

RITA CRISTINA PEREIRA DE FREITAS

**TOXICIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE MOSTARDA SOBRE
POPULAÇÕES DE *Sitophilus zeamais***

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Entomologia, para obtenção do título
de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2011

RITA CRISTINA PEREIRA DE FREITAS

**TOXICIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE MOSTARDA SOBRE
POPULAÇÕES DE *Sitophilus zeamais***

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Entomologia, para obtenção do título
de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 16 de março de 2011.

Prof. Eliseu José Guedes Pereira
(Co-orientador)

Prof. Olinto Liparini Pereira

Profª. Lêda Rita D'Antonino Faroni
(Orientadora)

*Aos meus pais, Divino e Nair,
pelo amor incondicional e incentivo.
Ao Samir, pelo companheirismo,
paciência, incentivo e amor.
Dedico!*

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa, pelas condições materiais e pessoais oferecidas na realização da tese.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

À professora Lêda Rita D'Antonino Faroni, pela oportunidade concedida, ensinamentos e orientação.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Entomologia da Universidade Federal de Viçosa, pelos ensinamentos.

Aos professores Raul Narciso Carvalho Guedes e Eliseu José Guedes Pereira pela co-orientação, ajuda nas análises estatísticas, concessão para realizar os experimentos no laboratório de ecotoxicologia e pelos ensinamentos.

Aos componentes da banca de dissertação, por terem aceitado o convite e pelas sugestões.

Aos funcionários do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, D. Paula, Mirian e Silvânia, pelo atendimento sempre gentil, e aos funcionários da Engenharia Agrícola Edson, Catitu e José Eustáquio.

Ao meu pai, que sempre se preocupou com meu futuro e de meus irmãos, sempre se esforçando para nos dar o melhor, de quem guardo muitas saudades e que está sempre olhando por mim.

À minha mãe, grande batalhadora e incentivadora, que acreditou na educação como única herança.

Aos meus irmãos Gilberto, Gilmar, Ivanir e Gilson, pelo incentivo, compreensão.

Aos meus sobrinhos Guilherme, Maíra, Patrícia e Luíza, pelos momentos bons e carinho.

Aos meus tios José e Conceição e à minha prima e madrinha Néria, por me proporcionarem condições de estudar e cuidarem de mim na ausência de meus pais.

Ao meu namorado Samir, por estar sempre ao meu lado incentivando, pela compreensão nos momentos difíceis, estímulo e insubstituível parceiro, o meu amor.

À minha segunda família de Teixeiras, Marcos, Ângela, Úrsula e Iasmine, pelo incentivo e momentos bons que passamos juntos.

A todas as novas amigas, Adalberto, Adriano, Alisson, Ana Carolina, André, Augusto, Deize, Diego, Gutierrez, Hany, Juliana Andrea, Juliana Cristina, Juliana Paes, Marcela, Marco Aurélio, Marlize, Marta, Natália, Rodrigo, Romenique, Tales, Yenis, pelos momentos bons compartilhados, pelo apoio nas horas difíceis e por tudo que cada um me ajudou e ensinou.

Ao Alberto, pela colaboração nos experimentos de caminhada e respirometria.

Ao Professor Adalberto, primeira pessoa que me estendeu as mãos, no MIP-grãos, indicando os caminhos para minha pesquisa, sempre disposto a me ajudar, me aconselhando e incentivando, mesmo quando distante.

Ao Romenique, pela sua grande contribuição nas análises, redação da dissertação, ensinamentos, dicas e amizade. Sua colaboração foi muito importante, graças a você consegui terminar de escrever este trabalho.

Aos estagiários Alisson, Augusto, Gutierrez, Marcela e Marlize, sempre muito dedicados e bem humorados, fazendo com que o trabalho se tornasse menos árduo. Aos quais sou muito grata pela colaboração.

À Yenis, que esteve presente desde o início do mestrado nos momentos bons e nos difíceis, sempre me apoiando, dando uma palavra de consolo, ajudando nos experimentos... Colombiana de quem nunca irei me esquecer e que vai me fazer muita falta, uma grande amiga!

BIOGRAFIA

RITA CRISTINA PEREIRA DE FREITAS, filha de Divino de Freitas (in memoriam) e Nair Pereira de Freitas, nascida em Viçosa – Minas Gerais, em 9 de novembro de 1981.

Em março de 2003, iniciou o curso de Engenharia Agrônômica pela Universidade Federal de Viçosa (UFV), onde foi bolsista de Iniciação Científica do PIBIC/CNPq no laboratório de Acarologia na Entomologia, durante o período de agosto de 2006 a agosto de 2007. Também foi bolsista da FAPEMIG no laboratório de Entomologia do Centro Tecnológico da Zona da Mata (CTZM), da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG) durante o ano de 2008, graduando-se Engenheira Agrônoma em janeiro de 2009.

Em março de 2009, iniciou o curso de mestrado pelo programa de Pós-Graduação em Entomologia na Universidade Federal de Viçosa, sob orientação da Prof^ª. Lêda Rita D' Antonino Faroni, submetendo-se à defesa de tese em 16 de março de 2011.

ÍNDICE

RESUMO	ix
ABSTRACT	xi
1. INTRODUÇÃO	1
2. MATERIAL E MÉTODOS	6
2.1. Populações de <i>Sitophilus zeamais</i>	6
2.2. Óleo essencial de mostarda (Isotiocianato alilo)	6
2.3. Curvas de concentração-mortalidade	7
2.4. Caminhamento	8
2.5. Bioensaios de atividade de voo	9
2.6. Taxa instantânea de crescimento populacional (ri)	9
2.7. Taxa respiratória e massa corpórea	10
2.8. Análises estatísticas	11
3. RESULTADOS	12
3.1. Curvas de concentração-mortalidade	12
3.2. Caminhamento	14
3.3. Bioensaios de atividade de voo	17
3.4. Taxa instantânea de crescimento populacional (ri)	19
3.5. Taxa respiratória e massa corpórea	19

4. DISCUSSÃO	21
5. CONCLUSÕES	24
6. REFERÊNCIAS	25

RESUMO

FREITAS, Rita Cristina Pereira de, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2011. **Toxicidade do óleo essencial de mostarda sobre populações de *Sitophilus zeamais***. Orientadora: Lêda Rita D'Antonino Faroni. Co-orientadores: Raul Narciso Carvalho Guedes e Eliseu José Guedes Pereira.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a toxicidade do óleo essencial de mostarda (OEM) para adultos de cinco populações de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) e verificar a influência do óleo essencial sobre o comportamento locomotor dos insetos. Foi utilizado OEM com 90% do componente volátil Isotiocianato alilo (ITCA), diluído em óleo de soja, na proporção de 1:9 v/v, para obter solução oleosa de 9% de ITCA. O OEM foi aplicado em papel-filtro colocado em placas de Petri (5,0 cm diâmetro), que foram cobertas com organza e colocadas no interior de frascos de vidro de 0,8 L, aos quais foram acrescentados posteriormente 50 insetos adultos. Os frascos foram mantidos fechados por 48h. Utilizou-se o OEM em concentrações variando de 1,2 a 2,8 $\mu\text{L L}^{-1}$. As populações de *S. zeamais* utilizadas foram Abre Campo, Machado, Paracatu, Piracicaba e Tunápolis. Avaliou-se a toxicidade do OEM por meio da estimativa das concentrações letais (CL) para 50 (CL₅₀) e 95% (CL₉₅) dos insetos adultos. As CL₅₀ e CL₉₅ foram usadas para calcular as respectivas razões de toxicidade. Foram avaliadas também as características comportamentais de caminamento: distância percorrida, velocidade de caminamento, tempo de repouso e número de paradas, bem como as características de voo como número de decolagens e altura de voo dos insetos. Adicionalmente, foram avaliadas as taxas instantâneas de crescimento populacional (ri), as taxas respiratórias (produção de CO₂) e massa corpórea para todas as populações. A população padrão de susceptibilidade foi a da cidade de Piracicaba, pois apresentou menor CL₅₀ (1,49 $\mu\text{L L}^{-1}$). Esta concentração foi utilizada para todos os bioensaios tratados com o OEM, exceto para a taxa instantânea de crescimento populacional, em que não se utilizou o tratamento

com OEM. A população de Paracatu foi a que apresentou maior CL_{50} ($2,97 \mu\text{L L}^{-1}$) e CL_{95} ($6,82 \mu\text{L L}^{-1}$), enquanto Machado foi a população que apresentou menor CL_{95} ($2,16 \mu\text{L L}^{-1}$). A razão de toxicidade com base na CL_{50} variou entre 1,08 e 1,99 vezes, e entre 0,76 e 2,42 vezes baseada na CL_{95} . As inclinações das curvas de concentração-mortalidade variaram entre as populações, sendo menor ($4,56 \pm 0,72$) para a população de Paracatu e maior ($13,14 \pm 0,75$) para a de Tunápolis. Não houve diferença significativa na distância percorrida entre os tratamentos com OEM e controle, nem entre as populações. No entanto, o tempo de repouso dos insetos foi reduzido pelo tratamento com OEM em todas as populações. Para os outros padrões comportamentais de caminhada (velocidade de caminhada e número de paradas), de voo (altura de voo e número de decolagens), taxa respiratória e de massa corpórea, houve diferença apenas entre as populações, não diferindo quando na presença ou ausência do OEM. Com isso, conclui-se que o OEM foi tóxico para as cinco populações de *S. zeamais* e que este óleo não promoveu grandes alterações no comportamento locomotor dos insetos. Diferentes padrões comportamentais, respiratórios e de massa corpórea foram observados nas populações de *S. zeamais*, porém com uniformidade de resposta ao óleo de mostarda, sendo que estas diferenças devem ser inerentes à constituição genética das populações.

ABSTRACT

FREITAS, Rita Cristina Pereira de, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, March 2011. **Toxicity of mustard essential oil to populations of *Sitophilus zeamais***. Adviser: Leda Rita D'Antonino Faroni. Co-advisers: Raul Narciso Carvalho Guedes and Eliseu Jose Guedes Pereira.

The aim of this study was to evaluate the toxicity of the essential oil of mustard (EOM) for adults of five populations of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) and the influence of the essential oil on the locomotory behavior of the populations. EOM was used with 90% of allyl isothiocyanate volatile component (ITCA), diluted in soybean oil at 1:9 v/v to obtain a 9% solution of ITCA. EOM was applied on filter paper placed in Petri dishes (5.0 cm diameter). The dishes were covered with organza and placed inside glass jars of 0.8 L, and 50 adult insects were transferred to the jars, which were kept closed for 48 hours. EOM was used at concentrations ranging from 1.2 to 2.8 $\mu\text{L L}^{-1}$. The *S. zeamais* populations used were from Abre Campo, Machado, Paracatu, Piracicaba and Tunápolis. The toxicity of EOM was evaluated by determining the lethal concentrations (CL) to 50 (LC₅₀) and 95% (LC₉₅) of adult insects, which were then used to estimate the toxicity ratio. The following locomotory behavioral parameters were studied: walked distance, walking velocity, resting time, and number of stops, as well as the number of takeoffs and flying height of the insects. Additionally, the instantaneous rates of increase (ri), the respiration rate (CO₂ production) and body mass were evaluated for all populations. The most susceptible population to EOM was Piracicaba for which the lowest LC₅₀ was obtained (1.49 $\mu\text{L L}^{-1}$). This concentration was used for all the other assays treated with EOM, except the instantaneous rate of population growth, which had no EOM treatment. The Paracatu population showed the highest LC₅₀ (2.97 $\mu\text{L L}^{-1}$) and LC₉₅ (6.82 $\mu\text{L L}^{-1}$) while Machado showed the lowest LC₉₅ (2.16 $\mu\text{L L}^{-1}$). The toxicity ratio based on the LC₅₀ ranged from 1.08 to 1.99 times, and from 0.76 and 2.42 times based on the LC₉₅. The slopes of the concentration-

mortality curves varied among the populations from 4.56 ± 0.72 (Paracatu) to 13.14 ± 0.75 (Tunápolis). The distance walked did not significantly differ between insects treated with EOM and control or among populations. However, regardless of the population, the resting time of the insects was reduced by treatment with EOM. The other walking parameters (walking velocity and number of stops), flight parameters (flying height and number of takeoffs), respiratory rate, and body mass, the only varied among the populations, but no difference existed for insects exposed or not exposed to EOM. In conclusion, the EOM was toxic to the five populations of *S. zeamais* and did not promote major changes in the locomotory behavior of the insects. Different locomotory behavioral patterns, respiratory rate, and body mass were observed in the *S. zeamais* populations, but with uniform response to mustard oil; these differences should be inherent to the genetic make up of the populations.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos maiores produtores mundiais de grãos, segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) e da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB). A estimativa de produção para a safra de 2010/2011 é de 149,09 milhões de toneladas para o ciclo 2010/2011. O milho e a soja destacam-se com de cerca de 50 e 69 milhões de toneladas produzidas por ano, respectivamente (CONAB, 2011).

O milho (*Zea mays* L.) é utilizado principalmente na alimentação humana e animal, bem como na produção industrial de amido, óleo, farinha, glicose, produtos químicos, ração animal e na elaboração de formulações alimentícias (Pinazza, 1993). No entanto, o armazenamento destes grãos é feito de forma inadequada, ocorrendo, durante o armazenamento, perdas de natureza quantitativa e qualitativa (Lorini, 2003). Estas perdas são causadas principalmente por métodos incorretos de armazenagem, estruturas de armazenamento impróprias e ataques de pragas.

No armazenamento de grãos, uma das pragas mais destrutivas é *S. zeamais* Motschulsky, 1855 (Coleoptera: Curculionidae) conhecido popularmente como gorgulho-do-milho. *S. zeamais* é uma praga de importância primária por atacar grãos intactos, sendo encontrada em todas as regiões quentes e tropicais do mundo. Apresenta infestação cruzada, ou seja, tem capacidade de infestar grãos tanto no campo quanto no armazenamento, além de elevado potencial biótico. É uma praga polifágica, atacando produtos como trigo, arroz, milho, cevada e triticales (Pacheco & Paula, 1995; Faroni e Sousa, 2006; Lorini, 2008). Os adultos de *S. zeamais* são insetos de 3 mm de comprimento, coloração castanho-escura com quatro manchas avermelhadas nos élitros bastante visíveis logo após a emergência, cabeça prolongada para frente com rostro recurvado onde se inserem as peças bucais, pronoto fortemente pontuado e élitros são densamente estriados (Ress, 1996). A postura é feita individualmente nos grãos, em

pequenos orifícios feitos pelas fêmeas com a mandíbula, os quais são fechados logo após a oviposição com uma substância gelatinosa secretada pela fêmea (Cotton & Wilbur, 1974; Evans, 1981). Após a eclosão, a larva se alimenta do interior dos grãos e completa seu estágio larval (quatro ínstaes) dentro do próprio grão, empupando-se a seguir e culminando com a emergência do adulto no seu interior (Loeck, 2002). O ciclo de vida do *S. zeamais* é de aproximadamente 35 dias a uma temperatura de 27 °C e umidade relativa de 70%.

Atualmente, o controle dos insetos-praga de grãos e subprodutos é feito por meio do uso de inseticidas protetores (piretróides e organofosforados) e fumigantes em que o princípio ativo é a fosfina (fosfeto de alumínio) (Guedes, 1991; White & Leesch, 1996). No entanto, o uso contínuo e indiscriminado destes inseticidas tem favorecido a seleção de populações resistentes (Pimentel et al., 2009), tornando este método pouco eficaz, além de causar riscos à saúde humana e ao meio ambiente. Desta forma, torna-se necessário o desenvolvimento de pesquisas visando à obtenção de métodos alternativos para o controle deste inseto durante o armazenamento, entre os quais se destaca o uso de óleos essenciais e extratos de origem vegetal (Papachristos & Stamopoulos, 2004; Isikber et al., 2006; Mondal & Khalequzzaman, 2006).

Os óleos essenciais são misturas complexas de compostos orgânicos constituídos por hidrocarbonetos (terpenos e sesquiterpenos) e outros compostos orgânicos (álcoois, ésteres, éteres, aldeídos, cetonas, lactonas, fenóis éteres óxidos, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos, lactonas, cumarinas, enxofre) (Guenther, 1972; Simões e Spitzer, 1999; Isman, 2008). Geralmente são substâncias voláteis, solúveis em solventes orgânicos, apresentam-se na forma líquida, com coloração amarela ou incolor, sabor ácido e picante. Constituem matéria-prima de grande importância para a indústria cosmética, farmacêutica e alimentícia (Pechácek et al., 1997; Mondal & Khalequzzaman, 2006; Bakkali et al., 2008). São produzidos pelas plantas como

compostos secundários, encontrados em maior quantidade na casca, flores, folhas, rizomas e sementes (Araújo, 1995), e estocados em células secretoras, cavidades, canais, células epidérmicas ou tricomas glandulares (Pichersky et al., 2006).

Várias famílias de plantas produzem óleos essenciais com potencial fumigante, sendo que a família das brassicáceas apresenta grande importância, com destaque para algumas espécies de mostarda, tais como *Brassica nigra* (mostarda-preta), *B. juncea* (mostarda-parda ou indiana), *B. rapa* (nabo), *B. oleracea* (couve, couve-flor, repolho, brócolis) *Armoracia rusticana* (raiz-forte ou rábano bastardo) e *Wasabia japonica* (raiz-forte japonesa). O processo de extração dos óleos essenciais destas plantas pode ser por meio da destilação a vapor ou extração por solvente (Rajendran & Sriranjini, 2008), ou ainda produzido sinteticamente. O óleo essencial de mostarda apresenta como principal composto o isotiocianato alilo (ITCA), constituindo entre 70 e 90% dependendo da cultivar e das práticas agronômicas utilizadas durante o cultivo (Mayton et al., 1996; Hara et al., 2003; Saniewska et al., 2004). O isotiocianato é produzido pelas plantas naturalmente a partir de glucosinolatos (Kirkegaard et al., 1996; Morra & Kirkegaard, 2002; Smith et al., 2004; Njoroge et al., 2008). Os glucosinolatos são compostos sulfúricos formados por um grupo β -D-tioglicosídico e uma cadeia de radicais carbonos variável (grupo -R). Da reação de hidrólise dos glucosinolatos (Figura 1) em pH 7, catalisada por uma enzima endógena conhecida por mirosinase (β -tioglicosidase glucohidrolase), resultam vários compostos (Zanada & Ferris, 2003; Rouzaud et al., 2004), dentre os quais o ITCA ($\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{N}=\text{C}=\text{S}$), nitrilas e tiocianatos (Mayton et al., 1996).

mais susceptíveis que as larvas do terceiro ínstar e, as pupas são mais resistentes ao óleo essencial de mostarda. No entanto, não constam na literatura informações a respeito das respostas comportamentais apresentadas pelos insetos na presença deste composto. A maioria dos estudos que vêm sendo realizados é para verificar o efeito letal dos inseticidas, sendo que poucos são relacionados com a mudança de comportamento dos insetos quando expostos aos inseticidas (Kongmee et al., 2004; Desneux et al., 2007) ou aos óleos essenciais.

Alterações no comportamento dos insetos podem ser resultantes de diferentes intensidades ou prolongada exposição a um determinado estímulo (Baatrup & Bayley, 1993). Com o uso de inseticidas, pode ocorrer modificação na atividade locomotora do inseto, devido à sua capacidade de perceber e evitar os efeitos letais de substâncias químicas (Guedes et al., 2008). A mudança do comportamento dos insetos pode afetar a eficiência dos inseticidas, promovendo variação na locomoção do inseto por caminamento ou por voo (Guedes et al., 2008). O conhecimento dos padrões do metabolismo intermediário dos insetos também é importante para se entender o comportamento locomotor em ambientes tratados com inseticidas (Oliveira et al., 2007; Pereira et al., 2009; Silva et al., 2010), assim como tratados com óleos essenciais. A taxa respiratória e a massa corporal dos insetos podem representar a soma das demandas energéticas dos processos fisiológicos necessários para produzir mecanismos de defesa contra inseticidas (Guedes et al., 2006; Sousa et al., 2008).

Estudos para diagnosticar o grau de toxicidade e caracterizar mudanças de comportamento dos insetos devido à presença de inseticidas botânicos, com potencial de utilização, são essenciais para a elaboração das estratégias de manejo de pragas. Deste modo, o presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar a toxicidade e as respostas comportamentais de insetos adultos de *S. zeamais* de diferentes populações submetidos à exposição do óleo essencial de mostarda.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Populações de *Sitophilus zeamais*

Os insetos foram obtidos de cinco populações coletadas entre 2004 e 2006, provenientes de cinco cidades, nos estados de Minas Gerais (MG), Santa Catarina (SC) e São Paulo (SP) (Figura 2 e Tabela 1), as quais são mantidas no Laboratório de Manejo Integrado de Pragas (MIP-Grãos) do Departamento de Engenharia Agrícola (DEA) da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Duas destas populações - Machado e Paracatu - são resistentes à fosfina, com razão de toxicidade (RT_{50}) de 24,53 e 53,11 vezes, respectivamente (Pimentel et al., 2009).

A criação das populações foi iniciada com 50 adultos de *S. zeamais*, mantidos em frascos de vidro de 1,5 L, em uma sala climatizada, sob temperatura de 27 ± 2 °C, 24 h de escotofase e $75\pm 5\%$ de UR, sendo utilizados grãos de milho como substrato alimentar com teor de água de 13% base umidade (b.u.).

Tabela 1. Procedência das populações de *Sitophilus zeamais*.

Código	Cidade	Estado (Abreviação)	Local de coleta	Produto	Mês/Ano
1	Abre Campo	Minas Gerais (MG)	Silo metálico	Milho	Dez/2005
2	Machado	Minas Gerais (MG)	Indústria de alimentos	Milho	Jul/2005
3	Paracatu	Minas Gerais (MG)	Silo metálico	Milho	Dez/2006
4	Piracicaba	São Paulo (SP)	Laboratório	Milho	Ago/2004
5	Tunápolis	Santa Catarina (SC)	Paio/Sacaria	Milho	Mai/2005

2.2. Óleo essencial de mostarda (Isotiocianato alilo)

Nos ensaios, foi utilizado óleo essencial de mostarda (OEM) sintético, com 90% do componente volátil isotiocianato alilo (ITCA), fornecido pela Clínica de Doenças de Plantas da UFV. Antes da sua utilização, o OEM foi diluído em óleo de soja, na proporção de 1:9 v/v, para obter solução oleosa de 9 % de ITCA.

2.3. Bioensaios de Toxicidade

Inicialmente, foram realizados testes preliminares para estimar as concentrações que causam mortalidade de 50% (CL₅₀) e 95% (CL₉₅) dos insetos das diferentes populações. Com base nos dados obtidos, foram estabelecidos, para cada população, de cinco a seis intervalos de concentração para os bioensaios definitivos.

Os bioensaios foram realizados em frascos de vidro de 0,8 L de capacidade (8 cm diâmetro x 15 cm altura). As concentrações utilizadas variaram entre 1,2 a 2,8 $\mu\text{L L}^{-1}$ com intervalos de 0,4 $\mu\text{L L}^{-1}$. Essas concentrações foram estabelecidas a partir de estudos prévios realizados por Costa et al. (2006) e de testes preliminares. O OEM foi aplicado com o auxílio de uma microsseringa Hamilton[®] (25 μL) em um recorte de papel-filtro de 2,25 cm², colocado em placas de Petri (5,0 cm diâmetro x 1,0 cm altura). Em seguida, as placas foram acondicionadas na base dos frascos de vidro. Para evitar o contato direto dos insetos com o óleo, as placas foram cobertas com tecido do tipo organza.

Posteriormente à distribuição dos insetos, os frascos foram fechados por uma tampa metálica rosqueável e vedados com borracha de silicone Orbi química[®] (Leme, São Paulo, Brasil) durante o período de exposição ao OEM, 48 h. Para cada concentração avaliada, foram utilizadas quatro repetições, cada uma com 50 insetos adultos não sexados das populações. O tratamento controle foi realizado de modo semelhante, porém os insetos foram expostos apenas ao óleo de soja. Após a exposição ao OEM e ao óleo de soja, os insetos foram retirados dos frascos e colocados em placas de Petri (9 cm diâmetro x 1 cm altura), nas quais foram mantidos por 24 h em câmara climatizada, sob temperatura de 27 ± 2 °C, 24 h de escotofase e $75\pm 5\%$ de UR. Após este período, contabilizou-se o número de insetos mortos. Os insetos eram considerados mortos quando não respondiam ao estímulo com toque de um pincel.

2.4. Caminhamento

Os bioensaios de caminhamento foram realizados em sala climatizada (27 ± 2 °C), utilizando os métodos adaptados em conformidade com Watson et al. (1997), Guedes et al. (2009a), Pereira et al. (2009) e Sousa et al. (2010). O caminhamento dos insetos adultos, não sexados, foi observado, individualmente, durante dez minutos em arenas com tampa confeccionadas de acrílico (3,5 cm de altura x 15 de largura), com um orifício em sua lateral de 0,8 cm de diâmetro. Neste orifício foi colocado um tubo plástico descartável de 0,7 cm de diâmetro x 3 cm de comprimento, tampado em uma das extremidades. No interior do tubo plástico, foi colocado um papel filtro dobrado ao meio (0,7 cm largura x 5 cm comprimento) para a aplicação do OEM. As paredes das placas foram revestidas com Teflon® PTFE (DuPont, São Paulo, Brasil) para evitar a fuga dos insetos. A tampa da placa foi vedada com vasilina para evitar o escape do OEM.

Com o auxílio de uma microseringa Hamilton® (25 µL), foi aplicado 1,49 µL L⁻¹ de OEM, a menor concentração subletal das populações, determinada nos bioensaios de toxicidade. No tratamento controle, foi utilizado o mesmo procedimento usando apenas óleo de soja. Cada inseto adulto foi colocado individualmente no centro da arena um minuto antes do início dos testes, para que ocorresse a saturação da câmara com o OEM e para que o inseto fizesse o reconhecimento da arena. Foram utilizadas 20 repetições para cada população. Os movimentos dos insetos dentro da arena foram monitorados por uma câmera de vídeo monocromática ajustada a lentes de aumento, que registra e transfere as imagens digitalmente para um computador acoplado (ViewPoint Life Sciences Inc., Montreal, Canadá). As características avaliadas foram distância percorrida (cm), velocidade de caminhamento (mm s^{-1}), tempo de repouso (s) e número de paradas.

2.5. Bioensaios de atividade de voo

A metodologia utilizada nos bioensaios de voo foi adaptada de Sousa (2010). A iniciação de voo foi realizada em câmaras transparentes (17 cm altura x 15 cm diâmetro) com as paredes internas impregnadas com cola entomológica (Bio Controle, São Paulo). Externamente à câmara de voo, foi colocada uma câmara (25 cm altura x 20,5 cm diâmetro) para evitar o contato direto com a iluminação. Acima deste recipiente plástico, foi acoplada uma lâmpada incandescente de 100 Watts presa a um cone metálico para atrair os insetos.

Dez minutos antes de iniciar os bioensaios, os insetos foram aclimatados em placas de Petri (9 cm diâmetro x 1 cm de altura). As paredes das placas foram revestidas com Teflon® PTFE (DuPont, São Paulo, Brasil) para evitar o escape dos insetos. Em seguida, a placa contendo os insetos foi colocada na parte inferior da câmara, ao lado de uma placa de Petri (5 cm diâmetro x 1 cm de altura) contendo papel-filtro, onde foi feita a aplicação do OEM com uma microseringa Hamilton® (25 µL). Os insetos de todas as populações foram submetidos a concentrações de 1,49 µL L⁻¹. No tratamento controle, aplicou-se, apenas, o óleo de soja. Esta concentração foi determinada baseando-se nos bioensaios de toxicidade. Foram utilizadas quatro repetições, cada uma com 200 insetos adultos não-sexados, com idade variando de uma a quatro semanas, em temperatura de 27±2 °C e umidade relativa de 70±5%. O período de exposição ao OEM foi de 30 minutos. A avaliação do número de insetos que iniciaram voo (decolaram) e a altura de voo foram feitas pela contagem do número de insetos aderidos à parede da câmara.

2.6. Taxa instantânea de crescimento populacional (ri)

Os ensaios de taxa instantânea de crescimento populacional (ri) foram realizados para as cinco populações em delineamento inteiramente casualizado com cinco

repetições. Foram utilizados frascos de vidro com capacidade de 1,5 L (11 diâmetro x 15 altura), com tampa plástica com um furo no centro de 3,5 cm de diâmetro coberto por tecido tipo organza, contendo 250 g de grãos de milho, com teor de umidade 13% b.u., isentos de pragas e inseticidas. Os grãos foram infestados com 20 insetos adultos, não sexados, com idade entre zero e 15 dias. Os frascos com os insetos foram mantidos em câmara climática, a 27 ± 2 °C, (24 h de escotofase), $75\pm 5\%$ de UR. Após 60 dias de armazenamento, foram avaliados o número total de insetos e o peso final da massa de grãos. A taxa instantânea de crescimento dos insetos foi calculada pela equação sugerida por Walthall e Stark (1997).

$$r_i = \frac{\left[\ln \left(\frac{N_f}{N_0} \right) \right]}{\Delta t}$$

Em que:

N_f = Número final de insetos;

N_0 = Número inicial de insetos; e

Δt = Número de dias em que o ensaio foi executado.

2.7. Taxa respiratória e massa corpórea

Os ensaios de respirometria foram realizados utilizando-se um respirômetro do tipo TR3C equipado com um analisador de CO₂ (Sable System International, Las Vegas, EUA), para determinar a produção de dióxido de carbono (CO₂) ($\mu\text{L de CO}_2 \text{ h}^{-1}/\text{inseto}$), pelo uso da metodologia adaptada de Guedes et al. (2006) e Pimentel et al. (2007). Grupos de 20 insetos adultos, não sexados, de todas as populações, foram colocados em placas de Petri (13,5 cm de diâmetro x 2 cm altura) por um período de 10 minutos. Em seguida, estes insetos foram acondicionados em câmaras com capacidade volumétrica de 25 mL. As câmaras foram conectadas a um sistema completamente fechado, em que o CO₂ produzido pelos insetos ($\mu\text{L de CO}_2 \text{ h}^{-1}$) é varrido por um fluxo de ar isento de CO₂. Os insetos foram colocados nas câmaras três horas antes da

mensuração da quantidade de CO₂ produzido por eles. Para fazer a varredura de todo o CO₂ produzido no interior de cada câmara, procedeu-se à passagem de ar isento de CO₂ em fluxo de 600 mL min⁻¹ por um período de dois minutos. O controle foi constituído por câmaras respirométricas sem insetos e foi utilizado para normalizar os dados da taxa respiratória de cada população. Após a mensuração do CO₂, os insetos foram removidos das câmaras e, em seguida, pesados em uma balança analítica (Sartorius BP 210D, Göttingen, Germany). Foram utilizadas cinco repetições para cada população. Os ensaios foram conduzidos em temperatura de 27 ± 2 °C e umidade relativa de 70 ± 5 %.

2.8. Análises estatísticas

Os resultados de mortalidade das curvas de concentração-resposta foram submetidos à análise de probit, utilizando-se o procedimento PROBIT do software SAS (SAS Institute, 2002), gerando assim as curvas de concentração-mortalidade. Para o caminhamento dos insetos, os dados foram submetidos à análise de variância múltipla (MANOVA), e as médias comparadas pelo teste LSD (Least Square difference) ($p < 0,05$), utilizando o procedimento PROC GLM do programa SAS (SAS Institute, 2002). Em seguida, foram realizadas análises de correlação (PROC CORR; SAS Institute, 2002) para estudar a possível relação entre as variáveis distância caminhada, velocidade de caminhamento, tempo de repouso e número de paradas das populações de *S. zeamais*. A atividade de voo, produção de CO₂, massa corpórea e taxa instantânea de crescimento das populações de *S. zeamais* foram submetidas à análise de variância (ANOVA), e as médias comparadas pelo teste LSD (Least Square difference) ($p < 0,05$), utilizando o procedimento PROC GLM do programa SAS (SAS Institute, 2002). Adicionalmente, foram feitas análises de correlação (PROC CORR; SAS Institute, 2002) para estudar a possível relação entre as variáveis massa corpórea e taxa respiratória de *S. zeamais*.

3. RESULTADOS

3.1. Curvas de concentração-mortalidade

Os resultados das curvas de concentração-mortalidade das populações de *S. zeamais* expostas ao OEM são apresentados na Tabela 2. Estas curvas foram utilizadas para identificar a população padrão de susceptibilidade, bem como a toxicidade do OEM para as populações de *S. zeamais*. Dentre as populações avaliadas, a população de Piracicaba foi a que apresentou menor CL_{50} ($1,49 \mu\text{L L}^{-1}$), sendo considerada padrão de susceptibilidade. A população de Paracatu foi a que apresentou maior CL_{50} ($2,97 \mu\text{L L}^{-1}$). A população de Machado foi a que apresentou menor CL_{95} ($2,16 \mu\text{L L}^{-1}$), e a população de Paracatu a maior CL_{95} ($6,82 \mu\text{L L}^{-1}$). A razão de toxicidade (RT) com base na CL_{50} variou entre 1,08 e 1,99 vezes, e a razão de toxicidade baseada na CL_{95} variou entre 0,76 e 2,42 vezes. As inclinações das curvas de concentração-mortalidade variaram entre as populações, sendo menor ($4,56 \pm 0,72$) para a população de Paracatu e maior ($13,14 \pm 0,75$) para a de Tunápolis.

Tabela 2. Toxicidade do óleo essencial de mostarda para as populações de *Sitophilus zeamais*

População	Nº de Insetos	Inclinação (\pm EPM) ¹	CL ₅₀ (95% IC) (μ L L ⁻¹)	RT (95% IC) CL ₅₀	CL ₉₅ (95% IC) (μ L L ⁻¹)	RT (95% IC) CL ₉₅	χ^2	P
Piracicaba-SP ²	900	5,94 (\pm 0,66)	1,49 (1,29 - 1,65)	-	2,82 (2,44 - 3,72)	-	7,34	0,06
Machado-MG ³	900	13,07 (\pm 0,74)	1,61 (1,58 - 1,65)	1,08 (1,00 - 1,16)	2,16 (2,08 - 2,24)	0,76 (0,68 - 0,86)	6,02	0,11
Abre Campo-MG	700	9,95 (\pm 0,59)	1,96 (1,91 - 2,02)	1,32 (1,22 - 1,42)	2,87 (2,74 - 3,04)	1,02 (0,90 - 1,15)	4,63	0,20
Tunápolis-SC	950	13,14 (\pm 0,75)	2,01 (1,97 - 2,05)	1,35 (1,25 - 1,45)	2,68 (2,60 - 2,79)	0,95 (0,84 - 1,07)	3,30	0,35
Paracatu- MG ³	800	4,56 (\pm 0,72)	2,97 (2,52 - 4,46)	1,99 (1,71 - 2,32)	6,82 (4,52 - 22,95)	2,42 (1,63 - 3,59)	6,99	0,07

¹E.P.M.=Erro padrão da média; ²População padrão de susceptibilidade; ³População resistente à fosfina; CL=Concentração letal; IC 95%= Intervalo de confiança 95% de probabilidade; RT=Razão de toxicidade para CL₅₀ e CL₉₅; χ^2 =Qui-quadrado; e P=Probabilidade.

3.2. Caminhamento

Através da MANOVA, foi observado que o comportamento de caminhamento dos insetos foi influenciado significativamente pelo tratamento com óleo essencial de mostarda (Wilk's Lambda=0,93; F=3,64; $df_{num/den}= 4/187$; P=0,007); também ocorreu diferença significativa entre as populações (Wilk's Lambda=0,77; F=3,27; $df_{num/den}=16/571,93$; P<0,0001). Adicionalmente, observou-se interação significativa entre os tratamentos com OEM e controle e as populações de *S. zeamais* (Wilk's Lambda=0,78; F=3,01; $df_{num/den}=16/571,93$; P<0,0001).

Na Tabela 3, pode-se observar que a distância caminhada (mm) pelos insetos não variou significativamente entre os tratamentos com OEM e controle, e entre as populações estudadas. Também não houve interação significativa entre os tratamentos com OEM e controle x populações. Para o tempo de repouso dos insetos, ocorreu diferença significativa apenas entre tratamentos com OEM e controle ($F_{1,190}=5,47$; P=0,02), apresentando maiores valores no tratamento controle (Figura 2). Já para a velocidade de caminhamento dos insetos, houve diferença significativa entre as populações ($F_{4,190}=2,79$; P=0,03), com maiores valores para as populações de Abre Campo, Tunápolis e Machado (Figura 3). Entre a interação tratamentos com OEM e controle x população ($F_{4,190}=5,20$; P=0,001) também houve diferença significativa (Figura 4). Para o número de paradas, somente foi detectada variação significativa entre as populações ($F_{4,190}=3,32$; P=0,01), sendo que as populações de Tunápolis, Piracicaba e Paracatu apresentaram maiores valores (Figura 5).

Tabela 3. Resumo da análise de variância da distância percorrida (mm), velocidade de caminhamento (mm s^{-1}), tempo de repouso(s) e número de paradas de *Sitophilus zeamais* fumigado com $1,49 \mu\text{L L}^{-1}$ de OEM.

Fonte de Variação	Distância		Tempo de Repouso		Velocidade		Número de Paradas	
	F	P	F	P	F	P	F	P
Tratamento (A)	0,41	0,52	5,47	0,02	2,47	0,12	0,03	0,86
População (B)	1,12	0,35	0,89	0,47	2,79	0,03	3,32	0,01
Interação (A x B)	1,29	0,28	0,46	0,76	5,2	0,001	0,88	0,47

* Os parâmetros foram significativos a $P<0,05$ pelo teste LSD

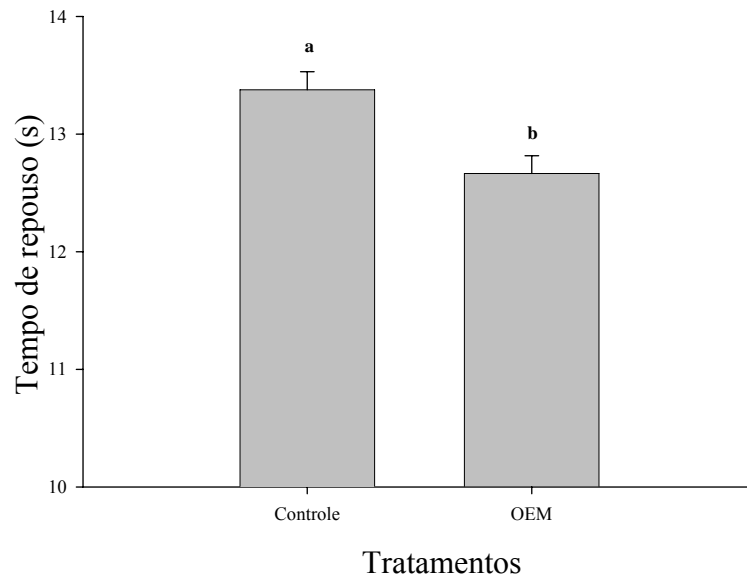


Figura 2. Tempo de repouso (\pm E.P.M.) dos indivíduos das populações de *S. zeamais* submetidos a arenas fumigadas com $1,49 \mu\text{L L}^{-1}$ de OEM e sem OEM durante 10 min. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre as populações pelo teste LSD ($P < 0,05$).

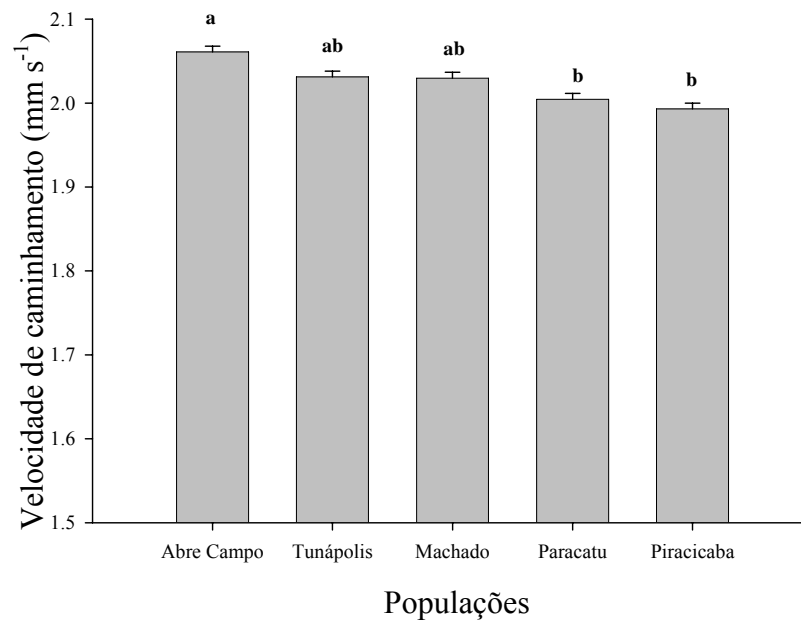


Figura 3. Velocidade de caminamento (\pm E.P.M.) dos indivíduos das populações de *S. zeamais* submetidos a arenas fumigadas com $1,49 \mu\text{L L}^{-1}$ de OEM e sem OEM durante 10 min. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre as populações pelo teste LSD ($P < 0,05$).

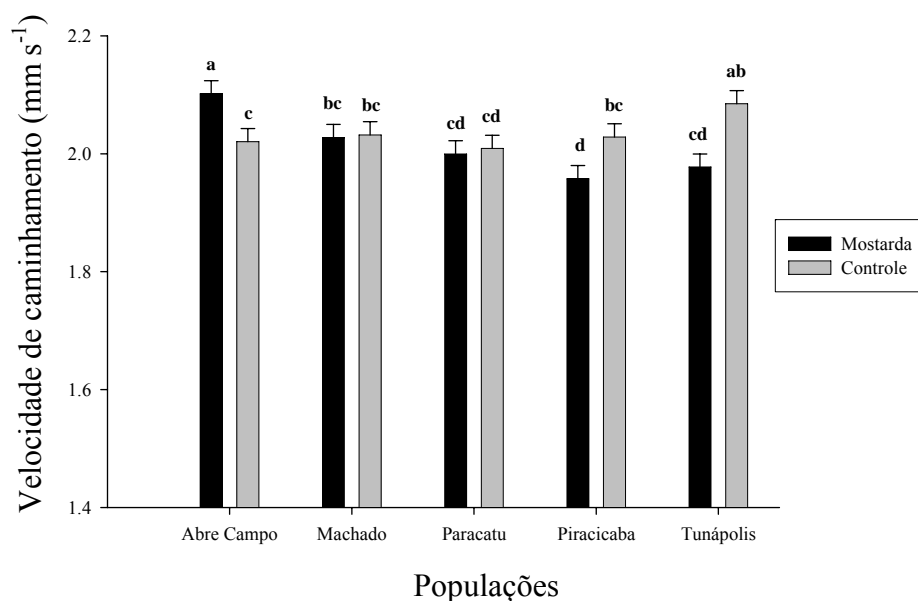


Figura 4. Velocidade de caminhamento (\pm E.P.M.) dos indivíduos das populações de *S. zeamais* submetidos a arenas fumigadas com $1,49 \mu\text{L L}^{-1}$ de OEM e sem OEM durante 10 min. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre as populações pelo teste LSD ($P < 0,05$).

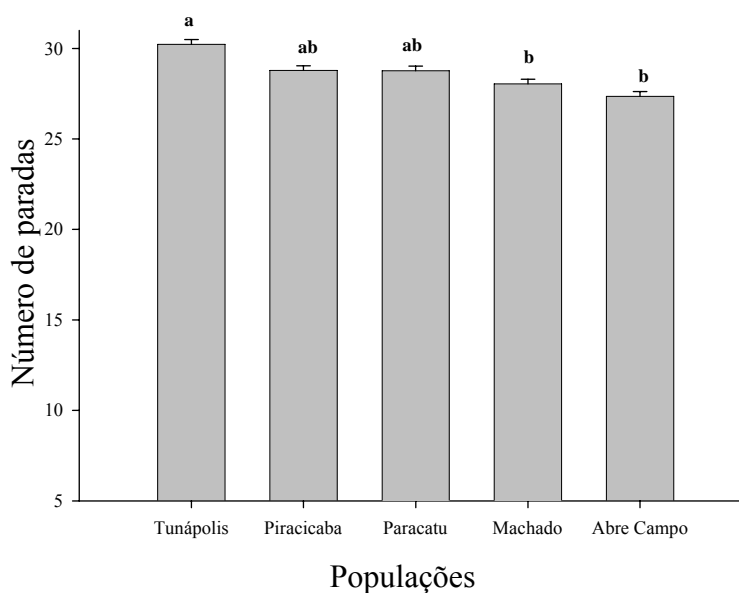


Figura 5. Número de paradas (\pm E.P.M.) dos indivíduos das populações de *S. zeamais* submetidos a arenas fumigadas com $1,49 \mu\text{L L}^{-1}$ de OEM e sem OEM durante 10 min. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre as populações pelo teste LSD ($P < 0,05$).

3.3. Bioensaios de atividade de voo

A altura de voo apresentou diferença significativa ($F_{4,1119}=7,03$; $P<0,0001$) entre as populações de *S. zeamais*, no entanto não foi verificada diferença significativa entre o tratamento com o OEM e o controle ($F_{1,1119}=0,34$; $P=0,56$), bem como a interação tratamento com OEM e controle x populações ($F_{4,1119}=0,46$; $P=0,77$). A altura de voo de *S. zeamais* variou de 3,60 ($\pm 0,68$) a 6,73 ($\pm 0,21$) (cm) para Paracatu e Abre Campo, respectivamente. Na figura 6, estão representados os valores médios da altura de voo (tratamento com OEM + controle) dos insetos para cada população. A população de Abre Campo apresentou altura de voo significativamente maior que as demais, sendo seguida pelas populações de Machado, Piracicaba e Tunápolis, as quais não diferiram entre si. A população de Paracatu foi a que apresentou menor altura de voo, diferindo significativamente das demais.

Observou-se que o número de decolagens também apresentou diferença significativa ($F_{4,30}=8,66$; $P<0,0001$) entre as populações, porém não foi verificada diferença significativa entre o tratamento com o OEM e o controle ($F_{1,30}=0,43$; $P=0,52$) e a interação tratamento com OEM e controle x populações ($F_{4,30}=1,34$; $P=0,28$). Na figura 7, estão representados os valores médios do número de insetos de *S. zeamais* que iniciaram voo (decolagem) nos tratamentos com OEM e controle. A população de Abre Campo apresentou maiores valores no número de decolagens, não diferindo das populações de Tunápolis e Machado, e estas duas últimas não diferiram significativamente da população de Piracicaba. A população de Paracatu diferiu significativamente das demais populações apresentando menores valores.

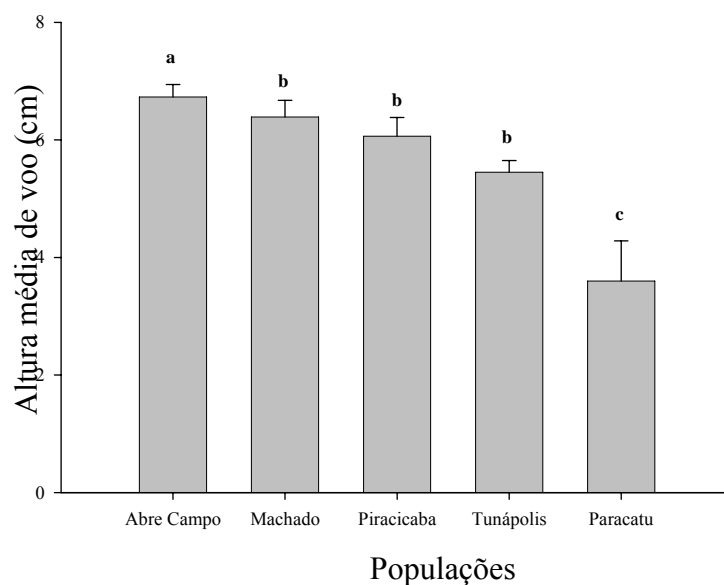


Figura 6. Altura média de voo de adultos de diferentes populações de *S. zeamais*. Os resultados foram obtidos pela média da altura de voo dos insetos de cada população no tratamento com OEM + controle. Médias agrupadas com mesma letra não diferem entre as populações pelo teste LSD ($P < 0,05$).

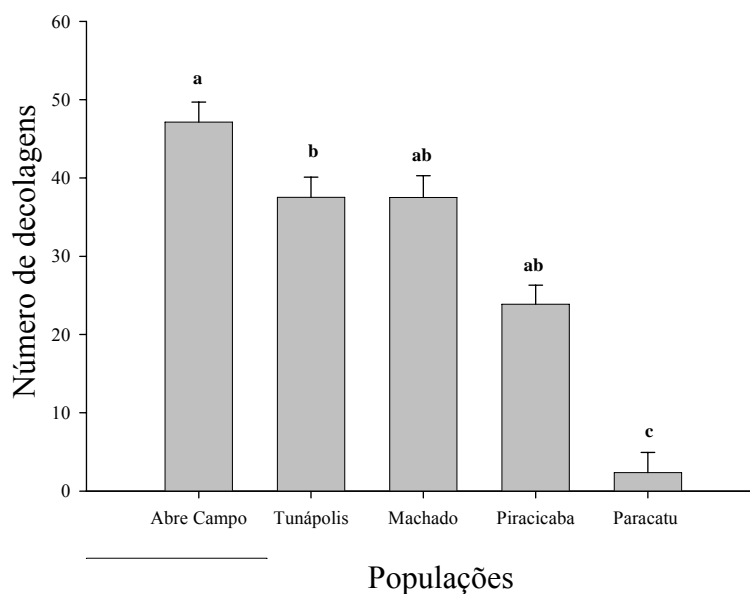


Figura 7. Número de decolagens de adultos de diferentes populações de *S. zeamais*. Os resultados foram obtidos pela média de decolagens dos insetos de cada população no tratamento com OEM + controle. Médias agrupadas com mesma letra não diferem entre as populações pelo teste LSD ($P < 0,05$).

3.4. Taxa instantânea de crescimento populacional (ri)

A análise de variância univariada não detectou diferença significativa para a taxa instantânea de crescimento (ri) entre as populações ($0,035 \pm 0,002$ g/dia) ($F_{4,20}=1,30$; $P=0,30$) e para a perda de massa dos grãos ($13,30 \pm 0,74$ g/dia) ($F_{4,20}=1,96$; $P=0,14$).

3.5. Taxa respiratória e massa corpórea

A taxa respiratória variou significativamente entre as populações ($F_{4,40}=4,20$; $P=0,0062$). Porém, não houve variação significativa entre o tratamento com OEM e o controle ($F_{1,40}=1,25$; $P=0,27$) e entre tratamento x população ($F_{4,40}=0,14$; $P=0,97$). A população de Tunápolis apresentou maiores valores na produção de CO₂ (Figura 8), não diferindo das populações de Abre Campo e Piracicaba. E estas duas últimas populações não diferiram significativamente da população de Paracatu e Machado. Para a massa corpórea dos insetos, também ocorreu variação significativa entre as populações ($F_{4,40}=10,06$; $P<0,0001$) e entre a interação tratamento x população ($F_{4,40}=20,74$; $P<0,0001$), porém entre o tratamento com OEM e controle não ocorreu variação significativa ($F_{1,40}=0,14$; $P=0,71$). As populações de Abre Campo, Piracicaba, e Tunápolis apresentaram maior massa corpórea que as demais, não diferindo entre si para este parâmetro (Figura 9). Não houve correlação significativa entre a massa corpórea e a taxa respiratória no tratamento com o OEM ($n=5$; $r=0,44$; $P=0,46$), assim como no controle ($n=5$; $r=0,68$; $P=0,21$).

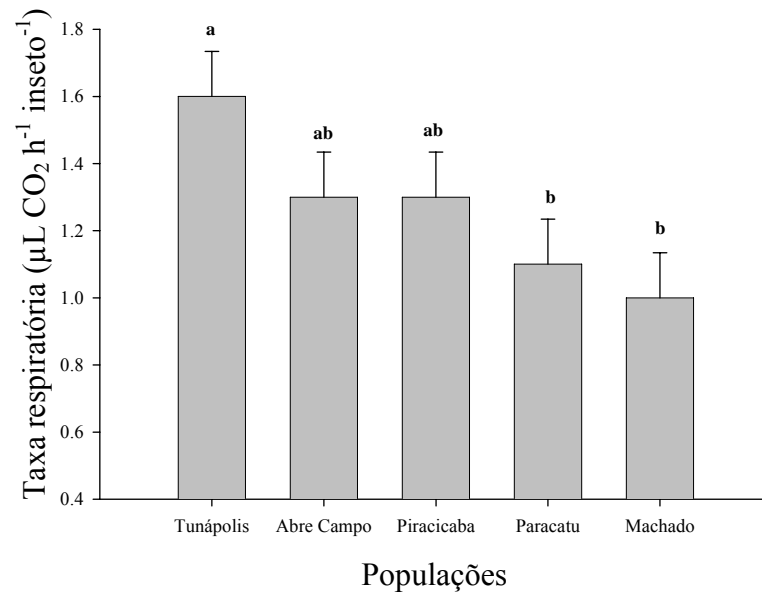


Figura 8. Produção de CO₂ (± E.P.M.) por indivíduo das populações de *S. zeamais*. Os resultados foram obtidos pela média da taxa respiratória dos insetos de cada população no tratamento com OEM + controle. Médias agrupadas com mesma letra não diferem entre as populações pelo teste LSD ($P < 0,05$).

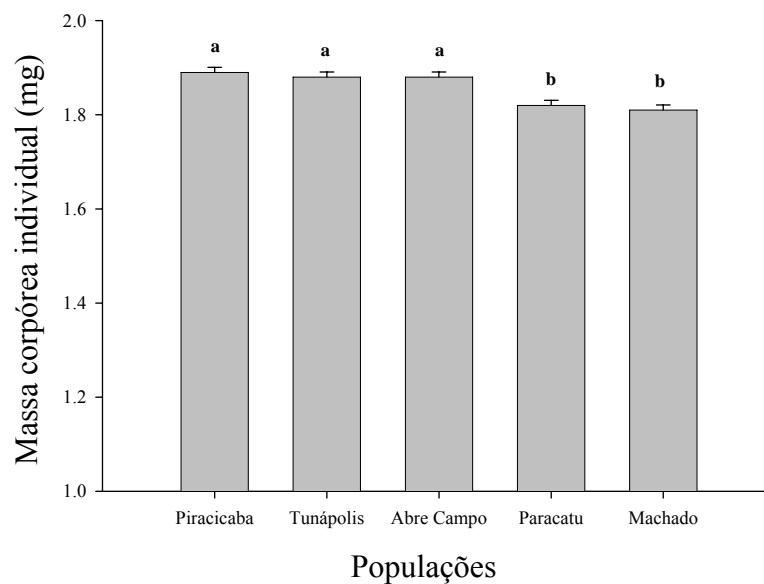


Figura 9. Massa (± E.P.M.) por indivíduo das populações de *S. zeamais*. Os resultados foram obtidos pela média da massa dos insetos de cada população no tratamento com OEM + controle. Médias agrupadas com mesma letra não diferem entre as populações pelo teste LSD ($P < 0,05$).

4. DISCUSSÃO

Todas as populações de *S. zeamais* avaliadas apresentaram uniformidade de resposta em relação à toxicidade do OEM (Tabela 2), assim como verificado para populações de *T. castaneum* em estudo anterior (Santos et al., 2011). As inclinações das curvas de concentração-mortalidade variaram entre as cinco populações. Inclinações maiores indicam resposta mais homogênea ao OEM, implicando que pequenas variações na concentração do óleo irão provocar maiores variações de mortalidade nestas populações (Atkins et al., 1973). A população de Piracicaba, que não apresentou resistência à fosfina (Pimentel et al., 2009), apresentou menor razão de toxicidade ao OEM, demonstrando uma maior suscetibilidade aos compostos voláteis do óleo essencial. Já a população de Paracatu, que já havia demonstrado resistência à fosfina (Pimentel et al., 2007), apresentou maior razão de toxicidade ao OEM. Estes resultados sugerem que populações resistentes à fosfina possam ter desenvolvido mecanismos de defesa contra os efeitos deletérios de outros fumigantes, neste caso o AITC.

No tratamento com o OEM, assim como no tratamento controle, os padrões de comportamento (tempo de repouso, número de paradas, altura de voo e número de decolagens) das cinco populações apresentaram modificações. Resultados semelhantes foram encontrados por Sousa (2010) utilizando as mesmas populações, tendo observado diferentes padrões comportamentais (distância percorrida, tempo de repouso e velocidade de caminamento) para populações de *S. zeamais* na presença do gás ozônio. Estes resultados demonstram que existe plasticidade fenotípica diferenciada para os parâmetros estudados em resposta ao ambiente. A plasticidade fenotípica é uma característica comum a quase todos os organismos (Stillwell et al., 2010) e consiste na habilidade do organismo de mudar uma ou mais características do seu fenótipo em resposta a uma mudança no ambiente (Silvertown, 1998; West-Eberhard, 2008). Essas respostas podem ser extremamente imediatas, mas também podem ocorrer em um longo

prazo após o estímulo inicial ter ocorrido (Silvertown, 1998) e estão associados aos processos sensoriais dos insetos (Haynes, 1988; Hoy et al., 1998; Desneux, 2007).

O tempo de repouso das populações de *S. zeamais* foi maior no tratamento controle em relação às populações tratadas com OEM, indicando que indivíduos na presença do OEM apresentaram aumento da atividade locomotora. Isso se deve ao fato de alguns compostos inseticidas poderem estimular ou até mesmo reduzir a mobilidade, afetando o comportamento locomotor dos insetos. Os inseticidas podem deixar os insetos sem coordenação ou até mesmo promover convulsões, podendo interferir significativamente na reprodução, na localização de presas ou alimento, na dispersão, migração e alimentação destes indivíduos (Haynes 1988). As chances de sobrevivência dos insetos podem ser grandemente aumentadas se seu comportamento for modificado para escapar dos efeitos deletérios dos inseticidas, evitando o contato com superfícies tratadas com inseticida (Watson e barson, 1996) ou reduzindo sua taxa respiratória para absorver o mínimo possível de gases tóxicos (Pinniger, 1975; Collins et al., 1988; Barson et al., 1992).

A taxa respiratória dos insetos é medida pela produção de CO₂ ou consumo de O₂ (Emekci et al., 2002; Emekci et al., 2004; Mitcham et al., 2006), sendo que a suscetibilidade do inseto a um fumigante pode variar de acordo com a taxa respiratória (Cotton, 1932; Chaudhry, 1997). A produção de CO₂ variou significativamente entre as populações, porém não foi observada qualquer relação com o comportamento de caminhada (n=5, r=0,049, P=0,94). Resultados semelhantes foram encontrados por Sousa (2010) utilizando ozônio, em que a taxa respiratória entre as populações de *S. zeamais* variou, no entanto não influenciou o comportamento de caminhada dos insetos. Respostas comportamentais têm base fisiológica, de forma que uma manifestação física pode ocorrer em detrimento das características fisiológicas do

organismo (Lockwood, 1984; Watson & Barson, 1996; Watson et al., 1997; Guedes et al., 2009a; Pereira et al., 2009).

A toxicidade de inseticidas em populações de insetos resistentes tem sido associada com os mecanismos de defesa bioquímicos em que a manutenção da defesa pode ser relacionada diretamente à elevada atividade metabólica, sendo que a massa corpórea e a taxa respiratória contribuem para designar possíveis custos metabólicos na ausência de pressão de seleção. Massa corpórea e taxa respiratória maiores podem levar a uma detoxificação de forma mais eficiente das moléculas inseticidas, devido a maior quantidade de moléculas de reserva, garantindo energia para detoxificação sem comprometimento do potencial reprodutivo do inseto (Nath et al., 2000; Oliveira et al., 2005; Guedes et al., 2006). No entanto, neste trabalho, os resultados encontrados foram diferentes, pois as populações de Paracatu e Machado, que são resistentes à fosfina, apresentaram menor massa corpórea e taxa respiratória que as outras populações estudadas, tendo a população de Paracatu sido a mais tolerante ao OEM. Isso sugere que a resistência a inseticidas se encontra fixada nestas populações e que a expressão dos genes responsáveis não mais incorrem em desfavorecimento adaptativo.

O desempenho demográfico, avaliado através da taxa instantânea de crescimento populacional (r_i), foi semelhante entre as populações testadas. Resultado semelhante ao encontrado neste estudo foi obtido por Santos et al. (2011) em diferentes populações de *T. castaneum*.

O uso intensivo de inseticidas nos grãos armazenados, principalmente da fosfina, na região de Paracatu e Machado, pode ter propiciado uma seleção intensa dos fenótipos com genes que conferiram resistência ao inseticida, e apesar de a população de Paracatu ter apresentado maior razão de toxicidade ao OEM, esses valores são baixos para causar resistência ao OEM nesta população, demonstrando o potencial do uso do OEM na substituição da fosfina e inseticidas convencionais utilizados no controle de insetos-

praga de grãos armazenados. Adicionalmente, outros trabalhos demonstraram o potencial do OEM como fumigante, podendo penetrar no grão e matar larvas e pupas de insetos (Costa et al., 2006; Santos et al., 2011).

5. CONCLUSÕES

- i. As cinco populações de *S. zeamais* avaliadas apresentaram uniformidade de resposta ao óleo essencial de mostarda.
- ii. O óleo essencial de mostarda não promoveu alteração no comportamento locomotor dos insetos.
- iii. As populações de *S. zeamais* apresentaram diferentes padrões comportamentais (distância percorrida, velocidade de caminamento, tempo de repouso, número de paradas), respiratórios e de massa corpórea, porém com uniformidade de resposta ao óleo de mostarda. Estes resultados indicaram que os processos fisiológicos das populações não incorreram em alterações nos padrões de susceptibilidade das populações ao óleo de mostarda.
- iv. A taxa instantânea de crescimento populacional (r_i) foi semelhante entre as populações de *S. zeamais*, demonstrando ausência de custo adaptativo das diferenças de suscetibilidade ao óleo essencial de mostarda.

6. REFERÊNCIAS

- Atkins, E.L.; Greywood, E.A.; Macdonald, R.L. **Toxicity of pesticides and other agricultural chemicals to honey bees**: laboratory studies. Davis: University of California, 1973. 36p. (Technical bulletin, M-16).
- Araújo, E.L.; Sampaio, E.V.S.B.; Rodal, M.J.N. Composição florística e fitossociologia de três áreas de caatinga. **Revista Brasileira de Biologia**, v.55, p.595-607, 1995.
- Baatrup, E. and Bayley, M. Quantitative analysis of spider locomotion employing computer-automated video tracking. **Physiology & Behavior**, v.54, p.83-90, 1993.
- Bakkali, F.; Averbeck, S.; Averbeck, D.; Idaomar, M. Biological Effects of Essential Oils. A Review. **Food and Chemical Toxicology**, v.46, p.446-475, 2008.
- Barson, G.; Fleming, D.A.; Allan, E. Laboratory assessment of the behavioral responses of residual populations of *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera, Silvanidae) to the contact insecticide pirimiphosmethyl by linear logistic modelling. **Journal of Stored Products Research**, v.28, p.161-170, 1992.
- Calatayud, P.A.; Tertuliano, M.; And Le R'U, B. Seasonal variation in secondary compounds in the phloem sap of cassava in relation to plant genotype and infestation by *Phenacoccus manihoti* (Homoptera: Pseudococcidae). **Bulletin of Entomological Research**, v.84, p.453-459, 1994.
- Chaudhry, M.Q. A review of the mechanisms involved in the action of phosphine as an insecticide and phosphine resistance in stored-product insects. **Pesticide Science**, v.49, p.213-228, 1997.

Collins, P.J., Sinclair, E.R.; Howitt, C.J. Dispersion of grain beetles (Coleoptera) in grain partially treated with insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v.81, p.1810-1815, 1988.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira – Grãos Safra 2010/2011 – Quarto Levantamento – Janeiro/2011 Disponível em: http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/11_01_06_08_41_56_boletim_graos_4o_lev_safra_2010_2011.pdf Acesso em: 22 de janeiro de 2011.

Costa, R.R.; Sousa, A.H.; Faroni, L.R.D'A.; Dhingra, O.D.; Pimentel, M.A.G. Toxicity of mustard essential oil to larvae and pupas of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). Proceedings of the 9th **International Working Conference on Stored-Product Protection**, ABRAPÓS, p.908-913, 2006.

Cotton, R.T. The relation of respiratory metabolism of insects to their susceptibility to fumigants. **Journal of Economic Entomology**, v.25, p.1088-1103, 1932.

Cotton, R.T.; Wilbur, D. A. Insects. In: Christensen, C. M. **Storage of cereal grains and their products**. St. Paul, Minnesota, AACC, p193-231, 1974.

Desneux, N.; Decourtye, A.; Delpuech, J.M. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. **Annual Review of Entomology**, v.52, p.81-106, 2007.

Dhingra, O.D.; Costa, M.L.N.; Silva, G.J.; Mizubuti, E.S.G. Essential oil of mustard to control *Rhizoctonia solani* seedling damping off and seedling blight in nursery. **Fitopatologia Brasileira**, v.29, p.683-686, 2004.

Ellenby, C. The influence of crucifers and mustard oil on the emergence of larvae of the potato-root celworm, *Heterodera rostochiensis* Wollenweber. **Annals of Applied Biology** v.32, p.67-70, 1945.

- Emekci, M.; Navarro, S.; Donahaye, J.E.; Rindner, M.; Azrieli, A. Respiration of *Tribolium castaneum* (Herbst) at reduced oxygen concentrations. **Journal of Stored Products Research**, v.38, p.413-425, 2002.
- Emekci, M.; Navarro, S.; Donahaye, E.; Rindner, M.; Azrieli, A., Respiration of *Rhyzopertha dominica* (F.) at reduced oxygen concentrations. **Journal of Stored Products Research**, v.40, p.27-38, 2004.
- Evans, D.E. The biology of stored products Coleoptera. In: **Proc. Aust. Dev. Asst. Course on Preservation of Stored Cereals**, p.149-185, 1981.
- Faroni, L.R.A.; Sousa, A.H. Aspectos biológicos e taxonômicos dos principais insetos-praga de produtos armazenados. In: Almeida, F.A.C.; Duarte, M.E.M.; Mata, M.E.R.M.C. **Tecnologia de Armazenagem em sementes**, Campina Grande: UFCG, p.371-402, 2006.
- Finney, D.J. **Probit analysis**. 3rd ed. London: Cambridge University Press, p.333, 1971.
- Futuyma, D.G. **Evolutionary Biology**. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, p.759, 1998.
- Goulart, A.C.P. Suscetibilidade de cultivares de algodão a *Rhizoctonia solani* e benefícios do tratamento de sementes com fungicidas. **Summa Phytopatologica**, Piracaba, v.33, p.222-228, 2007.
- Guedes, R.N.C. Manejo integrado para a proteção de grãos armazenados contra insetos. **Revista Brasileira de Armazenamento**, v.15-16, p.3-48, 1991.

- Guedes, R.N.C.; Oliveira, E.E.; Guedes, N.M.P.; Ribeiro, B.; Serrão, J.E. Cost and mitigation of insecticide resistance in the maize weevil, *Sitophilus zeamais*. **Physiological Entomology**, v.31, p.30-38, 2006.
- Guedes, R.N.C.; Campbell, J.F.; Arthur, F.H.; Opit, G.P.; Zhu, K.Y.; Throne, J.E. Acute lethal and behavioral sublethal responses of two stored product psocids to surface insecticides. **Pest Management Science**, v.64, p.1314–1322, 2008.
- Guedes, N.M.P.; Guedes, R.N.C.; Ferreira, G.H.; Silva, L.B. Flight take-off and walking behavior of insecticide-susceptible and – resistant strains of *Sitophilus zeamais* exposed to deltamethrin. **Bulletin of Entomological Research**, v.99, p.393-400, 2009a.
- Guenther, E. **The essential oils**. Malabar:Krieger, p. 427, 1972.
- Hara, M.; Mochizuki, K.; Kaneko, S.; Iiyama, T.; Ina, T.; Etoh, H.; Kuboi, T. Changes in pungent components of two *Wasabia japonica* Matsum cultivars during the cultivation period, **Food Science and Technology Research** v.9, p.288-291, 2003.
- Haynes, K.F. Sublethal effects of neurotoxic insecticides on insect behavior. **Annual Review of Entomology**, v.33, p.149-168, 1988.
- Hoy, C.W.; Head, G.P.; Hall, F.R. Spatial heterogeneity and insect adaptation to toxins. **Annual Review of Entomology**, v.43, p.571-594, 1998.
- Isikber, A.A.; Alma, M.H.; Kanat, M.; Karci, A. Fumigant toxicity of essential oils from *Laurus nobilis* and *Rosmarinus officinalis* against all life stages of *Tribolium confusum*. **Phytoparasitica**, v.34, p.167-177, 2006.

- Isman, M.B. Pesticides based on plant essential oils. **Pestic Outlook** v.10, p.68-72, 1999.
- Isman, M.B. Plant essential oils as green pesticides for pest and disease management. In: Nelson WM (ed) Agricultural applications in green chemistry, **American Chemical Society Symposium** Ser. Washington DC, USA, v. 887, p. 41-51, 2004.
- Isman, M.B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology**, v.51, p.45-66, 2006.
- Isman, M.B. Botanical insecticides: for richer or poorer, **Pest Management Science** v.64, p. 8-11, 2008.
- Kirkegaard, J.A.; Wong, P.T.W.; Desmarchelier, J.M. *In vitro* suppression of fungal root pathogens of cereals by *Brassica* tissues. **Plant Pathology**, v.45, p.593-603, 1996.
- Kongmee, M.; Prabaripai, A.; Akratanakul, P.; Bangsm, M.J.; Chareonviriyaphap, T. Behavioral responses of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) exposed to deltamethrin and possible implications for disease control. **Journal of Medical Entomology**, v.41, p.1055-1063, 2004.
- Lockwood, J.A.; Sparks, T.C.; Story, R.N. Evolution of insect resistance to insecticides: a reevaluation of the roles of physiology and behavior. **Bulletin of the Entomological Society of America**, v.30, p.41-51. 1984.
- Loeck, A.E. Principais pragas que atacam produtos armazenados. In: Loeck, A.E. **Pragas de produtos armazenados**, Pelotas: EGUFPEL, p.35-59, 2002.

- Lorini, I. Manual técnico para o manejo integrado de pragas de grãos de cereais armazenados. Passo Fundo: **Embrapa Trigo**, 80p., 2003.
- Lorini, I. Manejo Integrado de Pragas de Grãos de Cereais Armazenados. Passo Fundo: **Embrapa Trigo**, 72p., 2008.
- Mayton, H.S.; Olivier, C.; Vaughn, S.F.; Loria, R. Correlation of fungicidal activity of Brassica species with allyl isothiocyanate production in macerated leaf tissue. **Phytopathology**, v.86, p.267–271, 1996.
- Mitcham, E.; Martin, T.; Zhou, S. The mode of action of insecticidal controlled atmospheres. **Bulletin of Entomological Research**, v.96, p.213-222, 2006.
- Mondal, M.; Khalequzzaman, M. Toxicity of essential oils against red flour beetles, *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Journal of Bio-Sciences**, v.14, p.43-48, 2006.
- Morra, M.J.; Kirkegaard, J.A. Isothiocyanate release from soil-incorporated *Brassica* tissues. **Soil Biology & Biochemistry**, v.34, p.1683-1690, 2002.
- Nath, B.S. Changes in carbohydrate metabolism in hemolymph and fat body of the silkworm, *Bombyx mori* L. exposed to organophosphorus insecticides. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.68, p.1504-1515, 2000.
- Nielsen, P.V.; RIOS, R. Inhibition of fungal growth on bread by volatile components from spices and herbs, and the possible application in active packaging, with special emphasis on mustard essential oil. **International Journal of food Microbiology**, v.60, p.219-229, 2000.

- Njoroge, S.M.C.; Riley, M.B. & Keinath, A.P. Effect of incorporation of *Brassica* spp. residues on population densities of soilborne microorganisms and on damping-off and *Fusarium* wilt of watermelon. **Plant Disease**, v.92, p.287-294, 2008.
- Oliveira, E.E.; Guedes, R.N.C.; Corrêa, A.S.; Damasceno, B.L.; Santos, C.T. Resistência vs Susceptibilidade a Piretróides em *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae): Há Vencedor? **Neotropical Entomology**, v.34, p.981-990, 2005.
- Oliveira, E.E.; Guedes, R.N.C.; Tótola, M.R.; De Marco Jr., P. Competition between insecticide-susceptible and -resistant populations of the maize weevil. *Sitophilus zeamais*. **Chemosphere**, v.69, p.17-24, 2007.
- Olivier, C.; Vaughn, S.F.; Mizubuti, E.S.G.; Loria, R. Variation in allyl isothiocyanate production within *Brassica* species and correlation with fungicidal activity. **Journal of Chemical Ecology**, v.25, p.2687-2701, 1999.
- Pacheco, I.A.; De Paula, D.C. Insetos de grãos armazenados: identificação e biologia. Campinas: **Fundação Cargil**, 228p., 1995.
- Panda, N. Principles of host-plant resistance to insect pests. Ilanheld/Universe, New York. 431p., 1979.
- Papachristos, D. P.; Stamopoulos, D.C. Fumigant toxicity of three essential oils on the eggs of *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). **Journal of Stored Products Research**, v.40, p.517-525, 2004.
- Park, C.M.; Taormina, P.J.; Beuchat, L.R. Efficacy of allyl isothiocyanate in killing enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 on alfalfa seeds. **International Journal of Food Microbiology**, v.56, p.13-20, 2000.

- Pecháček, R.; Velíšek, J.; Hrabcová, H. Decomposition products of allyl isothiocyanate in aqueous. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.45, p.4584-4588, 1997.
- Pereira, C.J.; Pereira, E.J.G.; Cordeiro, E.M.G.; Della Lucia, T.M.C.; Tótola, M.R.; Guedes, R.N.C. Organophosphate resistance in the maize weevil *Sitophilus zeamais*: Magnitude and behavior. **Crop Protection**, v.28, p.168-173, 2009.
- Pichersky, E.; Noel, J.P.; Dudareva, N. Biosynthesis of plant volatiles: nature's diversity and ingenuity. **Science**, v. 311, p.808-811, 2006.
- Pimentel, M.A.G.; Faroni, L.R.D'A.; Tótola, M.R.; Guedes, R.N.C. Phosphine resistance, respiration rate and fitness consequences in stored-product insects. **Pest Management Science**, v.63, p.876-881, 2007.
- Pimentel, M.A.G.; Faroni, L.R.D'A.; Guedes, R.N.C.; Sousa, A.H.; Tótola, M.R. Phosphine resistance in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* Motschusky (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Stored Products Research**, v.45, p.71-74, 2009.
- Pinazza, L.A. Perspectiva da cultura do milho e do sorgo no Brasil. In: Büll, L.T.; Cantarella, H. (Eds.). Cultura do milho: fatores que afetam a produtividade. Piracicaba: **POTAFOS**, 301p., 1993.
- Pinniger, D.B. An assessment of residual insecticide treatments for the control of the saw-toothed grain beetle (*Oryzaephilus surinamensis*) in farm grain stores, **Proc. 8th Br. Insect and Fungi Conference Brighton**, Nottingham, p. 365-372, 1975.
- Rajendran, S.; Sriranjini, V. Plant products as fumigants for stored-product insect control. **Journal of Stores Products Research**, v.44, p.126-135, 2008.

- Ress, D.P. Coleoptera, In: **Integrated management of insects in stored products.** (Subramanyam, B. and Hagstrum, D.W., eds. Marcel Dekker, Inc., New York-Basel-Hong Kong, p.1-39, 1996.
- Rouzaud, G.; Young, S.A.; Duncan, A.J. Hydrolysis of glucosinolates to isothiocyanates after ingestion of raw or microwaved cabbage by human volunteers. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention** v.13, p.125-131, 2004.
- Saniewska, A.; Dabrowska, B.; Majewska, A. Antifungal activity of horseradish (*Armoracia rusticana* Gaertn.) endogenic compounds. **Vegetable Crops Research Bulletin**, v.61, p.121–131, 2004.
- Santos, J.C. ; Faroni, L.R.D.A. ; Sousa, A.H. ; Guedes, R.N.C. Fumigant toxicity of allyl isothiocyanate to populations of the red flour beetle *Tribolium castaneum*. **Journal of Stored Products Research**, v. 47, p. 99-104, 2011.
- SAS Institute. **SAS/STAT User`s Guide**, version 8.0. Cary: SAS Institute Inc., 2002.
- Schurt, D.A. Potencial do isotiocianato de alilo no controle de *Sclerotium rolfsii* e *Sclerotinia sclerotiorum*. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia), Universidade Federal de Viçosa/UFV, Viçosa, MG, 2006.
- Silva, L.B.; Reis, A.P.; Pereira, E.J.G.; Oliveira, M.G.A.; Guedes, R.N.C. Partial purification and characterization of trypsin-like proteinases from insecticide resistant and - susceptible strains of the maize weevil, *Sitophilus zeamais*. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part B, v.155, p.12-19, 2010.
- Silvertown, J. Plant phenotypic plasticity and non-cognitive behaviour. **Trends in Evolution and Ecology**, v.13, p.255–256, 1998.

- Simões, C.M.O; Spitzer, V. Óleos essenciais. In: Simões, C. M. O.; Schenckel, E. P.; Gosmann, G.; Mello, J.C.P. **Farmacognosia. Da planta ao medicamento**, p.387-415, 1999.
- Smith, T.K.; Lund, E.K.; Parker, M.L.; Clarke, R.G.; Johnson, I.T. Ally-isothiocyanate causes mitotic block, loss of cell adhesion and disrupted cytoskeletal structure in HT29 cells. **Carcinogenesis**, v.25, p.1409-1415, 2004.
- Sousa, A.H.; Faroni, L.R.A.; Guedes, R.N.C.; Tótola, M.R.; Urrich, W.I. Ozone as a management alternative against phosphine-resistant insect-pests of stored products. **Journal of Stored Products Research**, v.44, p.379-385, 2008.
- Sousa, A.H. Respostas fisiológicas e comportamentais de *Sitophilus zeamais* ao ozônio. 107p. Dissertação (Doutorado em Entomologia) Universidade Federal de Viçosa/UFV, Viçosa, 2010.
- SPSS Inc. **Sigma Plot user's guide version 7.0** (Revised Edition). SPSS Inc., Chicago, USA. 2001.
- Stillwell, R.C.; Blanckenhorn, W.U.; Teder, T.; Fox, C.W. Sex differences in phenotypic plasticity affect variation in sexual size dimorphism in insects: from physiology to evolution, **Annual Review of Entomology**, v.55, p. 227-245, 2010.
- Suhr, K.I.; Nielsen, P.V. Antifungal activity of essential oils evaluated by two different application techniques against rye bread spoilage fungi. **Journal of Applied Microbiology**, v.94, p.665-674, 2003.
- Tsao, R.; Peterson, C.J.; Coats, J.R. Glucosinolate breakdown products as insects fumigants and their effect on carbon dioxide emission of insect. **BMC Ecology**, v.2, p.1-7, 2002.

- Walthall, W.K.; Stark, J.D. Comparison of two population level ecotoxicological endpoints: The intrinsic (r_m) and instantaneous (r_i) rates of increase. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v.16, p.1068-1073, 1997.
- Watson, E.; Barson, G. A laboratory assessment of the behavioural responses of three strains of *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera: Silvanidae) to three insecticides and the insect repellent N,N-diethyl-m-toluamide. **Journal of Stored Products Research**, v.32, p.59-67, 1996.
- Watson, E.; Barson, G.; Pinniger, D.B.; Roberts, G.; Ludlow, A.R. Evaluation of the behavioural responses of *Anthrenus verbasci* adults and larvae to permethrin (ec) using a computerized tracking system. **Journal of Stored Products Research**, v.33, p.335-346, 1997.
- West-Eberhard, M. J. Phenotypic plasticity. **Encyclopedia of ecology**, p. 2701-2707, 2008.
- Worfel, R.C.; Schneider, K.S.; Yang, T.C.S., Suppressive effect of allyl isothiocyanate on populations of stored grain insect pests. **Journal of Food Processing and Preservation**, v.21, p. 9-19, 1997.
- Wu, S.; Dou, W.; Wu, J.J.; Wang, J.J. Purification and partial characterization of glutathione S-transferase from insecticide-resistant field populations of *Liposcelis paeta* Pearman (Psocoptera: Liposcelididae), **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v.70, p.136-150, 2009.
- Zanada, I.A.; Ferris, H. Sensitivity of *Meloidogyne javanica* and *Tylenchulus semipenetrans* to isothiocyanates in Laboratory assays. **Phytopathology**, v.93 p.747-750, 2003.