

HANDINA DA GRAÇA LURDES LANGA MASSANGO

ATIVIDADE FUMIGANTE DO ÓLEO ESSENCIAL DE SALSA SOBRE
Callosobruchus maculatus **EM FEIJÃO-CAUPI**

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

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2015

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa

T

M414a
2015
Massango, Handina da Graça Lurdes Langa, 1985-
Atividade fumigante do óleo essencial de salsa sobre
Callosobruchus maculatus em feijão-caupi / Handina da Graça
Lurdes Langa Massango. – Viçosa, MG, 2015.
viii, 35f. : il. ; 29 cm.

Orientador: Lêda Rita Dantonino Faroni.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Referências bibliográficas: f.28-35.

1. Feijão caupi - Armazenamento - Controle biológico. 2.
Vigna unguiculata. 3. Óleos essenciais. 4. *Petroselinum*
sativum. 5. *Callosobruchus maculatus*. I. Universidade Federal
de Viçosa. Departamento de Engenharia Agrícola. Programa de
Pós-graduação em Engenharia Agrícola. II. Título.

CDD 22. ed. 635.652

HANDINA DA GRAÇA LURDES LANGA MASSANGO

**ATIVIDADE FUMIGANTE DO ÓLEO ESSENCIAL DE SALSA
SOBRE *Callosobruchus maculatus* EM FEIJÃO-CAUPI**

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

APROVADA: 15 de dezembro de 2015.

Eugênio Eduardo de Oliveira
(Coorientador)

Fernanda Fernandes Heleno
(Coorientadora)

Haddi Khalid

Lêda Rita D'Antonino Faroni
(Orientadora)

“A educação é a arma mais poderosa que você pode usar para mudar o mundo.”

Nelson Mandela

*À minha mãe Lurdes Mutemucio in memória,
ao meu esposo David Massango,
à minha filha Kayla Massango,
à minha avó Nelcia Cuna e,
à minha irmã Juvenalda.*

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pelo dom da vida, saúde, sabedoria, disposição e alegria. Por me ter concedido mais uma conquista na vida.

À minha mãe Lurdes Mutemucuiu *in memória* e ao meu pai Abílio Langa, pela educação, carinho e amor.

Ao meu esposo David Massango e a minha filha Kayla Massango, pelo apoio incondicional, amor e pela paciência que tiveram para suportar os meus lamentos e força que tiveram de ficar sem a minha companhia durante o tempo em que lhes faltei – Obrigada meus amores.

Às minhas sogras Laura Munguambe e Carla Santos pelo apoio incondicional e pelo carinho que sempre me dedicaram.

À Universidade Federal de Viçosa (UFV) e ao Departamento de Engenharia Agrícola (DEA), pela oportunidade de desenvolver este trabalho.

Ao Instituto Superior Politécnico de Gaza (ISPG) e ao Governo da Holanda (NICHE), pela concessão de bolsa de estudo.

À Professora Lêda Rita D'Antonino Faroni pela orientação, confiança, ensinamentos e oportunidades concedidas.

À Fernanda Fernandes Heleno e ao Professor Eugênio Eduardo de Oliveira pela co-orientação e pelas valiosas contribuições no desenvolvimento deste trabalho.

Ao Luís Viteri, colega e amigo, pela disposição para ensinar, paciência e pelo apoio incondicional.

Aos amigos do laboratório de Grãos: Patrícia, Raquel, Daniel, Juliane, Lucas, Mariane, Lauana, Paulo, e Eridiane. Isso só foi possível graças a vocês. Vocês foram mais que amigos, foram irmãos. Muito obrigada pela ajuda e consolo nos momentos de desespero.

À minha mãe de aluguel Giselda Rodrigues, pelo apoio incondicional e carinho de mãe, fazendo com que eu me sentisse em casa mesmo estando longe.

Aos meus grandes amigos: Mário Matangue e Dulcídia Guezimane, pelo carinho, apoio psicológico e pela força que me deram para nunca desistir.

A vocês o meu eterno carinho e gratidão.

Aos funcionários do Setor de Armazenamento do Departamento de Engenharia Agrícola da UFV pelo apoio, incentivo e disponibilidade em ajudar: Lucas Henrique, Zé Geraldo, Édson e Zé Eustáquio.

A todos que de um modo geral, direta ou indiretamente, contribuíram para realização deste trabalho e para minha formação acadêmica, Muito Obrigada!

BIOGRAFIA

Handina da Graça Lurdes Langa Massango, filha de Abílio Paulino Langa e de Lurdes Aurélio Mutemucuo, nasceu em Maputo, Província de Maputo, Moçambique aos 16 de Outubro de 1985.

Em fevereiro de 2007, iniciou o curso de Engenharia Agrícola no Instituto Superior Politécnico de Gaza, tendo sido graduada em Novembro de 2011. Em Fevereiro de 2012 iniciou as atividades como Docente (Assistente Estagiária) no curso de Engenharia Agrícola do Instituto Superior Politécnico de Gaza. Em Fevereiro de 2014, ingressou no Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, na área de Qualidade dos Grãos e Subprodutos Armazenados, da Universidade Federal de Viçosa, sob orientação da Professora Lêda Rita D'Antonino Faroni e Coorientação do Professor Eugénio Eduardo de Oliveira e da Doutora Fernanda Fernandes Heleno, submetendo-se à defesa de dissertação em Dezembro de 2015.

SUMÁRIO

| | |
|---|------|
| RESUMO | vii |
| ABSTRACT | viii |
| 1. INTRODUÇÃO | 1 |
| 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 4 |
| 2.1. Feijão-caupi (<i>Vigna unguiculata</i>) (L.) Walp | 4 |
| 2.2. <i>Callosobruchus maculatus</i> (F., 1775) (Coleoptera: Bruchidae)..... | 6 |
| 2.3. Óleos essenciais | 7 |
| 2.3.1. Composição química dos óleos essenciais | 7 |
| 2.3.2. Atividade inseticida e modos de ação dos óleos essenciais..... | 8 |
| 2.4. Gás fosfina..... | 10 |
| 3. MATERIAL E MÉTODOS..... | 11 |
| 3.1. Insetos..... | 11 |
| 3.2. Óleo essencial de <i>Petroselinum sativum</i> | 11 |
| 3.3. Gás fosfina..... | 12 |
| 3.4. Toxicidade do óleo essencial de salsa para <i>C. maculatus</i> | 13 |
| 3.5. Bioensaio da taxa instantânea de crescimento populacional (r_i) de <i>C. maculatus</i> exposto ao óleo essencial de salsa | 14 |
| 3.6. Bioensaio da taxa instantânea de crescimento populacional (r_i) de <i>C. maculatus</i> exposto ao gás fosfina | 15 |
| 3.7. Avaliação da perda de massa..... | 15 |
| 3.8. Percentual de germinação | 16 |
| 3.9. Análises estatísticas | 16 |
| 4. RESULTADOS | 17 |
| 4.1. Principais componentes do óleo essencial..... | 17 |
| 4.2. Toxicidade do óleo essencial de <i>P. sativum</i> e do gás fosfina para <i>C. maculatus</i> | 18 |
| 4.3. Bioensaio de taxa instantânea de crescimento populacional (r_i) | 20 |
| 4.4. Características física e fisiológica dos grãos de feijão-caupi expostos ao óleo essencial e ao gás fosfina..... | 21 |
| 4.4.1. Perda de massa dos grãos | 21 |
| 4.4.2. Germinação..... | 23 |
| 5. DISCUSSÃO | 28 |
| 6. CONCLUSÃO..... | 28 |
| 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 29 |

RESUMO

MASSANGO, Handina da Graça Lurdes Langa, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, dezembro de 2015. **Atividade fumigante do óleo essencial de salsa sobre *Callosobruchus maculatus* em feijão-caupi**. Orientadora: Lêda Rita D'Antonino Faroni. Coorientadores: Eugênio Eduardo de Oliveira e Fernanda Fernandes Heleno.

O feijão-caupi, *Vigna unguiculata*, (L.), Walp. é uma leguminosa de ampla distribuição mundial, encontrada principalmente nas regiões tropicais. Os grãos de feijão-caupi apresentam problemas sérios de perdas pós-colheita, grande parte ocorrendo em razão do armazenamento inadequado e do ataque por insetos-praga, destacando-se o *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). O controle de *C. maculatus* em feijão-caupi armazenado é feito principalmente com o fumigante fosfina, no entanto, o uso em longo prazo de um único inseticida aumenta o risco do crescimento de populações resistentes. Como alternativa, tem sido pesquisado o uso de inseticidas de origem vegetal que têm relativa toxicidade a diversas espécies de insetos. Este trabalho foi conduzido com o objetivo de avaliar a atividade fumigante do óleo essencial de salsa, *Petroselinum sativum*, (Mill.) Fuss, sobre *C. maculatus*, em feijão-caupi. A toxicidade do óleo essencial e do gás fosfina (controle positivo) foi avaliada para estimar as concentrações letais de 50 e 95% (CL₅₀ e CL₉₅). As unidades experimentais foram constituídas por frascos de vidro com 0,8 L de capacidade, contendo 100 g de feijão-caupi e 20 insetos adultos com idade de 1 a 3 dias. O óleo essencial foi aplicado em recortes de papel colocados dentro de sachês de organza e colados nas tampas dos frascos. A toxicidade foi avaliada 48 h após a exposição dos insetos ao óleo essencial e à fosfina. A taxa instantânea de crescimento populacional dos insetos na presença do óleo essencial e da fosfina foi determinada utilizando as concentrações letais CL₁₀, CL₃₀, CL₅₀, CL₇₀ e CL₉₀ obtidas nos bioensaios de toxicidade. O experimento foi montado no delineamento inteiramente casualizado com 5 repetições. A progênie adulta foi contabilizada após 45 dias. Os resultados da toxicidade indicaram CL₅₀ de 489,5 µL L⁻¹ e CL₉₅ de 635,8 µL L⁻¹ para o óleo essencial de salsa e CL₅₀ de 35,7 µL L⁻¹ e CL₉₅ de 68,5 µL L⁻¹ para a fosfina. Verificou-se que o óleo essencial de salsa apresenta efeito inseticida fumigante no controle de adultos de *C. Maculatus* e depende da concentração aplicada. Além disso, a perda de massa do feijão-caupi tratado com óleo essencial de salsa e com o gás fosfina foi menor em relação ao controle negativo (sem tratamento), indicando que a exposição dos insetos ao óleo essencial e ao gás fosfina reduziu o número de insetos de *C. maculatus*. O poder germinativo dos grãos de feijão-caupi foi diretamente proporcional às concentrações do óleo essencial e do gás fosfina.

ABSTRACT

MASSANGO, Handina da Graça Lurdes Langa, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, December, 2015. **Fumigant activity of essential oils of parsley on *Callosobruchus maculatus* in cowpea beans.** Adviser: Lêda Rita D'Antonino Faroni. Co-advisers: Eugênio Eduardo de Oliveira and Fernanda Fernandes Heleno.

Cowpea, *Vigna unguiculata* (L.) Walp. is a legume of worldwide distribution, mainly found in tropical regions. The cowpea grains has serious problems of post-harvest losses, largely occurring due to improper storage and attack by insect pests, highlighting the *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). The control of *C. maculatus* in stored cowpea is done primarily with the phosphine fumigation, however, the long term use of a single insecticide increases the risk of resistant populations development. Alternatively, it has been investigated the use of insecticides of plant origin that have relative toxicity to various insect species. This work was carried out to evaluate the fumigant activity of the essential oil of parsley, *Petroselinum sativum* (Mill.) Fuss, on *C. maculatus* in cowpea. Toxicity of essential oil and phosphine gas (positive control) was evaluated to estimate the lethal concentrations of 50 and 95% (LC₅₀ and LC₉₅). The experimental units consisted of glass bottles with 0.8 liter capacity containing 100 g of cowpea and 20 adult insects aged 1-3 days. The essential oil was applied to paper cutouts placed inside organza sachets and glued to the bottle caps. Toxicity was assessed 48 h after exposure of the insects to the essential oil and phosphine. The instantaneous rate of growth of the insects in presence of the essential oil and phosphine gas was determined using lethal concentration LC₁₀, LC₃₀, LC₅₀, LC₇₀ and LC₉₀ obtained in bioassays of toxicity. The experiment was conducted in a completely randomized design with 5 repetitions. The adult progeny was recorded after 45 days. The results of toxicity indicated 489.5 μL^{-1} to LC₅₀ and 635.8 μL^{-1} to LC₉₅ for essential oil of parsley and 35.7 μL^{-1} to LC₅₀ and 68.5 μL^{-1} to LC₉₅ for phosphine. It was found that the essential oil of parsley has a fumigant insecticidal effect in controlling adults of *C. maculatus* which effectiveness depends on the applied concentration. Moreover, the weight loss of the cowpea treated with essential oil of parsley and with phosphine gas was lower compared to the negative control (no treatment), indicating that exposure of the insects to the essential oil and phosphine gas reduced the number of *C. maculatus*. The germination of cowpea grain was directly proportional to the concentrations of the essential oil and phosphine gas.

1. INTRODUÇÃO

O feijão-caupi, *Vigna unguiculata*, (L.), Walp. é uma leguminosa de ampla distribuição mundial, encontrada principalmente nas regiões tropicais, cujas características edafoclimáticas se assemelham àquelas do seu provável centro de origem, a África. Ele é importante tanto como alimento, pois contém cerca de 25% de proteína, é rico em fibra e minerais (FROTA et al., 2008), quanto como gerador de emprego e renda, o que o torna extremamente valioso para a dieta humana, particularmente em regiões tropicais da África, da América Central e do Sul (MOSTASSO et al., 2002; ILEKE et al., 2012).

O Brasil é o maior produtor da América e o terceiro maior produtor mundial de feijão-caupi (FAOSTAT, 2011). No Brasil, a cultura do feijão é uma das mais importantes, sobretudo por envolver uma grande área de produção, compreendendo, em sua maior parte, pequenos agricultores. A região Nordeste é a principal produtora de feijão, e o gênero *Vigna* é responsável por 60% desta produção (YOKOYAMA et al., 2000).

Em Moçambique, o feijão-caupi é também uma cultura bastante importante. É a segunda leguminosa mais cultivada depois do amendoim (INE, 2010). É cultivada quase exclusivamente pelo setor familiar em áreas não irrigadas para obtenção de grão, vagem verde e folhas para o consumo humano e geração de renda familiar (HEEMSKERK, 1985).

Entretanto, o cultivo mundial deste feijão está sujeito a severas perdas pós-colheita, ocorrendo grande parte das perdas em razão do armazenamento inadequado e de fatores bióticos, impossibilitando obter um produto final de qualidade (ALI & GUPTA, 2012). Entre os fatores bióticos, os insetos-praga são uma das principais causas de perdas, destacando-se o gorgulho-do-feijão, *Callosobruchus maculatus* (F., 1775) (Coleoptera: Bruchidae) (DE SOUSA et al., 2005).

A espécie *C. maculatus* é uma praga cosmopolita de leguminosas armazenadas e tem sido amplamente estudada, principalmente quanto à sua adaptação e seu desenvolvimento em condições de armazenamento. A destruição dos grãos pode torná-los inadequados para o consumo humano e inviáveis para o replantio ou comercialização (OLIVEIRA et al., 2014), sendo necessário o controle eficiente deste inseto-praga.

No Brasil, é permitido o uso dos inseticidas piretroides, organofosforados e o fumigante fosfina para o controle de insetos-praga de grãos armazenados. Para o controle de *C. maculatus* em feijão-caupi armazenado, apenas o fumigante fosfina é registrado pelo Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2015). No entanto, o uso por

longo prazo de um único fumigante aumenta o risco de desenvolvimento de resistência em populações de insetos-praga (BENHALIMA et al., 2004; PIMENTEL et al., 2009).

Como alternativa ao fumigante fosfina, há os inseticidas de origem vegetal, que apresentam relativa toxicidade a diversas espécies de insetos (GERSHENZON, 2002). Segundo OLIVEIRA et al. (1999), os inseticidas botânicos são de grande interesse para muitos, por serem inseticidas "naturais", agentes tóxicos derivados de plantas. Na região Nordeste do Brasil, o uso de folhas e sementes de ervas no controle de pragas de grãos armazenados e milho é uma prática comum entre os pequenos agricultores. Esses óleos são menos tóxicos e facilmente biodegradáveis, sendo apropriados para aplicação em pequena escala visando à proteção de grãos e produtos armazenados do ataque de insetos-praga (ROSENTHAL, 1986).

Nos últimos anos, muitos estudos têm sido desenvolvidos sobre o uso de óleos essenciais de plantas e seus constituintes químicos bioativos como possíveis alternativas a inseticidas sintéticos (RAJENDRAN & SRIRANJINI, 2008). Os óleos essenciais têm sido amplamente investigados para o controle de pragas de grande importância econômica e vetores de doenças (PANDEY et al., 2012; NAVARRO et al., 2013; KEDIA et al., 2014). Óleos essenciais são misturas complexas de substâncias voláteis e lipófilas, na maior parte líquidas e odoríferas, contendo terpenos, aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, óxidos, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos, lactonas, e cumarinas (SIMÕES & SPITZER, 2004).

A *Petroselinum sativum* (Mill.) Fuss, popularmente conhecida como salsa ou salsinha, é uma planta aromática e medicinal provavelmente originária da região do Mediterrâneo, tornando-se popular na Europa e no restante do mundo como tempero nos mais diversos pratos (KREYDIYYEH et al., 2001). É uma planta anual ou bienal, ereta e perenifólia, que atinge de 0,15 a 0,30 m de altura (LORENZI & MATOS, 2002).

A salsa apresenta grande potencial para uso no controle alternativo de insetos-praga de grãos armazenados. REGNAULT-ROGER et al. (1993) verificaram mortalidade de *Acanthoscelides obtectus* Say quando usaram o óleo essencial de *P. sativum*. RAFIEI-KARAHROODI et al. (2011) também observaram efeito inibitório do óleo essencial de *P. sativum* na oviposição de adultos de *Plodia interpunctella* Hubner, em grãos armazenados. Entretanto, ainda não há registros na literatura que relatem o controle de populações de *C. maculatus* em feijão-caupi armazenado utilizando o óleo essencial de *P. sativum*. Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade fumigante do óleo essencial de *P.*

sativum (salsa) em comparação com o gás fosfina e seu efeito nas características fisiológicas dos grãos de feijão-caupi.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Feijão-caupi, *Vigna unguiculata*, (L.), Walp

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) teve sua origem no continente africano, é largamente distribuído no mundo, estando presente em regiões de clima tropical e subtropical pela sua fácil adaptabilidade (BEZERRA et al., 2010). Este feijão é amplamente consumido no continente africano. Ele é uma boa opção para a melhoria da qualidade de vida, especialmente da população carente no meio rural e urbano, sendo fonte significativa de renda para os pequenos agricultores, comerciantes, homens do agronegócio e exportadores (OUÉDRAOGO, 2003; NOUHOHEFLIN et al., 2003; DABIRE et al., 2003; FONSECA et al., 2010).

Segundo a FAO (2011), a estimativa da produção mundial de feijão-caupi é da ordem de 3,3 milhões de toneladas de sementes secas, 64% das quais são produzidas em África. Os períodos de 2006 à 2011, Brasil, Índia e Birmânia alternaram-se nos três primeiros lugares entre os maiores produtores mundiais de feijão-caupi, totalizando, aproximadamente, 61% da produção mundial (EMBRAPA, 2012). O feijão-caupi é uma leguminosa tolerante à seca e a altas temperaturas (BERTINE et al., 2009). No Norte e Nordeste Brasileiro, ela é considerada uma cultura de subsistência, com uma expressiva importância socioeconômica (BERTINE et al., 2009).

FREIRE FILHO et al. (2011) relataram que embora o Brasil ocupe o terceiro lugar na produção e no consumo mundial de feijão-caupi, ainda tem sido registrado déficit no oferecimento do produto nas regiões Norte e Nordeste; somente na região Centro-Oeste foi verificado superávit de 38.271,7 toneladas (Tabela 1). No entanto, as pessoas consomem este feijão por temporadas, porque a produção e o armazenamento são expostos a perdas causadas por muitas espécies de insetos-praga. Entre eles, o *C. maculatus* é o mais significativo (TIMKO & SINGH, 2008; MARSARO JUNIOR & VILARINHO, 2011).

Tabela 1 - Estimativa da oferta e da demanda de feijão-caupi nas regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste do Brasil com base na média do período de 2005 a 2009.

| Região | População (habitante) ¹ | População | | Consumo <i>per capita</i> (kg/pessoa/ ano) ³ | Demanda estimada (t) | Prudução (t) | Superávit/ Déficit (t) |
|--------------|---------------------------------------|-------------------|---|--|-------------------------|-----------------|---------------------------|
| | | estimada | consumidora de feijão-caupi ² | | | | |
| Norte | 15.359.608 | 4.607.882 | | 13,65 | 62.898 | 45.321 | -17.577 |
| Nordeste | 53.591.197 | 26.392.832 | | 20,03 | 528.648 | 426.367 | -102.281 |
| Centro-Oeste | 5.362.190 | 268.110 | | 13.65 | 3.660 | 41.931 | 38.272 |
| Total | 74.312.995 | 31.268.824 | | 33,68 | 595.206 | 513.619 | -81.586 |

¹População estimada em 2009 (IBGE, 2010);

²Considerando que somente parte da população consome feijão-caupi;

³Consumo per capita anual de feijão-caupi para cada região estimado com base na média nacional de 18,21 kg/pessoa/ano (FEIJÃO, 2009c).

2.2. *Callosobruchus maculatus* (F., 1775) (Coleoptera: Bruchidae)

O *C. maculatus*, comumente conhecido como caruncho do feijão, pertence ao reino Animalia, filo Artropoda, classe Insecta, ordem Coleoptera, família Chrysomelidae, gênero *Callosobruchus*, espécie *C. maculatus* (BRIER, 2010).

A espécie *C. maculatus* teve sua origem no continente Africano e se encontra distribuída pelas regiões tropicais e subtropicais (DOBIE et al., 1984). O *C. maculatus* é a principal praga do feijão-caupi, apresenta uma infestação cruzada, inicia sua infestação no campo, onde oviposita nas vagens deiscentes ou defeituosas, podendo continuar esta oviposição durante o armazenamento (GALLO et al., 2002). Durante o seu ciclo de vida, as fêmeas estabelecem seus ovos sobre a superfície dos grãos. Após a eclosão, a larva se desenvolve no interior do grão e se alimenta do conteúdo interno das sementes, provocando assim perdas pós-colheita que podem chegar a 100% em poucos meses (LIENARD & SECK, 1994; DABIRÉ et al., 2003), uma vez que, quando um inseto adulto imerge, estabelece seus ovos em outras sementes saudáveis.

Os danos causados pela infestação do *C. maculatus* não decorrem apenas da penetração e alimentação das larvas no interior dos grãos, mas também levam à redução de peso, diminuição da qualidade e viabilidade das sementes, comprometendo seu consumo e cultivo (CASTRO et al., 2010).

É comum o uso de inseticidas fumigantes para o controle de insetos-praga em grãos e sementes armazenados. A seleção de plantas com características de resistência a insetos é alternativa ao controle químico, inclusive para grãos armazenados. Alguns estudos têm mostrado genótipos de feijão-caupi resistentes ao *C. maculatus* (BARRETO & QUINDERÉ, 2000; LIMA et al., 2001).

A resistência dos grãos a insetos tem sido atribuída a diversos fatores. A utilização de plantas resistentes a insetos apresenta uma série de vantagens com relação ao uso dos inseticidas químicos: não oferece riscos para a saúde humana e animal, reduz perdas quantitativas e qualitativas, não polui o meio ambiente e é compatível com outras estratégias de controle (MAZZONETO & BOIÇA Jr., 1999).

2.3. Óleos essenciais

Os óleos essenciais são compostos voláteis, naturais e complexos, responsáveis pela fragrância de muitas plantas. Em a natureza, eles desempenham um papel importante na proteção das plantas como agentes antibacterianos, antivirais, antifúngicos, inseticidas e também contra herbívoros, reduzindo o apetite por tais plantas. Eles também podem atrair alguns insetos para favorecer a dispersão de pólen e sementes, ou repelir outros indesejáveis (BAKKALI et al., 2008). Os óleos essenciais podem ser sintetizados por todos os órgãos da planta, ou seja, botões de plantas, flores, folhas, caules, ramos, sementes, frutas, raízes e/ou casca da madeira (SOLÓRZANO & MIRANDA, 2012).

2.3.1. Composição química dos óleos essenciais

Os óleos essenciais são produtos vegetais que são líquidos à temperatura ambiente (TISSERAND & BALACS, 1995) e podem ser extraídos por destilação (ENAM, 2001). Eles são solúveis em lípidos e em solventes orgânicos e têm uma densidade geralmente menor do que a da água (BAKKALI et al., 2008; SOLÓRZANO & MIRANDA, 2012).

A composição química dos óleos essenciais nas plantas pode variar consideravelmente em plantas de diferentes famílias, e dentro da mesma espécie pode ser comum ou diferir qualitativa e quantitativamente, devido a fatores ambientais, ao manejo das plantas, bem como à forma de extração, armazenamento e fase de desenvolvimento na época de colheita (NASCIMENTO et al., 2007). CHALCHAT et al. (1997) observaram que a quantidade do monoterpeneo 1,8-cineol nas folhas de eucalipto varia bastante com a espécie, podendo ser citados *Eucalyptus citriodora* (55%), *Eucalyptus globulus* (71%), *Eucalyptus punctata* (66%), *Eucalyptus maculata* (51%), *Eucalyptus maidessii* (70%), *Eucalyptus smithii* (84%), entre outros.

A grande maioria dos óleos essenciais é composta quimicamente por fenilpropanoides e principalmente terpenoides (SIMÕES & SPITZER, 2000), sendo um exemplo o d-limoneno, monoterpeneo presente na maioria dos óleos essenciais já relatados (LANÇAS & CAVICHIOLI, 1990). Os monoterpeneos (com 10 átomos de carbono) são voláteis e frequentemente encontrados nos óleos essenciais, contribuindo para a fragrância das plantas que os produzem (SIMÕES & SPITZER, 1999). Eles também são altamente lipofílicos e, devido a esta propriedade, de fácil penetração no tegumento do inseto.

2.3.2. Atividade inseticida e modos de ação dos óleos essenciais

Os óleos essenciais são aplicados de forma semelhante a outros inseticidas, e sua atividade biológica se manifesta tanto por exposição aos vapores quanto por aplicação tópica (ISMAN, 2000). Além do seu efeito letal sobre os insetos adultos, os óleos essenciais e os monoterpenos também apresentam diferentes efeitos subletais (PETRAKIS et al., 2005). Dos monoterpenos contidos nos óleos essenciais, vários deles são neurotóxicos para os insetos. Igualmente, eles podem promover a modificação comportamental dos insetos, produzindo, por exemplo, efeitos atraentes (KARR & COATS, 1988) ou repelentes (TOLOZA et al., 2006).

ENAN et al. (1998) relataram que os componentes dos óleos essenciais causam intoxicações de forma aguda ou subletal em insetos e em alguns vertebrados. Experimentos eletrofisiológicos provaram que o eugenol (principal componente dos óleos essenciais de cravo e canela) inibe a atividade neuronal, e um número de monoterpenos igualmente atua sobre a acetilcolinesterase (KOSTYUKOVSKY et al., 2002). Estes trabalhos serviram para comprovar que a atividade inseticida dos óleos essenciais é devida a vários mecanismos que atingem múltiplos alvos, modificando de forma eficaz a atividade celular e os processos biológicos dos insetos. O fato de vários óleos essenciais provenientes de plantas apresentarem variados modos de ação, como a inibição da respiração e muda, restrição do crescimento e fecundidade, destruição da cutícula e atividade na via octopamínica no sistema nervoso central, lhe confere propriedades inseticidas e acaricidas (ISMAN, 2000; KOSTYUKOVSKY et al., 2002; AKHTAR & ISMAN, 2004). A Tabela 2 apresenta alguns trabalhos publicados que avaliam a atividade inseticida de diversos óleos essenciais em *C. maculatus*.

Tabela 2 - Óleos essenciais com atividade inseticida para *C. maculatus* descritos na literatura.

| Nome botânico da planta fonte do óleo essencial | Referências |
|---|---|
| <i>Acacia arábica</i> , <i>Azadirachta indica</i> , <i>Carthamus tinctorius</i> , <i>Eucalyptus globules</i> , <i>Ipomoea sepiaria</i> , <i>Sesamum indicum</i> L. E <i>Vitex negundo</i> | Rahman & Talukder (2006) |
| <i>Hyptis spicigera</i> , <i>Hyptis suaveolens</i> , <i>Lippia multiflor</i> e <i>Ocimum americanum</i> | Ilboudo et al. (2010) |
| <i>Cymbopogon giganteus</i> e <i>Cymbopogon nardus</i> | Nyamador et al. (2010) |
| <i>Cassia sophera</i> | Kestenholz et al. (2007) |
| <i>Cymbopogon schoenanthus</i> | Ketoh et al. (2005) |
| <i>Blumea aurita</i> , <i>Carthamus tinctorius</i> , <i>Citrus sinensis</i> , <i>Clausena anisata</i> , <i>Dracaena arborea</i> , <i>Momordica charantia</i> , <i>Nicotiana tabacum</i> , <i>Securidaca longepedunculata</i> e <i>Tephrosia vogelii</i> | Boeke et al. (2004a, b) |
| <i>Ocimum basilicum</i> | Pascual-Villalobos & Ballesta-Acosta (2003) |
| <i>Boscia senegalensis</i> | Sanon et al. (2002) |
| <i>Artemisia sieberi</i> Besser | Negahban et al. (2006, 2007) |
| <i>Azadirachta indica</i> , <i>Ricinus communis</i> , <i>Thevitia nerifolia</i> , <i>Balanites aegyptiaca</i> , <i>Moringa olifera</i> e <i>Kaya senegalensis</i> | Mbaiguinam et al. (2006) |
| <i>Chenopodium ambrosioides</i> | Tapondjou et al. (2002) |
| <i>Mentha arvensis</i> , <i>Mentha piperata</i> , <i>Mentha spicata</i> e <i>Cymbopogon nardus</i> | Raja et al. (2001) |
| <i>Ocimum gratissimum</i> , <i>Ocimum basilicum</i> , <i>Hyptis suaveolens</i> , <i>Ocimum canum</i> , <i>Tagetes minuta</i> e <i>Piper guineense</i> | Kéita et al. (2000, 2001) |
| <i>Azadirachta indica</i> | Lale & Mustapha (2000) |
| <i>Rhazya stricta</i> , <i>Azadirachta indica</i> , <i>Heliotropium bacciferum</i> , <i>piper nigrum</i> e <i>Eugenia caryophyllata</i> | Elhag (2000) |
| <i>Syzgium aromaticum</i> , <i>Piper guineense</i> , <i>Piper ginger</i> , <i>Zingiber officinale</i> | Ajayi & Lale (2000) |
| <i>Lippia adoensis</i> Hoschst, <i>Cymbopogon citratus</i> (DC) Stapf., <i>Lantana camara</i> L., <i>Eugenia uniflora</i> L. e <i>Chromolaena odorata</i> (L.) | Gbolade & Adebayo (1993) |
| <i>Capsicum annum</i> e <i>Capsicum frutescens</i> | Lale (1992) |
| <i>Ocimum basilicum</i> L. e <i>Vanillosmopsis arborea</i> Baker | Moura (2015) |

Fonte: Adaptado de MOHAPATRA & KAR (2014).

2.4. Gás fosfina

O controle químico, principalmente na forma de fumigação, tem sido uma prática comum na desinfestação de grãos armazenados infestados por insetos-praga, destacando-se o gás fosfina, o fumigante mais utilizado na atualidade.

O resultado gerado da reação entre o fosfeto de alumínio ou de magnésio e a umidade do ar é a fosfina, ou fosfeto de hidrogênio (PH_3) (ANDREI, 2003; SIA, 2005). O fosfeto de hidrogênio é o princípio ativo que exerce a atividade inseticida, já o hidróxido de alumínio constitui o resíduo inerte da reação, contendo pequenos resíduos do fosfeto de alumínio (ANDREI, 2003; SIA, 2005). A fosfina apresenta uma elevada capacidade de difusão na massa de grãos e em algumas embalagens plásticas (USDA, 1978; WHITE & LEESCH, 1996; CHAUDHRY, 1997), destacam-se também vantagens como ausência de resíduos tóxicos detectáveis nos alimentos, eficiência em baixas concentrações, facilidade de aplicação, transporte e manuseio (CHAUDHRY, 2000; PRATT, 2005). Entretanto, a falta de estruturas com vedação ideal para a fumigação, a alta toxicidade para os mamíferos e o desenvolvimento de resistência pelas principais espécies-praga têm se tornado o maior entrave ao uso da fosfina (GUEDES, 1990/1991; CHAUDHRY, 2000; PRATT, 2005).

WINKS & WATERFORD (1986) relataram que a toxicidade da fosfina aos insetos é influenciada pela temperatura, que atua sobre os processos metabólicos, e pelo tempo de exposição. A relação entre o tempo de exposição e a concentração, sob circunstâncias herméticas, é a condição fundamental para o sucesso de qualquer expurgo (WINKS & WATERFORD, 1986; BELL, 2000).

3. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Pré-Processamento e Armazenamento de Produtos Agrícolas do Departamento de Engenharia Agrícola (DEA) da Universidade Federal de Viçosa (UFV).

Os componentes do óleo essencial de salsa foram determinados no Laboratório de Materiais Nanoestruturados para Aplicações Catalíticas e Ambientais, no campus de Rio Paranaíba da UFV.

3.1. Insetos

Os insetos utilizados no experimento são provenientes da cidade de Crato-CE. As populações de *C. maculatus* foram mantidas em frascos de vidro com capacidade de 1,5 L, em grãos de feijão-caupi, com umidade em torno de 11% na base úmida (b.u.) e um volume de 50%, com base na capacidade do frasco. Os frascos foram acondicionados em câmaras climáticas com temperatura de 28 ± 2 °C e com $75 \pm 5\%$ de umidade relativa e escotofase de 12 h. Foram utilizados, como substrato alimentar, grãos de feijão-caupi obtidos no comércio da cidade de Viçosa-MG. Com o objetivo de eliminar possíveis infestações de campo, os grãos de feijão-caupi foram previamente mantidos sob refrigeração (-18 °C) durante 15 dias.

3.2. Óleo essencial de *Petroselinum sativum*

O óleo essencial de salsa utilizado nos experimentos foi adquirido da empresa Quinarí Fragâncias e Cosméticos LTDA (Ponta Grossa-PR) e armazenado em refrigerador à temperatura de 4 ± 1 °C.

Os componentes do óleo essencial de salsa foram determinados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GCMS-QP2010, Shimadzu). A separação foi feita em uma coluna capilar de sílica fundida (30 m x 0,22 mm) com fase estacionária RTX5 (0,25 µm de espessura do filme). A temperatura inicial da coluna foi 60 °C por 2 min, seguindo-se aumento de 3 °C min^{-1} , até atingir 240 °C, mantendo-se esta temperatura por 15 min. As temperaturas do injetor e do detetor foram mantidas a 220 °C e 240 °C, respectivamente. O gás de arraste foi o gás hélio com fluxo de $1,8$ mL min^{-1} . As amostras foram diluídas em diclorometano e injetadas $1,0$ µL na razão split de 1:20. A aquisição dos dados foi feita no modo *full scan*, com intervalo de varredura entre 29 e 400 m/z.

A identificação dos componentes foi feita pela comparação de seus espectros de massas com os disponíveis no banco de dados da espectroteca NIST e pelos índices aritméticos (IA), calculados pela Equação 1. Para o cálculo dos índices, foi injetada no cromatógrafo, uma mistura de alcanos lineares (C9 a C17). O IA calculado para cada composto foi comparado com valores da literatura (ADAMS, 2007).

$$AI(x) = 100Pz + 100 \left[\frac{RT(x) - RT(Pz)}{RT(Pz+1) - RT(Pz)} \right] \quad (1)$$

Em que:

X é o composto de interesse;

Pz é o número de átomos de carbono do hidrocarboneto com tempo de retenção imediatamente anterior ao tempo de retenção de X;

RT(x) é o tempo de retenção de X;

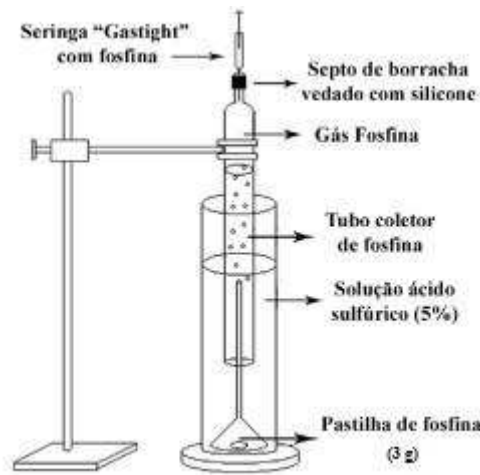
RT(Pz) é o tempo de retenção de Z; e

RT(Pz+1) é o tempo de retenção do hidrocarboneto com tempo de retenção imediatamente posterior ao tempo de retenção de X.

O percentual relativo de cada composto foi calculado pela razão entre a área integral de seus respectivos picos e a área total de todos os constituintes da amostra.

3.3. Gás fosfina

O processo de extração do gás fosfina foi conduzido conforme o método padrão recomendado pela Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) (FAO, 1975). Este método se baseia na geração do gás fosfina, 86% de pureza, pela reação de uma pastilha de fosfeto de alumínio de 3 g (PHOSTEK®). A pastilha foi adicionada a 700 mL de solução aquosa de ácido sulfúrico (5%), e o gás foi aprisionado em um tubo coletor de fosfina de 30,5 cm de comprimento e 3,3 cm de diâmetro, vedado na extremidade superior com septo de borracha e adesivo de silicone (Figura 1). Inseriu-se em uma proveta, de 1,0 L de volume, o tubo coletor de fosfina. A pastilha de fosfeto de alumínio foi acondicionada sob um funil invertido, com o objetivo de direcionar o gás liberado da pastilha ao interior do tubo coletor.



Fonte: Athié et al., 2001

Figura 1 - Esquema do gerador de fosfina, tubo coletor e demais partes do aparelho.

3.4. Toxicidade do óleo essencial de salsa para *C. maculatus*

Foram feitos testes preliminares para estimar as concentrações que causariam mortalidade de 50% (CL₅₀) e 95% (CL₉₅) dos insetos. As concentrações de óleo essencial utilizadas nos bioensaios definitivos foram de 300 $\mu\text{L L}^{-1}$, 375 $\mu\text{L L}^{-1}$, 450 $\mu\text{L L}^{-1}$, 525 $\mu\text{L L}^{-1}$, 600 $\mu\text{L L}^{-1}$ e 650 $\mu\text{L L}^{-1}$, em quatro repetições. Os bioensaios foram feitos em frascos de vidro de 0,8 L, com 20 insetos adultos de *C. maculatus*, fechados com tampa metálica de rosca, e selados com uma cola de silicone, durante todo o período de exposição. O óleo essencial foi aplicado em recortes de papel-filtro de 5 cm², usando uma microseringa de 500 μL (Hamilton, Reno, NV, EUA), colocados em sachês de organza, presos nas tampas dos frascos. Os insetos foram expostos ao óleo essencial por 48 h. Os frascos foram acondicionados em câmaras climáticas tipo B.O.D. (modelo 347 CD, Farnem, São Paulo, SP, Brasil), à temperatura de 27 ± 2 °C. A mortalidade dos insetos foi contabilizada após o período de exposição. O controle negativo foi constituído por papel-filtro sem o óleo essencial.

Um controle positivo, com o gás fosfina, foi utilizado nas mesmas condições do óleo essencial de salsa. Foram utilizados frascos de vidro com capacidade de 0,8 L, como câmaras de fumigação. Os frascos tinham tampas metálicas com septos de borracha no centro da tampa, vedados com adesivo de silicone. O gás fosfina foi aplicado nas câmaras de fumigação, utilizando uma seringa com vedação de gás (Hamilton Gastight Syringes, Nevada, USA) com volume de 100 μL . O ensaio foi feito no delineamento inteiramente

casualizado, com 5 repetições. Cada repetição era constituída de um frasco de vidro com 20 insetos adultos não sexados, com idade de 1 a 3 dias. As concentrações usadas foram de 25,3 $\mu\text{L L}^{-1}$, 26,8 $\mu\text{L L}^{-1}$, 28,4 $\mu\text{L L}^{-1}$, 31,6 $\mu\text{L L}^{-1}$, 33,2 $\mu\text{L L}^{-1}$, 36,3 $\mu\text{L L}^{-1}$, 41,1 $\mu\text{L L}^{-1}$. Os frascos contendo os insetos expostos ao gás fosfina foram acondicionados em câmara climática tipo B.O.D. por 48 h. Após o período de exposição, foi contabilizado o número de insetos mortos.

3.5. Bioensaio da taxa instantânea de crescimento populacional (r_i) de *C. maculatus* exposto ao óleo essencial de salsa

A taxa instantânea de crescimento populacional (r_i) foi feita para avaliar se o óleo essencial de salsa interfere ou não nos padrões reprodutivos de *C. maculatus*. O ensaio foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com 5 (cinco) repetições. As unidades experimentais foram constituídas por frascos de vidro com capacidade de 0,8 L. A cada frasco, foram adicionados 100 g de feijão-caupi, com 11% de umidade, isentos de qualquer infestação e inseticida, e 20 insetos adultos de *C. maculatus* sexados (10 casais), com idade de 1 a 3 dias. Os insetos foram expostos ao óleo essencial de salsa por 48 h, nas concentrações letais (CL) 399,3 $\mu\text{L L}^{-1}$, 450,4 $\mu\text{L L}^{-1}$, 489,5 $\mu\text{L L}^{-1}$, 532,0 $\mu\text{L L}^{-1}$ e 600,1 $\mu\text{L L}^{-1}$, para as CL_{10} , CL_{30} , CL_{50} , CL_{70} e CL_{90} , respectivamente. O óleo essencial de salsa foi aplicado em recortes de papel filtro que foram inseridos em sachês de organza e colados na tampa dos frascos, para evitar o contato direto dos insetos e dos grãos com o óleo. Os frascos foram hermeticamente fechados e vedados com cola do tipo silicone. Em seguida, foram acondicionados em câmara climática tipo B.O.D., à temperatura de 30 ± 2 °C, umidade relativa de $70 \pm 5\%$ e fotoperíodo de 12 h.

Após 48 h, foram retirados os sachês de organza e substituídas as tampas metálicas por organza, finalizando deste modo o período de exposição dos insetos ao óleo essencial de salsa. Os frascos foram retornados à câmara climática nas condições de temperatura e umidade relativa. O número total de insetos foi contabilizado 45 dias depois do armazenamento. A taxa instantânea de crescimento dos insetos foi calculada pela equação sugerida por WALTHALL & STARK (1997), Equação 2.

$$r_i = \frac{\left[\ln \left(\frac{N_f}{N_0} \right) \right]}{\Delta t} \quad (2)$$

Em que:

N_f = Número final de insetos;

N_0 = Número inicial de insetos; e

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

3.6. Bioensaio da taxa instantânea de crescimento populacional (r_i) de *C. maculatus* exposto ao gás fosfina

Este ensaio foi estabelecido utilizando delineamento inteiramente casualizado, com 5 repetições, e um controle negativo (sem tratamento). Cada unidade experimental foi constituída por um frasco de vidro de 0,8 L, usado como câmara de fumigação. Foram colocados 20 insetos adultos sexados (10 casais) dentro dos frascos de vidro, que foram fechados com tampas metálicas que continham um septo de borracha, vedados com cola do tipo silicone. Posteriormente, o gás fosfina foi aplicado com a ajuda de uma seringa com vedação de gás. Foram aplicadas concentrações letais (CL) de 18,6 $\mu\text{L L}^{-1}$, 27,04 $\mu\text{L L}^{-1}$, 35,7 $\mu\text{L L}^{-1}$, 46,7 $\mu\text{L L}^{-1}$ e 68,5 $\mu\text{L L}^{-1}$, para CL_{10} , CL_{30} , CL_{50} , CL_{70} e CL_{90} , respectivamente. Em seguida, os frascos foram acondicionados em câmara climática tipo B.O.D., à temperatura de 30 ± 2 °C, umidade relativa de $70 \pm 5\%$ e fotoperíodo de 12 h. Depois de 48 h, as tampas metálicas foram substituídas por tecido de organza, e os frascos retornados à câmara climática por 45 dias. Após 45 dias, foi contabilizado o número total de insetos. A equação sugerida por WALTHALL & STARK (1997), Equação 2, foi usada para calcular a taxa instantânea de crescimento populacional.

3.7. Avaliação da perda de massa

A perda de massa dos grãos de feijão-caupi foi avaliada com os grãos utilizados nos bioensaios da taxa instantânea de crescimento com óleo essencial de salsa e gás fosfina. Procedeu-se à pesagem dos grãos e dos frascos em balança analítica, modelo GEHAKA bk 8000, ao final de 45 dias.

3.8. Percentual de germinação

O percentual de germinação foi determinado pelo teste-padrão de germinação, conforme recomendações das Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Foram utilizados 200 grãos por tratamento, com 4 repetições de 50 grãos. Utilizou-se o papel filtro (papel-germitest) como substrato, umedecido com água destilada (o volume de água utilizado foi igual a 2,5 vezes a massa do papel). Os grãos, provenientes dos bioensaios da taxa instantânea de crescimento, foram dispostos sobre duas folhas de papel-filtro, posteriormente cobertos por mais uma folha do mesmo papel, por fim, embrulhados, formando um rolo. Em seguida, foram colocados dentro do germinador na posição vertical, à temperatura de 25 ± 1 °C. Depois de 4 dias, foi feita a contagem dos grãos germinados e não germinados. Os dados foram expressos em porcentagem média de germinação.

3.9. Análises estatísticas

Os resultados dos bioensaios de toxicidade foram submetidos à análise Probit, utilizando o *software* SAS (SAS Institute, 2002), gerando assim as curvas de concentração-mortalidade. A taxa instantânea de crescimento (r_i), a perda de massa dos grãos e o potencial de germinação foram submetidos à análise de regressão, utilizando o *software* Origin Pro 9.0 (Origin Pro 9.0, OriginLab Corporation, Northampton, MA, USA).

4. RESULTADOS

4.1. Principais componentes do óleo essencial

O resultado da análise cromatográfica mostrou que os principais compostos do óleo essencial de *P. sativum* são o α -pineno e β -pineno (Figura 2 e Tabela 3).

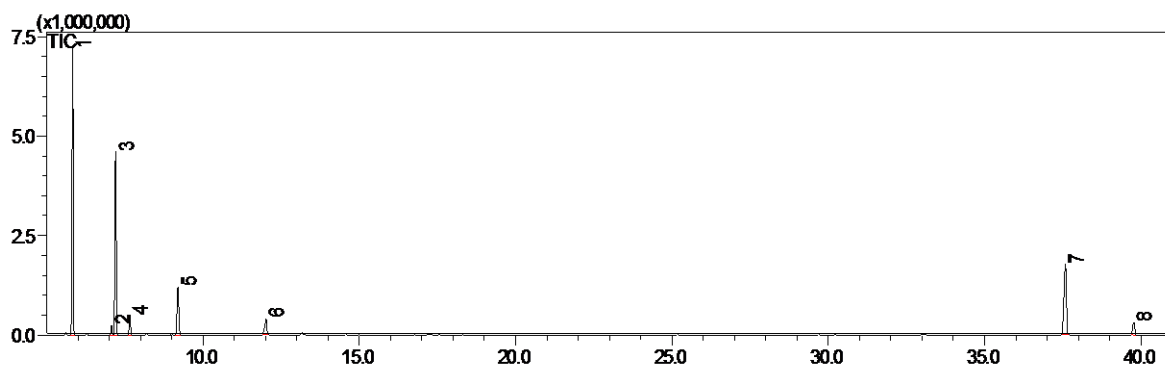


Figura 2 - Cromatograma do óleo essencial de *P. sativum* (salsa) mostrando seus principais componentes: 1. α -Pineno, 2. Sabineno, 3. β -Pineno, 4. β - Mirceno, 5. β -Felandreno, 6. Terpineno, 7. Miristicina e 8. Elemicina.

Tabela 3 - Composição do óleo essencial de *P. sativum* (salsa).

| Nº | Composto | ¹ IA Calculado | IA Tabelado | Concentração relativa (%) |
|----|---------------------|---------------------------|-------------|---------------------------|
| 1 | α -Pineno | 931 | 932 | 37,5 |
| 2 | Sabineno | 971 | 969 | 1,4 |
| 3 | β -Pineno | 975 | 974 | 26,6 |
| 4 | β -Mirceno | 989 | 988 | 2,9 |
| 5 | β -Felandreno | 1026 | 1025 | 9,1 |
| 6 | Terpinoleno | 1088 | 1086 | 3,5 |
| 7 | Miristicina | 1519 | 1517 | 16,6 |
| 8 | Elemicina | 1557 | 1555 | 2,4 |

¹IA – Índice Aritimético

4.2. Toxicidade do óleo essencial de *P. sativum* em comparação com o gás fosfina para *C. maculatus*

A Tabela 4 mostra os resultados das curvas de concentração-mortalidade de *C. maculatus* exposto ao óleo essencial de *P. sativum* e ao gás fosfina (controle positivo). Os baixos valores do qui-quadrado (χ^2) para o óleo essencial de salsa (<4,22) e para o gás fosfina (<1,68) e valores elevados de *P* (>0,05) resultantes dos bioensaios de toxicidade indicam adequação dos dados ao modelo probit para a estimativa das curvas de concentração-mortalidade.

Verificou-se que as concentrações letais (CL) necessárias para ocasionar a mortalidade dos adultos de *C. maculatus* diferiram entre o óleo essencial de salsa e o gás fosfina. As CL₅₀ de 489,5 $\mu\text{L L}^{-1}$ e CL₉₅ de 635,8 $\mu\text{L L}^{-1}$ para o óleo essencial de salsa foram 13,7 e 9,3 vezes maiores, respectivamente, que as do gás fosfina, que apresentou CL₅₀ de 35,7 $\mu\text{L L}^{-1}$ e CL₉₅ de 68,5 $\mu\text{L L}^{-1}$.

Tabela 4 - Toxicidade relativa do óleo essencial de salsa e do gás fosfina para *C. maculatus*

| Óleo e gás | N° de Insetos | Inclinação (± EPM) | CL₁₀ (IF 95%) (µL L⁻¹ de ar) | CL₃₀ (IF 95%) (µL L⁻¹ de ar) | CL₅₀ (IF 95%) (µL L⁻¹ de ar) | CL₇₀ (IF 95%) (µL L⁻¹ de ar) | CL₉₅ (IF 95%) (µL L⁻¹ de ar) | χ² | P |
|-------------------|----------------------|---------------------------|---|---|---|---|---|----------------------|----------|
| Salsa | 400 | 58,5 ± 8,6 | 399,3 (373,0 – 419,0) | 450,4 (431,6 – 465,6) | 489,5 (474,2 - 504,7) | 532,1 (515,5 – 552,9) | 635,8 (603,5 - 686,0) | 4,22 | 0,24 |
| Fosfina | 700 | 31,7 ± 6,1 | 18,6 (14,0 - 21,5) | 27,4 (24,7 – 29,1) | 35,7 (33,8 – 39,0) | 46,7 (41,9 – 57,3) | 68,5 (56,2 - 102,1) | 1,68 | 0,89 |

EPM = Erro padrão da média; CL = Concentração letal; IF 95% = Intervalo fiducial a 95% de probabilidade; χ² = Qui-quadrado; P = Probabilidade.

4.3. Bioensaio de taxa instantânea de crescimento populacional (r_i)

As Figuras 3 e 4 mostram os valores da taxa instantânea de crescimento populacional (r_i) de populações de *C. maculatus* expostas ao óleo essencial de salsa e ao gás fosfina em diferentes concentrações. Concentrações do óleo essencial de salsa ($R^2 = 0,91$; $F_{(5;28)} = 53,8$; $P = 0,0018$) e, igualmente, as do gás fosfina ($R^2 = 0,93$; $F_{(5;28)} = 66,7$; $P = 0,0012$) tiveram influência significativa na taxa instantânea de crescimento de *C. maculatus*. A r_i do *C. maculatus* diminuiu com o aumento das concentrações aplicadas tanto para o óleo essencial quanto para a fosfina.

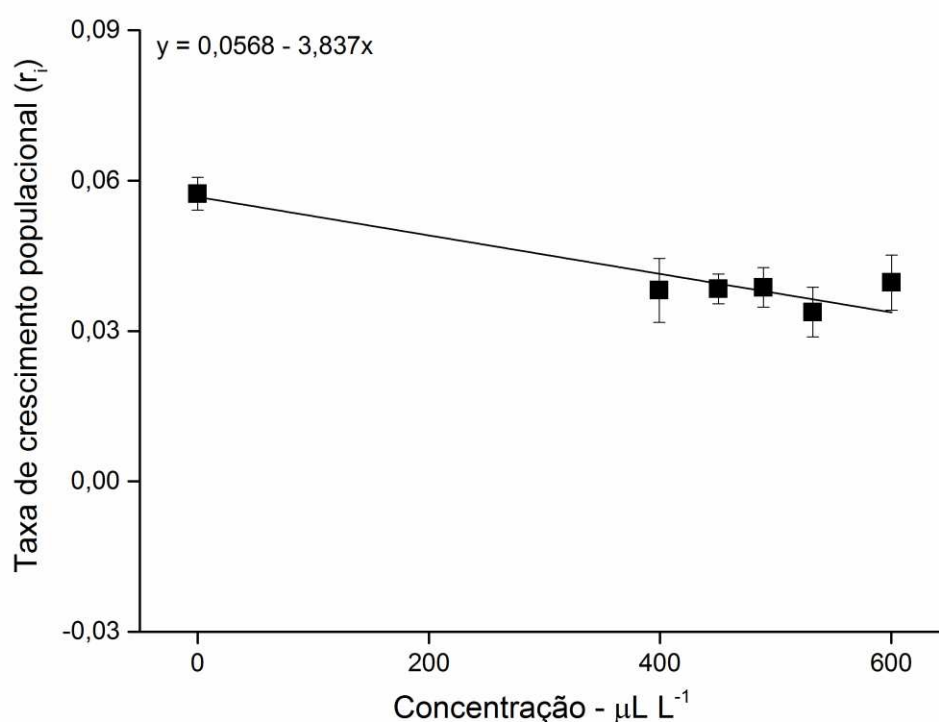


Figura 3 - Taxa instantânea de crescimento de populações de *C. maculatus* expostas ao óleo essencial de *P. sativum* (salsa), em função da concentração, por um período de 45 dias.

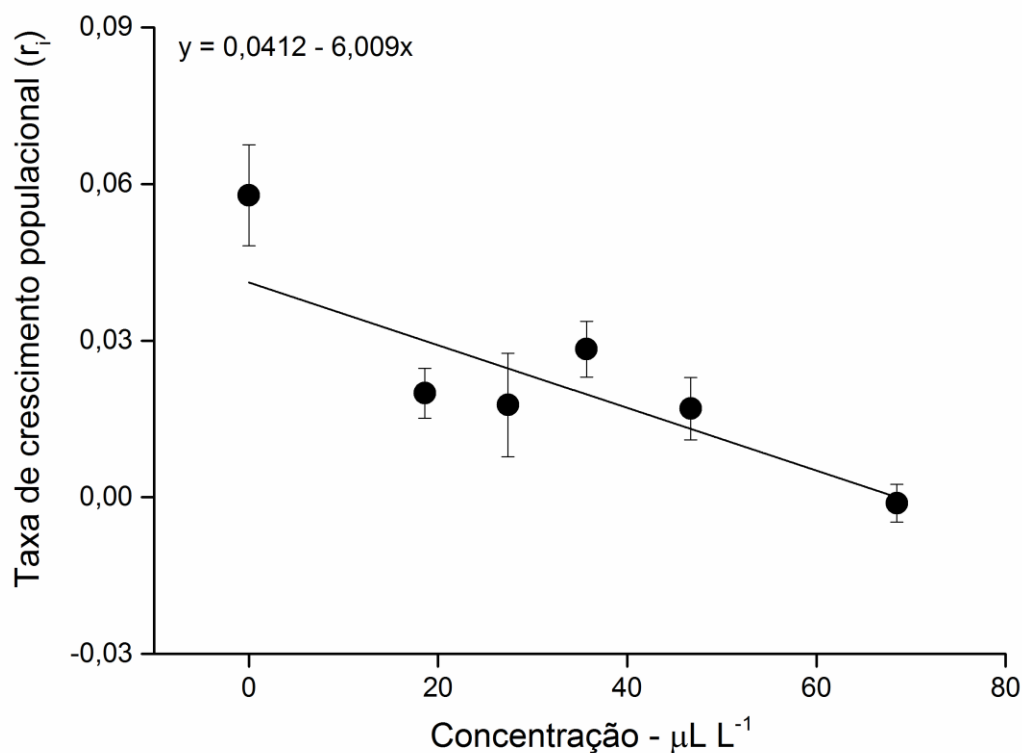


Figura 4 - Taxa instantânea de crescimento de populações de *C. maculatus* expostas ao gás fosfina, em função da concentração, por um período de 45 dias.

4.4. Características física e fisiológica dos grãos de feijão-caupi expostos ao óleo essencial e ao gás fosfina

4.4.1. Perda de massa dos grãos

As Figuras 5 e 6 representam as curvas de regressão da perda de massa dos grãos de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) expostos ao óleo essencial de *P. sativum* e ao gás fosfina, respectivamente, nas diferentes concentrações, após 45 dias de armazenamento. Verificou-se influência significativa das concentrações do óleo essencial ($R^2 = 0,93$; $F_{(5;28)} = 66,7$; $P = 0,0012$) e da fosfina ($R^2 = 0,98$; $F_{(5;28)} = 348,1$; $P < 0,001$) na perda de massa dos grãos. A perda de massa para o feijão-caupi exposto ao óleo essencial de salsa e ao gás fosfina foi menor em relação ao controle, indicando que a exposição dos insetos ao óleo essencial e ao gás fosfina reduziu os danos causados por *C. maculatus*.

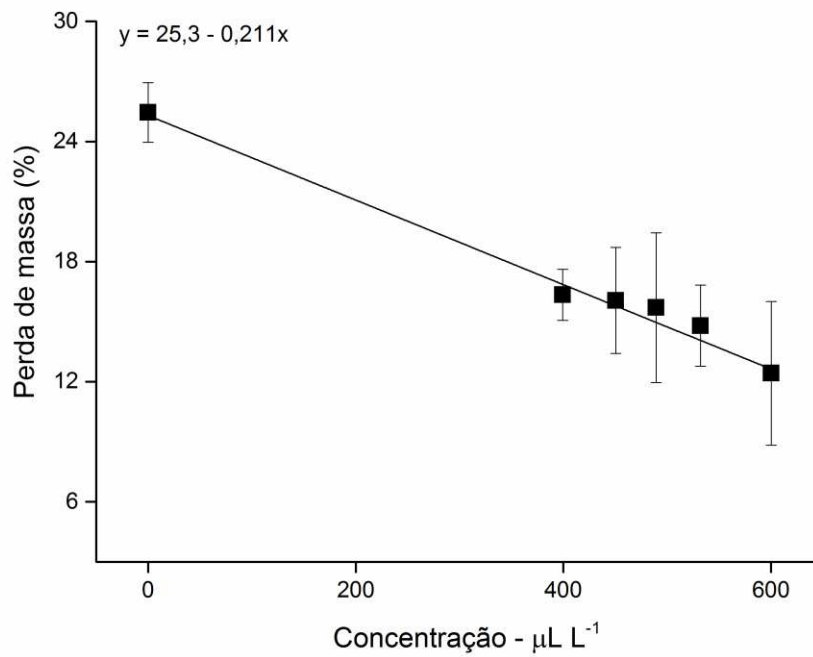


Figura 5 - Perda de massa dos grãos de feijão-caupi expostos, por um período de 45 dias, ao óleo essencial de *P. sativum* nas CL₁₀, CL₃₀, CL₅₀, CL₇₀ e CL₉₀, na presença de *C. maculatus*.

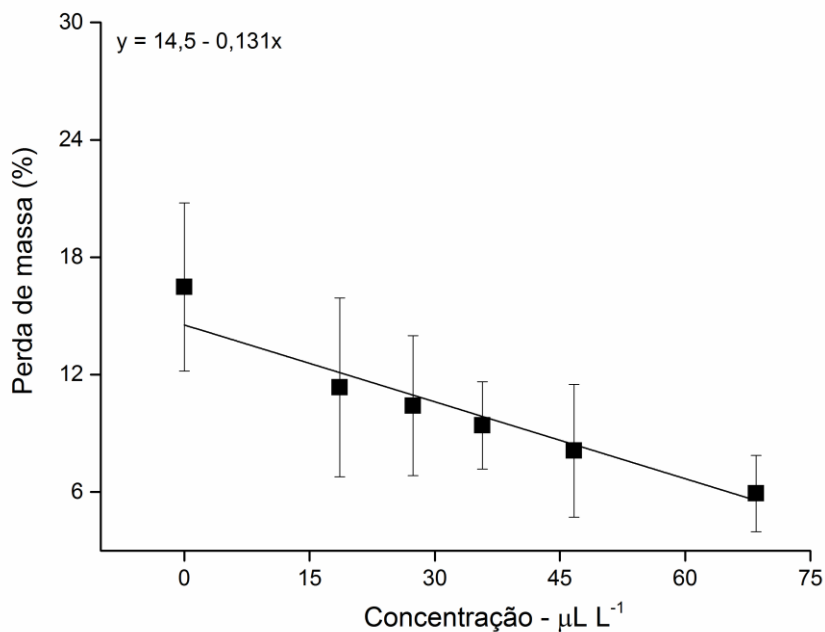


Figura 6 - Perda de massa dos grãos de feijão-caupi expostos, por um período de 45 dias, ao gás fosfina nas CL₁₀, CL₃₀, CL₅₀, CL₇₀ e CL₉₀, na presença de *C. maculatus*.

4.4.2. Germinação

A germinação dos grãos de feijão-caupi expostos ao óleo essencial de salsa e ao gás fosfina variou significativamente entre os tratamentos, para o óleo essencial ($R^2 = 0,039$, $F_{(4;22)} = 34,8$, $P = 0,0041$) e para o gás fosfina ($R^2 = 0,88$, $F_{(4;22)} = 3999,1$, $P < 0,0001$). As Figuras 7 e 8 representam as estimativas do percentual de germinação dos grãos de feijão-caupi, expostos ao óleo essencial de salsa e ao gás fosfina, respectivamente, por um período de 45 dias. Observa-se que, com o aumento das concentrações aplicadas, tanto do óleo essencial de salsa, quanto do gás fosfina, há aumento no percentual de germinação das sementes.

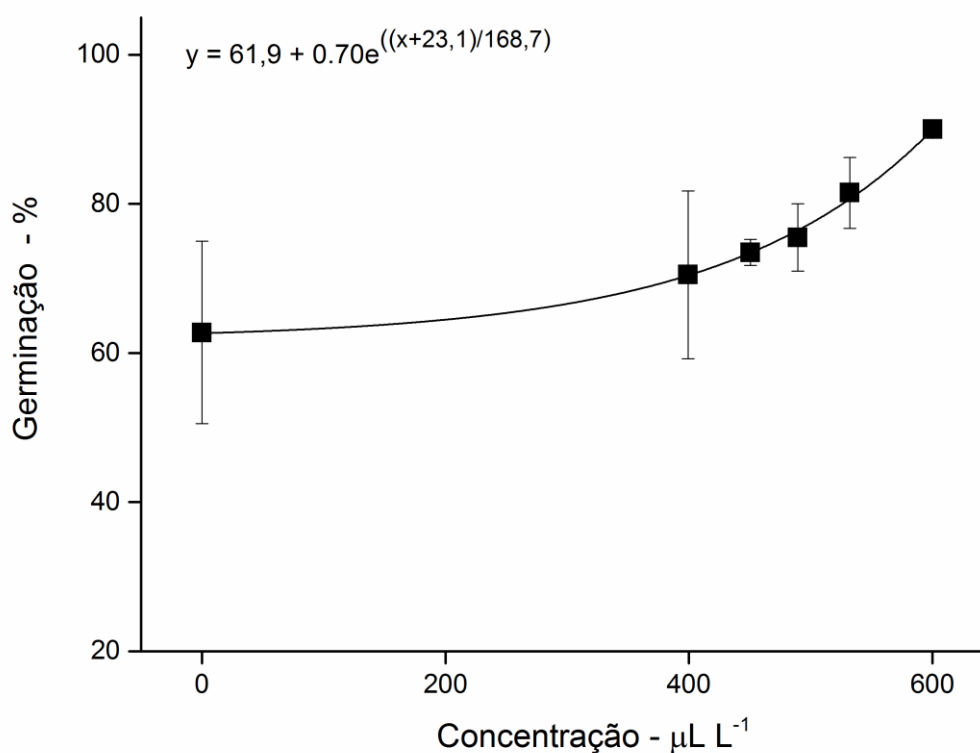


Figura 7 - Estimativa da germinação (%) dos grãos de feijão-caupi expostos, por um período de 45 dias, ao óleo essencial de *P. sativum* nas CL₁₀, CL₃₀, CL₅₀, CL₇₀ e CL₉₀, na presença de *C. maculatus*.

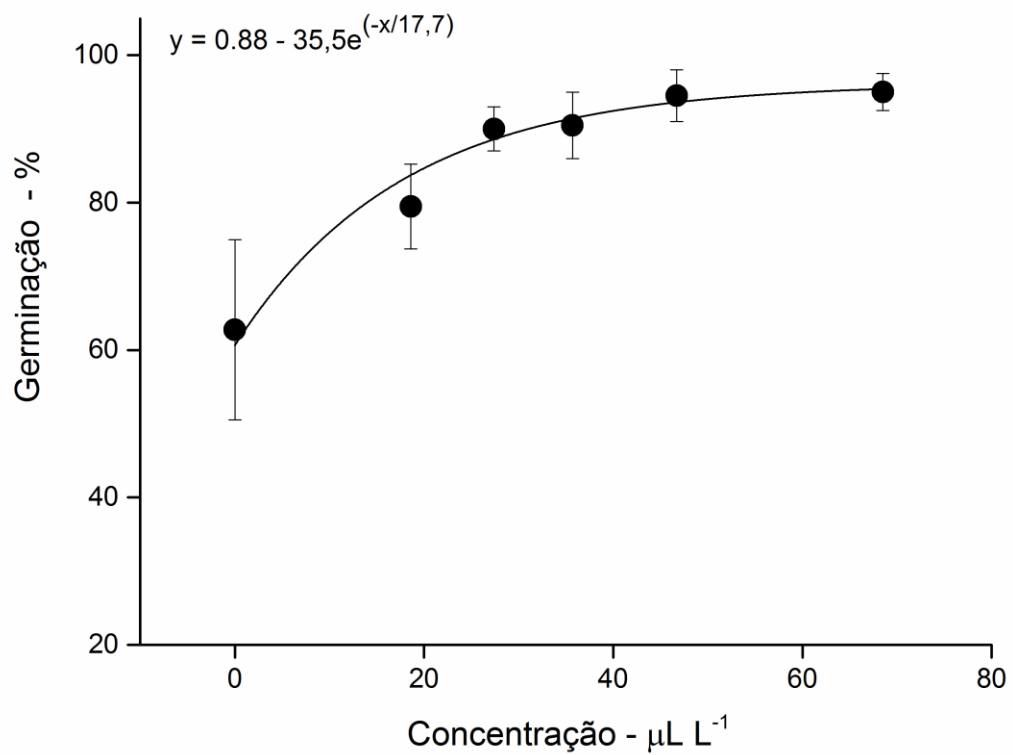


Figura 8 - Estimativa da germinação (%) dos grãos de feijão-caupi expostos, por um período de 45 dias, ao gás fosfina nas CL₁₀, CL₃₀, CL₅₀, CL₇₀ e CL₉₀, na presença de *C. maculatus*.

5. DISCUSSÃO

Os óleos essenciais são constituídos na sua maioria por monoterpenos, caracterizando-se por dois ou três componentes em concentrações relativamente altas (20-70%) em comparação com outros compostos presentes em quantidades inferiores.

Geralmente, o óleo essencial de salsa é composto por 1,3,8-p-menthatriene, seguido por β -felandreno, miristicina, apiol e mirceno (SIMON et al., 1984). ZHANG et al. (2006), quando analisaram a composição química do óleo essencial de salsa, observaram presença dominante de miristicina, apiol, α -pineno e β -pineno. Compostos como o apiol, α -pineno, β -pineno e elemicina foram encontrados por MUNDINA et al. (2001), quando fizeram a análise qualitativa e quantitativa do óleo essencial de salsa. SNOUSSI et al. (2015) identificaram 1,3,8-p-menthatriene, β -felandreno, apiol, miristicina, terpinoleno e β -pineno na análise da composição química do óleo essencial de salsa. Na análise química feita do óleo essencial de salsa usado neste trabalho, foram encontrados α -pineno, sabineno, β -pineno, β -mirceno, β -felandreno, terpineno, miristicina e elemicina. São vários os fatores que podem interferir na composição química dos óleos essenciais, destacando-se o tipo de solo, altitude, temperatura, período de insolação, cultivo, condições de secagem e estocagem das plantas (SOUZA & VENDRAMIM, 2001).

Comparado com outros óleos essenciais em estudos anteriores, o óleo essencial de salsa apresentou menor toxicidade que o óleo essencial de *Artemisia sieberi*, tendo o *C. maculatus* se mostrado susceptível a uma CL_{50} de $1,453 \mu\text{L L}^{-1}$ (NEGAHBAN et al., 2007). ILBOUDO et al. (2010) também verificaram baixos valores de CL_{50} quando testaram a toxicidade dos óleos essenciais de *Ocimum americanum*, *Hyptis suaveolens*, *Hyptis spicigera* e *Lippia multiflora* sobre *C. maculatus*, cujas CL_{50} foram de $0,23 \mu\text{L L}^{-1}$, $1,30 \mu\text{L L}^{-1}$, $5,53 \mu\text{L L}^{-1}$ e $6,44 \mu\text{L L}^{-1}$, respectivamente.

Os óleos essenciais, na sua maioria, são compostos de mono e sesquiterpenos, e mesmo que sejam extraídos de diferentes espécies de plantas, compartilham vários compostos, podendo suas proporções variar e afetar sua atividade biológica.

KETOH et al. (2005) obtiveram valor de CL_{50} de $2,3 \mu\text{L L}^{-1}$ contra os adultos de *C. maculatus*, usando o óleo essencial de *Cymbopogon schoenanthus* L. Spreng. Valores de CL_{50} de $80,43 \mu\text{L L}^{-1}$ e $144,82 \mu\text{L L}^{-1}$ foram obtidos por HAMDI et al. (2015) quando estudavam os efeitos dos óleos essenciais de *Eucalyptus lehmani* e *Eucalyptus astringens*, respectivamente, contra populações de *C. maculatus*. Os óleos essenciais de *Achillea fragrantissima*, *Tagetes minuta* e *Ageratum conyzoides* foram tóxicos para insetos adultos

de *C. maculatus*, tendo apresentado valores de CL₅₀ de 33,6 µL L⁻¹, 77,8 µL L⁻¹ e 19,2 µL L⁻¹, respectivamente (NENAAH et al 2015).

As propriedades inseticidas de cada óleo essencial podem ser o resultado da atividade sinérgica de todos os constituintes químicos em vez da ação de um único composto majoritário (DON-PEDRO, 1996; REGNAULT-ROGER et al., 2002; PARK et al., 2003). Fatores como concentração aplicada, espécie de insetos, superfície de aplicação, via de penetração, método de aplicação e composição química do óleo ditam a eficiência da aplicação dos óleos essenciais (DON-PEDRO, 1996; LEE et al., 2002). YANG et al. (2014), estudando isoladamente os componentes α-pineno e β-pineno obtiveram CL₅₀ de 38,07 µL L⁻¹ e 29,03 µL L⁻¹, respectivamente, contra insetos adultos de *Lasioderma serricorne*.

Neste trabalho, a taxa instantânea de crescimento populacional de *C. maculatus*, tanto para o óleo essencial de salsa, quanto para o gás fosfina, variou entre as concentrações aplicadas, tendo sido notada redução com aumento das concentrações do óleo essencial e da fosfina. O óleo essencial de salsa também foi tóxico para *Schistocerca gregaria* (Forsk.) embora mais eficiente quando combinado com outros óleos essenciais (MANSOUR et al., 2015). KNIO et al. (2008) verificaram efeito larvicida do óleo essencial de salsa contra *Ochlerotatus caspius*.

A redução de emergência dos adultos de *C. maculatus* nos grãos de feijão-caupi expostos ao óleo essencial e ao gás em relação ao controle, pode ter sido devida aos efeitos inibitórios do óleo essencial de salsa e do gás fosfina. GURUSUBRAMANIAN & KRISHNA (1996) mostraram que a emergência tardia dos adultos e os efeitos adversos em sua progênie são provocados pela toxicidade dos vapores dos óleos essenciais aos ovos dos insetos.

A perda de massa dos grãos de feijão-caupi infestados com *C. maculatus* foi reduzida significativamente pela exposição dos insetos ao óleo essencial de salsa e ao gás fosfina, em relação ao tratamento controle. Estes resultados confirmam aqueles obtidos por MOURA (2015), quando estudou a atividade inseticida dos óleos essenciais de *Ocimum basilicum* e *Vanillosmopsis erythropappa* contra *C. maculatus* e observou perda de massa de 8,2% e 8,4%, respectivamente. FAZOLIN et al. (2010) observaram uma redução na perda de massa dos grãos de milho, infestados com *S. zeamais*, quando foram submetidos ao processo de fumigação com fosfeto de alumínio e com talos injuriados de *Tanaecium nocturnum*. OOTANI et al. (2011), ao estudarem a atividade inseticida dos óleos essenciais de *Cymbopogon nardus* e *Corymbia citriodora* sobre *Sitophilus zeamais*, também

observaram redução na perda de massa dos grãos. A redução da perda de massa dos grãos do feijão-caupi pode estar associada à capacidade de os vapores do óleo e do gás penetrarem na massa de grãos e provocar toxicidade nos insetos adultos de *C. maculatus*.

Durante o armazenamento, é comum redução do poder germinativo das sementes, pela ação de fatores abióticos (elevadas temperaturas da massa de grãos e altos teores de umidade) e fatores bióticos (fungos, ácaros e insetos) (LOCHER & BUCHELI, 1998; CHEN, 2000). Neste trabalho, o menor percentual de germinação dos grãos de feijão-caupi ocorrem apenas para o tratamento controle, após 45 dias de armazenamento.

ROCHA JÚNIOR & USBERTI (2007), estudando a qualidade física e fisiológica de sementes de trigo expurgadas com fosfina durante o armazenamento, verificaram que, com o ataque severo de pragas durante o período de armazenamento, houve acentuada redução do percentual de germinação no tratamento controle. Segundo ROCHA JÚNIOR & USBERTI (2007), quando o tegumento dos grãos apresenta danos, sua taxa de respiração aumenta, com perda do poder germinativo. ROCHA JÚNIOR & USBERTI (2007) enfatizam este fato, acrescentando que, mesmo quando os danos não estão aparentes, já ocorre perda de viabilidade das sementes, pois a destruição do embrião pode estar na origem da perda do poder germinativo.

Considerando os resultados obtidos nesta pesquisa, aliados às informações disponíveis na literatura, pode-se inferir que a fumigação com o óleo essencial de salsa para o controle de *C. maculatus* é uma alternativa para uso nos programas de manejo desse inseto em unidades armazenadoras, podendo contribuir para a redução dos riscos de resistência dos insetos aos inseticidas convencionais.

6. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos nesta pesquisa e tomando em consideração os objetivos propostos, pode-se concluir que o óleo essencial de salsa apresenta efeito inseticida fumigante no controle de adultos de *Callosobruchus maculatus*, tendo promovido redução da população de adultos, sendo sua eficácia dependente da concentração aplicada.

Diante dos resultados obtidos, sugere-se que, para trabalhos futuros, seja avaliada a eficiência do óleo essencial de salsa por contato, combinado com outros óleos, e feitos, igualmente, testes com seus principais compostos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKHTAR, Y.; ISMAN M. B. Comparative growth inhibitory and antifeedant effects of plant extracts and pure allelochemicals on four phytophagous insect species. **Journal of Applied Entomology**, v. 128, p. 32-38, 2004.

ALI, M.; GUPTA, S. Carrying capacity of Indian agriculture: pulse crops. **Current Science**, v. 102, p. 874–881, 2012.

ANDREI, E. **Compêndio de defensivos agrícolas** – Volume II. 6ª ed. São Paulo: Andrei Editora Ltda, p. 302, 2003.

ATHIÉ, I.; OLIVEIRA, J. J. V.; CASTRO, M. F. P.; BARBIERI, M.K. Resistência à fofna de insetos de grãos armazenados determinada por cromatografia gasosa. **Brasilian Journal of Food Technology**, v. 4, p. 43-47, 2001.

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.

BARRETO, P. D.; QUINDERE, M. W. Resistência de genótipos de caupi ao caruncho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, p. 455-462, 2000.

BELL, C. H. Fumigation in the 21st century. **Crop Protection**, v. 19, p. 563-569, 2000.

BENHALIMA, H.; CHAUDHRY, M. Q.; MILLS, K. A.; PRICE, N. R. Phosphine resistance in stored-product insects collected from various grain storage facilities in Morocco. **Journal of Stored Products Research**, v. 40, p. 241-249, 2004.

BERTINE, C. H. C. M.; TEÓFILO E. M.; DIAS, F. T. C. Divergência genética entre acessos de feijão-caupi do banco de germoplasma da UFC. **Revista de Ciências Agronômicas**, v. 40, n. 1, p. 99-105, 2009.

BEZERRA, A. K. P.; LACERDA, C. F.; HERNANDEZ, F. F. F.; SILVA, F. B.; GHEY, H. R. Rotação cultural feijão caupi/milho utilizando-se águas de salinidades diferentes. **Ciência Rural**, v. 40, n. 5, p. 1075-1082, 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para Análises de Sementes**. Brasília: MAPA/ACS, p. 399, 2009.

BRIER, H. **Diagnostic methods for cowpea weevil or cowpea bruchid *Callosobruchus maculatus***. 40 pag. 2010. Austrália. Disponível em: <http://www.padil.gov.au/pbt>. Acesso em 29 de Outubro de 2015.

CASTRO, M. J. P.; SILVA, P. H. S.; SANTOS, J. R.; SILVA, J. A. L. Efeito de pós vegetais sobre a oviposição de *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) (Coleoptera; Bruchidae) em FeijãoCaupi. Teresina, PI. Brasil. Bioassay, v. 5, 2010.

CHALCHAT, J. C.; GARRY, R. P.; MENUT, C.; LAMATY, G.; MALHURET, R.; CHOPINEAU, J. Correlation between chemical composition and antimicrobial activity.

VI. Activity of some African essential oils. **Journal of Essential Oil Research**, v.9, p. 67-75, 1997.

CHAUDHRY, M. Q. Phosphine resistance. **Pesticide Outlook**, v. 11 n.3, p. 88-91,2000.

CHAUDHRY, M. Q. Review 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.

CHEN, C. Factors that affect equilibrium relative humidity of agricultural products. **Transactions of the ASAE**, St. Joseph, v. 43, p. 673-683, 2000.

DABIRÉ C.; SANON, A. DRABO, I. Evaluation de lignées de niébé en ségrégation pour la résistance aux bruches. **Annales des Sciences Agronomiques**, v. 5, n. 2, 2003.

DE SOUSA, A. H.; MARACAJÁ, P. B.; DA SILVA, R. M.; DE MOURA, A. M.; DE ANDRADE, W. G. Bioactivity of vegetal powders against *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) in caupi bean and seed physiological analysis. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 5, n. 2, 96-103, 2005.

DOBIE, P.; HAINES, C. P.; HODGES, R. J.; PREVETT, P. F. Insects and arachnids of tropical stored products. Their biology and identification (a training manual). Insects and arachnids of tropical stored products. **Their biology and identification (a training manual)**, 1984.

DON-PEDRO, K. N. Investigation of single and joint fumigant insecticidal action of citruspeel oil components. **Pesticide Science**, v. 46, p. 79-84, 1996.

EMBRAPA ARROZ E FEIJÃO. Home Page. 2012. Disponível em: <<http://www.cnpaf.embrapa.br/socioeconomia/index.htm>> . Acesso em: 22 março de 2015.

ENAN, E. E. Insecticidal activity of essential oils: octopaminergic sites of action. **Comparative Biochemistry Physiology C Toxicology Pharmacology**, v. 130, p. 325-337, 2001.

ENAN, E.; BEIGLER, M.; KENDE, A. Insecticidal action of terpenes and phenols to cockroaches: effect on octopamine receptors. **In Proceedings of the International Symposium on Plant Protection**, p. 5-10, 1998.

FAOSTAT. Production. Crops. Disponível em: <http://faostat.fao.org/DesktopDefault.aspx?PageID=567&lang=cn#cnanchor>. Acesso em 11 junho 2015.

FAZOLIN, M.; COSTA, C. R.; DAMACENO, J. E. O; ALBUQUERQUE, E. S.; CAVALCANTE, A. S. S; ESTRELA, J. L. V. Fumigação de milho para o controle do gorgulho utilizando caule de *Tanaecium nocturnum* (Bignoniaceae). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, p. 1-6, 2010.

FREIRE FILHO, F. R., RIBEIRO, V. Q., ROCHA, M. D. M., SILVA, K., NOGUEIRA, M., & RODRIGUES, E. Produção, melhoramento genético e potencialidades do feijão-caupi no Brasil. **IV Reunião** de 2011.

FROTA, K. M. G.; MENDONÇA, S.; SALDIVA, P. H. N.; CRUZ, R. J.; ARÊAS, J. A. G. Cholesterol-lowering properties of whole cowpea seed and its protein isolate in hamsters. **Journal of Food Science**, v. 73, p. 235-240, 2008.

FONSECA, M. R.; FERNANDES, A. R.; SILVA, G. R.; BRASIL, E. C. Teor e acúmulo de nutrientes por plantas de feijão caupi em função do fósforo e da saturação por bases. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 53, n. 2, p. 195-205, 2010.

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

GERSHENZON, J. Plant volatiles Carry both public and private messages. Department of Biochemistry, Max Planck Institute for chemical Ecology. Germany. PNAS. v. 104, n. 13, p. 5257-5258, 2002.

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, 1990/1991

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, p. 29-31, 1996.

HAMDI, S. H.; HEDJAL-CHEBHEBB, M.; KELLOUCHE, A.; KHOUJA, M. L.; BOUDABOUS, A.; JEMÂ, J. M. B. Management of three pests population strains from Tunisia and Algeria using *Eucalyptus* essential oils. **Industrial Crops and Products**, v. 74, p. 551–556, 2015.

HEEMSKERK, W. Cultura do Feijão (Nhemba). Serie n. 1. Serie – agricultura. **Ministério da agricultura**, p. 33, 1985.

ILBOUDO Z. ; DABIRÉ L. C. B.; NÉBIÉ R. C. H.; DICKO I. O.; DUGRAVOT S.; CORTESERO A. M., Sanon A. Biological activity and persistence of four essential oils towards the main pest of stored cowpeas, *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). **Journal of Stored Products Research**, v.46, p. 124 – 128, 2010.

ILEKE, K. D.; ODEYEMI, O. O.; ASHAMO, M. O. Insecticidal activity of *Alstonia boonei* De Wild powder against cowpea bruchid, *Callosobruchus maculatus* (Fab.) (Coleoptera: Chrysomelidae) in stored cowpea seeds. **International Journal of Biology**, v. 4, p. 125-131, 2012.

INE; Censo agro-pecuário 2009-2010: Resultados definitivos – Moçambique, 2010.

ISMAN, M. B. Plant essential oils for pest and disease management. **Crop Protection**, v. 19, p. 603-608, 2000.

KARR, L. L.; COATS, J. R. Insecticidal properties of d-limonene. **Journal of Pesticide Science**, v.13, p.287-289, 1988.

KEDIA, A.; PRAKASH, B.; MISHRA, P. K.; CHANOTIYA, C. S.; DUBEY, N. K. Antifungal, antiaflatoxicogenic, and insecticidal efficacy of spearmint (*Mentha spicata* L.) essential oil. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 89, p. 29-36, 2014.

KÉITA , S. M.; VINCENT, C.; SCHMIT, J.-P.; ARNASON , J. T.; BÉLANGER, A. Efficacy of essential oil of *Ocimum basilicum* L. and *O. gratissimum* L. applied as an insecticidal fumigant and powder to control *Callosobruchus maculatus* (Fab.) [Coleoptera: Bruchidae]. **Journal of Stored Products Research**, v. 37, p. 339–349, 2001.

KETOH, K. G.; KOUMAGLO, H. K.; GLITHO, I. A. Inhibition of *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae) development by using essential oil extracted from *Cymbopogon schoenanthus* L. Spreng. (Poaceae) and the wasp *Dinarmus basalis* Rond. (Hymenoptera: Pteromalidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 41, p. 363-371, 2005.

KNIO, K. M.; USTA, J.; DAGHER, S.; ZOURNAJIAN, H.; KREYDIYYEH, S. Larvicidal activity of essential oils extracted from commonly used herbs in Lebanon against the sea side mosquito *Ochlerotatus caspius*. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 763–768, 2008.

KOSTYUKOVSKY, M.; RAFAELI, A.; GILEADI, C.; DEMCHENKO, N.; SHAAYA, E. Activation of octopaminergic receptors by essential oil constituents isolated from aromatic plants: possible mode of action against insect pests. **Pest Management Science**, v. 58, p. 1101-1106, 2002.

KREYDIYYEH, S. I. Usta, J.; Kaouk, I.; Al-Sadi, R. The mechanism underlying the laxative properties of Parsley extract. **Phytomedicine**, v. 8, n. 5, p. 382-388, 2001.

LANÇAS, F. M.; CAVICHIOLI, M. Analysis of the essential oils brazilian citrus fruits by capillary gas chromatography. **Journal of High Resolution Chromatography**, v. 13, p. 207-209, 1990

LEE, B. H.; LEE, S. E.; ANNIS, P. C.; PRATT, S. J.; PARK, B. S.; TUMAALII, F. Fumigant toxicity of essential oils and monoterpenes against the red flour beetle, *Tribolium castaneum* Herbst. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 5, n. 2, p. 237-240, 2002.

LIENARD, V.; SECK, D. Revue des methodes de lutte contre *Callosobruchus maculatus* (F.)(Coleoptera: Bruchidae), ravageur des graines de niébé (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) en Afrique tropicale. **International Journal of Tropical Insect Science**, v. 15, p. 301-311, 1994.

LIMA, M. P. L.; OLIVEIRA, J. V.; BARROS, R.; TORRES, J. B. Identificação de genótipos de caupi *Vigna unguiculata* (L.) Walp. resistentes a *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) (Coleoptera: Bruchidae). **Neotropical Entomology**, v.30, p. 289-295, 2001.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas. Nova Odessa: Instituto Plantarum, p. 544, 2002.

LOCHER, R.; BUCHELI, P. Comparison of soluble sugar degradation in soybean seed under simulated tropical storage conditions. **Crop Science**, v. 38, p. 1229-1235, 1998.

MAPA. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Agrofit – Sistema de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em:
< http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso a: 01 jun. 2015.

MANSOUR, S. A.; EL-SHARKAWY, A. Z.; ABDEL-HAMID, N. A. Toxicity of essential plant oils, in comparison with conventional insecticides, against the desert locust, *Schistocerca gregaria* (Forskål). **Industrial Crops and Products**, v. 63, p. 92–99, 2015.

MARSARO JUNIOR, A. L.; VILARINHO, A. A. Resistência de cultivares de feijão-caupi ao ataque de *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchidae) em condições de armazenamento. Revista Acadêmica, Ciências Agrárias Ambientais, v. 9, n.1, p. 51-55, 2011.

MAZZONETTO, F.; BOIÇA JR, A. L. Determination of the types of resistance of bean genotypes to the attack of *Zabrotes subfasciatus* (Boh.)(Coleoptera: Bruchidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 28, p. 307-311, 1999.

MOHAPATRA, D.; KAR, A. Insect Pest Management in Stored Pulses: an Overview. **Food Bioprocess Technol**, DOI 10.1007/s11947-014-1399-2, 2014.

MOSTASSO, L.; MOSTASSO, F. L.; DIAS, B. G.; VARGAS, M. A. T.; HUNGRIA, M. Selection of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) rhizobial strains for the Brazilian Cerrados. **Field Crops Research**, v. 73, p. 121-132, 2002.

MOURA, E. S. Atividade inseticida dos óleos essenciais de manjeriço e candeieiro e seus componentes sobre *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). Viçosa – MG, UFV, 2015. **Dissertação de Mestrado**.

MUNDINA, M.; VILA, R.; TOMI, F.; TOMA` S, X.; CICCIO, J. F.; ADZET, T.; CASANOVA. J.; CAÑIGUERAL, S. Composition and chemical polymorphism of the essential oils from *Piper lanceaefolium*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 29, p. 739 –748, 2001.

NASCIMENTO, P. F. C.; NASCIMENTO, A. C.; RODRIGUES, C. S.; ANTONIOLLI, A. A.; SANTOS, P. O.; BARBOSA JUNIOR, A. M.; TRINDADE, R. C. Antimicrobial activity of the essentials oils: a multifactor approach of the methods. Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 17, p. 108-113, 2007.

NAVARRO, D. M. A. F.; SILVA, P. C. B.; SILVA, M. R.; NAPOLEÃO, T. H.; PAIVA, P. M. G. Larvicidal activity of plant and algae extracts, essential oils and isolated chemical constituents against *Aedes aegypti*. **The Natural Products Journal**, v. 3, p. 268-291, 2013.

NEGAHBAN, M.; MOHARRAMIPOUR S.; SEFIDKON, F. Fumigant toxicity of essential oil from *Artemisia sieberi* Besser against three stored-product insects. **Journal of Stored Products Research**, v. 43, p. 123–128, 2007.

NENAAH, G. E.; IBRAHIM, S. I. A.; AL-ASSIUTY, B. A. Chemical composition, insecticidal activity and persistence of three *Asteraceae* essential oils and their nanoemulsions against *Callosobruchus maculatus* (F.). **Journal of Stored Products Research**, v. 61, p. 9 – 16, 2015.

NOUHOHEFLIN T.; COULIBALY O.; ADÉGBIDI A. Impact de l'adoption des nouvelles technologies sur l'efficacité de la production du niébé au Bénin Bulletin de la Recherche Agronomique du Bénin, v. 40, 2003.

OLIVEIRA, G. B.; KUNZ, D.; PERES, T. V.; LEA, R. B.; UCHÔ, A. F.; SAMUELS, R. I.; MACEDO, M. L. R.; CARLINI, C. R.; RIBEIRO, A. F.; GRANGEIRO, T. B.; TERRA, W. R.; XAVIER-FILHO, J.; SILVA, C. P. Variant vicilins from a resistant *Vigna unguiculata* lineage (IT81D-1053) accumulate in side *Callosobruchus maculatus* larval midgut epithelium. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 168, p. 45-52. 2014.

OLIVEIRA, J. V. de.; VENDRAMIM, J. D.; HADDAD, M. L. Bioatividade de pós vegetais sobre o caruncho do feijão em grãos armazenados. **Revista de Agricultura**, v.75, 1999.

OOTANI, M.A.; AGUIAR, R.W.S.A. ; MELLO, A.V.M.; DIDONET, J.; PORTELLA, A.C.F.; NASCIMENTO, I.R. Toxicidade de óleos essenciais de eucalipto e citronela sobre *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). **Bioscience Journal**, v. 27, p. 609-618, 2011.

OUÉDRAOGO S. Impact économique des variétés améliorées du niébé sur les revenus des exploitations agricoles du plateau central du Burkina Faso. **Tropicultura**, v. 21, p. 204-210, 2003.

PANDEY, A.; CHATTOPADHYAY, P.; BANERJEE, S.; PAKSHIRAJAN, K.; SINGH, L. Antitermitic activity of plant essential oils and their major constituents against termite *Odontotermes assamensis* Holmgren (Isoptera: Termitidae) of North East India. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 75, p. 63-67, 2012.

PETRAKIS, V. P.; ROUSSIS, V.; PAPADIMITRIOU, D.; VAGIAS, C.; TSITSIMPIKOU, C. The effect of terpenoid extracts from 15 pine species on the feeding behavioural sequence of the late instars of the pine processionary caterpillar *Thaumetopoea pityocampa*. **Behav Process**, v. 69, p. 303- 322, 2005.

PRATT, S. J. Insect toxicology of phosphine. Acton: Australian National University, p. 293, 2005. **Tese de Doutorado**.

PIMENTEL, M. A. G.; FARONI, L.R.D'A.; GUEDES, R.N.C.; SOUSA, A. H.; TO´TOLA, M.R. Phosphine resistance in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). / **Journal of Stored Products Research**, v. 45, p. 71–74, 2009.

RAFIEI-KARAHROODI, Z.; MOHARRAMIPOUR, S.; FARAZMAND, H.; KARIMZADEHESFAHANI, J. Insecticidal effect of six native medicinal plants essential oil on Indian meal moth, *Plodia interpunctella* Hübner (Lep.: Pyralidae). **Munis Entomology & Zoology**, v. 6, p. 339-345, 2011.

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

ROCHA JÚNIOR, L. S.; USBERTI, R. Qualidade física e fisiológica de sementes de trigo expurgadas com fosfina durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 1, p. 45-51, 2007.

ROSENTHAL, G. A. The chemical defenses of higher plants. **Scientific American**, p. 94–99, 1986.

SAS Institute. **SAS/STAT User`s Guide**, version 8.0. Cary: SAS Institute Inc., 2002.

SIA – Sistema de Informações sobre Agrotóxicos. In: Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Relatório do Ingrediente Ativo**. Disponível em: <http://www4.anvisa.gov.br/AGROSIA/asp/frm_dados_ingrediente.asp?iVarAux=1&Codigo=213>. Acesso em: 31 de Outubro de 2015

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V., 1999. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Eds.). Farmacognosia: da planta ao medicamento. **Editora da UFRGS/Editora da UFSC**, p. 468-495. Porto Alegre/Florianópolis, 2004.

SIMÕES, C. D. O.; SPITZER, V., 2000. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P., p. 467-495.

SIMON, J. E.; CHADWICK, A. F.; CRAKER, L. E. Herbs: an indexed bibliography, 1971-1980. The scientific literature on selected herbs, and aromatic and medicinal plants of the temperate zone. **Hamden, CT: Archon Books**, p. 770, 1984.

SNOUSSI, M.; DEHMANI, A.; NOUMI, E.; FLAMINI, G.; ADELE, P. Chemical composition and Antibiofilm activity of *Petroselinum crispum* and *Ocimum basilicum* essential oils against *Vibrio* spp. Strains. **Microbial Pathogenesis**, doi: 10.1016/j.micpath.2015.11.004, 2015.

SOLÓRZANO, F.; MIRANDA M. G. Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agentes. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 23, p. 136-141, 2012.

SOUZA, A. P.; VENDRAMIM, E. J. D.. Atividade inseticida de extratos aquosos de meliáceas sobre *Bemisia tabaci* (Genn) biótipo B. **Neotropical Entomology**, v.30, p. 133-137, 2001.

TISSERAND, R; BALACS, T. Essential Oil Safety - A Guide for Health Professionals. **Churchill Livingstone**, London, 1995

TIMKO, M. P.; SINGH, B. B. Cowpea, a multifunctional legume. In: MOORE, P. H.; MING, R. (Eds). Genomics of tropical crop plants. **Springer Science - Business Media**. New York, p. 227-258, 2008.

TOLOZA, A. C.; ZYGADLO, J.; CUETO, G. M.; BIURRUN, F.; ZERBA, E.; PICOLLO, M.I. Fumigant and repellent properties of essential oils and component compounds against permethrin-resistant *Pediculus humanus* capitis (Anoplura: Pediculidae) from Argentina. **Journal of Medical Entomology**, v. 43, p. 889–895, 2006.

USDA – United States Department of Agriculture. Fumigation Handbook. Federal Grain Inspection Service, Washington, D.C., p. 49, 1978

WALTHALL, W. K.; STARK, J. D. Comparasion of two population level ecotoxicological endpoints: The intrinsic (rm) and instantaneous (ri) rates of increase. **Environment Toxicology and Chemistry**, v. 16, p. 1068-1073, 1997.

WHITE, N. D. G.; LEESCH, J. G. Chemical control. In: Subramanyam, B.; Hagstrum, D. W. (ed.) Integrated management of insects in stored products. New York: Marcel Dekker, cap. 7, p.287-330, 1996.

WINKS, R. G.; WATERFORD, C. J. The relationship between concentration and time in the toxicity of phosphine to adults of a resistant strain of *Tribolium castaneum* (Herbst). **Journal of Stored Products Research**, v. 22, n.2, p. 85-92, 1986

YANG, K.; WANG, C. F.; YOU, C. X.; GENG, Z. F.; SUN, R. Q.; GUO, S. S.; DU, S. S.; LIU, Z. L.; DENG, Z. W. Bioactivity of essential oil of *Litsea cubeba* from China and its main compounds against two stored product insects. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 17, p. 459 – 466, 2014.

YOKOYAMA, L. P.; WETZEL, C. T.; VIEIRA, E. H. N.; PEREIRA, G. V. Sementes de feijão: produção, uso e comercialização. In:Vieira, E. H. N.; Rava, C. A. In: Sementes de feijão: produção e tecnologia. **EMBRAPA Arroz e feijão**. cap. 12, p. 249-270, 2000.

ZHANG, H.; CHEN, F.; WANG, X.; YAO, H.-Y. Evaluation of antioxidant activity of parsley (*Petroselinum crispum*) essential oil and identification of its antioxidant constituents. **Food Research International**, v. 39, p. 833–839, 2006.