

JULIANA CRISTINA DOS SANTOS

**SUSCEPTIBILIDADE DE *Tribolium castaneum* AO ÓLEO
ESSENCIAL DE MOSTARDA E PERSPECTIVAS DE MANEJO
DE RESISTÊNCIA**

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

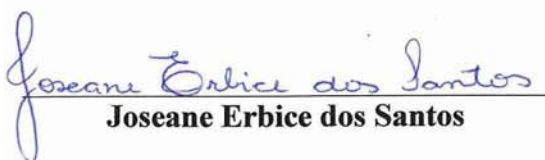
**VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2009**

JULIANA CRISTINA DOS SANTOS

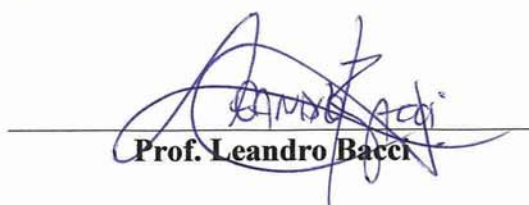
**SUSCEPTIBILIDADE DE *Tribolium castaneum* AO ÓLEO
ESSENCIAL DE MOSTARDA E PERSPECTIVAS DE MANEJO DE
RESISTÊNCIA**

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

APROVADA: 27 de fevereiro de 2009


Joseane Erbice dos Santos


Prof. Onkar Dev Dhingra
(Co-orientador)


Prof. Leandro Bacci


Prof. Simon Luke Elliot


Prof.^a Lêda Rita D'Antonino Faroni
(Orientadora)

*Aos meus pais Celina Aparecida e José Osmar;
Aos meus irmãos Camila, Talita e Maurício;
Aos meus tios: Sônia e Altamir, Adenilson e Rosileni, Adilson e Gleusa;
À minha vó Tereza Paiva da Silva;
Dedico.*

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa pela oportunidade de aperfeiçoamento nestes dois anos de mestrado no programa de pós-graduação em Entomologia.

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

Aos professores e ao do programa de Entomologia.

À professora Lêda Rita D'Antonino Faroni pelos ensinamentos, oportunidades e principalmente pela orientação e confiança.

Aos professores, Raul Narciso Guedes e Onkar Dev Dhingra pela atenção nos momentos de dúvidas, pelas críticas e sugestões na condução dos experimentos e elaboração do manuscrito.

À minha querida amiga Silvana A. Silva Souza pelo companheirismo, amizade, atenção, confiança e convivência nestes dois anos de mestrado.

Aos meus queridos estagiários, Augusto César Magalhães Souza e ao Augusto Imaz, pela ajuda na condução dos experimentos e principalmente pela amizade, confiança, companheirismo e atenção.

Aos meus amigos Marco Aurélio Guerra Pimentel e Adalberto Hipólito de Sousa pelas constantes ajudas, discussões na hora do café, pelas idéias criadas e compartilhadas, pelo companheirismo e atenção nos momentos de dificuldade. Aprendi muito com vocês, muito obrigada!

Ao meu irmão mais velho, Rodrigo de Oliveira Simões pelas conversas constantes, pela confiança depositada, pelos momentos de descontração e alegria compartilhados.

Aos estagiários do laboratório de Manejo Integrado de Pragas de Grãos Armazenados, João Paulo Rodrigues, Augusto C.M. Souza e Gutierrez Silva, e aos colegas de mestrado Jander Fagundes Rosado, Gerson Adriano Silva e Vânia Maria Xavier pela amizade e pelos bons momentos vividos.

As novas amizades realizadas durante essa etapa da minha vida. Gilberto Andrade, Patrik Pastori, Flávio Fernandes, Júlio Martins, Alberto Soares e Carina Mews obrigada pelo apoio e motivação!

BIOGRAFIA

JULIANA CRISTINA DOS SANTOS, filha de José Osmar da Silva e Celina Aparecida dos Santos, nascida em São Miguel do Iguaçu – Paraná, em 07 de Novembro de 1984.

Em fevereiro de 2002 iniciou-se o curso de Ciências Biológicas pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Unioeste (Cascavel), onde foi bolsista de iniciação científica das empresas Avícolas Diplomata Industrial e Comercial Ltda e Globoaves Agroindustrial Ltda, graduando-se em Licenciatura Plena em 2005 e Bacharel em 2006.

Em março de 2007, iniciou-se 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 a defesa de tese em 27 de fevereiro de 2009.

ÍNDICE

RESUMO	vii
ABSTRACT	ix
1. INTRODUÇÃO	1
2. MATERIAL E MÉTODOS	7
2.1. Insetos e óleo de mostarda.....	7
2.2. Bioensaios de toxicidade para insetos adultos.....	7
2.3. Bioensaios de toxicidade para insetos imaturos.....	10
2.4. Taxa respiratória medida pela produção de CO ₂	12
2.5. Massa corpórea.....	13
2.6. Taxa instantânea de crescimento populacional.....	13
2.7. Análise dos dados.....	14
3. RESULTADOS	16
3.1. Toxicidade do óleo essencial de mostarda para populações adultas de <i>T. castaneum</i>	16
3.2. Taxa respiratória em populações adultas de <i>T. castaneum</i>	17
3.3. Massa corpórea.....	17
3.4. Taxa instantânea de crescimento populacional (r_i).....	17
3.5. Toxicidade do óleo de mostarda para os diferentes estágios de desenvolvimento de <i>T. castaneum</i>	18

3.6. Produção de CO ₂ dos diferentes estágios de desenvolvimento de <i>T.</i> <i>castaneum</i>	18
4. DISCUSSÃO	24
5. CONCLUSÕES	30
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31
APÊNDICE A	41

RESUMO

SANTOS, Juliana Cristina dos, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2009. **Susceptibilidade de *Tribolium castaneum* ao óleo essencial de mostarda e perspectivas de manejo de resistência.** Orientadora: Lêda Rita D'Antonino Faroni. Co-orientadores: Onkar Dev Dhingra e Raul Narciso Carvalho Guedes.

Neste trabalho foi estudada a toxicidade do óleo de mostarda para 18 populações de *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) coletadas no Brasil e a possível correlação com resistência à fosfina. Verificaram-se a relação da toxicidade do óleo de mostarda e a taxa respiratória buscando-se evidenciar se esta última seria determinante de susceptibilidade ao óleo de mostarda. Adicionalmente, avaliou-se o efeito tóxico do óleo de mostarda para as fases imaturas de *T. castaneum* e foi averiguada a massa corpórea e a taxa respiratória dos insetos, bem como a relação da taxa respiratória com a toxicidade ao óleo em estudo. O óleo de mostarda, com 90% do componente volátil ITCA, foi diluído em óleo vegetal de soja, na proporção de 0,5:9,5 v/v, para obter solução oleosa de 4,5% de ITCA. As concentrações utilizadas para avaliar as populações adultas e fases imaturas do inseto variaram entre 2,25 a 5,62 $\mu\text{L L}^{-1}$. Os resultados de mortalidade obtidos foram utilizados para gerar as curvas de concentração-resposta, e as CL_{50} e CL_{95} foram estimadas e usadas para calcular as respectivas razões de toxicidade (RT). Os padrões de taxa instantânea de crescimento instantâneo (r_i), taxa respiratória (produção de CO_2) e massa corpórea foram avaliados para cada população adulta, além de estes dois últimos parâmetro terem sido avaliados para as fases imaturas. Nenhuma das populações estudadas apresentou resistência ao óleo de mostarda e não houve resistência cruzada entre o óleo de mostarda e a fosfina. Foram observados diferentes padrões reprodutivos, respiratórios e de massa corpórea entre as populações adultas. Porém, não houve

relação destas variáveis e a toxicidade do óleo de mostarda. O óleo essencial de mostarda se apresentou tóxico para todas as fases imaturas de *T. castaneum* avaliadas. Os dados de toxicidade indicaram também uma notável diferença na susceptibilidade entre os estágios de desenvolvimento do inseto nas populações avaliadas, tendo os ovos sido mais susceptíveis e as larvas jovens mais tolerantes. A taxa respiratória foi influenciada pelo estágio de desenvolvimento do inseto e por sua massa corpórea. No entanto, não foi observada relação entre as taxas respiratórias dos insetos e a toxicidade ao óleo de mostarda. Como nenhuma população apresentou resistência ao óleo de mostarda e resistência cruzada entre óleo de mostarda e à fosfina, e o mesmo foi tóxico para todas as fases de desenvolvimento do inseto, é possível que o óleo de mostarda se torne um importante fumigante alternativo e seja usado nos programas de manejo de resistência à fosfina.

ABSTRACT

SANTOS, Juliana Cristina dos, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2009. **Susceptibility of *Tribolium castaneum* to essential oil of mustard and perspectives resistance management.** Adviser: Lêda Rita D'Antonino Faroni. Co-Advisers: Onkar Dev Dhingra and Raul Narciso Carvalho Guedes.

In this work, we studied the toxicity of mustard oil to 18 populations of *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) collected in Brazil, and the correlation with their resistance and phosphine. There is relationship between toxicity of mustard oil and respiratory rate; we were seeking evidence that would be determinant of susceptibility to mustard oil. Additionally, evaluated the toxicity of mustard oil to immature stages of *T. castaneum* and was investigated of respiratory rate and body mass of insects, and relationship between respiratory rate and oil in the toxicity study. The mustard oil, with 90% of the volatile component ITCA was diluted in vegetable oil from soybeans, in the proportion of 0.5:9.5v/v, to get on oily solution 4.5% of ITCA. The concentrations were used to assess the adult and immature stages ranged from 2.25 to 5.62 $\mu\text{L L}^{-1}$. Results of mortality were used to generate the concentration-response curves. LC_{50} and LC_{95} were estimated too and their used to calculate reasons of toxicity (RT). Patterns of instantaneous rate of growth instantaneous (r_i), respiratory rate (CO_2 production) and body mass were assessed to each adult. Last two parameters were used to immature stages evaluation. Nonresistance was showed in all populations of *T. castaneum* to mustard oil, and no cross-resistance between phosphine and mustard oil was showed too. We observed different reproductive patterns, respiratory and body mass among adult populations. However, no relationship was found between these variables and toxicity of mustard oil. The essential oil of mustard showed toxicity to all immature stages of *T.*

castaneum evaluated. The toxicity data also indicated difference remarkable in susceptibility among stages of development in insect populations evaluated. In insect stages, eggs and young larvae were more susceptibility and more tolerant, respectively. The respiratory rate was influenced by stage of development of insects and their body mass. However, no relationship was observed between respiratory rate of insects and toxicity of mustard oil. All populations not showed any resistance to mustard oil and cross-resistance between mustard oil and phosphine that was toxic to all stages of development of insects. Wherefore, may be possible mustard oil will become an important alternative fumigant and is use in management programs of resistance to phosphine.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil apresentou safra recorde de grãos no ano de 2008, segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) e da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB), com 143,7 milhões de toneladas colhidos (CONAB, 2008; IBGE, 2008). No entanto, estima-se que 10% da produção seja desperdiçada na colheita, no transporte e no armazenamento. No armazenamento a granel em silos e graneleiros, ou em sacarias, os insetos são os grandes responsáveis pelas perdas pós-colheita devido ao hábito de viver em ambientes secos, escuros e com baixo teor de oxigênio (FARONI & SOUSA, 2006).

São várias as espécies de insetos que utilizam grãos armazenados como substrato alimentar, destacando-se o besouro-das-farinhas, *Tribolium castaneum* Herbst, 1797 (Coleoptera: Tenebrionidae) (LORINI, 2002; FARONI & SOUSA, 2006). Larvas e adultos desse coleóptero são pragas de hábito alimentar secundário, já que depende do ataque de outras pragas ou de danos de outra origem para se instalar, pois não conseguem romper o tegumento intacto do grão. No entanto, estes são umas das principais pragas no armazenamento apresentando grande importância econômica devido à variedade de produtos que infestam especialmente cereais e subprodutos armazenados, como farinhas, rações e farelos (FARONI & SOUSA, 2006).

Essa praga é cosmopolita, encontrada principalmente nos trópicos (REES, 1996; FARONI & SOUSA, 2006). Em condições ótimas de temperatura (35°C) e umidade (75%), o ciclo ovo-adulto pode ser completado em aproximadamente 21 dias (FARONI & SOUSA, 2006). Sobre estas condições, as populações de *T. castaneum* podem aumentar de 70 à 100 vezes por mês, mais rápido do que o registrado para qualquer outra praga de armazenamento. Estes insetos facilmente

dispersam em busca de novos recursos alimentares, como resultado, eles são frequentemente um dos primeiros insetos a recolonizar grãos ou subprodutos armazenados após a fumigação (REES, 1996).

Atualmente, os métodos de controle dos insetos de grãos armazenados baseiam-se no uso de inseticidas protetores (piretróides e organofosforados) e fumigantes, entre eles, o brometo de metila (CH_3Br) e a fosfina (PH_3) (GUEDES, 1991; WHITE & LEESCH, 1996). O brometo de metila teve seu uso restringido após acordos realizados no Protocolo de Montreal por ser um agente depletor da camada de ozônio. O mesmo só será utilizado até 2015 para o tratamento quarentenário e fitossanitário para fins de importação e exportação (MAPA, 2002). Devido a tais circunstâncias, a fosfina tornou-se o único inseticida fumigante registrado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (AGROFIT, 2008). Dessa forma, sua utilização contínua, aliada às dosagens incorretas, tem tornado esse método tradicional pouco eficaz devido à seleção de populações resistentes (PIMENTEL et al., 2007; PIMENTEL et al., 2008).

Diante da preocupação com a evolução da resistência aos inseticidas convencionais e os riscos oferecidos por estes à saúde humana e ao meio ambiente, pesquisas têm sido desenvolvidas visando à obtenção de métodos alternativos no controle dos insetos 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 extraídos de diversas plantas aromáticas. Eles são líquidos, voláteis, raramente coloridos e são solúveis em solventes orgânicos. Estes constituem matéria-prima de grande importância para as indústrias cosmética,

farmacêutica e alimentícia (PECHÁČEK et al., 1997; MONDAL & KHALEQUZZAMAN, 2006; BAKKALI et al., 2008). Presentes em várias partes das plantas - rizoma, bulbos, folhas, frutos, casca dos frutos, frutos secos, sementes, córtex - são formados por uma mistura de compostos orgânicos de variadas funções químicas, como álcoois, aldeídos, ésteres, fenóis e hidrocarbonetos, que assim caracterizam os aromas (GUILLÉN et al. 1996; PARK-II et al., 2003). Estes podem ser obtidos por processos de destilação a vapor ou extração por solvente (RAJENDRAN & SRIRANJINI, 2008).

Os óleos essenciais das plantas apresentam atividade inseticida, podendo ser repelente e/ou ovicida, além de inibir a alimentação, o crescimento e a oviposição (HO et al., 1996; REGNAULT-ROGER, 1997; PAPACHRISTOS et al., 2002, 2004; TAPONDJOU et al., 2005; SALEM et al., 2007; STAMOPOULOS et al., 2007; RAJENDRAN & SRIRANJINI, 2008). Muitos dos ingredientes ativos presentes nos óleos são metabólitos secundários produzidos pelas plantas na defesa química contra herbívoros e patógenos (REGNAULT-ROGER, 1997; RAJENDRAN & SRIRANJINI, 2008). Várias famílias de plantas têm sido extensivamente pesquisadas em relação à sua atividade fumigante, em especial à família Brassicaceae.

As espécies de plantas da família Brassicaceae, como *Brassica nigra*, *B. juncea*, *B. oleracea*, *Armoracia rusticana* e *Wasabia japonica* são caracterizadas pela presença predominante do glucosinolato sinigrina. Sua interação com a mirosinase endógena (β -tioglucosidase glucohidrolase) e pH 7, forma o isotiocianato alilo – ITCA ($\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{N}=\text{C}=\text{S}$), principal componente do óleo essencial de mostarda (PECHÁČEK et al., 1997; SHOFRAN et al., 1998). O ITCA apresenta um sabor

picante e é um forte lacrimejante. Estas características se devem principalmente à presença de enxofre em sua estrutura química (PECHÁCEK et al., 1997).

Este composto tem sido foco de pesquisas em indústrias alimentícias que visam reduzir a atividade microbiana e manter os produtos com suas propriedades organolépticas e com bom estado nutricional. O componente volátil ITCA demonstrou-se efetivo no controle de bactérias (*Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Salmonella enteritidis*), leveduras (*Candida tropicalis*, *Torulaspota delbreuckii*, *Saccharomyces cerevisiae*) e fungos (*Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum* e *Mucor racemosus*), prevenindo a deterioração de alimentos perecíveis (ISSHIKI, 1992; SHOFNAN et al., 1998; PARK et al., 2000; MARI et al., 2002; MUTHUKUMARASAMY et al., 2003; SUHR & NIELSEN, 2003; NADARAJAH, 2005; TUNC et al., 2007). Alguns países, como Japão e EUA, utilizam o ITCA sintético como aditivo alimentar e condimento, respectivamente, tendo sido este produto classificado como seguro pela Food and Drug Administration – FDA (EUA) (CODE OF FEDERAL REGULATIONS, 1999).

A utilização do ITCA tem sido sugerida em outras áreas, como na medicina, para o tratamento de câncer (SMITH et al. 2004; THEJASS & KUTTAN, 2007), e no setor agrícola, como fumigante de solo (BELLO et al., 2001; DHINGRA et al., 2004) e de produtos armazenados (WORFEL et al., 1997; COSTA et al., 2006).

Estudos recentes têm demonstrado que o óleo de mostarda (com 90% de ITCA) é uma alternativa promissora no controle de pragas de grãos armazenados (WORFEL et al., 1997; HEBERLE et al., 2005; COSTA et al., 2006) e o mesmo não altera a qualidade destes (WORFEL et al., 1997; PAES, 2008). Como exemplo do que ocorre com a fosfina e com o brometo de metila, os vapores do óleo essencial de mostarda foram capazes de penetrar em grãos de milho e causar mortalidade das

fases imaturas de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) ($CL_{50} < 15,7 \mu\text{L L}^{-1}$) (COSTA et al., 2006). Adicionalmente, foi demonstrado que sua toxicidade ($CL_{50} = 1,57 \mu\text{g cm}^{-3}$) foi próxima aos fumigantes diclorovós ($CL_{50} = 0,29 \mu\text{g cm}^{-3}$) e cloropicrina ($CL_{50} = 1,30 \mu\text{g cm}^{-3}$) para *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae), apresentando um elevado potencial fumigante (TSAO et al, 2002). Além disso, foi observado efeito supressivo nas progênies de *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Anobiidae) e *T. confusum* quando em contato com este volátil (WORFEL et al., 1997).

Apesar dos óleos essenciais serem considerados uma importante alternativa para os programas de manejo de insetos-praga de produtos armazenados, tem-se observado que a maioria dos trabalhos encontrados na literatura investiga apenas o efeito tóxico para a fase adulta dos insetos, sendo poucos os que estudaram as fases imaturas. Os estágios de desenvolvimento do inseto podem apresentar diferenças na susceptibilidade ao fumigante (ISIKBER et al., 2006; MONDAL & KHALEQUZZAMAN, 2006; STAMOPOULOS et al., 2007). Neste contexto, os ovos e as pupas são de especial preocupação, pois podem apresentar tolerância ao produto químico (ex. à fosfina) (PRATT, 2005).

Sabe-se que a susceptibilidade do inseto a um fumigante pode variar com a sua taxa respiratória (COTTON, 1932). A respiração dos insetos pode ser determinante para a absorção das moléculas inseticidas, como exemplo do que ocorre com a fosfina, que penetra no organismo dos insetos via sistema respiratório (BOND et al., 1969; CHAUDHRY, 1997). Assim, o monitoramento da taxa respiratória (consumo de O_2 ou emissão de CO_2) é umas das técnicas empregadas para estudar o mecanismo de ação dos inseticidas e o mecanismo de resistência dos insetos (PIMENTEL et al., 2007; SOUSA et al., 2008). Além desta finalidade, estudos de

detecção de resistência a inseticidas têm utilizado este parâmetro aliado à massa corpórea e à taxa de crescimento para reconhecer a ocorrência de possíveis custos fisiológicos associados a resistência a inseticidas. Nesse caso, a elevada atividade metabólica estaria associada a uma maior eficiência na mobilização de reservas energéticas para a produção de aparatos de defesa contra inseticidas (GUEDES et al., 2006). Assim, mecanismos de resistência a inseticidas como o aumento do metabolismo destoxificativo poderia envolver custos adaptativos aos indivíduos resistentes, comprometendo desta forma a alocação de energia para outros processos fisiológicos básicos, como a reprodução. Estas informações são de grande importância para a elaboração de estratégias de manejo.

O conhecimento da susceptibilidade de populações de uma mesma espécie a inseticidas alternativos e os possíveis mecanismos envolvidos com sua toxicidade são importantes para elaboração de estratégia de uso devido à possibilidade de resistência cruzada com os inseticidas em uso. Em termos práticos, caso não seja detectada essa condição, estes inseticidas podem ser utilizados em programas de manejo de resistência a inseticidas, como mistura, em rotação ou como mosaico, diminuindo a frequência de indivíduos resistentes e aumentando a frequência de susceptíveis na população (SUBRAMANYAM & HAGSTRUM, 1996; PIMENTEL et al., 2007; SOUSA et al., 2008).

No presente trabalho, pretendeu-se avaliar a toxicidade do óleo essencial de mostarda em populações de *T. castaneum* resistentes e susceptíveis à fosfina; e verificar a possibilidade de resistência cruzada entre a fosfina e o óleo essencial de mostarda. Adicionalmente, buscou-se avaliar o efeito tóxico do óleo de mostarda para as fases imaturas de *T. castaneum* e averiguar se a taxa respiratória dos insetos tem relação com a massa corpórea e a toxicidade do óleo de mostarda.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Insetos e óleo de mostarda

Os insetos foram criados em frascos de vidro de 1,5 L e placas de Petri de 140 × 10 mm (diâmetro × altura) e mantidos em câmara climática, a 26±2°C, (24h de escotofase) e 75±5% de UR, sendo utilizados grãos de milho triturado como substrato alimentar, com teor de umidade de 13% base úmida (b.u.).

Utilizou-se o óleo essencial de mostarda (OEM) sintético, com 90% do componente volátil isotiocianato alilo (ITCA), de uso na indústria alimentícia. Antes da sua utilização, o OEM foi diluído em óleo de soja, na proporção de 0,5:9,5 v/v, respectivamente, para obter solução oleosa de 4,5% de ITCA.

2.2. Bioensaios de toxicidade para insetos adultos

Nos testes de toxicidade para adultos de *T. castaneum* foram utilizadas 18 populações coletadas entre 2004 e 2007, nos estados de Goiás, Mato Grosso, Minas Gerais, Piauí e São Paulo (Figura 1 e Tabela 1). Seis destas populações - Bom Despacho, Campos de Júlio, Rio Verde, Uberlândia, Unaí I e Viçosa I - são resistentes à fosfina, com razão de (RT₅₀) variando de 37 a 186,2 vezes (PIMENTEL et al., 2007).

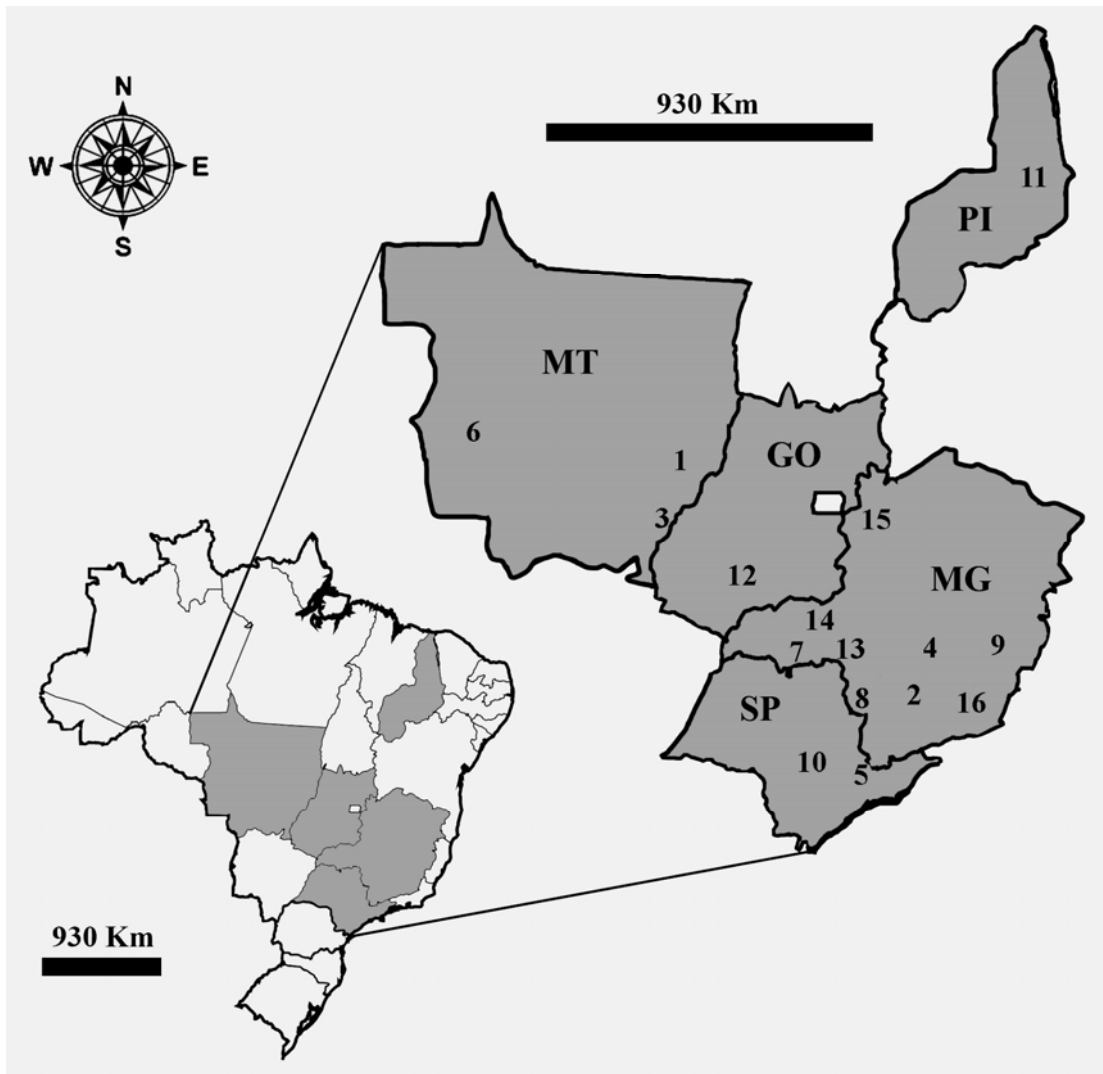


Figura 1- Locais de coleta das populações de *Tribolium castaneum* nos estados de Goiás (GO), Mato Grosso (MT), Minas Gerais (MG), Piauí (PI) e São Paulo (SP). Os números apresentados no mapa correspondem aos locais indicados na Tabela 1.

Tabela 1- Origem, local de coleta, produto e época de coleta das populações de *Tribolium castaneum*

Código	Cidade	Estado	Local de coleta	Produto	Mês/Ano
1	Água Boa	MT	Armazém convencional	Milho/Painço	Agosto/2004
2	Aguanil	MG	Paiol	Milho/Espiga	Maio/2005
3	Barra do Garças	MG	Beneficiadora de arroz	Arroz	Março/2007
4	Bom Despacho	MG	Silo metálico/Fábrica de ração	Milho	Maio/2005
5	Bragança Paulista	SP	Paiol/Fábrica de ração	Milho/Ração suína	Março/2005
6	Campos de Júlio	MG	Fundo de silo metálico	Milho/Soja/Impurezas	Junho/2004
7	Frutal	MG	Silo metálico	Sorgo	Dezembro/2005
8	Guaxupé	MG	Fundo de silo metálico	Milho/Impurezas	Agosto/2005
9	Nova Era	MG	Armazém convencional	Milho/Impurezas	Maio/2005
10	Piracicaba	SP	Laboratório	Milho/Trigo	Agosto/2004
11	Picos II	PI	Silo metálico	Milho	Fevereiro/2007
12	Rio Verde	GO	Silo metálico	Milho/Soja/Sorgo/Impurezas	Julho/2004
13	Sacramento	MG	Armazém graneleiro/Sacaria	Milho/Sorgo/Impurezas	Maio/2005
14	Uberlândia	MG	Fundo de silo metálico	Milho/Soja/Sorgo/Impurezas	Agosto/2004
15a	Unaí I	MG	Silo metálico	Milho	Agosto /2004
15b	Unaí II	MG	Silo metálico/Graneleiro	Milho/Impurezas	Julho /2004
16a	Viçosa I	MG	Laboratório	Milho/Trigo	Março/2004
16b	Viçosa II	MG	Fábrica de ração	Milho/Impurezas	Setembro/2004

Inicialmente, testes preliminares foram realizados para determinar as faixas de concentrações do OEM que causam mortalidade superior a zero e inferior a 100%. Com base nestas informações foram estabelecidas cinco concentrações para a exposição dos insetos em bioensaios definitivos.

Os bioensaios foram realizados em frascos de vidro com 0,8 L de capacidade. As concentrações utilizadas variaram entre 3,37 a 5,62 $\mu\text{L L}^{-1}$, com intervalos de 0,56 $\mu\text{L L}^{-1}$. O OEM diluído foi aplicado com auxílio de uma micropipeta em papel filtro (2,25 cm^2), e este foi colocado em placas de Petri (5,0 cm de diâmetro) no fundo do frasco. As placas de Petri foram cobertas com tecido de organza para evitar o contato direto entre o óleo essencial de mostarda e os insetos. Posteriormente, os insetos foram colocados nos frascos, os quais foram vedados com silicone. Para cada concentração avaliada foram utilizadas quatro repetições, cada uma com 30 insetos adultos não-sexados. O tratamento controle foi realizado de modo semelhante, porém os insetos foram submetidos apenas ao óleo de soja. Os frascos foram mantidos sob $26\pm 2^\circ\text{C}$, $70\pm 5\%$ UR e escotofase de 24 horas. Após o período de exposição de 24 horas, contabilizou-se o número de insetos mortos.

2.3. Bioensaios de toxicidade para insetos imaturos

Para avaliar a toxicidade do OEM nas fases imaturas do inseto, foram utilizados ovos (1-6 dias de idade), larvas jovens (12 dias), larvas velhas (18 dias) e pupas (3-4 dias) de duas populações de *T. castaneum*: uma população de Água Boa e uma de Bom Despacho (susceptível e resistente à fosfina, respectivamente) (PIMENTEL et al., 2007).

Para obter larvas, pupas e adultos de idade conhecida, aproximadamente 500 insetos adultos (não-sexados) foram colocados em frascos de vidro durante 24

horas para realizar a oviposição. Posteriormente, os insetos adultos foram removidos e depois de 6 a 7 dias pós-oviposição (STAMOPOULOS et al., 2007), as larvas eclodiram, e foi possível acompanhar o desenvolvimento do inseto. Estes foram criados e mantidos nas mesmas condições descritas no item 2.1., até a utilização nos bioensaios.

Para facilitar a obtenção dos ovos, os insetos adultos foram colocados em frascos de vidro de 3,25 L de capacidade, juntamente com 500 g de ração canina Purina Beneful[®] como substrato alimentar, escolhida por apresentar coloração avermelhada, contrastando dessa forma com os ovos brancos e translúcidos de *T. castaneum*. O pó gerado pelos insetos foi passado em peneira de malha de 0,50 mm, levado a um microscópio estereoscópico para a visualização e coleta dos ovos. Estes foram colocados em placas de Petri (5,0 cm de diâmetro) em grupos de 30 para os bioensaios de fumigação. Para cada concentração e estágio de desenvolvimento avaliado, foram utilizadas quatro repetições com 30 indivíduos cada. O tratamento controle foi realizado de modo semelhante, porém os insetos foram submetidos apenas ao óleo de soja.

A metodologia de aplicação do OEM foi realizada como descrito no item 2.2. As concentrações utilizadas para os ovos, larvas e pupas variaram entre 2,25 a 5,62 $\mu\text{L L}^{-1}$, com intervalo de 0,56 $\mu\text{L L}^{-1}$. Os frascos foram mantidos sob $26 \pm 2^\circ\text{C}$, $70 \pm 5\%$ UR e escotofase de 24 horas. Após o período de exposição de 24 horas, os insetos foram retirados do recipiente e colocados em placas de Petri com 30 g de milho triturado, sendo os insetos incubados e mantidos nas mesmas condições descritas anteriormente para todas as fases por aproximadamente sete dias, quando então se realizou a contagem dos insetos mortos.

2.4. Taxa respiratória medida pela produção de CO₂

Foram avaliadas a taxa respiratória dos insetos adultos (1 a 3 semanas de idade) das 18 populações de *T. castaneum* e das fases imaturas das populações de Água Boa e Bom Despacho. Para avaliar os estágios imaturos foram utilizados ovos (1-6 dias de idade), larvas jovens (12 dias), larvas velhas (18 dias) e pupas (3-4 dias).

Os ensaios de respirometria foram feitos em condições de laboratório, utilizando-se um respirômetro do tipo CO₂ Analyser TR 3C (Sable System International, Las Vegas, EUA) e metodologia adaptada de GUEDES et al. (2006) e PIMENTEL et al. (2007).

Para mensuração da taxa respiratória média (produção de CO₂) foram utilizadas três repetições de 20 insetos de cada fase de desenvolvimento e população avaliada. Estes insetos foram acondicionados em câmaras respirométricas com capacidade volumétrica de 25 mL conectadas a um sistema completamente fechado. Os insetos foram colocados nas câmaras 12 horas antes da mensuração da quantidade de CO₂ produzida 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. Essa corrente de ar faz com que as moléculas de CO₂ produzidas passem por um leitor de infravermelho acoplado ao sistema, que continuamente faz a mensuração (em µL h⁻¹) do CO₂ produzido pelos insetos e contido no interior de cada câmara.

Antes da leitura do CO₂ contido em cada câmara respirométrica, onde foram confinados os insetos, fez-se a leitura do CO₂ contido em uma câmara sem insetos em seu interior. O CO₂ contido nessa câmara foi descontado do CO₂ mensurado nas câmaras em que os insetos foram confinados. Desta forma, foi possível mensurar a quantidade de CO₂ proveniente do metabolismo respiratório dos insetos.

2.5. Massa corpórea

Foram avaliadas a massa corpórea dos insetos adultos (1 a 3 semanas de idade) das 18 populações de *T. castaneum* e das fases imaturas das populações de Água Boa e Bom Despacho. Para avaliar a massa corpórea dos estágios imaturos, foram utilizados ovos (1-6 dias de idade), larvas jovens (12 dias), larvas velhas (18 dias) e pupas (3-4 dias).

Para mensuração da massa corpórea foram utilizadas três repetições de 20 insetos de cada fase de desenvolvimento e população avaliada. Realizou-se a pesagem de cada grupo de 20 insetos utilizando balança analítica com precisão de 0,0001 g.

2.6. Taxa instantânea de crescimento populacional

Para determinar a taxa instantânea de crescimento (r_i) de cada população, foram utilizadas placas de Petri (140 × 10 mm) com 40 g de milho triturado (13% b.u.), com dez repetições. O milho foi infestado com 20 insetos adultos (não-sexados) de *T. castaneum* (1-3 semanas de idade), mantidos em câmara climática a 26±2°C, 70±5% UR e 24 horas de escotofase. O número de insetos adultos vivos foi contabilizado após 60 dias de armazenamento. A taxa instantânea de crescimento em cada população foi calculada pela Equação 1, proposta por WALTHALL & STARK (1997):

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

em que

r_i = Taxa instantânea de crescimento populacional;

N_f = Número final de insetos vivos;

N_0 = Número inicial de insetos vivos; e

Δt = Variação de tempo (número de dias em que o ensaio foi executado)

2.7. Análises dos dados

Os dados de mortalidade foram corrigidos pela fórmula de ABBOTT (1925). Posteriormente, os resultados de mortalidade foram submetidos à análise de Probit, segundo FINNEY (1971), por intermédio do procedimento PROC PROBIT do programa SAS (SAS Institute, 1989), gerando-se assim as curvas de concentração-mortalidade.

A razão de toxicidade (RT) e intervalo de confiança ($p < 0,95$) foram calculadas segundo metodologia proposta por ROBERTSON & PREISLER (1992). Os valores das concentrações letais (CL) foram considerados diferentes ($p > 0,05$), se os intervalos de confiança da razão de toxicidade não incluir o valor 1. Foram realizadas análises de correlação (PROC CORR; SAS INSTITUTE, 1989) entre as razões de toxicidade ao OEM (CL₅₀) verificadas neste trabalho para a fase adulta e as razões de toxicidade à fosfina (CL₅₀) obtidos por PIMENTEL et al. 2007.

Os dados de taxa respiratória ($\mu\text{L CO}_2 \text{ h}^{-1} \text{ inseto}^{-1}$), massa corpórea (mg) e taxa instantânea de crescimento (r_i) dos insetos adultos das 18 populações avaliadas foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e ao teste de agrupamento de média Scott-Knott ($p < 0,05$) utilizando o programa SAEG (SAEG, 2005).

Realizou-se ainda análise de correlação ($p < 0,05$) entre a razão de toxicidade (RT₅₀ e RT₉₅) do óleo essencial de mostarda e a taxa respiratória, a massa corpórea e a taxa instantânea de crescimento, além de correlação entre a taxa respiratória e a

massa corpórea, utilizando o procedimento PROC CORR do programa SAS (SAS INSTITUTE, 1989). Para as fases imaturas foram realizadas análises de correlação entre as taxas respiratórias e as CL_{50} obtidas nos bioensaios de toxicidade utilizando o mesmo programa estatístico.

Os resultados obtidos nos ensaios de taxa respiratória para as fases imaturas de *T. castaneum* foram submetidos à análise de covariância utilizando o procedimento PROC GLM (SAS Institute 1989). As populações avaliadas e as fases de desenvolvimento do inseto foram utilizadas como variáveis independentes, a massa corpórea foi a covariável. Em seguida, foram estabelecidas análises de regressão simples complementares utilizando o programa Sigma Plot versão 7.0 (SPSS, 2000).

3. RESULTADOS

3.1. Toxicidade do óleo essencial de mostarda para populações adultas de *Tribolium castaneum*

Os resultados das curvas de concentração-mortalidade das populações de *T. castaneum* 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 *T. castaneum*. Dentre as populações avaliadas, a população de Unaí II-MG foi a que apresentou menor CL_{50} ($3,74 \mu\text{L L}^{-1}$), sendo considerado padrão de susceptibilidade. A população de Piracicaba-SP foi a que apresentou maior CL_{50} ($4,66 \mu\text{L L}^{-1}$). A população de Guaxupé-MG foi a que apresentou menor CL_{95} ($4,86 \mu\text{L L}^{-1}$) e a população de Piracicaba-SP a maior CL_{95} ($6,69 \mu\text{L L}^{-1}$). Embora seja observada variação na susceptibilidade ao OEM entre as populações de *T. castaneum*, tal variação é pequena (<2 vezes) para permitir o reconhecimento de resistência ao OEM. A razão de toxicidade (RT) com base na CL_{50} variou entre 1,00 e 1,76 vezes, e a razão de toxicidade baseada na CL_{95} variou entre 1,00 a 1,49. Ressalta-se que algumas dessas populações apresentam elevada resistência à fosfina (Tabela 2), porém não foi observada correlação significativa entre as razões de toxicidade ao OEM e à PH_3 ($r=-0,05$; $p=0,87$), indicando ausência de resistência cruzada entre o óleo essencial de mostarda e a fosfina (PIMENTEL et al., 2007).

As inclinações das curvas de concentração-mortalidade variaram entre as populações: $6,59 \pm 0,71$ para a população de Uberlândia-MG e $23,38 \pm 2,00$ para a de Água Boa-MG. Por causa desta variação, a ordem de susceptibilidade das populações baseadas na CL_{50} foi diferente daquelas baseadas na CL_{95} (Tabela 2).

3.2. Taxa respiratória em populações adultas de *Tribolium castaneum*

As populações de *T. castaneum* avaliadas apresentaram diferença significativa na taxa respiratória ($F=6,31$; g.l. erro=36, $p<0,001$).

A população de Viçosa II-MG apresentou a maior produção de CO_2 , e a de Uberlândia-MG, a menor (Tabela 3). A variação ocorrida entre estas populações foi de 63%. Constatou-se ainda que as taxas respiratórias produzidas pelas populações não tiveram correlação com a RT das CL_{50} e CL_{95} do OEM e com a massa corpórea dos indivíduos ($p>0,05$).

3.3. Massa Corpórea

A massa corpórea média dos indivíduos das populações de *T. castaneum* variou significativamente ($F=4,83$; g.l. erro=36, $p<0,001$) (Tabela 3). A população de Picos-PI apresentou maior massa corpórea, enquanto a população de Sacramento-MG a menor, tendo sido a variação de massa corporal entre as populações de 19,42%. Não foi observada correlação significativa entre a massa corpórea e as razões de toxicidade (CL_{50} e CL_{95}) ao OEM ($p>0,05$).

3.4. Taxa instantânea de crescimento populacional (r_i)

A r_i diferiu entre as populações de *T. castaneum* avaliadas ($F=8,59$; g.l. erro=144, $p<0,001$). A população de Guaxupé-MG foi a que registrou maior r_i , enquanto que a população de Picos-PI o menor, com diferença de 78,6% entre estas duas populações (Tabela 3). Não foi observada correlação entre a taxa instantânea de crescimento das populações e as razões de toxicidade das CL_{50} e CL_{95} do OEM ($p>0,05$).

3.5. Toxicidade do óleo essencial de mostarda para os diferentes estágios de desenvolvimento de *Tribolium castaneum*

Os dados de toxicidade indicaram diferença na susceptibilidade entre os estágios de desenvolvimento do inseto, porém não houve diferença substancial entre as duas populações (Água Boa e Bom Despacho) (Tabela 4).

Em ambas as populações, os ovos foram à fase mais sensível e as larvas jovens foram mais tolerantes. As concentrações letais estimadas para causar 50% de mortalidade nas larvas jovens (CL_{50}) foram de 1,2 e 1,3 vezes maior se comparadas à fase de ovo nas populações de Água Boa e Bom Despacho, respectivamente, durante o mesmo período de exposição. A RT com base na CL_{50} variou entre 1,00 e 1,17 vezes na população de Água Boa e de 1,00 a 1,25 na população de Bom Despacho (Tabela 4).

As inclinações das curvas de concentração-mortalidade variaram entre as populações e estágios de desenvolvimento: de 5,26 a 23,38 para a população de Água Boa e de 5,18 a 20,17 para a população de Bom Despacho (Tabela 4).

Nos experimentos de toxicidade pode ser previamente notado um aspecto escuro na epiderme das larvas submetidas ao tratamento com o OEM, além de ter sido observada má-formação em adultos do inseto (APÊNDICE A, Fig. 1 e 2).

3.6. Produção de CO_2 dos diferentes estágios de desenvolvimento de *Tribolium castaneum*

A taxa respiratória foi influenciada pelo estágio de desenvolvimento do inseto e por sua massa corpórea, entretanto não se constatou efeito de população ($F=0,001$; $p=0,966$). Além disto, não se constatou qualquer interferência significativa das interações entre os fatores estudados (população, fase de desenvolvimento e massa corpórea dos insetos). A taxa respiratória aumentou à medida que aumentou a massa

corpórea dos indivíduos (Fig. 2). As taxas respiratórias das diferentes fases de desenvolvimento do inseto não tiveram correlação com a toxicidade do OEM (CL_{50}) ($p>0,05$).

Tabela 2- Toxicidade do óleo essencial de mostarda para 18 populações adultas de *Tribolium castaneum*

População	Número de insetos	Inclinação (\pm EPM ¹)	CL ₅₀ (95% IF) (μ L L ⁻¹)	RT (95% IF) CL ₅₀	CL ₉₅ (95% IF) (μ L L ⁻¹)	RT (95% IF) CL ₉₅	χ^2	P
Unai II, MG ²	600	12,21 (\pm 0,96)	3,74 (3,63-3,83)	-	5,10 (4,91-5,35)	-	3,14	0,36
Sacramento, MG ⁵	600	10,35 (\pm 0,85)	3,82 (3,70-3,93)	1,02 (0,98-1,06)	5,51 (5,27-5,86)	1,08 (1,01-1,15)	1,78	0,61
Guaxupé, MG ⁵	480	19,61 (\pm 1,53)	4,01 (3,92-4,09)	1,07 (1,03-1,11)	4,86 (4,72-5,04)	0,95 (0,90-1,00)	5,54	0,13
Aguanil, MG ³	600	19,18 (\pm 1,34)	4,01 (3,94-4,08)	1,07 (1,03-1,11)	4,89 (4,76-5,06)	0,95 (0,90-1,01)	3,81	0,28
Viçosa I, MG ⁴	570	16,87 (\pm 1,15)	4,11 (4,03-4,19)	1,10 (1,06-1,13)	5,15 (5,00-5,34)	1,00 (0,95-1,06)	4,72	0,19
Barra do Garças, MT ⁵	540	19,24 (\pm 1,33)	4,11 (4,04-4,19)	1,10 (1,06-1,13)	5,01 (4,87-5,19)	0,99 (0,93-1,04)	5,34	0,14
Bom Despacho, MG ⁴	570	20,17 (\pm 1,42)	4,14 (4,06-4,21)	1,10 (1,06-1,13)	4,99 (4,87-5,16)	0,98 (0,93-1,03)	5,07	0,16
Picos, PI ⁵	570	11,72 (\pm 0,87)	4,15 (4,05-4,25)	1,11 (1,07-1,15)	5,73 (5,49-6,07)	1,12 (1,05-1,20)	0,89	0,82
Unai I, MG ⁴	390	11,20 (\pm 1,09)	4,17 (4,04-4,29)	1,11 (1,07-1,16)	5,84 (5,52-6,34)	1,14 (1,05-1,24)	2,98	0,39
Viçosa II, MG ⁵	600	11,88 (\pm 0,85)	4,18 (4,08-4,28)	1,11 (1,07-1,16)	5,75 (5,52-6,06)	1,12 (1,05-1,20)	5,08	0,16
Nova Era, MG ³	480	20,30 (\pm 1,60)	4,23 (4,15-4,30)	1,13 (1,09-1,17)	5,10 (4,96-5,28)	1,00 (0,94-1,05)	4,89	0,17
Uberlândia, MG ⁴	570	6,59 (\pm 0,71)	4,26 (4,09-4,42)	1,13 (1,08-1,17)	7,57 (6,84-8,80)	1,48 (1,30-1,69)	2,85	0,41
Bragança Paulista, SP ³	540	13,05 (\pm 0,92)	4,28 (4,17-4,37)	1,14 (1,10-1,18)	5,72 (5,50-6,00)	1,12 (1,05-1,19)	5,07	0,16
Frutal, MG ⁵	510	17,94 (\pm 1,26)	4,32 (4,23-4,40)	1,15 (1,11-1,19)	5,33 (5,18-5,53)	1,04 (0,99-1,10)	2,98	0,39
Água Boa, MT ³	420	23,38 (\pm 2,00)	4,42 (4,35-4,49)	1,18 (1,14-1,22)	5,20 (5,07-5,38)	1,01 (0,96-1,07)	2,67	0,26
Campos de Júlio, MT ⁴	390	17,00 (\pm 1,32)	4,43 (4,33-4,53)	1,18 (1,14-1,22)	5,53 (5,34-5,79)	1,08 (1,02-1,15)	5,74	0,12
Rio Verde, GO ⁴	330	15,07 (\pm 1,37)	4,45 (4,33-4,56)	1,18 (1,14-1,23)	5,72 (5,48-6,06)	1,12 (1,04-1,19)	3,70	0,29
Piracicaba, SP ³	600	10,51 (\pm 0,83)	4,66 (4,55-4,79)	1,24 (1,20-1,29)	6,69 (6,32-7,21)	1,31 (1,21-1,42)	5,96	0,11

¹E.P.M.=Erro padrão da média; ²População padrão de susceptibilidade; ³Susceptível à fosfina; ⁴Resistente à fosfina (PIMENTEL et al., 2007); ⁵Estatus de resistência à fosfina desconhecido. CL=Concentração letal; IF 95%=Intervalo fiducial a 95% de probabilidade; RT=Razão de toxicidade para CL₅₀ e CL₉₅; χ^2 =Qui-quadrado; e P=Probabilidade.

Tabela 3- Taxa respiratória medida pela produção de CO₂ (μL CO₂ h⁻¹ inseto⁻¹), massa corpórea (mg) e taxa instantânea de crescimento (r_i) das populações adultas de *Tribolium castaneum*

Populações	Taxa respiratória ± EPM¹	Massa corpórea ± EPM¹	Taxa instantânea de crescimento ± EPM¹
Viçosa II	1,787 ± 0,011 ^a	1,988 ± 0,048 ^a	0,023 ± 0,003 ^a
Unaí I	1,739 ± 0,387 ^a	1,996 ± 0,052 ^a	0,013 ± 0,004 ^c
Bom Despacho	1,267 ± 0,092 ^b	1,835 ± 0,036 ^b	0,014 ± 0,003 ^c
Campus de Júlio	1,214 ± 0,006 ^b	1,981 ± 0,017 ^a	0,024 ± 0,006 ^a
Água Boa	1,198 ± 0,086 ^b	1,923 ± 0,002 ^a	0,025 ± 0,003 ^a
Nova Era	1,185 ± 0,490 ^b	2,048 ± 0,041 ^a	0,021 ± 0,003 ^b
Rio Verde	1,024 ± 0,142 ^c	1,870 ± 0,033 ^b	0,020 ± 0,004 ^b
Aguanil	0,930 ± 0,075 ^c	1,873 ± 0,031 ^b	0,011 ± 0,002 ^d
Picos	0,865 ± 0,120 ^c	2,101 ± 0,222 ^a	0,006 ± 0,005 ^d
Sacramento	0,859 ± 0,081 ^c	1,693 ± 0,007 ^b	0,016 ± 0,005 ^c
Bragança Paulista	0,793 ± 0,306 ^c	1,950 ± 0,053 ^a	0,012 ± 0,009 ^c
Frutal	0,724 ± 0,118 ^c	1,861 ± 0,071 ^b	0,014 ± 0,005 ^c
Unaí II	0,724 ± 0,043 ^c	1,816 ± 0,005 ^b	0,009 ± 0,009 ^d
Viçosa I	0,717 ± 0,057 ^c	1,818 ± 0,035 ^b	0,019 ± 0,005 ^b
Guaxupé	0,716 ± 0,009 ^c	1,713 ± 0,102 ^b	0,028 ± 0,002 ^a
Barra do Garças	0,710 ± 0,039 ^c	1,795 ± 0,020 ^b	0,009 ± 0,005 ^d
Piracicaba	0,671 ± 0,061 ^c	1,738 ± 0,025 ^b	0,013 ± 0,005 ^c
Uberlândia	0,654 ± 0,120 ^c	1,970 ± 0,053 ^a	0,019 ± 0,003 ^b

Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de significância. ¹EPM=Erro Padrão da Média

Tabela 4- Toxicidade do óleo essencial de mostarda para as diferentes fases de desenvolvimento de *Tribolium castaneum*

Populações	Fases do inseto	Número de insetos	Inclinação (\pm EPM ¹)	CL ₅₀ (95% IF) (μ L L ⁻¹)	RT (95% de IF) CL ₅₀	χ^2	P
Água Boa ²	Ovos	600	5,26 (\pm 0,67)	3,88 (3,68-4,14)	-	3,53	0,31
	Larvas jovens	540	5,45 (\pm 0,70)	4,54 (4,33-4,77)	1,17 (1,08-1,26)	4,96	0,17
	Larvas velhas	450	15,87 (\pm 1,14)	4,16 (4,06-4,26)	1,07 (1,00-1,14)	4,21	0,23
	Pupas	570	10,60 (\pm 0,85)	4,30 (4,19-4,41)	1,10 (1,04-1,18)	3,73	0,29
	Adultos	420	23,38 (\pm 2,00)	4,42 (4,35-4,49)	1,13 (1,07-1,20)	2,67	0,26
Bom Despacho ³	Ovos	510	5,18 (\pm 0,69)	3,67 (3,49-3,88)	-	4,27	0,23
	Larvas jovens	510	5,51 (\pm 0,77)	4,63 (4,42-4,88)	1,25 (1,17-1,35)	4,96	0,17
	Larvas velhas	450	15,85 (\pm 1,37)	4,13 (4,03-4,23)	1,12 (1,06-1,19)	4,14	0,24
	Pupas	570	13,04 (\pm 0,96)	4,44 (4,34-4,54)	1,2 (1,14-1,27)	4,46	0,21
	Adultos	570	20,17 (\pm 1,42)	4,14 (4,06-4,21)	1,12 (1,06-1,18)	5,07	0,16

¹EPM=Erro padrão da média; ²População susceptível à fosfina; ³População resistente à fosfina (PIMENTEL et al., 2007). CL=Concentração letal; IF 95%=Intervalo fiducial a 95% de probabilidade; RT=Razão de toxicidade para CL₅₀; χ^2 =Qui-quadrado; e P=Probabilidade.

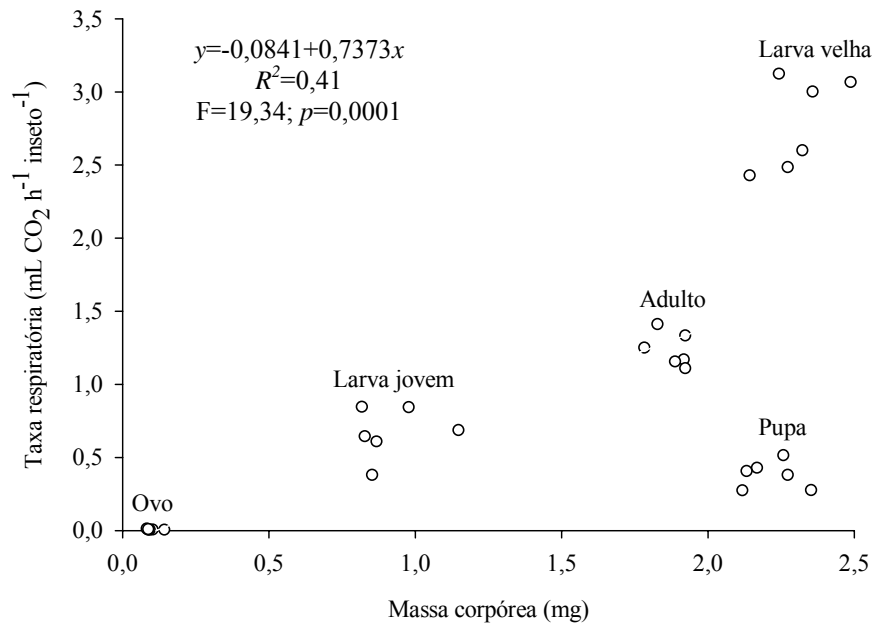


Figura 2- Relação entre a taxa respiratória (mL CO₂ h⁻¹ inseto⁻¹) e a massa corpórea (mg) dos diferentes estágios de desenvolvimento de *Tribolium castaneum* provenientes das populações de Água Boa e Bom Despacho.

4. DISCUSSÃO

As 18 populações adultas de *T. castaneum* avaliadas apresentaram uniformidade de resposta e ausência de resistência ao OEM. Destas populações, seis são resistentes à fosfina, com elevados níveis de resistência ($37 < RT_{50} < 186$ vezes). Considerando que nenhuma destas populações se mostrou resistente ao óleo de mostarda e não houve correlação significativa entre as razões de toxicidade dos dois fumigantes, pode-se descartar a possibilidade de resistência cruzada entre o óleo de mostarda e à fosfina. Isto sugere que os mecanismos de defesa do inseto utilizados para a resistência à fosfina são ineficazes para o OEM.

As inclinações das curvas de concentração-mortalidade variaram entre as populações avaliadas. As maiores inclinações indicam resposta mais homogênea ao inseticida testado e isso implica que pequenas variações na concentração do inseticida provocam maiores variações de mortalidade nestas populações (BACCI et al., 2001; FRAGOSO et al., 2002).

A susceptibilidade do inseto a um fumigante pode variar de acordo com a taxa respiratória (COTTON, 1932; CHAUDHRY, 1997). Essa taxa pode ser mensurada pelo consumo do O_2 ou produção de CO_2 . Neste trabalho, as populações adultas apresentaram variação na quantidade de CO_2 produzida, porém não foi observada qualquer relação com a razão de toxicidade ao OEM (RT_{50} e RT_{95}). Esses resultados reforçam a hipótese de ausência de resistência cruzada entre o OEM e à fosfina, uma vez que um estudo anterior relata uma forte associação entre a resistência à fosfina e a baixa taxa respiratória em algumas populações investigadas neste estudo (PIMENTEL et al., 2007)

A toxicidade inseticida em populações de insetos resistentes tem sido associada com os mecanismos de defesa bioquímicos onde a manutenção de defesa

pode ser relacionada diretamente a elevada atividade metabólica. Assim, a massa corpórea e a taxa respiratória contribuem para designar possíveis custos metabólicos na ausência de pressão de seleção. Maior massa corpórea e taxa respiratória são indicadores de grandes áreas de reservas de energia e de rápida mobilização de energia suficiente para produzir mecanismos de resistência contra inseticidas (NATH et al., 2000; OLIVEIRA et al., 2005; GUEDES et al., 2006). A massa corpórea variou significativamente entre as populações adultas de *T. castaneum* avaliadas. No entanto, não foi observada relação entre a massa corpórea e a razão de toxicidade ao OEM e entre a massa corpórea e a taxa respiratória dos insetos. Apesar de essas duas variáveis serem indicadoras do estado fisiológico dos indivíduos, nem sempre há correlação significativa entre elas (SOUSA et al., 2008), como observado no presente estudo. Desta forma, as populações com maior massa corpórea não teriam maior mobilização de suas reservas energéticas para a produção de mecanismos de defesa contra o OEM.

As populações de *T. castaneum* apresentaram diferentes padrões reprodutivos. Como todas as populações foram susceptíveis, em termos práticos o OEM não seria um agente seletivo responsável por desvantagem reprodutiva. As diferenças observadas nos padrões reprodutivos das populações podem estar relacionadas à origem genética da resistência à fosfina (PIMENTEL et al., 2007). As populações resistentes que vem sendo mantidas em laboratório durante muitos anos sem seleção por uso de inseticidas, podem apresentar performance reprodutiva semelhante às populações susceptíveis, devido os genes terem sido substituídos por outros que não são tão dispendiosos. Aquelas populações, em que a resistência não é fixa, podem ter baixa performance reprodutiva devido à presença de custos

fisiológicos associados (FRAGOSO et al., 2005; FRAGOSO et al., 2006; SOUSA et al., 2008).

Os resultados do presente estudo indicam que o OEM pode ser considerado um fumigante em potencial no controle de pragas de grãos armazenados, podendo ser incluído em estratégias que visam minimizarem a probabilidade da evolução da resistência à fosfina. Uma das táticas mais importantes a serem utilizadas é a rotação entre os inseticidas (ROUSH & MCKENZIE, 1987). O uso rotativo de inseticidas poderia diminuir a frequência de genótipos com resistência instável à fosfina e colocaria os indivíduos resistentes frente a uma desvantagem adaptativa. Vale ressaltar que o uso de diferentes inseticidas, aos quais os insetos não apresentam resistência cruzada, pode contribuir substancialmente para reduzir a velocidade do desenvolvimento da resistência (PARRELA & TRUMBLE, 1989; SUBRAMANYAM & HAGSTRUM, 1996; SOUSA et al., 2008).

O óleo essencial de mostarda se apresentou tóxico para todas as fases de desenvolvimento de *T. castaneum*, apesar de a susceptibilidade ter variado de acordo com o estágio de desenvolvimento. Para ambas as populações, Água Boa e Bom Despacho, consideradas, resistente e susceptível à fosfina, respectivamente, os ovos foram o estágio mais sensível e as larvas jovens as mais tolerantes. As fases de desenvolvimento de *T. castaneum* avaliadas também apresentaram distintas taxas respiratórias, corroborando com os resultados de outros trabalhos (EMEKCI et al., 2001; 2002)

A variação observada na produção de CO₂ está relacionada com a massa corpórea dos indivíduos e não com a toxicidade do inseticida. À medida que aumentou a massa corpórea, aumentou também a taxa respiratória. Como existe diferença nas taxas metabólicas entre as fases de desenvolvimento dos insetos,

esperava-se que, em condições iguais, os estágios apresentassem diferenças na susceptibilidade ao fumigante (COTTON, 1932). No entanto, no presente estudo não foi observado correlação entre as taxas respiratórias das diferentes fases de desenvolvimento do *T. castaneum* e a toxicidade do óleo de mostarda (CL₅₀). Desta forma, o incremento da produção de CO₂ com a massa corpórea não influenciaram na toxicidade do óleo de mostarda nos diferentes estágios de desenvolvimento de *T. castaneum*. Apesar de serem constatados tais resultados, trabalhos anteriores comprovaram que os glucosinolatos e seus produtos de quebra operam no sistema respiratório dos insetos (PRACOS et al., 1992; TSAO et al., 2002). O AITC age de forma semelhante à substância desacopladora dinitrofenol, interferindo na fosforilação oxidativa e formação do ATP (TSAO et al., 2002).

Algumas considerações podem ser atribuídas para explicar por que os ovos foram à fase mais sensível, apesar de terem respirado menos. O isotiocianato alilo pode ter difundido para dentro do ovo de forma que os processos fisiológicos e bioquímicos vitais associados ao desenvolvimento embrionário foram afetados. Estes efeitos foram observados por GURUSUBRANIAN & KRISHNA (1996) em ovos de *Earias vittela* (Lepidoptera: Noctuidae) expostos aos voláteis de *Allium sativum*. Outra possibilidade da atividade ovicida pode ser atribuída à toxicidade química e/ou às propriedades físicas do inseticida que podem causar mudanças na tensão superficial da membrana e na concentração de oxigênio dentro do ovo (SINGH et al., 1978; HUANG et al., 2000).

O modo de ação de muitos isotiocianatos tem sido sugerido como sendo sua capacidade de alquilação de grupos nucleofílicos, como os bpolímeros de DNA, que teriam propriedade citotóxica que poderia afetar a formação e desenvolvimento de estruturas, como os espiráculos, além de alguns compostos atuarem como

reguladores de crescimento (UJVÁRY et al., 1989). No entanto, são necessários mais estudos para saber de fato se o AITC age do mesmo modo. O que pode ser previamente notado é um aspecto escuro na epiderme das larvas submetidas ao tratamento com AITC, além de ter sido observada má-formação em adultos do inseto (APÊNDICE A, Fig. 1 e 2).

Trabalhos com óleos essenciais avaliando as fases imaturas têm demonstrado que não existe um padrão na susceptibilidade dos insetos (ISIKBER et al., 2006; MONDAL & KHALEQUZZAMAN, 2006; STAMOPOULOS et al., 2007). Em testes com o óleo de *Allium sativum* contra *T. castaneum*, os ovos foram mais sensíveis ($CL_{99}=4,4 \text{ mg cm}^{-2}$) e as larvas velhas mais tolerantes ($CL_{95}=31,7 \text{ mg cm}^{-2}$) (HO et al., 1996); para o óleo de *Syzygium aromaticum*, os adultos foram mais sensíveis ($CL_{50}=0,12 \text{ mg cm}^{-2}$) e as larvas de 10 dias foram mais tolerantes ($CL_{50}=0,21 \text{ mg cm}^{-2}$) (MONDAL & KHALEQUZZAMAN, 2006) e o fumigante limoneno foi mais efetivo para larvas de terceiro instar ($CL_{50}=0,21 \text{ } \mu\text{L L}^{-1}$) do que para ovos de *T. confusum* ($CL_{50}=278 \text{ } \mu\text{L L}^{-1}$). A complexidade química dos óleos essenciais e seus diferentes mecanismos de ação dificultam a comparação da toxicidade, sendo que ela só é efetiva se a avaliação envolver experimentos realizados com as mesmas amostras do fitoquímico e a mesma espécie de inseto (REGNAULT-ROGER, 1997).

A concentração letal estimada para causar mortalidade de 50% das larvas jovens (CL_{50}) foi aproximadamente 1,3 vezes maior se comparada à fase de ovo nas populações avaliadas neste estudo, durante o mesmo período de exposição ao fumigante. Trabalhos realizados com a fosfina e fases imaturas de pragas de grãos armazenados demonstram que essa concentração pode variar até 15 vezes entre as fases mais sensíveis e tolerantes a esse fumigante, em populações susceptíveis

(BELL et al., 1977; RAJEDRAN et al., 2001). A determinação das concentrações e períodos de exposição tem algumas implicações práticas no manejo de resistência. A constante aplicação de concentrações que causam mortalidade apenas das fases mais sensíveis, pode selecionar as fases mais tolerantes por estarem constantemente sob pressão de seleção em doses subletais. Devido a tal fato, torna-se de fundamental importância determinar as concentrações e o tempo necessário para obter mortalidade de todas as fases de desenvolvimento dos insetos a fim de evitar fracassos durante a fumigação (SUBRAMANYAM & HAGSTRUM, 1996).

5. CONCLUSÕES

- i. As populações de *T. castaneum* coletadas em cinco estados do Brasil mostraram uniformidade de resposta ao óleo de mostarda e nenhuma exibiu resistência ao fumigante avaliado.
- ii. Levando-se em consideração que algumas populações estudadas neste trabalho são resistentes à fosfina e que estas populações não apresentaram resistência ao óleo de mostarda, pode-se afirmar que não houve resistência cruzada entre os dois fumigantes.
- iii. Apesar de apresentarem diferentes padrões respiratórios, reprodutivos e de massa corpórea, as populações estudadas apresentaram 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. Os resultados indicam que o óleo de mostarda apresentou-se tóxico para todas as fases de desenvolvimento do *T. castaneum*, embora a susceptibilidade tenha variado de acordo com o estágio de desenvolvimento, sendo os ovos mais sensíveis e as larvas jovens as mais tolerantes a este fumigante.
- v. A taxa respiratória foi influenciada pelo estágio de desenvolvimento do inseto e por sua massa corpórea. No entanto, não foi observada relação entre a taxa respiratória e a toxicidade ao óleo essencial de mostarda.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOTT, W.S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v.18, n.1, p.265-266, 1925.

AGROFIT - Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Sistemas de Agrotóxicos e Fitossanitários**. Disponível em: http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 22 de agosto de 2008.

BACCI, L.; PIKANÇO, M.C.; GUSMÃO, M.R.; CRESPO, A.L.B.; PEREIRA, E.J.G. Seletividade de inseticidas a *Brevicoryne brassicae* (L.) (Hemiptera: Aphididae) e ao predador *Doru luteipes* (Scudder) (Dermaptera: Forficulidae). **Neotropical Entomology**, v.30, n.4, p.707-713, 2001.

BAKKALI, F., AVERBECK, S., AVERBECK, D., IDAOMAR, M. Biological Effects of Essential Oils– A Review. **Food and Chemical Toxicology**, v.46, n.2, p.446-475, 2008.

BELL, C.H.; HOLE, B.D.; EVANS, P.H. The occurrence of resistance to phosphine in adult and egg stages of strains of *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrichidae). **Journal of Stored Products Research**, v.13, p.91-94, 1977.

BELLO, A.; LÓPEZ-PÉREZ, J.A.; DÍAZ-VIRULICHE, L.; TELLO, J. 2001. Alternatives to methyl bromide for soil fumigation in Spain. In: **Global Report on Validated Alternatives to the Use of Methyl Bromide for Soil Fumigation** (Labrada, R., Fornasari, L.). FAO-UNEP, Roma, Paper, v.166, p.33-44.

BOND, E. J.; ROBINSON, J. R.; BUCKLAND, C. T. The toxic action of phosphine: absorption and symptoms of poisoning in insects. **Journal of Stored Products Research**, v.5, p.289–298, 1969.

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, n.3, p.213–228, 1997.

CODE OF FEDERAL REGULATIONS. 1999. Title 21. Volume 3. Section 172.515. **Synthetic flavoring substance and adjuvant**. Washington. Federal Printing House.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Produção nacional de grãos já é 9,1% maior que a anterior**. Disponível em: http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/estudo_safra.pdf. Acesso em: 03 de dezembro de 2008.

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, n.5, p.1088–1103, 1932.

COUSTAU, C.; CHEVILLON, C.; FFRENCH-CONSTANT, R. H. Resistance to xenobiotics and parasites: can we count the cost? **Trends in Ecology and Evolution**, v.15, n.9, p.378–383, 2000.

DHINGRA, O.D.; COSTA, M.L.N.; SILVA, G.J.; MIZUBUTI, E.S.G. Essential oil of mustard to control *Rhizoctona solani* seedling damping off and seedling blight in nursery. **Fitopatologia Brasileira**, v.29, n.6, p.683-686, 2004.

EMEKCI, M.; NAVARRO, S.; DONAHAYE, J.E.; RINDNER, M.; AZRIELI, A. 2001. **Respiration of stored product pests in hermetic conditions**. p. 26–35 in E.J. DONAHAYE, S. NAVARRO, and J.G. LEESCH (editors) Proceedings of the International Conference on Controlled Atmosphere and Fumigation in Stored Products. Executive Printing Services, Clovis, California, USA.

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, n.5, p.413-425, 2002.

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, 2006. p.371-402.

FINNEY, D.J. **Probit analysis**. 3rd ed. London: Cambridge University Press, 1971. 333p.

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

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

FRAGOSO, D.B.; DAMASCENO, B.L.; GUEDES, R.N.C.; FRAGOSO, C.T.V. Demografia de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) susceptível e resistente a inseticidas. **Revista Ciência Agroambiental**, v.1, n.1, p.53-59, 2006.

GUEDES, R.N.C. Manejo integrado para a proteção de grãos armazenados contra insetos. **Revista Brasileira de Armazenamento**, v.15-16, n.1-2, p.3-48, 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, n.1, p.30-38, 2006.

GUILLÉN, M.D.; CABO, N.; BURILLO, J. Characterization of the essential oils of some cultivated aromatic plants of industrial interest. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.70, n.3, p.359-363, 1996.

GURUSUBRAMANIAN, G.; KRISHNA, S.S. The effects of exposing eggs of four cotton insects pests to volatiles of *Allium sativum* (Liliaceae). **Bulletin of Entomological Research**, v.86, n.1, p.29-31, 1996.

HEBERLE, E.; FARONI, L.R.D'A.; SOUZA, A.H.; DHINGRA, O.D.; GUEDES, R.N.C. Óleo essencial de mostrada sob *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **IV Seminário Nacional de Armazenagem**, Uberlândia – MG, 2005.

HO, S.H.; KOH, L.; MA, Y.; HUANG, Y.; SIM, K.Y. The oil garlic, *Allium sativum* L. (Amaryllidaceae), as a potential grain protectant against *Tribolium castaneum* (Herbst) and *Sitophilus zeamais* Motsch. **Postharvest Biology and Technology**, v.9, n.1, p.41-48, 1996.

HUANG, Y.; LAM, S.L.; HO, S.H. Bioactivities of essential oil from *Elletaria cardomomum* (L.) Maton. to *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium castaneum* (Herbst). **Journal of Stored Products Research**, v.36, n.2, p.107-117, 2000.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **IBGE: Safra 2008 de grãos será de 145,1 mi de toneladas.** Disponível em: http://www.administradores.com.br/noticias/ibge_safra_2008_de_graos_sera_de_145_1_mi_de_toneladas/17064/. Acesso em: 03 de dezembro de 2008.

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, n.2, p.167-177, 2006.

ISSHIKI, K.; TOKUORA, K.; MORI, R.; CHIBA, S. Preliminary examination of allyl isothiocyanate vapor for food preservation. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v.56, n.9, p.1476–1477, 1992.

LORINI, I. Descrição, biologia e danos das principais pragas de grãos armazenados. In: IRINEU, L.; MIIKE, L.H.; SCUSSEL, V.M. (Ed). **Armazenagem de Grãos**. Campinas: Instituto Biogeneziz, 2002. cap.7.1, p.379-397.

MAPA- Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa Conjunta N° 1, de 10 de setembro de 2002**. Disponível em: http://www.climate-policy-map.econsense.de/legalbasis_download/brazil/inst_norm_methylbromide.pdf. Acesso em: 07 de novembro de 2008.

MARI, M.; LEONI, O.; IORI, R.; CEMBALI, T. Antifungal vapour-phase activity of allyl-isothiocyanate against *Penicillium expansum* on pears. **Plant Pathology**, v.51, n.2, p.231-236, 2002.

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.

MUTHUKUMARASAMY, P.; HAN, J.H.; HOLLEY, R.A. Bactericidal effects of *Lactobacillus reuteri* and allyl isothiocyanate on *Escherichia coli* O157:H7 in refrigerated ground beef. **Journal of Food Protection**, v.66, n.11, p.2038-2044, 2003.

NADARAJAH, D.; HAN, J.H.; HOLLEY, R.A. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in packaged ground beef by allyl isothiocyanate. **International Journal of Food Microbiology**, v.99, n.3, p.269-279, 2005.

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, n.3, p.127-137, 2000.

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, n.6, p.981–990, 2005.

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

PAES, J.L. **Difusão e sorção do isotiocianato alilo e o seu efeito no controle de *Sitophilus zeamais* e na qualidade do milho**. 2008. 54p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) Universidade Federal de Viçosa/UFV, Viçosa.

PAPACHRISTOS, D.P.; STAMOPOULOS, D.C. Repellent, toxic and reproduction inhibitory effects of essential oil vapours on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). **Journal of Stored Products Research**, v.38, n.2, p.117-128, 2002.

PAPACHRISTOS, D.; 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, n.5, 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, n.1, p.13-20, 2000.

PARK-II, K.; LEE, S.G.; CHOI, D.H.; PARK, J.D.; AHN, Y.J. Insecticidal activities of constituents identified in the essential oil from leaves of *Chamaecyparis obtusa* against *Callosobruchus chinensis* (L.) and *Sitophilus oryzae* (L.). **Journal of Stored Products Research**, v.39, n.4, p.375-384, 2003.

PARRELLA, M.; TRUMBLE, J.T. Decline of resistance in *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agromyzidae) in the absence of insecticide selection pressure. **Journal of Economic Entomology**, v.82, n.2, p.365-368, 1989.

PECHÁČEK, R.; VELÍSEK, J.; HRABCOVÁ, H. Decomposition products of allyl isothiocyanate in aqueous. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.45, n.12, p.4584-4588, 1997.

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, n.9, 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* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Stores Products Research**. No prelo, 2008.

PRATT, S.J. **Insect toxicology of phosphine**. Acton: Ed. Australian National University, 2005. 293p. (PhD. Thesis).

PRACOS, P.; COURANJOU, C.; MOREAU, R. Effects on growth and respiration due to the ingestion of the rapeseed meal glucosinolates in young larvae of *Tenebrio molitor*. **Comparative biochemistry and physiology. A. Comparative physiology**, v.103A, n.2, p.391-395, 1992.

RAJENDRAN, S.; NAYAK, K.R.; ANJUM, S.S. The action of phosphine against the eggs of phosphine-resistant and -susceptible strains of *Rhyzopherta dominica* F. **Pest Management Science**, v.57, n.5, p.422-426, 2001.

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

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

REGNAULT-ROGER, C. The potential of botanical essential oils for insect pest control. **Integrated Pest Management Reviews**, v.2, n.1, p.25-34, 1997.

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

ROUSH, R.T.; MCKENZIE, J.A. Ecological genetics of insecticide and acaricide resistance. **Annual Reviews Entomology**, v.32, p.361-380, 1987.

SAEG. **Sistema para Análises Estatísticas**. Versão 9.0. Viçosa: Fundação Arthur Bernardes, 2005.

SALEM, S.A.; EBOU-ELA, R.G.; MATTER, M.M.; EL-KHOLY, M.Y. Entomocidal effect of *Brassica napus* extracts on two store pests, *Sitophilus oryzae* (L.) and *Rhizopertha dominica* (Fab.) (Coleoptera). **Journal of Applied Sciences Research**, v.3, n.4, p.317-322, 2007.

SAS INSTITUTE. **Sas/Stat User's Guide, version 6**. 1989. SAS Institute, Cary, NC, USA. 1989.

SHOFRAN, B.G.; PURRINGTON, S.T.; BREIDT, F.; FLEMING, H.P. Antimicrobial properties of sinigrin and its hydrolysis products. **Journal of Food Science**, v.63, n.4, p.621-624, 1998.

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, n.8, 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, n.4, p.379-385, 2008.

SPSS Inc. **Sigma Plot user's guide version 7.0** (Revised Edition). SPSS Inc., Chicago, USA. 2000.

STAMOPOULOS, D.C.; DAMOS, P.; KARAGIANIDOU, G. Bioactivity of five monoterpenoid vapours to *Tribolium castaneum* (du Val) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Journal of Stored Products Research**, v.43, n.4, p.571-577, 2007.

SUBRAMANYAM, B.; HAGSTRUM, D.W. Resistance Measurement and Management In: SUBRAMANYAM, B.; HAGSTRUM, D. W. **Integrated Management of Insects in Stored Products**, New York: Marcel Dekker, 1996. p.331–397.

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, n.4, p.665-674, 2003

TAPONDJOU, A.L.; ADLEN, C.; FONTEM, D.A.; BOUDA, H.; REICHMUTH, C. Bioactivities of cymol and essential oils of *Cupressus sempervirens* and *Eucalyptus saligna* against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium castaneum* du Val. **Journal of Stored Product Research**, v.41, n.1, p.91-102, 2005.

THEJASS, P.; KUTTAN, G. Allyl isothiocyanate (AITC) and phenyl isothiocyanate (PITC) inhibit tumour-specific angiogenesis by downregulating nitric oxide (NO) and tumour necrosis factor- α (TNF- α) production. **Nitric Oxide**, v.16, n.2, p.247-257, 2007.

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, n.5, p.1-7, 2002.

TUNÇ, I.; BERGER, B.M.; ERLER, F.; DAGLI, F. Ovicidal activity of essential oils from five plants against two stored-product insects. **Journal of Stored Products Research**, v.36, n.2, p.161-168, 2000.

TUNC, S.; CHOLLETA, E.; CHALIERA, P.; PREZIOSI-BELLOYB, L.; GONTARDA, N. Combined effect of volatile antimicrobial agents on the growth of *Penicillium notatum*. **International Journal of Food Microbiology**, v.113, n.3,

p.263-270, 2007.

UJVÁRY, I.; MATOLCSY, G.; RIDDIFORD, L.M.; KIRUMA, K.; HORWATH, K. Inhibition of spiracle and crochets formation and juvenile hormone activity of isothiocyanate derivatives in the tobacco hornworm, *Manduca sexta*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.35, n.3, p.259-274, 1989.

WALTHALL, W. K.; STARK, J. D. A comparison of acute mortality and population growth rate as endpoints of toxicological effect. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.37, p.45-52, 1997.

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

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 and Preservation**, v.21, n.1, p.9-19, 1997.

APÊNDICE A



(A)



(B)

Figura 1- Aspecto da larva de *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae): normal (A) e com alteração na epiderme depois do bioensaio com o óleo de mostarda (B).



(A)



(B)



(C)

Figura 2- Aspecto do adulto de *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae): normal (A) e com alteração em sua formação depois do bioensaio com o óleo de mostarda (B), (C).