

Repetição	Fêmeas		Machos	
	Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo
1	37''	5'50''	15''	34''
2	15''	28'37''	1'02''	3'17''
3	2'41''	7'12''	22''	8'29''
4	09''	9'31''	14''	1'07''
5	56''	2'06''	06''	1'15''
6	28''	12'52''	31''	49''
7	55''	3'08''	17''	2'55''
8	34''	2'45''	56''	1'38''
9	25''	1'34''	44''	6'10''
10	18''	2'19''	20''	26''
Média	43,8''	7'59''	28,7''	2'40''

A tanatose é considerada um mecanismo de defesa secundária que aumenta as chances de sobrevivência após o encontro com predadores (SANTOS *et al.*, 2010).

Silva e Alfaia (2004) relataram que *C. humeropictus* é muito sensível a qualquer tipo de movimentação na proximidade das plantas de cupuaçu, deixando-se cair facilmente e mantendo-se no estado de tanatose, fato que dificulta sua localização na área de plantio.



**Figura 2.7.** Adultos (macho e fêmea) de *C. humeropictus* em estado de tanatose.

A preferência alimentar da broca do cupuaçu, em condições de laboratório quando exposto a quatro substratos, foi pela cana-de-açúcar (Figura 2.8). Em observações realizadas após 8 horas e 24 horas de exposição a diferentes alimentos foi verificado que a maioria dos insetos teve esta preferência. Isso mostra que, sob condições controladas, em laboratório, essa tem se mostrado a melhor opção para manutenção da colônia, tanto por questões nutricionais, como pela preferência do inseto.

Alguns estudos sobre *C. humeropictus* em laboratório são relatados com o uso de cana-de-açúcar para alimentação e tem gerado resultados positivos na manutenção das colônias.



**Figura 2.8.** Adultos de *C. humeropictus* liberados em arenas para teste de preferência alimentar com diferentes substratos: cana-de-açúcar (*S. officinarum*), banana (*M. paradisiaca*), cenoura (*D. carota*) e beterraba (*B. vulgaris*), em condições controladas de temperatura e umidade ( $27^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , UR  $70\% \pm 5\%$ ).

**Tabela 2.2** ANOVA dos dados de preferência alimentar para *C. humeropictus*.

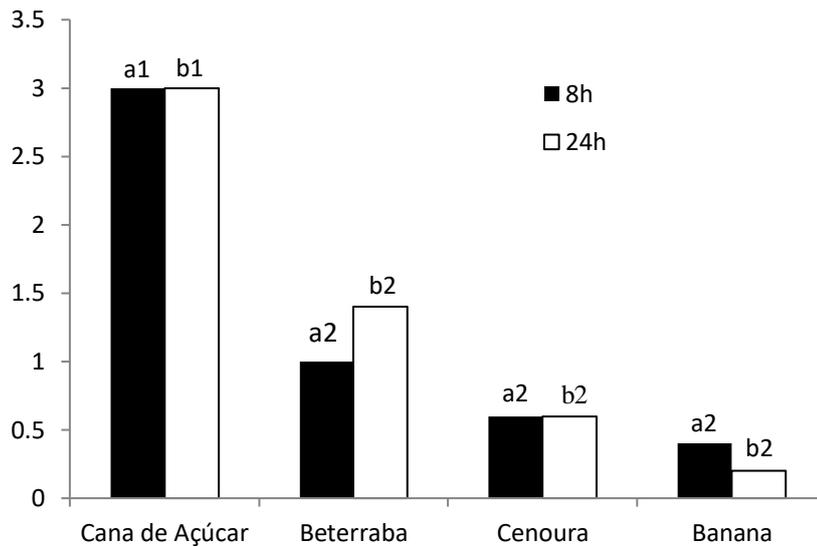
FV	GL	SQ	QM	F
Blocos	4	0.00000	0.00000	0.0000 **
Tratamentos	3	21.35000	7.11667	13.3438 **
Resíduo	12	6.40000	0.53333	
Total	19	27.75000		

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < .01$ )

\* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $.01 \leq p < .05$ )

ns não significativo ( $p \geq .05$ )

Pelo teste de Tukey (Tabela 2.2) para comparação de médias não houve diferença significativa entre tratamentos, que indicasse preferência por banana, cenoura ou beterraba, entretanto, essas médias diferiram estatisticamente para cana-de-açúcar (Figura 2.9).



**Figura 2.9.** Preferência alimentar de adultos de *C. humeropictus* de acordo com o tempo de oferta (8 horas e 24 horas), utilizando quatro substratos de alimentação. Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente (Tukey;  $p \leq 0,05$ ).

De acordo com Nunes e Rizental (2015) a preferência por determinado alimento pode estar associada a vários fatores, por exemplo, resistência física, natureza química, presença de substâncias atrativas, substâncias fenólicas, entre outras. Além da cana-de-açúcar ter um teor de água tão elevado quanto os demais substratos ofertados, esta possui a sacarose que funciona como fonte de carboidrato dando suporte energético aos insetos e a textura fibrosa facilita a inserção do aparelho bucal para alimentação. Aliado a isso, possui um tempo maior de resistência ao ressecamento e proliferação de fungos e bactérias.

#### 4. CONCLUSÃO

A broca-do-fruto do cupuaçu é mais ativa no período noturno passando a maior parte do dia em estado de repouso.

A atividade de alimentação acontece ao longo do dia com preferência para o período noturno.

*C. humeropictus*, como a maioria dos curculionídeos apresenta comportamento de agregação e as etapas de pré-acasalamento, acasalamento e pós-acasalamento, entretanto os atos tanto em casais ou com competição de machos pela fêmea não apresentou uma sequencia que pudesse ser padronizada.

A espécie *C. humeropictus* pode passar muitos minutos em estado de tanatose fato que auxilia na defesa contra inimigos naturais e que dificulta encontrar este inseto em campo.

A cana-de-açúcar é considerada um substrato adequado para manutenção das colônias de laboratório. E que pode ser recomendado como substrato para trabalhos de Manejo Integrado com uso de isca atrativa.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARGOLO, V.M.; BUENO, V.H.P.; SILVEIRA, L.C.P. Influência do Fotoperíodo na Reprodução e Longevidade de *Orius insidiosus* (Say) (Heteroptera: Anthocoridae). *Neotropical Entomology* 31(2): 257-261. 2002.

ARRUDA, C. C. Influência do fotoperíodo artificial no comportamento de um primata neotropical diurno (*Callithrix jacchus*). Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN). 99p. 2013.

ATKINS, M.D. Introduction to insect behavior. New York, Macmillian. 237p. 1980.

BARRETO, M.R.; DOS ANJOS, N. Mecanismos de defesa e comportamentos alimentar e de dispersão de *Spermologus rufus*, Boheman 1843 (Coleoptera: Curculionidae). *Ciênc. agrotec.*, Lavras, 26 (4): 804-809. 2002.

CHOUINARD, G.; VINCENT, C.; HILL, S.B.; PANNETON, B. Cyclic behavior of plum curculio, *Conotrachelus nenuphar* (Herbst) (Coleoptera: Curculionidae), within caged dwarf apple trees in spring. *Journal of Insect Behavior*. May 1992, Volume 5, Issue 3, pp: 385-394. 1992.

CHOUINARD, G.; HILL, S.B.; VINCENT, C. Spring behavior of the plum curculio (Coleoptera: Curculionidae) within caged dwarf trees. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 86: 333-340. 1993.

COLOMBO, W.D.; ALENCAR, I.C.C. Etograma do escorpião amarelo *Tityus serrulatus* Lutz & Mello 1922 (Scorpiones: Buthidae), em cativeiro. *Biosci. J.*, Uberlândia, 30(2): 576-581. 2014.

CROSS, W. H.; MITCHELL, H. C. Mating behavior of the boll weevil. *Journal of Economic Entomology*, 59:1503 – 1057. 1966.

DEL-CLARO, K.; SANTOS, J.C.; JUNIOR, A.D. de S. Etograma da formiga arborícola *Cephalotes pusillus* (Klug, 1824) (Formicidae: Myrmicinae). *Revista de Etologia*. 4(1): 31-40. 2002.

DEL-CLARO, K. Introdução à Ecologia Comportamental: Um manual para o estudo do comportamento animal. 1ª ed. Rio de Janeiro: Technical Books. 128p. 2010.

ELLER, F. J.; BARTELT, R. J.; SHASHA, B. S.; SCHUSTER, D. J.; RILEY, D. G.; STANSLY, P.A.; MUELLER, T. F.; SHULER, K. D.; JOHNSON, B.; DAVIS, J. H.; SUTHERLAND, C. A. Aggregation pheromone for the pepper weevil, *Anthonomus eugenii* Cano (Coleoptera: Curculionidae): identification and field activity. *Journal of Chemical Ecology*, 20:1537 – 1555. 1994.

ELLER, F. J.; BARTELT, R. J. Grandisoic acid, a male-produced aggregation pheromone from the plum curculio, *Conotrachelus nenuphar*. *Journal of Natural Products*, 59: 451 –453. 1996.

- HARARI, A.R.; SHARON, R.; WEINTRAUB, P.G. Manipulation of insect reproductive systems as a tool in pest control. In: HOROWITZ, A.; ISAAYA, I. (eds). Advances in insect control and resistance management. Springer, Cham. p: 93-119. 2016.
- HOFFMANN, E.J.; COOMBS, A.B.; WHALON, M.E. Reproductive development of northern and southern strains of plum curculio (Coleoptera: Curculionidae). J. Econ. Entomol. 97(1):27-32. 2004.
- KEARNS, C.A.; INOUE, D.W.; WASER, N.M. Endangered mutualisms: the conservation of plant-pollinator interactions. Ann Rev Ecol Syst 29: 83-112. 1998.
- MCGIFFEN, M.E. Jr.; MEYER, J.R.; BOYNE, J.V. Physiological parameters of diapause and reproduction in the plum curculio, *Conotrachelus nenuphar* (Herbst) (Coleoptera: Curculionidae). Ann. Soc. Entomol. Am. 80:284-287. 1987.
- MENDES, A.C. de B.; MAGALHÃES, B.P.; OHASHI, O.S. 1997. Biologia de *Conotrachelus humeropictus* Fiedler, 1940 (Coleoptera: Curculionidae), praga do cacauzeiro e do cupuaçuzeiro na Amazônia Brasileira. *Acta Amazônica*, 27(2):135-144. 1997.
- MOREIRA, M.A.B.; ZARBIN, P.H.G; CORACINI, M.D. Feromônios associados a coleópteros-praga em produtos armazenados. Química Nova 28. N. 03. 472-475. 2005.
- NUNES, M.P.; RIZENTAL, M. Preferência alimentar de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) em variedades de milho transgênico. Revista Eletrônica Connection Line 12. 2015.
- OLIVEIRA, S.P. de. Biologia reprodutiva de *Conotrachelus humeropictus* (Coleoptera: Curculionidae) broca do cupuaçuzeiro em diferentes substratos. UFAM. 31p. il. (Monografia). 1998.
- OLIVEIRA, S.P. de. Dispersão horizontal da broca-do-fruto do cupuaçuzeiro *Conotrachelus humeropictus* Fiedler, 1940 (Coleoptera: Curculionidae) em sistemas agrofloretais de Nova Califórnia, Rondônia. 2003. 79f. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Amazonas (UFAM). Manaus/AM. 2003.
- PHILLIPS, T.W.; WEST, J.R.; FOLTZ, J.L.; SILVERSTEIN, R.M; LANIER, G.N. Aggregation pheromone of the deodar weevil, *Pissodes nemeorensis* (Coleoptera: Curculionidae): isolation and activity of grandisol and grandisal. Journal of Chemical Ecology, 10:1417 – 1423. 1984.
- SANTOS, M.B.; M.C.L.M. OLIVEIRA; L. VERRASTRO; A.M. TOZETTI. Playing dead to stay alive: death-feigning in *Liolaemus occipitalis* (Squamata: Liolaemidae). Biota Neotropica, 10:361-364. 2010.
- SAUNDERS D.S. Insect Clocks. 3rd edition. Elsevier Science. Amsterdam. 2002.

SCHMUFF, N.R.; PHILLIPS, J.K.; BURKHOLDER, W.E.; FALES, H.M.; CHEN, C.W.; ROLLER, P.P.; MA, M. The chemical identification of the rice weevil and maize weevil aggregation pheromone. *Tetrahedron Letter*, 25: 1533 – 1534.1984.

SILVA FILHO, G. Semioquímicos envolvidos na interação gorgulho-da-goiaba (*Conotrachelus psidii* MARSHALL) da goiabeira (*Psidium guajava* L.). Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF), 96p. 2005.

SILVA, N.M.; ALFAIA, S.S. Manejo integrado da broca-do-fruto do cupuaçuzeiro (Coleoptera: Curculionidae) em sistemas agroflorestais. INPA, Manaus/AM. 16pp. (Coleção Cartilhas Técnicas). 2004.

SOUZA, C.A.S. Comportamento sexual da vespa escavadora *Sphex ingens* Smith 1856 (Hymenoptera, Sphecidae). Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Juiz de Fora. 68p. 2012.

TRIPLEHORN, C.A.; JONNISON, N.F. Estudo dos insetos. São Paulo: Cengage Learning, 2011.

### CAPÍTULO 3

BIOATIVIDADE DE EXTRATOS BOTÂNICOS NO CONTROLE DE  
*Conotrachelus humeropictus* FIEDLER, 1940 (COLEOPTERA:  
CURCULIONIDAE)

## RESUMO

Atualmente, *Conotrachelus humeropictus* é considerada a principal praga da cultura do cupuaçu na Região Norte do Brasil. Seu ataque pode levar a perdas de 100% da produção e as alternativas de controle químico utilizadas são pouco eficientes. Embora várias técnicas de manejo integrado sejam recomendadas, os produtores ainda preferem o uso de agrotóxicos. Sendo assim, novas estratégias devem ser estudadas como o uso de extratos botânicos para o controle da broca-do-cupuaçu. Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de extratos vegetais de quatro espécies botânicas conhecidas com potencial inseticida, *Piper aduncum* e *Piper hispidum*; *Derris rariflora*; e *Azadirachta indica*; conhecidas popularmente como pimenta-de-macaco, jaborandi, timbó e Nim, respectivamente. Foram preparados extratos etanólicos. Os bioensaios foram realizados em condições controladas de temperatura e umidade ( $27^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , UR  $70\% \pm 5\%$ ). Os testes seguiram com aplicações dos extratos sobre superfície de contato, por aplicação tópica e teste de repelência com chance de escolha nas concentrações de 1%, 5% e 10% (m/v). As espécies de piperáceas não se mostraram tão eficientes como inseticidas para *C. humeropictus*. Entretanto, *A. indica* e *D. rariflora* apresentaram potencial, com percentuais de 78% e 95% de mortalidade respectivamente para a concentração de 10% após 48 horas de exposição. Todas as espécies apresentaram efeito de repelência com Índice de Repelência inferiores as 0,82. No entanto mais estudos com o uso de espécies e ou ecótipos de timbós devem ser realizados assim como o uso de diferentes extratores e concentrações afim de que se chegue a um valor que seja interessante comercialmente.

**PALAVRAS-CHAVE:** Controle alternativo; cupuaçu; inseticidas botânicos.

## **ABSTRACT**

Currently, *Conotrachelus humeropictus* is considered the main plague of cupuaçu culture in the Northern Region of Brazil. Its attack can lead to 100% production losses. The control alternatives used are not very efficient. Although several techniques of integrated management are recommended, the producers still prefer the use of agrochemicals. Thus, new strategies should be studied such as the use of botanical extracts for the cupuaçu drill control. The objective of this work was to evaluate the effect of plant extracts of four known botanical species with insecticidal potential, *Piper aduncum* and *Piper hispidum*; *Derris rariflora*; and *Azadiracta indica*; Popularly known as monkey pepper, jaborandi, timbó and Nim, respectively. The extracts were prepared with ethanolic extractor. The bioassays were performed under controlled conditions of temperature and humidity ( $27^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , UR  $70\% \pm 5\%$ ). The tests followed with applications of the extracts on contact surface, topical application and test of chance of choice with concentrations of 1%, 5% and 10%. The species of piperaceas were not efficient as insecticides for *C. humeropictus*. However, *A. indica* and *D. rariflora* showed potential, with percentage of 78% and 95% efficacy for mortality, respectively, for the concentration of 10% after 48 hours of exposure. All species had a repellency effect of less than 0,82. Further studies with the use of timbó species. should be performed at different concentrations in order to arrive at a value that is commercially interesting.

**KEY-WORDS:** Alternative control; cupuaçu; botanical insecticides.

## 1. INTRODUÇÃO

O uso de produtos derivados da indústria química é o principal método utilizado no controle de pragas, entretanto o seu uso indiscriminado e excessivo tem aumentado o número de aplicações, diminuído sua eficiência e tem oferecido riscos ao meio e a saúde humana.

O mercado de defensivos agrícolas movimenta bilhões de reais anualmente, e estes produtos apresentam amplo espectro de ação, exterminando tanto insetos pragas como aqueles que são benéficos ao ambiente. Fato que é agravado pela persistência desses produtos no ambiente e por meio de resíduos tóxicos em um grande número de alimentos (ALMEIDA et al., 2011).

O custo para o desenvolvimento de inseticidas químicos é alto e tem aumentado ao longo dos anos devido à necessidade de novas moléculas e formulações mais adequadas, fato que tem feito crescer o interesse pela pesquisa de inseticidas alternativos (ALMEIDA; BATISTA FILHO, 2001). Aliado a isso a busca cada vez maior pela qualidade de vida e qualidade dos alimentos consumidos, a população tem exigido produtos livres de agrotóxicos. E uma alternativa que substitui os produtos sintéticos é o uso de inseticidas a base de produtos vegetais.

A utilização de plantas inseticidas reduz os custos de produção da cultura e os problemas de contaminação ambiental, sendo assim uma alternativa viável, principalmente por poderem ser preparadas pelo próprio produtor na propriedade.

Pesquisas visando avaliar a atividade inseticida/acaricida desses produtos têm sido desenvolvidas, visto que, podem apresentar várias substâncias que afetam o comportamento e metabolismo dos insetos e doenças. A atividade inseticida de extratos de plantas pode ser manifestada através da mortalidade direta, repelência, esterilidade,

interferência no desenvolvimento e modificação no comportamento dos artrópodes (CARVALHO, 2008; SILVA et al., 2010).

O potencial de inseticida de plantas de várias famílias botânicas entre elas as Meliaceae, Piperaceae e Fabaceae tem sido avaliado em relação a pragas. Dentre as Meliaceas, espécies como *Azadirachta indica* A. Juss., o Nim, atualmente considerada a planta inseticida mais eficiente, tem sido estudada para um grande número de insetos praga e seus extratos tem se mostrado tão potentes quanto os inseticidas comerciais (ROEL et al. 2000; MARTINEZ, 2002; VIANA; PRATES; RIBEIRO, 2006; ALVARENGA et al., 2012; BINI; SIMONETTI, 2016). Na família Piperacea, o gênero *Piper* pode ser considerado o de maior importância, tanto científica quanto econômica, estudos com espécies como *P. aduncum* L., *P. hispidinervum* C. DC., *P. hispidum* SW., *P. tuberculatum* tem demonstrado eficiência no controle de pragas (FAZOLIN et al., 2006; CASTRO, 2007; SILVA et al., 2007; SANTOS et al., 2010). Entre as espécies de plantas da família Fabaceae, o gênero *Derris* possui muitas espécies com potencial inseticida como *D. amazonica*, *D. urucu*, *D. floribunda*, *D. nicou*, *D. rariflora* (COSTA et al., 1997; ALECIO et al., 2010; GALVÃO et al., 2011; PENA, 2012).

Com relação à broca do fruto do cupuaçu, *C. humeropitcus*, considerada uma das principais pragas da cultura devido seus danos, os métodos de controle mais utilizados e recomendados são o controle físico, mecânico, além do controle químico. Estudos de métodos de controle alternativos ainda são escassos.

Com o objetivo de determinar o extrato botânico mais promissor para controle de adultos *C. humeropictus* foram avaliados os extratos etanólicos de quatro espécies vegetais, *A. indica*, *P. aduncum*, *P. hispidum* e *D. rariflora*.

As plantas utilizadas neste estudo foram escolhidas por já terem apresentado ação inseticida contra outros grupos de insetos e também por não existirem estudos envolvendo *C. humeropictus* e o uso de extratos botânicos.

## **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Entomologia e Acarologia Agrícola da UFAM (Universidade Federal do Amazonas) sob temperatura e umidade controladas ( $27^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , UR  $70\% \pm 5\%$ ). Para todos os procedimentos experimentais foram utilizados insetos adultos de *C. humeropictus* oriundos da mesma safra de cupuaçu (2015/2016), padronizados de acordo com a idade, os quais foram retirados da criação estoque.

### **2.1. Coleta e processamento do material vegetal**

Foram realizadas expedições a campo, com as devidas autorizações para coleta de material botânico na Região Metropolitana de Manaus (AM) emitida pelo ICMBio número de registro 6482746, incluindo o Campus da Universidade Federal do Amazonas (UFAM).

O material vegetal coletado foi acondicionado em sacos plásticos escuros devidamente etiquetados, identificados e transportados ao Laboratório de Entomologia e Acarologia Agrícola para processamento.

Os locais de coleta das plantas foram georreferenciados com auxílio de um aparelho GPS GPSMAP<sup>®</sup> 78 da marca GARMIN (Anexo 1). Após a coleta partes das plantas de cada uma das espécies foram encaminhadas ao Departamento de Botânica do INPA (Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia) para a identificação específica. A

identificação foi feita com base nos caracteres morfológicos, comparando-se o material com outros já identificados no herbário do INPA.

Foram utilizadas diferentes estruturas como folhas, amêndoas e raízes das espécies de plantas. Para a família Piperaceae: folhas de *P. aduncum* L. e *P. hispidum* Sw.; família Fabaceae: raízes de *D. rariflora* e da família Meliaceae: amêndoas de *A. indica* que foram obtidas por doação de uma empresa de Catanduva (SP) (Quadro 3.1).

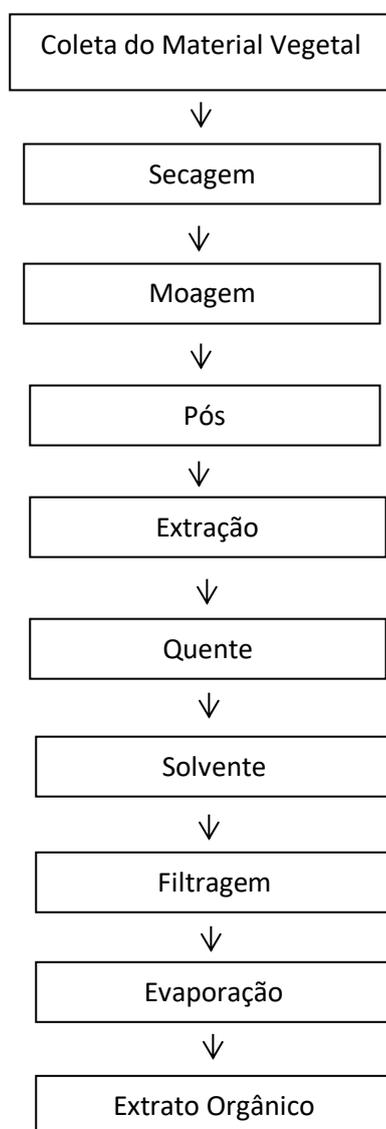
**Quadro 3.1.** Espécies de plantas e partes vegetais utilizadas para o preparo dos extratos em pó e posteriormente extratos etanólicos.

<b>Espécie botânica</b>	<b>Família</b>	<b>Parte utilizada</b>	<b>Nome popular</b>
<i>Piper aduncum</i>	Piperaceae	Folha	Pimenta de macaco
<i>Piper hispidum</i>	Piperaceae	Folha	Jaborandi
<i>Azadirachta indica</i>	Meliaceae	Amêndoa	Nim
<i>Derris rariflora</i>	Fabaceae	Raíz	Timbó

As folhas, raízes ou sementes das plantas (de acordo com a espécie) foram colocadas para secar em estufa de circulação de ar (40°C, por 48h para folhas e 72h para raízes e 96h para amêndoas). Após secagem foram triturados em moinho de facas separadamente para obtenção dos pós-vegetais. Os extratos em pó foram acondicionados em potes de vidro, hermeticamente fechados, etiquetados e armazenados LEA até o momento da sua utilização (Figura 3.1 e 3.2).



**Figura 3.1.** Folhas de *P. aduncum* e *P. hispidum* coletadas no campus da UFAM.



**Figura 3.2** Esquema do procedimento para obtenção dos extratos de plantas inseticidas.

## **2.2. Preparo dos extratos brutos e soluções para aplicação**

O pó obtido de cada espécie vegetal foi submetido à extração com o solvente orgânico etanol 92,8%. Os extratos etanólicos foram preparados a partir da adição do extrato em pó de cada material vegetal ao etanol.

As suspensões (solvente + pó) foram submetidas à extração em aparelho de ultra-som por 40 minutos. Após o processo de extração, as suspensões foram filtradas com auxílio de vácuo, através de funil de Buchner forrado ao fundo com papel filtro, para um kitassato.

O solvente foi evaporado/concentrado com auxílio de evaporador rotativo a vácuo (rotavapor), obtendo-se então os extratos brutos. Por ocasião da utilização, os extratos foram diluídos em 5 mL de acetona e acrescentada água até o volume de 100 mL para obtenção da solução-estoque a ser diluída conforme a concentração utilizada em cada experimento (SOUZA; VENDRAMIM, 2004; GONÇALVES-GERVÁSIO; VENDRAMIM, 2004).

Como não se tem conhecimento dos efeitos desses extratos em relação a broca do cupuaçu, foram utilizadas as concentrações de 1%, 5%, até 10% para todos os extratos, apesar de ser uma concentração elevada, que pode estar acima do limite de comercialidade.

Previamente à realização do trabalho, foi testado o efeito de diferentes concentrações de acetona diluída em água destilada sobre os insetos, a fim de determinar a concentração mais segura.



**Figura 3.3.** Preparação dos extratos etanólicos em aparelho rotavapor.

### **2.3. Bioensaios em laboratório**

Foram realizados bioensaios com adultos de *C. humeropictus* em testes segundo três modos de ação, por contato com superfície contaminada, por aplicação tópica e repelência com chance de escolha.

#### **2.3.1. Teste por contato com superfície contaminada**

Os extratos brutos foram pesados e diluídos em acetona e água destilada nas diferentes concentrações: 1g para 100mL, 5g para 100mL, 10g para 100mL formando as concentrações 1%, 5% e 10%, respectivamente (Figura 3.3) que foram os tratamentos utilizados, além do controle acetona com água destilada (5mL/100mL), formando assim três tratamentos mais a testemunha.



**Figura 3.4.** Preparo e aplicação dos extratos vegetais em papel filtro com auxílio da Torre de Potter em laboratório.

Os extratos foram aplicados a um volume de 4 mL sobre discos de 9cm de papel filtro, com auxílio da Torre de Potter da marca Burkard Scientific calibrada a 12lb. O papel filtro permaneceu por dois minutos a temperatura ambiente para secagem e após este período foi posicionado em placas de Petri de vidro de 9 cm de diâmetro e 1,5 cm de altura onde os insetos adultos, independente do sexo, foram inseridos/expostos para a avaliação por superfície de contato. As observações aconteceram após a primeira hora, 24 horas e 48 horas da exposição.

Foram utilizados três insetos adultos por placa, em delineamento inteiramente casualizado com seis repetições. Durante o período de observação os insetos foram alimentados com discos de cana-de-açúcar sem qualquer produto químico, previamente tratado com solução de hipoclorito de sódio a 1%, a fim de evitar contaminação por microorganismos.

### **2.3.2. Teste por aplicação tópica**

No laboratório, os insetos adultos foram pulverizados em aparelho Torre de Potter com 1 mL de cada um dos quatro extratos nas suas diferentes concentrações. A aplicação foi realizada diretamente sobre a parte dorsal de cada espécime. Não houve necessidade de imobilizar os insetos adultos, como acontece na maioria dos bioensaios por aplicação tópica, uma vez que *C. humeropictus* entra em tanatose ao contato e exerce pouca atividade de voo.

Em seguida os insetos pulverizados foram transferidos para placas de Petri forradas com papel filtro. Um grupo de três insetos por placa, em seis repetições, que foram observados após a primeira hora, 24 horas e 48 horas seguintes à pulverização.

Neste teste o procedimento experimental foi o mesmo adotado para avaliação por contato em superfície contaminada. Os tratamentos, número de repetições e delineamento estatístico também seguiram a mesma metodologia.

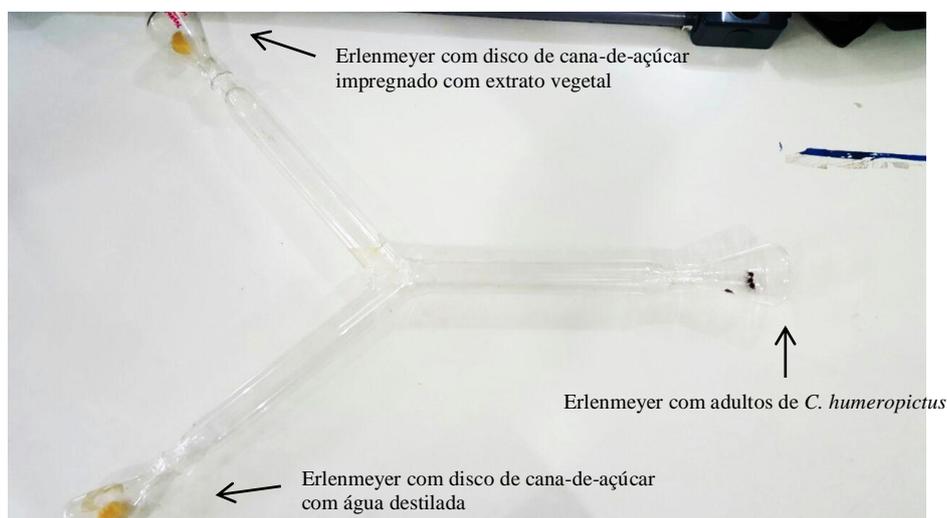
### **2.3.3. Teste de repelência com chance de escolha**

Para os testes de repelência foi realizado o método com chance de escolha com a utilização de olfatômetro Y de vidro, com o braço principal e secundários de 15 cm de comprimento e 1,5cm de diâmetro, nas extremidades dos braços foram acoplados vidros Erlenmeyer de 25 mL (Figura 3.5).

Como substrato para detectar repelência foram utilizados discos de cana de cana-de-açúcar que foram imersos por um minuto na solução do extrato vegetal e secos por 10 min à temperatura ambiente. Os extratos utilizados foram de *P. aduncum*, *P. hispidum*, *D. rariflora* e *A. indica* na concentração de 10%. E para a testemunha foi utilizado água destilada.

Dentro do erlenmeyer, em um dos braços do olfatômetro foi colocado um disco de cana-de-açúcar com extrato e no outro braço um disco de cana-de-açúcar sem extrato (com água destilada). No braço principal foram liberados três insetos adultos em jejum de 12 horas. O experimento foi montado com seis repetições para cada tipo de extrato.

O olfatômetro foi mantido na posição horizontal em sala climatizada. O tubo em Y foi lavado após cada teste para evitar resíduos e possíveis erros. As observações foram feitas no momento da liberação e após uma hora da aplicação e o tempo máximo de observação foi de 10 minutos para cada repetição.



**Figura 3.5.** Olfatômetro Y para teste de repelência de *C. humeripictus* com chance de escolha para dois extratos vegetais sob condições controladas de laboratório.

As avaliações neste ensaio seguiram a metodologia proposta por Mazzonetto; Vendramim (2003) onde foram avaliados o número de insetos atraídos e o índice de repelência (IR) onde:  $IR = 2G / (G+P)$  onde IR = índice de repelência, G = % insetos atraídos por tratamento e P = % de insetos atraídos na testemunha. Os valores de IR variaram entre zero e dois, indicando: IR = 1, neutra; IR > 1, atraente e IR < 1,

repelente. Como margem de segurança para essa classificação, o erro padrão (EP) de cada tratamento foi adicionado/subtraído do valor 1,00 (indicativo de neutralidade). Assim, cada tratamento só foi considerado repelente ou atraente quando o IR estava fora do intervalo  $1,00 \pm DP$ .

#### **2.4. Análise dos dados**

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, o número de tratamentos e repetições dependeu do experimento em questão. Os dados gerados foram submetidos à análise de variância pelo programa Assistat, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

### **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **3.1. Teste por contato com superfície contaminada**

Na primeira avaliação, não constatou-se efeito dos extratos utilizados em nenhuma das concentrações sobre os insetos, pois foi utilizado na aplicação do extrato sobre o papel filtro o volume de 1,0 mL. A este volume não foi detectada alterações ou mortalidade.

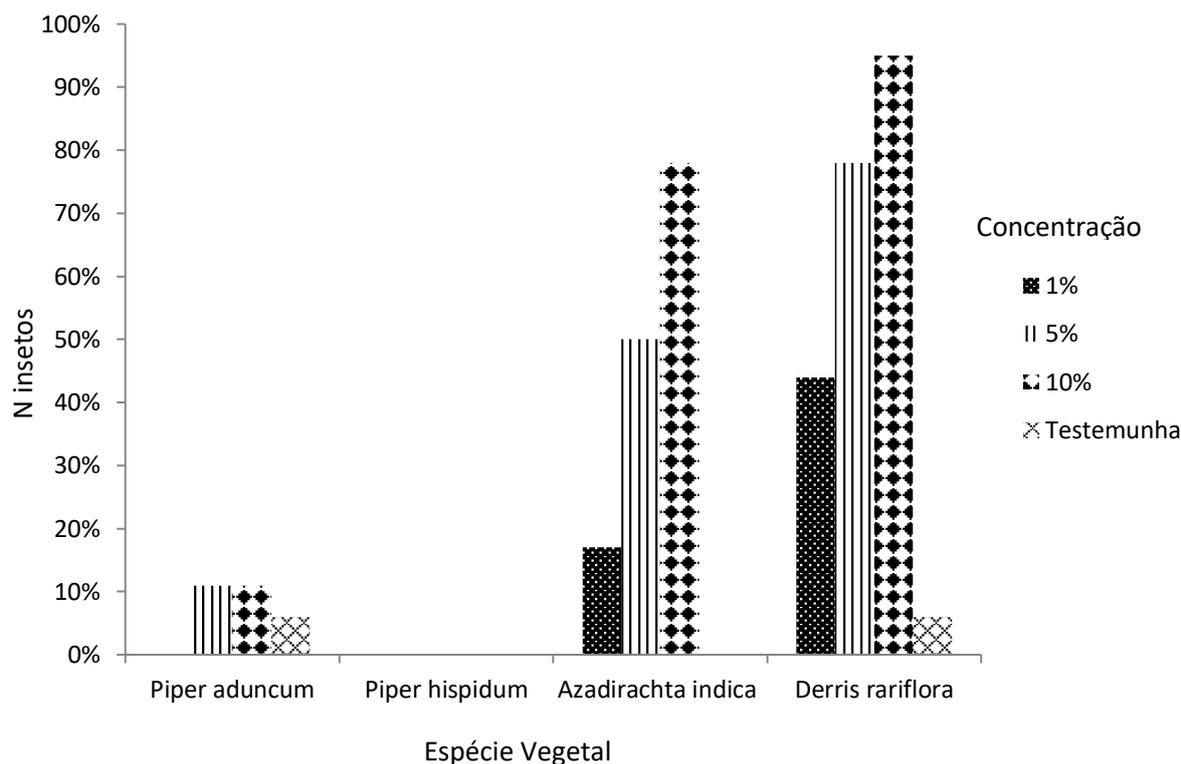
Sendo assim, o ensaio foi repetido com aplicação do extrato no papel filtro a um volume de 4,0 mL, uma vez que a 1,0 mL não houve cobertura total do papel e este fator pode ter sido determinante para a não mortalidade.

Na tabela 3.1 estão apresentados os dados de mortalidade (%) referente ao bioensaio em superfície contaminada, sobre adultos de *C. humeropictus*, com o uso dos extratos de *P. aduncum*, *P. hispidum*, *Azadiratchta indica* e *Derris rariflora*, em três concentrações.

**Tabela 3.1.** Mortalidade (%) de adultos da broca-do-cupuaçu, *C. Humeropictus*, com o uso de extratos etanólicos de *P. aduncum*, *P. hispidum*, *A. indica* e *D. rariflora* em superfície contaminada, durante 1, 24 e 48 horas sob condições de laboratório (27°C ± 2°C, UR 70% ± 5%).

Extrato	Concentração	Taxa de Mortalidade de <i>C. humeropictus</i> (%)		
		1 hora	24 horas	48 horas
<i>Piper aduncum</i>	1%	0	0 <sup>b</sup>	0 <sup>a</sup>
	5%	0	11,1 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
	10%	0	5,6 <sup>b</sup>	0 <sup>a</sup>
	Testemunha	0	0 <sup>b</sup>	5,6 <sup>a</sup>
<i>Piper hispidum</i>	1%	0	0	0
	5%	0	0	0
	10%	0	0	0
	Testemunha	0	0	0
<i>Azadirachta indica</i>	1%	0 <sup>a</sup>	0 <sup>b</sup>	16,7 <sup>c</sup>
	5%	5,6 <sup>a</sup>	5,6 <sup>b</sup>	39 <sup>b</sup>
	10%	5,6 <sup>a</sup>	11,1 <sup>a</sup>	61,1 <sup>a</sup>
	Testemunha	0	0 <sup>b</sup>	0 <sup>d</sup>
<i>Derris rariflora</i>	1%	5,6 <sup>a</sup>	22 <sup>c</sup>	16,7 <sup>c</sup>
	5%	0 <sup>a</sup>	39 <sup>b</sup>	39 <sup>a</sup>
	10%	5,6 <sup>a</sup>	67 <sup>a</sup>	22 <sup>b</sup>
	Testemunha	0 <sup>a</sup>	5,6 <sup>d</sup>	0 <sup>d</sup>

Letras diferentes correspondem a diferenças significativas dentro de cada coluna (p = 0,05).



**Figura 3.6.** Mortalidade (%) total de adultos da broca-do-cupuaçu, *C. humeropictus*, com o uso de extratos etanólicos de *P. aduncum*, *P. hispidum*, *A. indica* e *D. rariflora* em superfície contaminada, sob condições de laboratório ( $27^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , UR  $70\% \pm 5\%$ ).

Os resultados de exposição de *C. humeropictus* a extratos etanólicos de *P. aduncum* mostram que esta espécie de planta, apesar de observada mortalidade, não exerceu efeito de maneira significativa sobre os insetos nas concentrações estudadas.

Esta espécie que é nativa da região Amazônica vem sendo testada com sucesso como fungicida, acaricida, bactericida e inseticida (Oliveira Neto et al., 2006). Estudos realizados por Veras; Yuyama (2000) com o extrato aquoso das folhas sobre *Crinipellis pernicioso*, agente da vassoura de bruxa do cupuaçuzeiro, indicaram o extrato como uma possível alternativa de controle.

Fazolin et al. (2005) obtiveram resultados promissores para estudo de óleos essenciais de *P. aduncum* sobre insetos adultos de *Cerotoma tingomarianus* (Bechyné)

em teste sobre superfície contaminada obtendo-se praticamente 100% de mortalidade na concentração de 10%, após 48 horas.

O extrato aquoso de raízes de *P. aduncum* quando comparado com o extrato aquoso de folhas tem se mostrado mais eficiente, embora ambos tenham atividade inseticida. Silva et al. (2007) recomendaram o extrato aquoso de folhas de *P. aduncum* para o controle de um hemíptero praga no estado do Amazonas, por não causar impacto ambiental na coleta e pela praticidade de obtenção da matéria-prima.

Para os extratos de *P. hispidum* não foi observada alterações no comportamento dos insetos ou mortalidade em nenhuma das concentrações testadas em nenhum dos períodos de observação fato que indica que o extrato nas três diferentes concentrações não fizeram efeito sobre os insetos.

Zorzeti et al. (2012) relataram que alguns extratos não se mostraram eficientes sobre a broca do cafeeiro *Hypothenemus hampei*. Entretanto, Santos et al. (2010) observaram 100% de mortalidade para este mesmo inseto com extratos preparados de folhas de *P. hispidum* em diluição de 25,0 mg mL<sup>-1</sup> em superfície de contato após 48 horas de exposição. Esses resultados para a broca do café levam a suposição de que talvez em uma concentração maior e/ou por mais tempo de exposição *P. hispidum* poderia ter exercido algum efeito sobre *C. humeropictus*.

Para os testes com Nim (*A. indica*) na concentração de 1% pôde-se observar mortalidade nos insetos com 48 horas de exposição, entretanto não se mostrou estatisticamente significativo evidenciando que este extrato não foi eficiente, nessa concentração para o controle da broca do fruto do cupuaçu (Figura 3.6). Porém nas concentrações de 5% e 10%, a mortalidade foi de 50% e 78%, respectivamente.

Schumetterer (1990) relata que a química do nim vem sendo bem estudada desde a década de 1970 e que já são conhecidos mais de 150 compostos isolados de folhas, galhos e sementes. O nim causa uma série de efeitos sobre os insetos, entre eles alterações hormonais, afeta a reprodução e alimentação, além do efeito inseticida. Vivan (2009) relatou que uma das atividades mais relevantes das plantas da família Meliaceae é a ação fagoinibidora, fato que foi observado por Mazzonetto et al. (2013) em extratos de folhas de nim sobre *Spodoptera frugiperda*.

O extrato aquoso de folhas de nim foi utilizado por Viana et al. (2006) para controle de *Spodoptera frugiperda*, entretanto são os extratos de sementes de nim que tem mostrado as melhores respostas para mortalidade de insetos (COSTA et al. 2016).

Os resultados foram satisfatórios para o uso do Nim nas concentrações de 5% e 10% e corroboram com o que vem sendo relatado na literatura, que considera *A. indica* como uma das mais eficientes plantas inseticidas já estudadas (SCHUMETTERER, 1990; MARTINEZ, 2011).

*D. rariflora* foi a espécie que apresentou maior potencial para controle de *C. Humeropictus*. Na primeira hora de observação, nas diferentes concentrações foi observada baixa mortalidade dos insetos, entretanto após 24 horas de contato com o extrato a mortalidade foi bem maior, tanto a 5% quanto a 10%. Mas foi após 48 horas de exposição que foi observado o maior percentual de mortalidade, com 95% para a concentração de 10%.

Estes resultados indicam que é necessário um tempo relativo de contato com o extrato botânico para que o mesmo tenha efeito sobre o metabolismo do inseto, entretanto alguns autores relatam que decorrido um tempo o extrato pode perder o seu efeito, principalmente devido a volatilização de alguns compostos (BORGES, 2017).

Essa informação é relevante para os programas de manejo, uma vez que auxilia na tomada de decisão do momento de aplicação e do período para o efeito do produto sobre a praga.

O uso de outros extratores pode revelar maior eficiência do timbó sobre *C. humeropictus*, uma vez que dependendo do extrator a substância ativa da planta, no caso a rotenona, pode ser melhor extraída para que seu teor seja mantido. Vianna et al (1976) em estudo dos efeitos da rotenona de *Derris negresis* sobre camundongos, aplicada por via cutânea, foi mais eficiente para extratos alcoolicos do que para extratos aquosos.

Alecio et al. (2010) observou a mortalidade de mais de 80% de adultos de *Cerotoma arcuatus* (Coleoptera: Chrysomelidae) evidenciando o efeito tóxico de *Derris amazonica* a partir da concentração de 1% (v.v<sup>-1</sup>), entretanto esta espécie tem o tegumento menos quitinizado do que a Broca-do-Cupuaçu.

Esse efeito pode ser diferenciado dependendo da espécie de timbó, pois Costa; Alves; Belo (1999) verificaram em estudos para controle de *Musca domestica* que diferentes espécies de timbó do gênero *Derris*, possuem diferentes concentrações de rotenona e nesse estudo evidenciaram correlações significativas entre os teores dessa substância apresentados pelas plantas com relação a capacidade de controle.

Pena (2012) utilizou diferentes extratos orgânicos de *D. floribunda* e *D. rariflora* para o controle de mosca-negra, coletadas na Região de Manaus, com resultados positivos.

### 3.2. Teste por aplicação tópica

Os testes de aplicação tópica se mostraram mais eficientes do que o de superfície contaminada, principalmente para as espécies de Piperaceas onde foram observados efeitos de mortalidade para as maiores concentrações, com destaque para a concentração de 5%, e quando houve um contato mais prolongado, nas observações de 48 horas após a aplicação (Tabela 3.2). Esses resultados corroboram com os encontrados por Santos et al. (2013) ao estudar o efeito de extrato acetônico de *P. alatabaccum* sobre a broca do café. Entretanto, esses autores destacaram que a melhor via de contaminação é a de superfície de contato.

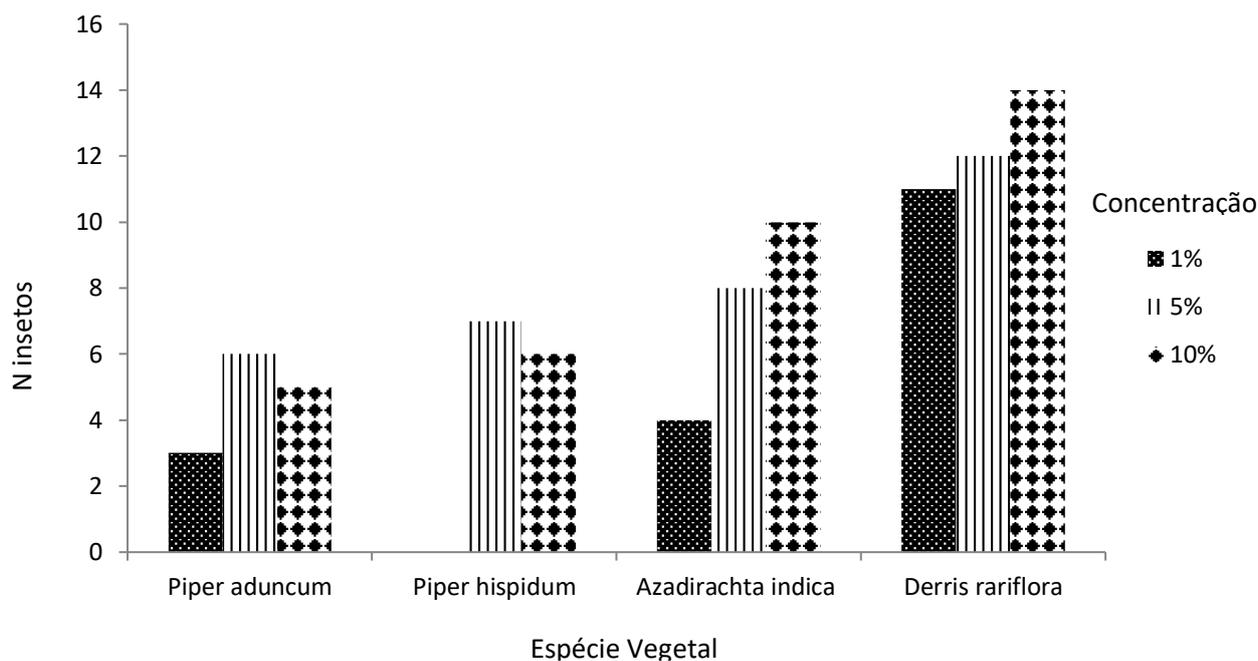
Assim como no teste de superfície de contato, para extratos de *A. indica* e *D. rariflora* a mortalidade foi elevada, principalmente após 48 horas de contato em todas as concentrações. A azadiractina e a rotenona, metabólitos presentes no nim e timbó, respectivamente, exercem efeito tóxico sobre insetos. Alecio et al (2010) relataram sintomas como diminuição de consumo de oxigênio, redução da taxa de respiração e ataques que provocam convulsões e levam a paralisia e morte ao estudarem o efeito toxico de *D. amazônica* para *C. arcuatus* quando utilizadas as maiores concentrações.

Embora os resultados tenham sido elevados, ainda foram menores que os observados nos testes por superfície de contato (Figura 3.7).

**Tabela 3.2.** Mortalidade (%) de adultos da broca-do-cupuaçu, *C. Humeropictus*, com o uso de extratos etanólicos de *P. aduncum*, *P. hispidum*, *A. indica* e *D. rariflora* por aplicação tópica, durante 1, 24 e 48 horas sob condições de laboratório ( $27^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , UR  $70\% \pm 5\%$ ).

Extrato	Concentração	Mortalidade de <i>C. humeropictus</i> (%)		
		1 hora	24 horas	48 horas
<i>Piper aduncum</i>	1%	0 <sup>a</sup>	0 <sup>b</sup>	16,7 <sup>b</sup>
	5%	0 <sup>a</sup>	11,1 <sup>a</sup>	22 <sup>a</sup>
	10%	5,6 <sup>a</sup>	5,6 <sup>b</sup>	16,7 <sup>b</sup>
	Testemunha	0 <sup>a</sup>	0 <sup>b</sup>	0 <sup>c</sup>
<i>Piper hispidum</i>	1%	0	0 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>
	5%	0	0 <sup>b</sup>	39 <sup>a</sup>
	10%	0	11,1 <sup>a</sup>	22 <sup>b</sup>
	Testemunha	0	0 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>
<i>Azadirachta indica</i>	1%	0 <sup>a</sup>	11,1 <sup>a</sup>	11,1 <sup>c</sup>
	5%	5,6 <sup>a</sup>	5,6 <sup>b</sup>	22 <sup>b</sup>
	10%	5,6 <sup>a</sup>	11,1 <sup>a</sup>	39 <sup>a</sup>
	Testemunha	0 <sup>a</sup>	0 <sup>b</sup>	0 <sup>d</sup>
<i>Derris rariflora</i>	1%	0 <sup>a</sup>	44 <sup>a</sup>	16,7 <sup>c</sup>
	5%	0 <sup>a</sup>	22 <sup>b</sup>	44 <sup>b</sup>
	10%	0 <sup>a</sup>	16,7 <sup>c</sup>	55 <sup>a</sup>
	Testemunha	0 <sup>a</sup>	0 <sup>d</sup>	0 <sup>d</sup>

Letras diferentes correspondem a diferenças significativas dentro de cada coluna ( $p = 0,05$ ).



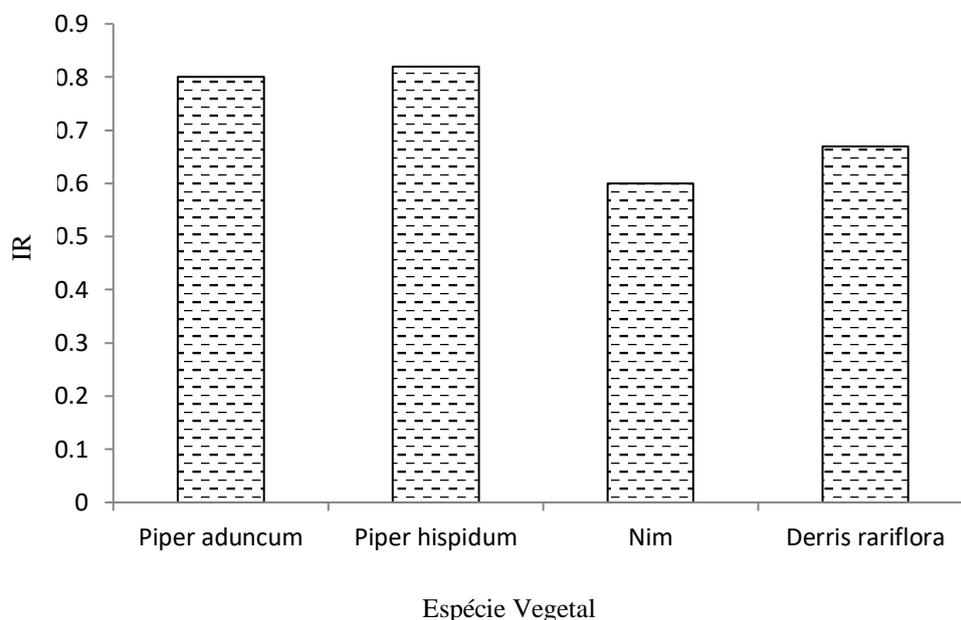
**Figura 3.7.** Mortalidade (%) total de adultos da broca-do-cupuauçu, *C. Humeropictus*, com o uso de extratos etanólicos de *P. aduncum*, *P. hispidum*, *A. indica* e *D. rariflora* por aplicação tópica, sob condições de laboratório ( $27^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , UR  $70\% \pm 5\%$ ).

### 3.3. Teste de repelência

Os extratos tinham uma concentração de 10% para cada uma das espécies avaliadas. As observações foram realizadas preferencialmente entre 17:00 e 18:00h, uma vez que *C. humeropictus* possui atividade noturna. As análises dos primeiros dez minutos que os insetos foram alocados no olfatômetro não foram consideradas, uma vez que na maioria das repetições os insetos ficaram os primeiros minutos estáticos e posteriormente em atividade de exploração.

Após uma hora de expostos no olfatômetro foi observada que a repelência das brocas pelos discos de cana-de-açúcar tratados com os extratos das quatro espécies vegetais não diferiram estatisticamente entre si (Tabela 3.2). Pois todas mostraram

repelência de acordo com seu IR (Índice de Repelência). Porém, *A. indica* (nim) foi a espécie que apresentou maior repelência,  $0,6\pm 0,2$ , seguida de *D. rariflora* (Timbó) com  $0,7\pm 0,2$ .



**Figura 3.8.** Índice de repelência sobre adultos de *C. Humeropictus*, em teste de chance de escolha, após uma hora de contato com o uso de extratos etanólicos de *P. aduncum*, *P. hispidum*, *A. indica* e *D. rariflora* na concentração de 10%.

O efeito repelente de algumas plantas pode ser uma forma bastante eficiente para evitar infestação de insetos pragas. Segundo Andrade et al. (2013) que avaliaram extratos e óleos essenciais de dez espécies botânicas sobre *Aphis gossypii*, entre elas *A. indica* e *P. aduncum*, concluíram que essas espécies são repelentes para o pulgão além de reduzirem a produção de ninfas. Esses autores destacaram que os resultados foram promissores para utilização no manejo integrado desta praga.

Embora alguns estudos relatam que certas espécies botânicas não possuem efeito repelente nem atrativo com relação a alguns grupos de insetos. Tavares; Vendramin

(2005) ao estudar adultos de *Sitophilus zeamais* expostos a pó vegetal de folhas de *Chenopodium ambrosioides* observaram nenhum efeito sobre o gorgulho do milho.

#### 4. CONCLUSÃO

Os extratos etanólicos de *Piper aduncum* e *P. hispidum* não exercem efeito significativo de mortalidade sobre *C. humeropictus* no método de superfície de contato.

As espécies vegetais *Piper aduncum* e *P. hispidum* exerceram menor efeito de repelência sobre *C. humeropictus*.

O Nim se mostrou estatisticamente eficiente para o controle da broca do fruto do cupuaçu tanto quando expostos em superfície de contato quanto por aplicação tópica. Esse resultado é satisfatório por se tratar de um extrato fácil de preparar e com baixo custo.

As concentrações de extrato de timbó *D. rariflora* apresentaram maior potencial para uso no controle de *C. Humeropictus*, por ocasionarem significativa mortalidade de insetos adultos, destacando-se as concentrações de 5% e 10% para efeito em superfície de contato e aplicação tópica.

Há necessidade de mais estudos com o uso de diferentes extratores e também outras espécies e ecótipos de timbó. Assim como, bioensaios com outras famílias botânicas da região com potencial inseticida.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUILAR, J.A.D.A.; GASPAROTTO, L. Aspectos cronológicos e biológicos da broca-do-fruto (*Conotrachelus* sp. Fiedler, 1940 (Coleoptera: Curculionidae) do cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum* Schum.) e seu controle. Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus/AM. (Documentos, 3). 1999 . 17p.

ALÉCIO, M.R.; FAZOLIN, M.; COELHO NETO, R.P.; CATANI, V.; ESTRELA, J.L.V.; ALVES, S.B.; CORREA, R.S.; ANDRADE NETO, R.C.; GONZAGA, A.D. Ação inseticida do extrato de *Derris amazonica* Killip para *Cerotoma arcuatus* Olivier (Coleoptera: Chrysomelidae). *Acta Amazonica*, 40 (4): 719-728. 2010.

ALMEIDA, J.E.M.; BATISTA FILHO, A. Banco de microrganismos entomopatogênicos. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*, 21: 30-33, 2001.

ALMEIDA, F.A.C.; COSTA, G.V.; SILVA, J.F.; SILVA, R.G.; PESSOA, E.B. Bioatividade de extratos vegetais no controle de *Zabrotes subfasciatus* isolado e inoculado em uma massa de feijão *Phaseolus*. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, Camoina Grande, 13(especial): 375-384. 2011.

ALVARENGA, C. D.; FRANÇA, W.M.; GIUSTOLIN, T.A.; PARANHOS, B.A.J.; LOPES, G.N.; CRUZ, P.L.; BARBOSA, P.R.R. Toxicity of neem (*Azadirachta indica*) seed cake to larvae of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae), and its parasitoid, *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae). *Florida Entomologist*, 95(1): 57-62, 2012.

ANDRADE, L.H.; OLIVEIRA, J.V.; LIMA, I.M.M.; SANTANA, M.F.; BRENDA, M.O. Efeito repelente de azadiractina e óleos essenciais sobre *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) em algodoeiro. *Revista Ciência Agronômica*, 44(3): 628-634. 2013.

BORGES, D.F. Efeito Nematicida de extratos de plantas do cerrado e óleos essenciais. 46p. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais. 2017.

BINI, L.F.; SIMONETTI, A.P.M.M. Controle de caruncho do milho com óleo de nim. *Revista Cultivando o Saber, Edição Especial*, p. 23-31. 2016.

CARVALHO, T. M. B. Avaliação de extratos vegetais no controle de *Brevipalpus phoenicis* (Gejkses, 1939) e *Oligonychus ilicis* (McGregor, 1917) (Acari: Tenuipalpidae, Tetranychidae) em cafeeiro. 101 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.

CASTRO, M.J.P. Potencial inseticida de extratos de *Piper tuberculatum* JACQ. (Piperaceae) sobre a fase larval de *Spodoptera frugiperda* (J. E. SMITH). 56 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Piauí, Teresina, Piauí, 2007.

- COSTA, J.P.C.; BELO, M.; BARBOSA, J.C. Efeitos de Espécies de Timbós (*Derris* spp.: Fabaceae) em Populações de *Musca domestica* L. An. Soc. Entomol. Brasil 26(1): 163-168. 1997.
- COSTA, J.P.C.; ALVES, S.M.; BELO, M. Teores de rotenona em clones de timbo (*Derris* spp.: FABACEAE) de diferentes Regiões da Amazônia e os seus efeitos na emergência de imagos em *Musca domestica* L. Acta Amazonica, 29(4): 563-573. 1999.
- 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, AC: Embrapa Acre, 53p. il. color. (Embrapa Acre. Documentos, 103). 2006.
- GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BAPTISTA, G.C.; 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/SP v.10, ed. FEALQ. 920p. 2002.
- GALVÃO, R.D.; NOWAK, M.F.V.; SILVA, N.M.; CORREA, R.S. Atividade acaricida do extrato aquoso e etanólico de *Derris floribunda* benth (Fabaceae) sobre *Tetranychus desertorum* banks (Acari: Tetranychidae) em folhas de pimentão (*Capsicum annum* l.). Anais da XX Jornada de Iniciação Científica PIBIC/INPA, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazonia. 2011.
- JACOBSON, M. Botanical pesticides: past, present, and future. Washington: *American Chemical Society*. p.110-119. 1989.
- LOPES, C.M.D.; SILVA, N.M. Impacto econômico da broca do cupuaçu, *Conotrachelus humeropictus* Field (Coleoptera: Curculionidae) nos estados do Amazonas e Rondônia. An. Soc. Entomol. Bras. 27(3): 481-483. 1998.
- MARTINEZ, S.S. (Ed.) *O nim – Azadirachta indica: natureza, usos, múltiplos, produção*. Londrina. Instituto Agrônômico do Paraná. 2002. 142p.
- MARTINEZ, S.S. (Ed.). *O nim – Azadirachta indica: natureza, usos múltiplos, produção*. 2 ed., Londrina. Instituto Agrônômico do Paraná, 2011. 205p.
- MAZZONETTO, F.; VENDRAMIM, J. Efeito de pós de origem vegetal sobre *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae) em feijão armazenado. Neotropical Entomology, 32(1), 145-149, 2003.
- MAZZONETTO, F; CORADINI, F.; CORBANI, R.Z.; DALRI, A.B. Ação de Inseticidas Botânicos sobre a Preferência Alimentar e sobre Posturas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em Milho. EntomoBrasilis, 6(1): 34-38. 2013.
- OLIVEIRA NETO, C.F. et al. Redução do crescimento micelial de *Rhizoctonia solani* Kuhn submetido a meios de cultura preparado com extrato aquoso de *Piper aduncum* L.

in: Congresso Brasileiro de Defensivos Agrícolas Naturais, 1., Belém. Anais...Belém: Embrapa Amazônia Oriental: SEBRAE. p.33. 2006.

PENA, M.R. Bioatividade de extratos aquosos e orgânicos de diferentes plantas inseticidas sobre a mosca-negra-dos-citros, *Aleurocanthus woglumi* ASHBY 1915 (Hemiptera: Aleyrodidae). 2012. 190f. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus/AM. 2012.

SANTOS, M.R.A.; SILVA, A.G.; LIMA, R.A.; LIMA, D.K.S.; SALLET, L.A.P.; TEIXEIRA, C.A.D.; POLLI, A.R.; FACUNDO, V.A. Atividade inseticida do extrato das folhas de *Piper hispidum* (Piperaceae) sobre a broca-do-café (*Hypothenemus hampei*). Revista Brasil. Bot., 33(2): 319-324. 2010.

SCHMETTERER, H.L. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadiractha indica*. Annual Review of Entomology, Palo Alto, 35: 271-297. 1990.

SILVA, W.C.; RIBEIRO, J.D.; DE SOUZA, H.E.M.; CORREA, R.S. Atividade inseticida de *Piper aduncum* L. (Piperaceae) sobre *Aetalion* sp. (Hemiptera: Aetalionidae), praga de importância econômica no Amazonas. *Acta Amazonica*, 37(2): 293-298. 2007.

SILVA, M.B. da et al. Controle alternativo de pragas e doenças na agricultura orgânica. Viçosa, EPAMIG, 2010. 232p.

TAVARES, M.A.G.C.; VENDRAMIM, J.D. Bioatividade da Erva-de-Santa-Maria, *Chenopodium ambrosioides* L., sobre *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). Neotropical Entomology, 34(2): 319-323, 2005.

VENTURIERI, G.A. Cupuaçu: a espécie, sua cultura, uso e processamento. Belém, Clube do Cupu. 1993. 108p.

VIANA, P.A.; PRATES, H.T.; RIBEIRO, P.E. de A. Uso do Extrato Aquoso de Folhas de NIM para o Controle de *Spodoptera frugiperda* na Cultura do Milho. Embrapa Milho e Sorgo, Circular Técnica 88. 05p. 2006.

VÉRAS, S.M.; YUYAMA, K. Controle da Vassoura-de-bruxa do cupuaçuzeiro por meio de extrato de *Piper aduncum* L. In: Congresso Brasileiro de Defensivos Agrícolas Naturais. Resumos. Fortaleza, Brasil. 32p. 2000.

VIVAN, M.P. Uso do cinamomo (*Melia azedarach*) como alternativa aos agroquímicos no controle do carrapato bovino (*Boophilus microplus*). Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) – Universidade Federal de Santa Catarina, 72p. 2009.

ZORZETTI, J.; NEVES, P.M.O.J.; CONSTANSKI, K.C.; SANTORO, P.H.; FONSECA, I.F.B. Extratos vegetais sobre *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae) e *Beauveria bassiana*. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 33, suplemento 1, p. 2849-2862, 2012.

ANEXO 1. Coordenadas das espécies de plantas coletadas utilizadas nos bioensaios.

<b>Estrutura/Espécie</b>	<b>Local</b>	<b>Coordenadas</b>
Folhas de <i>Piper aduncum</i>	UFAM Manaus/AM	– 59° 58' 37.451''S; 3° 5' 59.385''W
Folhas de <i>Piper hispidum</i>	UFAM Manaus/AM	– 59° 58' 34.224''S; 3° 6' 2.511''W
Raízes de <i>Derris rariflora</i>	UFAM Manaus/AM	– 59° 58' 40.019''S; 3° 6' 2.760''W
Amêndoas de <i>Azadirachta indica</i>	Catanduva/SP	_____