

LUIS OSWALDO VITERI JUMBO

**ATIVIDADE INSETICIDA E DE REPELÊNCIA DE ÓLEOS ESSENCIAIS
DE CRAVO E CANELA SOBRE O CARUNCHO *Acanthoscelides obtectus*
(Say)**

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

VIÇOSA
MINAS GERAIS-BRASIL
2013

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV

T

Viteri Jumbo, Luis Oswaldo, 1980-

V843a
2013

Atividade inseticida e de repelência de óleos essenciais de cravo e canela sobre o caruncho *Acanthoscelides obtectus* (Say) / Luis Oswaldo Viteri Jumbo. – Viçosa, MG, 2013.
xi, 44 f. : il. ; 29 cm.

Orientador: Lêda Rita D' Antonino Faroni.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Feijão - Doenças e pragas - Controle. 2. *Phaseolus vulgaris*. 3. *Cinnamomum zeylanicum*. 4. *Syzygium aromaticum*.
I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Entomologia. Programa de Pós-Graduação em Entomologia.
II. Título.

CDD 22. ed. 635.65297

LUIS OSWALDO VITERI JUMBO

**ATIVIDADE INSETICIDA E DE REPELÊNCIA DE ÓLEOS ESSENCIAIS
DE CRAVO E CANELA SOBRE O CARUNCHO *Acanthoscelides obtectus*
(Say)**

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

APROVADA: 13 de dezembro de 2013.

Eugênio Eduardo de Oliveira
(Coorientador)

Marco Aurélio Guerra Pimentel
(Coorientador)

Haddi Khalid

Lêda Rita D'Antonino Faroni
(Orientadora)

"A melhor herança que um pai pode deixar ao filho ou o educador ao discípulo é a firmeza em aspirar triunfos e a capacidade de assimilar derrotas"

Moacyr Daiuto

***À minha querida e estimada mãe Francisca Jumbo
exemplo de minha vida.***

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por me conceder vida, saúde e sabedoria.

Aos meus pais, Francisca Jumbo e Oswaldo Viteri, meus irmãos Bertha, Sonia, Jenny, Mireya e Juan, por todo amor, carinho, confiança e apoio incondicionais.

A Maria José González Armijos por apoiar-me e acompanhar-me sempre e incondicionalmente nos diferentes caminhos que eu decida seguir, obrigado Amor.

Ao Governo do Equador, em nome do Excelentíssimo Presidente da República Economista Rafael Correa Delgado, pela bolsa concedida. Sem ela não seria possível trilhar este caminho.

À SENESCYT (*Secretaría Nacional de Educación Superior, Ciencia y Tecnología*) pelo apoio prestado nestes dois anos.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Entomologia, pela oportunidade de desenvolver este trabalho.

Ao Professor Raul Narciso Carvalho Guedes por aceitar-me no Programa de Pós-Graduação em Entomologia.

Aos professores Gustavo Martines, Weider Santana e Eliseu Pereira por sua acolhida e ajuda na chegada às aulas do Departamento de Entomologia.

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

Ao Doutor Marco Aurélio Guerra Pimentel por toda sua ajuda e paciência no assessoramento deste trabalho.

Ao Professor Eugênio Eduardo de Oliveira pelas valiosas contribuições, ensinamentos e dedicação neste trabalho, além da amizade, paciência e confiança.

Ao amigo Romenique da Silva Freitas pela ajuda na execução dos experimentos.

Ao amigo e bom companheiro de laboratório Gutierrez Nelson Silva por sua ajuda durante toda a fase de desenvolvimento deste trabalho, agradeço de coração.

A Fernanda agradeço por toda sua ajuda no desenvolvimento deste trabalho.

Aos amigos e colegas de laboratório Juliane, Luz Paola, Raquel, Patrícia, Rita Cristina, Mariane, Alisson, Paula, Luane, Ana Cláudia, Jaqueline, Vanessa, Daniel e Marcos Vinícius. A vocês, sou muito grato pela colaboração.

A meus amigos da república (minha família do Brasil), Cristian, dona Tita, Erik; e de maneira muito especial a Robson de Assis Souza por sua acolhida na república e apoio durante estes dois anos, eu agradeço de coração.

Aos funcionários do Setor de Armazenamento do Departamento de Engenharia Agrícola da UFV pelo apoio, incentivo e disponibilidade em ajudar.

BIOGRAFIA

Luis Oswaldo Viteri Jumbo, filho de Ángel Oswaldo Viteri Curay e Francisca Adolfina Jumbo Álvarez, nasceu em Celica, Província de Loja, Equador, em 03 de abril de 1980.

Em setembro de 2001 iniciou o curso em Produção, Educação e Extensão Agropecuária na Universidade Nacional de Loja e graduou-se como Agropecuário em julho de 2006. Em fevereiro de 2012, ingressou no curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, na área de Controle de Pragas de Grãos Armazenados, da Universidade Federal de Viçosa, sob orientação da Professora Lêda Rita D'Antonino Faroni, submetendo-se à defesa de dissertação em dezembro de 2013.

SUMÁRIO

RESUMO	VIII
ABSTRACT	X
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	5
2.1. Feijão.....	5
2.2. <i>Acanthoscelides obtectus</i> (Say).....	5
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
3. MATERIAL E MÉTODOS	10
3.1. <i>Acanthoscelides obtectus</i> (Say).....	10
3.2. Obtenção dos óleos essenciais	10
3.3. Análise da composição dos óleos essenciais.....	10
3.4. Toxicidade do óleo essencial de cravo e canela para <i>Acanthoscelides obtectus</i> (Say)	11
3.5. Bioensaios de taxa instantânea de crescimento (r_i).....	12
3.6. Análise da taxa de desenvolvimento populacional	12
3.7. Avaliação da persistência da atividade inseticida dos óleos	13
3.8. Avaliação da repelência	13
3.9. Perda de massa dos grãos	14
3.10. Análises estatísticas.....	14

4. RESULTADOS.....	15
4.1. Principais componentes dos óleos essenciais.....	15
4.2. Toxicidade do óleo essencial de cravo e canela para <i>Acanthoscelides obtectus</i> (Say).....	15
4.3. Bioensaio de taxa instantânea de crescimento populacional (r_i).....	17
4.4. Taxa de desenvolvimento populacional.....	17
4.5. Persistência da atividade inseticida dos óleos essenciais.....	22
4.6. Avaliação de repelência.....	23
4.7. Perda da massa dos grãos.....	26
5. DISCUSSÃO.....	27
6. CONCLUSÃO.....	32
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	33

RESUMO

JUMBO, Luis Oswaldo Viteri, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, Dezembro de 2013. **Atividade inseticida e de repelência de óleos essenciais de cravo e canela sobre o caruncho *Acanthoscelides obtectus* (Say)**. Orientadora: Lêda Rita D'Antonino Faroni. Coorientadores: Eugênio Eduardo de Oliveira e Marco Aurélio Guerra Pimentel.

O feijão representa uma das principais fontes de proteínas em países em desenvolvimento, ainda assim as perdas estimadas no armazenamento são de 30% em consequência do ataque de pragas, entre elas *Acanthoscelides obtectus* (Say). Embora os pesticidas químicos sejam eficazes para controlar essas pragas, seu uso excessivo pode comprometer a qualidade dos alimentos. Óleos essenciais de origem vegetal são apresentados como uma alternativa atrativa aos inseticidas químicos sintéticos para o controle de pragas, porque apresentam pouco ou nenhum efeito sobre a qualidade dos grãos, saúde humana e meio ambiente. Este trabalho teve como objetivo avaliar a toxicidade dos óleos essenciais de *Syzygium aromaticum* (Myrtaceae) ou cravo e *Cinnamomum zeylanicum* (Laureaceae) conhecida como canela sobre *A. obtectus* em grãos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). Avaliou-se a taxa instantânea de crescimento populacional (r_i) desses insetos expostos a tempos-letais, taxa de desenvolvimento, repelência, persistência e perda de massa do feijão. A toxicidade dos óleos foi avaliada através de testes preliminares para estimar a dose letal para 50 e 95% (DL₅₀ e DL₉₅) dos insetos adultos. As unidades experimentais foram constituídas por frascos de 0,8 L contendo 200 g de feijão (variedade rainha) tratados com doses de 2,80; 5,54; 8,88; 14,22; 28,09 μ L de óleo de cravo, e 4,26; 6,93; 9,70; 13,60; 22,17 μ L de óleo de canela. Posteriormente, foram acrescentados 25 insetos adultos em cada frasco (quatro repetições por dose), e a mortalidade dos insetos foi avaliada após 24 h. A taxa instantânea de crescimento (r_i) dos insetos na presença dos óleos de cravo e canela foi determinada utilizando as doses letais (DL₁₀, DL₃₀, DL₅₀, DL₇₀ e DL₉₀), obtidas no bioensaio de toxicidade. Foram utilizados frascos com 200 g de feijão e 25 insetos adultos, não-sexados com idade de 1-3 dias, e quatro repetições por DL; após 45 dias, a progênie adulta foi contabilizada. Procedimento similar foi feito para avaliar a taxa de desenvolvimento, com a diferença de, que neste teste, os insetos foram retirados dos frascos depois de 15 dias de terem sido introduzidos, e a contagem foi realizada a cada dois dias após a emergência do primeiro adulto. A persistência foi avaliada em grãos de feijão

tratados com a DL_{100} dos óleos. A atividade repelente dos óleos foi testada com as doses DL_{10} , DL_{50} , DL_{90} para cada óleo. Os resultados de toxicidade indicaram que as DL_{50} e DL_{95} foram 8,88 μL e 38,94 μL para o óleo essencial de cravo, e 9,70 μL e 27,97 μL para o óleo essencial de canela, respectivamente. Além disso, com o aumento das doses dos óleos essenciais, a r_i e a taxa de desenvolvimento decrescem significativamente. Com relação à persistência dos óleos, observou-se a redução na mortalidade de *A. obtectus* com o aumento do tempo entre o tratamento dos grãos tratados; mantendo uma mortalidade superior ao 50% dos insetos até 7 dias após a exposição. Entretanto, foi observada repelência do óleo essencial de canela para este inseto somente ao utilizar-se a DL_{90} ; o óleo essencial de cravo não apresentou repelência contra *A. obtectus* nas doses testadas. A perda de massa dos grãos no período de 48 dias foi diretamente proporcional ao número de insetos emergidos em cada teste. Para o feijão tratado com óleo essencial de cravo, a perda média da massa foi de 6,6%, e no controle de 9,6%; nos ensaios com óleo essencial de canela, a perda média foi de 6,8% e 9,2% para os tratamentos e controle, respectivamente. Assim, com os resultados obtidos nesta pesquisa, pode-se concluir que os óleos essenciais de cravo e de canela têm efeito por contato na mortalidade de *A. obtectus*, sendo uma alternativa ao uso de inseticidas tradicionais.

ABSTRACT

JUMBO, Luis Oswaldo Viteri, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, December, 2013. **Insecticidal effect of clove and cinnamon essential oils in controlling weevil *Acanthoscelides obtectus* (Say) in beans.** Adviser: Lêda Rita D'Antonino Faroni. Co-advisers: Eugênio Eduardo de Oliveira and Marco Aurélio Guerra Pimentel.

Beans are the major source of protein in developing countries, and still the storage losses are estimated in 30% as a result of pests attack including *Acanthoscelides obtectus* (Say). Although chemical pesticides are effective to control these pests, their overuse can compromise the quality of food. Essential oils of vegetable origin are presented as an attractive alternative for the synthetic chemical insecticides to pest control, because they have little or no effect on grain quality, human health and environment. This study aimed evaluate the toxicity of the essential oils of *Syzygium aromaticum* (Myrtaceae) or clove and *Cinnamomun zeylanicum* (Laureaceae) known as cinnamon on *A. obtectus* in beans (*Phaseolus vulgaris* L.). We evaluated the instantaneous rate of increase (r_i) of these insects exposed to time-lethal, developmental rate, repellency, persistence and loss of mass of the beans. The toxicity of the oils was evaluated by preliminary tests to estimate the lethal dose to 50 and 95% (DL₅₀ and DL₉₅) of adult insects. The experimental unit consisted of 0.8 L bottles containing 200 g of beans (Queen variety) treated with doses of 2,80; 5,54; 8,88; 14,22; 28,09 μ L of clove oil, and 4,26; 6,93; 9,70; 13,60; 22,17 μ L of cinnamon oil. Later were added 25 adult insects per vial (four replicates per dose), and insect mortality was assessed after 24 h. The instantaneous rate of increase (r_i) of the oils of clove and cinnamon was determined using lethal doses (LD₁₀, LD₃₀, LD₅₀, LD₇₀ and LD₉₀), obtained in the toxicity bioassay. After 45 days, the adult progeny was recorded; bottles with 200 g of beans and 25 adult insects, non-sexed 1-3 days old, and four replicates were used for LD. A similar procedure was done to assess the rate of development, with the difference that in this test the insects were removed from the flasks after 15 days they were introduced, and counting was performed every two days after the emergence of the first adult. The persistence was evaluated in beans treated with LD₁₀₀ oils. The repellent activity of oils was tested with the LD₁₀, LD₅₀, LD₉₀ doses for each oil. The results indicate that the toxicity LD₅₀ and LD₉₅ were 8.88 μ L and 38.94 μ L for clove essential oil, and 9.71 μ L and 27.97 μ L for cinnamon essential oil, respectively. Furthermore, with increased doses of

essential oils and r_i , development rate decreases significantly. Regarding the persistence of oil, was observed mortality reduction of *A. obtectus* with increasing time between the treatments of treated grains, keeping a higher mortality at 50% of the insects within 7 days after exposure. However, repellency of essential oil of cinnamon to this insect was observed only when using LD₉₀; clove essential oil showed no repellency against *A. obtectus* at the tested doses. The loss of grain weight during 48 days was directly proportional to the number of emerged insects in each test. For beans treated with clove essential oil the average of mass loss was 6.6%, and 9.6% in the control, whereas for tests with essential oil of cinnamon the average of loss was 6.8% and 9.2% for the treatment and control, respectively. Thus, with the results obtained in this study, it can be concluded that the essential oils of clove and cinnamon have effect on mortality of *A. obtectus* by contact, as an alternative to the use of traditional insecticides.

1. INTRODUÇÃO

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) (Fabaceae) representa uma das principais fontes de proteína na dieta humana, produzido em 75% dos países em desenvolvimento em todo o mundo (SCHMALE et al., 2006). Ocupa o terceiro lugar em nível mundial dentro das leguminosas alimentícias mais importantes, só sendo superado pela soja (*Glycine max* (L.) Merr.) e amendoim (*Arachis hipogea* L.) (GONZÁLEZ et al., 2006). A produção brasileira de feijão estimada para a safra 2013/2014 é de aproximadamente 3,2 milhões de toneladas (CONAB, 2013). Perto de 85% da produção brasileira é cultivada por pequenos produtores (VIEIRA et al., 2006). No Equador, por exemplo, mais de 50% do feijão é produzido por pequenos agricultores, e 86% da superfície plantada é colhida quando o grão está seco (INEC 2010); fazendo-se necessário seu armazenamento para posterior consumo ou comercialização.

Durante o armazenamento dos grãos, são observadas consideráveis perdas, tanto de natureza quantitativa como qualitativa. Estima-se que cerca de 10 a 20% dos grãos são perdidos durante o armazenamento e um dos principais fatores é o ataque de insetos-praga (HERTLEIN et al., 2011).

Acanthoscelides obtectus (Say) (Coleoptera: Bruchidae) é a praga mais destrutiva e importante em todo o mundo no armazenamento de grãos de feijão (RAMIREZ et al., 2003; JOVANOVIĆ et al., 2007). Este inseto pode causar perdas de até 30% em *P. vulgaris* (GOLEBIEWSKI et al., 2008). A infestação inicia no campo, na secagem das vagens, e continua na armazenagem, e o contágio total dos grãos de feijão pode ocorrer após quatro meses da infestação no campo (VELTEN et al., 2007). O poder destrutivo desta praga obriga os pequenos produtores a vender quase toda sua colheita ao final da safra, saturando a oferta de feijão no mercado e causando com isso, uma queda de preços (SCHMALE et al., 2006).

A capacidade destrutiva desta praga se deve ao hábito de viver em ambientes secos, escuros e com baixo teor de oxigênio (FARONI e SOUSA, 2006), podendo causar danos quantitativos e qualitativos nos grãos armazenados (FERNÁNDEZ et al., 2009). Dessa forma, é visível a necessidade contínua de proteger os produtos armazenados das pragas, evitando-se perdas de qualidade e quantidade durante o armazenamento (PADIN et al., 2002).

Os métodos mais comuns de controle dos insetos-praga de grãos são feitos por meio do uso de inseticidas protetores (piretroides e organofosforados) e

fumigantes em que o princípio ativo é a fosfina (cujo precursor é o fosfeto de alumínio) (SOUSA et al., 2008). Porém, o uso excessivo de inseticidas sintéticos causam riscos e implicações toxicológicas para a saúde humana e o aumento da contaminação do meio ambiente (WAKIL et al., 2013). Por estas razões, cada vez existem mais restrições no uso de inseticidas e da quantidade de compostos químicos oficialmente registrados para o controle de pragas em produtos armazenados (MEKALI et al., 2013).

Tem sido demonstrado que os inseticidas organofosforados estão associados à diabetes (EVERETT e MATHESON, 2011), à doença de Alzheimer (ZAGANAS et al., 2013), a danos ao sistema imunológico (CORSINI et al., 2013), ao sistema endócrino (MOSTAFALOU e ABDOLLAHI, 2013) e são potentes inibidores da acetilcolinesterase (KAVVALAKIS e TSATSAKIS, 2012). Os inseticidas piretroides são imunotóxicos aos humanos (ZHANG et al., 2010), e inibem a ação da progesterona (MCKINLAY et al., 2008). Tem-se indícios que o gás fosfina provoca problemas neuropsicológicos e outros déficits neurológicos (BJÖRLING-POULSEN et al., 2008). Além disso, o uso contínuo e indiscriminado da fosfina contra pragas de grãos armazenados tem favorecido o desenvolvimento de populações resistentes a este fumigante (PIMENTEL et al., 2009; SONG et al., 2011).

Desta forma, torna-se necessário o desenvolvimento de pesquisas visando à obtenção de métodos alternativos para o controle destes insetos durante o armazenamento, entre os quais se destaca o uso de óleos essenciais e extratos de origem vegetal que tem efeito inseticida em outras pragas de grãos armazenados. (ABDELGHANY et al., 2010; SUTHISUT et al., 2011; RAJASHEKAR et al., 2013). Na última década, o uso de inseticidas botânicos constituiu somente 1% dos inseticidas usados no mundo (ROZMAN et al., 2007).

Inseticidas botânicos têm a vantagem de proporcionar modos de ação alternativos contra os insetos e reduzir o risco de resistência cruzada (ISMAN, 2006). Além disso, causam menos danos à saúde humana e ao meio ambiente, degradando-se rapidamente; muitos são específicos causando pouco ou nenhum dano a outros organismos (ROZMAN et al., 2007).

Óleos essenciais derivados de mais de 75 espécies de plantas têm sido avaliados como tóxicos contra insetos de grãos armazenados (RAJENDRAN e SRIANJINI, 2008). Constituem uma fonte rica de compostos bioativos que são biodegradáveis em produtos não tóxicos e potencialmente adequados para seu uso,

especialmente contra pragas de grãos armazenados (NENAAH, 2011). Seu modo de ação vai desde a morte por contato, repelência, inibição da oviposição, redução no desenvolvimento larval e até redução na fecundidade e fertilidade de adultos (OLIVEIRA et al., 1999), podendo ser tóxicos por via tópica ou fumigante (PAPACHRISTOS et al., 2004; PHILLIPS e APPEL, 2010a).

Foi demonstrado que óleos essenciais provenientes de espécies vegetais pertencentes às famílias Myrtaceae e Lauraceae causam repelência em insetos da Ordem Coleoptera (NERIO et al., 2010). Dentro destas famílias, encontram-se as espécies com potencial inseticida como *Syzygium aromaticum* (Myrtaceae) ou cravo e *Cinnamomum zeylanicum* (Lauraceae), conhecida como canela, que também são utilizados na indústria alimentícia e medicina tradicional (KIM et al., 2003).

Óleos essenciais de *S. aromaticum* e *C. zeylanicum* são ricos em eugenol, β -cariofileno e acetato de eugenol (CHERICONI et al., 2005; SANTIN et al., 2011). Foi demonstrado que o eugenol apresenta atividade antifúngica contra *Fusarium proliferatum*; inibe o crescimento de fungos dos gêneros *Monilia*, *Botrytis* e *Mucor* (RANASINGHE et al., 2002). Em artrópodes, o óleo essencial de *S. aromaticum* demonstrou inibição na emergência de adultos e larvas de *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) (HAG et al., 1999); repelência em mosquitos de *Aedes aegypti*, *Culex quinquefasciatus* e *Anopheles dirus* (Diptera: Culicidae) (TRONGTOKIT et al., 2005); ação acaricida em contato direto e vapor contra *Dermatophagoides farinae*, *D. pteronyssinus* (Astigmata: Pyroglyphidae) e *Psoroptes cuniculi* (Sarcoptiformes: Psoroptidae) (KIM et al., 2003); e pode ser utilizado em forma de extrato como agente antimalárico (BAGAVAN et al., 2011). Recentemente, demonstrou-se que o eugenol é tóxico e repelente para a formiga vermelha *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae) (KAFLE e JEN, 2013).

C. zeylanicum é uma espécie vegetal conhecida por longo tempo, como possuidora de muitas propriedades biológicas devido ao seu poder analgésico, antisséptico, inseticida e parasiticida (TRAJANO et al., 2010). Além disso, vários estudos mostraram que os extratos e os componentes de *C. zeylanicum* possuem propriedades fúngicas contra *Cladosporium musae*, *Lasiodiplodia theobromae* e *F. proliferatum* (RANASINGHE et al., 2002); atividade ectoparasita contra *Pediculus humanus capitis* (Anoplura: Pediculidae) (YANG et al., 2005); e ação acaricida contra *P. cuniculi* (FICHI et al., 2007).

Embora se conheça o potencial dos óleos essenciais de cravo e canela como fungicida e inseticida, são escassas as informações a respeito do uso desses óleos no controle de *A. obtectus*. Face ao exposto, o presente estudo foi realizado com o objetivo de avaliar a toxicidade dos óleos essenciais de cravo e canela no controle de *A. obtectus*, bem como avaliar o efeito de doses-letais dos óleos essenciais de cravo e canela na taxa instantânea de crescimento populacional (r_i), desenvolvimento populacional, repelência e persistência.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Feijão

O feijão comum (*P. vulgaris*) representa 50% das leguminosas que se consomem em todo o mundo (TALUKDER et al., 2010). É a principal fonte de proteína na dieta de países como Brasil, México, Ruanda, Uganda e outras partes do Oeste da África e América Latina (BROUGHTON et al., 2003).

O feijão pode ser consumido sob a forma de grão seco, imaturo ou como verdura (vagens). Suas sementes contêm entre 20 e 25% de proteínas e de 30 a 60% de carboidratos (MA e BLISS, 1978; VENTER e EYSSEN, 2001). Do mesmo modo, os feijões são uma fonte rica de energia (aprox. 380 kcal 100 g⁻¹ de sementes), vitaminas (tiamina, riboflavina, niacina, vitamina B6, ácido fólico), fibra dietética (especialmente fração solúvel), e mineral (cálcio, ferro, zinco, fósforo, potássio, magnésio) (REYES-MORENO e PAREDES-LÓPEZ, 1993).

Ainda em relação às propriedades nutricionais, seu consumo tem demonstrado benefícios fisiológicos além das funções nutricionais básicas, como por exemplo, a redução do risco de doenças crônicas (CHOZE et al., 2013). Os efeitos fisiológicos de consumo de feijão podem ser devido à presença de fitoquímicos abundantes incluindo polifenóis que possuem propriedades anticancerígenas e antioxidantes (CARDADOR et al., 2002).

No Brasil e na América Latina, o feijão é cultivado por pequenos, médios e grandes produtores nos ecossistemas tropicais e subtropicais, incluindo o Cerrado, a Mata Atlântica, e as zonas semiáridas, em diferentes sistemas de cultivo, seja como um monocultivo ou em combinação com outras plantas (FARIA et al., 2013). Para este ano de 2013, estima-se que a produção de feijão do Brasil alcançará 3,2 milhões de toneladas numa área de 3,2 milhões de hectares (CONAB, 2013), fazendo-se necessário seu armazenamento e proteção contra os insetos-praga.

Segundo Cardona (1989), na América Latina *A. obtectus* é a praga que causa maior dano ao feijão armazenado devido ao fato de que o inseto pode completar seu ciclo de vida nas sementes armazenadas sem ter que regressar ao campo.

2.2. *Acanthoscelides obtectus* (Say)

O caruncho do feijão *A. obtectus* pertence à família Bruchidae. *A. obtectus* é uma praga que se originou na Mesoamérica, invadindo mais tarde os Andes equatoriais e Brasil; por último, a Europa e o mundo inteiro seguindo as diferentes

rotas comerciais (OLIVEIRA et al., 2013). Com sua capacidade de adaptação fisiológica é uma das pragas mais destrutivas que atacam o feijão na América Latina e na região mediterrânea (PAPACHRISTOS e STAMOPOULOS, 2002). *A. obtectus* prefere climas frios, portanto, pode ser encontrado nas regiões montanhosas e subtropicais; em consequência, é considerado o único inseto praga dos grãos secos da região andina (SCHMALE et al., 2006).

A. obtectus é uma praga generalista de leguminosas domesticadas, e apesar do feijão comum (*P. vulgaris*) ser seu principal hospedeiro, este inseto é também capaz de completar com êxito seu desenvolvimento em outras espécies de plantas. Na família Fabaceae há vários hospedeiros potenciais: *Cicer arietinum* L., *Vigna angularis*, *Vigna radiata* L., *Vicia faba* L., *Vigna unguiculata* L., *Cajanus indicus* L. e *Pisum sativum* L. (SAVKOVIC et al., 2012).

Esta espécie adquiriu a capacidade de reproduzir-se sem diapausa como consequência da evolução das espécies silvestres de feijão *Phaseolus polyanthus* (Greenman), que produzem sementes durante o ano todo (ÁLVAREZ et al., 2005). Em seu ciclo de vida as fêmeas ovipositam em média 63 ovos. Estes medem cerca de um milímetro de comprimento, são elípticos, lisos e brancos (ATHIÉ e PAULA, 2002). Embora alguns ovos de *A. obtectus* possam se aderir às sementes, a maioria é ovipositada livremente. Isso faz com que as fêmeas determinem a zona, porém não a semente em que cada um de sua progênie irá se desenvolver (PARSONS e CREDLAND, 2003).

Os ovos eclodem entre cinco e dez dias, e as larvas de primeiro ínstar são móveis e se movem entre as sementes até selecionar uma para a penetração; esta semente será a hospedeira para o resto das etapas do desenvolvimento (BAIER e WEBSTER, 1992). As fases larvais e de pupa duram em média 22,5 dias; este período é de aproximadamente um dia mais para as fêmeas que para os machos em condições de 30 °C e 70% de umidade relativa (UR). O tempo de geração, desde o ovo até a emergência do adulto, completa-se em 28 dias em condições ótimas; enquanto que o desenvolvimento é mais lento a temperaturas inferiores a 21 °C (HOWE e CURRIE, 1964).

Os adultos de *A. obtectus* podem viver sem comida durante 16 dias a uma temperatura variando entre 23 e 25 °C e 42 dias entre 19 e 21 °C; sendo este um fator que explica o fato de *A. obtectus* ser considerada uma espécie cosmopolita (HASAN e REICHMUTH, 2004). A oviposição e o crescimento são contínuos, sem diapausa,

entre 14 e 35 °C. Por conseguinte, seu desenvolvimento tem sido registrado antes da colheita em campos de cultivo, como nas sementes armazenadas (REGNAULT-ROGER e HAMRAOUI, 1994).

2.3. Óleos essenciais

Os óleos essenciais são uma mistura complexa de várias substâncias químicas biossintetizadas pelas plantas. São líquidos, voláteis, claros e raras vezes apresentam cor. Possuem densidade geralmente mais baixa à da água, são solúveis em lipídeos e em solventes orgânicos (BAKKALI et al., 2008). Podem ser obtidos a partir de matérias vegetais como: flores, ervas, brotos, folhas, frutos, ramos, cascas, sementes, madeiras e raízes (SOLÓRZANO e MIRANDA, 2012).

2.3.1. Composição química dos óleos essenciais

A composição química dos óleos essenciais é muito diversa entre as diferentes famílias das plantas, e dentro de uma mesma espécie vegetal os compostos podem ser comuns (REGNAULT-ROGER, 2008). Os óleos essenciais são compostos principalmente por terpenoides, particularmente monoterpenos (C₁₀), sesquiterpenos (C₁₅), e por uma variedade de fenóis aromáticos, óxidos, éteres, álcoois, ésteres, aldeídos e cetonas os quais determinam o aroma e o odor característico da planta doadora (BATISH et al., 2008).

Os óleos essenciais podem conter dezenas de constituintes, dos quais dois ou três elementos estão em concentrações relativamente altas; estes componentes são os que determinam as propriedades biológicas destes óleos (PICHERSKY et al., 2006). Por exemplo, no óleo essencial de *S. aromaticum*, os principais compostos são eugenol, acetato de eugenol e β -cariofileno (SANTORO et al., 2007). No óleo essencial de *C. zeylanicum*, os compostos predominantes são eugenol, β -cariofileno e linalool (TRAJANO et al., 2010).

Embora numa mesma espécie de planta os compostos sejam comuns, o produto da extração pode variar em qualidade, quantidade e em sua composição de acordo com o clima, composição do solo, órgão, idade, etapa do ciclo vegetativo da planta e método de extração (CHIASSEON et al., 2001; MASOTTI et al., 2003; ANGIONI et al., 2006). Esta variação têm consequências importantes na atividade biológica dos óleos essenciais. Por exemplo, em testes com óleo essencial de *Acorus calamo* (Acoraceae) contra adultos e larvas de *Callosobruchus phaseoli* (Gyllenhal)

(Coleoptera: Bruchidae), Rahman e Schmidt (1999) observaram que o óleo essencial de *A. calamo* originado na Índia (que tem 66% β -asarona), foi mais tóxico que o originado na Iugoslávia (6% de β -asarona) e na Rússia (7% β -asarona).

Em contrapartida, a expressão fisiológica do metabolismo secundário da planta pode ser diferente em todas as etapas de seu desenvolvimento. As proporções de monoterpenos dependem da temperatura e do ritmo circadiano; variam também segundo a fase da planta (CLARK e MENARY, 1981; HANSTED et al., 1994; RAGUSO e PICHERSKY, 1999). Por exemplo, Gershenzon et al. (2000) mostraram que o limoneno e a mentona são os monoterpenos mais importantes presentes nas folhas jovens da *Mentha spp.* L. (Lamiaceae); porém, o conteúdo de limoneno diminui rapidamente com o desenvolvimento da planta, enquanto a concentração de mentona aumenta. Nas etapas posteriores, estes componentes diminuem para o mentol converter-se no constituinte predominante.

2.3.2. Atividade inseticida e modos de ação dos óleos essenciais

Óleos essenciais são bons penetrantes que aumentam sua própria biodisponibilidade e a de produtos co-administrados. Estas propriedades estão relacionadas com a interrupção das bicamadas lipídicas das células. Além disso, um número de compostos presentes nos óleos essenciais são inibidores dos citocromos P₄₅₀ em insetos, responsáveis para o metabolismo de fase I de xenobióticos, incluindo inseticidas (REGNAULT-ROGER, et al., 2012).

Vários monoterpenos contidos nos óleos essenciais são neurotóxicos para os insetos. Huignard et al. (2008) descrevem vários tipos de receptores, incluindo os neuronais (GABA), que são os sítios de destino dos compostos. Octopamina é um alvo da atividade dos óleos essenciais nos insetos. A octopamina é uma amina biogênica multifuncional de origem natural e desempenha papel chave como neurotransmissora, neuromoduladora e neurohormônio no sistema de invertebrados. Compostos de óleos essenciais causam intoxicações de forma aguda ou subletal em insetos e em alguns vertebrados. Este fato deve-se ao destino octopamenérgico desses compostos nos insetos, que atuam no bloqueio dos receptores de octopamina (ENÁN, 2001, 2005b).

A partir de experimentos eletrofisiológicos, Price e Berry (2006) mostraram que o eugenol inibe a atividade neuronal e um número de monoterpenos também atua sobre a acetilcolinesterase (KOSTYUKOVSKY, et al., 2002). Estes trabalhos

confirmaram que a atividade inseticida dos óleos essenciais é devida a vários mecanismos que afetam múltiplos alvos, alterando de maneira eficaz a atividade celular e os processos biológicos de insetos.

Muitos óleos essenciais têm propriedades inseticidas e acaricidas, contendo vasto espectro de atividade contra diferentes tipos de artrópodes. Isto se deve ao fato de os óleos essenciais derivados das plantas apresentarem múltiplos modos de ação, incluindo atividade repelente e antialimentar; inibição da respiração e muda; redução do crescimento e fecundidade; destruição da cutícula; e atividade na via octopamínica no sistema nervoso central (ISMAN, 2000; KOSTYUKOVSKY et al., 2002; AKHTAR e ISMAN, 2004).

Vários óleos essenciais têm sido avaliados contra insetos de produtos armazenados. Por exemplo, *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) e *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) foram susceptíveis ao óleo essencial de *Illicium difengpi* (Schisandraceae) por via tópica (CHU et al., 2011). Da mesma forma que *A. obtectus*, ao óleo essencial de *Clausena anisata* Willd (Rutaceae); *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae), ao óleo essencial de *Mentha longifolia* L., *Pulicaria gnaphalodes* Ventenat (Asteraceae) e *Achillea wilhelmsii* C. Koch (Asteraceae) via fumigação (NDOMO et al., 2008; KHANI e ASGHARI, 2012). Também, *C. phaseoli* foi susceptível ao óleo essencial de *A. calamo* (RAHMAN e SCHMIDT, 1999). *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) e *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae) foram susceptíveis a vapores dos óleos essenciais de *Callistemon sieberi* e *Eucalyptus nicholii* (Myrtaceae) (LEE et al., 2004). *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) ao óleo essencial de *Elettaria cardamomum* L. (Maton) (Zingiberaceae) (ABBASIPOUR et al., 2011).

3. MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados grãos de feijão (*P. vulgaris*) cultivar Rainha com teor de água de 11,8% de base úmida (b.u.) adquiridos na cidade de Viçosa/MG. Os experimentos foram realizados no Laboratório de Pré-Processamento e Armazenamento de Produtos Agrícolas do Departamento de Engenharia Agrícola da Universidade Federal de Viçosa, *campus* UFV Viçosa.

3.1. *Acanthoscelides obtectus* (Say)

Para condução dos bioensaios, os insetos foram coletados na cidade de Viçosa/MG no ano 2012. Os insetos foram criados e multiplicados em frascos de vidro de 1,5 L, utilizando grãos de feijão da cultivar Rainha, com um teor de água de 11,8% b.u. Os frascos com os insetos e feijão foram mantidos em sala de criação climatizada sob condições constantes de temperatura (27 ± 2 °C), umidade relativa de $75 \pm 5\%$ e escotofase de 12 h.

3.2. Obtenção dos óleos essenciais

Foram utilizados óleos essenciais extraídos de cravo da Índia (*S. aromaticum*) e de canela (*C. zeylanicum*). Os óleos foram extraídos na Clínica de Doenças de Plantas do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa seguindo o método descrito por Jham et al. (2005). Amostras de cravo e canela foram trituradas e do pó obtido foi extraído, à temperatura ambiente por percolação constante com hexano, até que todos os componentes solúveis em hexano fossem removidos. O solvente foi evaporado utilizando um evaporador rotativo, sob vácuo, a 35 °C. Os óleos essenciais foram obtidos por hidro destilação, durante 6 h.

3.3. Análise da composição dos óleos essenciais

Os óleos foram analisados no laboratório de Análises e Síntese de Agroquímicos da Universidade Federal de Viçosa seguindo o método descrito por Demuner et al. (2011). Utilizou-se um cromatógrafo a gás Shimadzu GC-17A (Shimadzu, Japão) equipado com detector por ionização em chama (CG/DIC) e coluna capilar de sílica fundida SPB-5 (30 m x 0,25 mm), espessura do filme de 0,25 µm (Supelco, Bellefonte, PA, EUA). As temperaturas de injeção e detecção foram de 220 e 240 °C, respectivamente. O fluxo de gás de arraste (N₂, 99,999% de pureza, Air Products, Brasil) foi de 1,8 mL min⁻¹. A temperatura inicial do forno da coluna

foi de 40 °C por 2 min e atingiu 240 °C a uma taxa de aquecimento de 3 °C min⁻¹, na qual permaneceu por 15 min. As injeções foram realizadas com volume de 1 µL (1% m/v em CH₂Cl₂), com razão de *split* de 1:10 e pressão da coluna de 118 kPa.

A identificação dos componentes também foi realizada segundo método proposto por Demuner et al. (2011). Utilizou-se um cromatógrafo a gás Shimadzu GC 17A (Shimadzu, Japão) equipado com coluna capilar de sílica fundida DB-5 (30 m x 0,25 mm), espessura do filme de 0,25 µm (J&W Scientific, EUA), acoplado a espectrômetro de massas GCMS-QP5050A. As temperaturas de injeção e detecção foram de 220 e 240 °C, respectivamente. O fluxo de gás de arraste (He, 99,999% de pureza, White Martins, Brasil) foi de 1,8 mL min⁻¹. A temperatura inicial do forno da coluna foi de 55 °C por 2 min e atingiu 240 °C a uma taxa de aquecimento de 3 °C min⁻¹, na qual permaneceu por 30 min. As injeções foram realizadas com volume de 1 µL (1% m/v em CH₂Cl₂), com razão de *split* de 1:10 e pressão da coluna de 118 kPa. O espectrômetro de massas operou com ionização por impacto eletrônico de 70 V e varredura de 40 a 500 m/z. A identificação foi feita baseada no índice de retenção e também por comparação do seu espectro de massa com os dados de referência a partir da base de dados dos equipamentos.

3.4. Toxicidade do óleo essencial de cravo e canela para *Acanthoscelides obtectus*

Foram utilizadas doses puras (sem diluição) de cada óleo essencial. Inicialmente, foram realizados testes preliminares para estimar a doses nas quais não ocorresse mortalidade dos insetos (extremo inferior) e doses em que ocorresse maior mortalidade (extremo superior). Cada óleo essencial foi aplicado com o auxílio de uma microsseringa de 25 µL (Hamilton, Reno, NV, EUA) em 200 g de feijão contidos num frasco de vidro de 0,8 L. Os frascos contendo feijão com óleo foram agitados por 60 s com a finalidade de dispersar o óleo na massa de grãos. Foram utilizadas quatro repetições com 25 insetos de *A. obtectus* não-sexados com idade variando entre um a três dias, que constituía a unidade experimental, para cada concentração. O controle foi realizado de maneira semelhante, entretanto sem a presença dos óleos.

Estes frascos foram mantidos em câmaras climáticas do tipo B.O.D. (modelo 347 CD, Fanem, São Paulo, SP, Brasil), à temperatura de 27 ± 2 °C, por um período de tempo de 24 h na ausência de luz. Ao final do período de exposição, foi contabilizado o número de insetos mortos. Os dados de toxicidade foram submetidos

à análise de probit, utilizando-se o procedimento PROBIT do *software* SAS (SAS Institute, 2002), gerando assim as curvas de doses-mortalidade.

3.5. Bioensaios de taxa instantânea de crescimento (r_i)

Este ensaio foi estabelecido utilizando-se um delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições. Cada unidade experimental foi constituída por um frasco de vidro com capacidade de 0,8 L, contendo 200 g de grãos de feijão isentos de infestação e inseticida. Posteriormente, os grãos de feijão foram submetidos aos tratamentos com os óleos essenciais nas doses (DL) de 2,80; 5,54; 8,88; 14,22; 28,09 μL e 4,26; 6,93; 9,70; 13,60; 22,17 μL para cravo e canela, respetivamente. Todas as doses de óleo foram aplicadas diretamente sobre os grãos de feijão com uma microsseringa (Hamilton, Reno, NV, EUA), tendo sido os grãos homogeneizados por 60 s. No tratamento controle, os grãos não foram tratados. Em seguida, foram acrescentados 25 insetos não-sexados em cada frasco, com idade entre um a três dias após a emergência. Posteriormente, os frascos foram fechados com tecido tipo organza. Após a infestação dos frascos, estes foram armazenados em câmaras climáticas do tipo B.O.D. (modelo 347 CD, Fanem, São Paulo, SP, Brasil) a 27 ± 2 °C, umidade relativa de $70 \pm 5\%$ e 24 h de escotofase. Após 45 dias, foi avaliado o número de insetos vivos. A taxa instantânea de crescimento populacional (r_i) foi calculada, utilizando a Equação 1, proposta por Walthall e Stark (1997).

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

Em que:

r_i = Taxa instantânea de crescimento populacional;

N_f = Número final de insetos vivos;

N_i = Número inicial de insetos vivos; e

ΔT = Variação de tempo (número de dias em que o ensaio foi realizado).

3.6. Bioensaios da taxa de desenvolvimento populacional

Cada unidade experimental foi constituída por um frasco de vidro com capacidade de 0,8 L, contendo 200 g de grãos de feijão, isentos de pragas e inseticida. Posteriormente, os grãos de feijão foram submetidos aos tratamentos com

os óleos essenciais nas DL de 2,80; 5,54; 8,88; 14,22; 28,09 μL e 4,26; 6,93; 9,70; 13,60; 22,17 μL para cravo e canela, respetivamente; estas doses foram estimadas por meio do *software* SAS. Todas as doses de óleo foram aplicadas diretamente sobre os grãos de feijão (ILBOUDO et al., 2010) com uma microseringa (Hamilton, Reno, NV, EUA), tendo sido os grãos homogeneizados por 60 s; no tratamento controle, os grãos não foram tratados. Em seguida, foram acrescentados 25 insetos não-sexados em cada frasco com idade entre um a três dias após a emergência. Posteriormente, os frascos foram fechados com tecido tipo organza. Depois de colocados os insetos, os frascos foram armazenados em câmaras climáticas do tipo B.O.D. (modelo 347 CD, Fanem, São Paulo, SP, Brasil) a 27 ± 2 °C, umidade relativa de $70 \pm 5\%$ e 24 h de escotofase para a oviposição. Depois de 15 dias, os insetos foram removidos, de acordo com o método descrito por Trematerra et al. (1996). Quatro repetições foram utilizadas para cada dose. A progênie um (F_1) adulta, obtida no substrato de alimentação, foi contabilizada e removida em dias alternados, a partir da primeira emergência. No caso de feijão exposto ao óleo de canela aos 33 dias e 35 dias para o feijão exposto ao óleo de cravo.

3.7. Avaliação da persistência da atividade inseticida dos óleos

A persistência foi avaliada adaptando os métodos descritos por Ilboudo et al. (2010) e Ngamo et al. (2007). Para cada óleo essencial, 40 frascos de 0,8 L contendo 200 g de feijão foram tratados com a DL_{100} usando o protocolo descrito anteriormente. Desde a data do tratamento inicial e a cada 48 h, 25 insetos adultos com idade entre um a três dias foram inoculados em quatro frascos para cada óleo essencial. O mesmo número de frascos sem tratamento (controle) foi estabelecido. Depois de 24 h os insetos mortos eram contados e a porcentagem de mortalidade foi determinada. Foram introduzidos novos insetos adultos até que o nível de mortalidade fosse similar nos frascos tratados (para cada óleo essencial) aos frascos do controle com a finalidade de determinar por quanto tempo a atividade inseticida de cada óleo essencial se manteria.

3.8. Avaliação da repelência

Neste ensaio foi utilizada uma arena formada por cinco caixas plásticas circulares (9 cm de diâmetro e 8 cm de altura), sendo a caixa central interligada simetricamente às demais por tubos plásticos de 12 cm, dispostos diagonalmente

conforme método proposto por Fouad et al. (2012). Foram impregnados 200 g de feijão com os óleos e grãos de feijão controle (sem óleo) e foram distribuídos em dois recipientes simetricamente opostos de cada arena. Na caixa central liberaram-se 50 adultos, não-sexados, de *A. obtectus*, e após 24 h, contou-se o número de insetos por recipiente. Para realização dos testes, utilizou-se as DL de 2,80; 8,88; 28,09 μL e 4,26; 9,70; 22,17 μL para cravo e canela, respectivamente, e cada teste foi repetido quatro vezes.

3.9. Perda de massa dos grãos

A perda da massa dos grãos foi determinada a partir do teste da taxa de desenvolvimento populacional. Para se obter este dato foi necessário pesar o feijão e os frascos ao início do experimento assim como ao final (48 dias depois de iniciado o ensaio), e desta maneira determinou-se a redução da massa das sementes em cada uma das doses dos respectivos óleos essenciais.

3.10. Análises estatísticas

Os dados de toxicidade foram submetidos à análise de probit, utilizando-se o procedimento PROBIT do *software* SAS (SAS Institute, 2002), gerando assim as curvas de doses-mortalidade. Os dados da taxa instantânea de crescimento populacional (r_i) foram submetidos à análise de covariância (tratamento com os óleos essenciais e controle), tendo como covariável as doses, utilizando-se o PROC GLM com procedimento de ANCOVA (SAS Institute, 2002). Finalmente, análise de regressão, utilizando-se o Sigma Plot (SPSS, 2001) foi feita para a análise de perda da massa dos grãos, desenvolvimento e persistência; a repelência foi submetida ANOVA e teste t.

4. RESULTADOS

4.1. Principais componentes dos óleos essenciais

Os resultados das análises cromatográficas mostraram que os principais componentes do óleo essencial de cravo eram eugenol (C₁₀H₁₂O₂) com 90,40% e β -cariofileno (C₁₅H₂₄) com 9,60%, já o óleo essencial de canela era composto por 92,94% de eugenol e 7,06% de β -cariofileno.

4.2. Toxicidade do óleo essencial de cravo e canela para *Acanthoscelides obtectus*

Os resultados das curvas de dose-mortalidade de *A. obtectus* expostos aos óleos essenciais de cravo e canela são apresentados na Tabela 1. Os resultados dos bioensaios de doses-mortalidade para *A. obtectus* mostraram baixos valores de qui-quadrado (χ^2) (<9,30) e valores elevados de *P* (>0,05), indicando adequação dos dados ao modelo probit para a estimativa das curvas de doses-mortalidade.

Observou-se que as DL necessárias para ocasionar a mortalidade dos adultos de *A. obtectus*, variaram de acordo com o tipo de óleo. As DL₅₀ e DL₉₅ para o óleo essencial de cravo foram 8,88 μ L e 38,94 μ L, e para o óleo essencial de canela as DL₅₀ e DL₉₅ foram 9,71 μ L e 27,97 μ L, respectivamente. Verificou-se sobreposição nos intervalos fiduciais entre os óleos essenciais de cravo e canela para ambas as DL. As inclinações das curvas de dose-mortalidade variaram entre os óleos, sendo menor ($2,56 \pm 0,22$) para o óleo essencial de cravo e maior ($3,58 \pm 0,46$) para o óleo essencial de canela.

Tabela 1. Toxicidade relativa do óleo essencial de Cravo e Canela para *A. obtectus*.

Óleo	Nº de Insetos	Inclinação (\pm EPM ¹)	² DL ₅₀ (IF 95%) (μ L/200g feijão)	² DL ₉₅ (IF 95%) (μ L/200g feijão)	χ^2	<i>P</i>
Cravo	600	2,56 \pm 0,22	8,88 (7,92 – 9,84)	38,94 (31,75 – 51,30)	6,14	0,19
Canela	600	3,58 \pm 0,46	9,71 (7,59 – 11,59)	27,97 (21,49 – 45,99)	9,25	0,06

¹EPM = Erro padrão da média; ²DL = Dose letal; IC 95% = Intervalo fiducial a 95% de probabilidade; χ^2 = Qui-quadrado; *P* = Probabilidade.

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

Na Figura 1 são apresentados os valores de taxa instantânea de crescimento (r_i) de *A. obtectus* expostas aos óleos essenciais de cravo e canela em diferentes doses. A r_i de *A. obtectus* foi influenciada significativamente entre as doses aplicadas do óleo essencial de canela ($r^2 = 0,92$; $F_{1,19} = 196,15$; $P < 0,0001$) e também entre as doses do óleo essencial de cravo ($r^2 = 0,89$; $F_{1,19} = 150,84$; $P < 0,0001$). A taxa instantânea de crescimento de *A. obtectus* decresceu à medida que se aumentou a dose aplicada para ambos os óleos essenciais, após 45 dias.

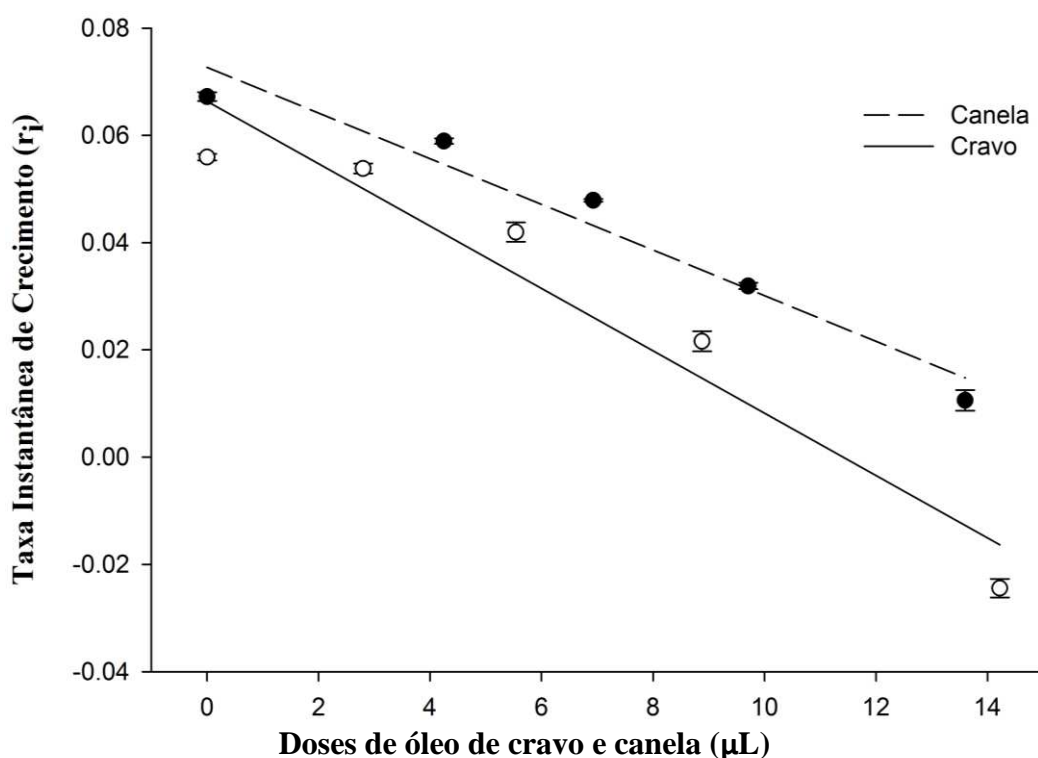


Figura 1. Taxa instantânea de crescimento de *Acanthoscelides obtectus* expostos a grãos de feijão tratados com óleos essenciais de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) e *Syzygium aromaticum* (cravo) em função da DL₁₀, DL₃₀, DL₅₀, DL₇₀ e DL₉₀ por um período de 45 dias.

4.4. Taxa de desenvolvimento populacional

As curvas de regressão que descrevem o comportamento da emergência diária de *A. obtectus* expostos aos óleos essenciais de cravo e canela nas diferentes doses, após 48 dias, são apresentadas nas Figuras 2 e 3.

O modelo sigmoidal foi o que melhor se ajustou para a emergência diária de *A. obtectus* expostos ao óleo essencial de cravo (Figura 2 e Tabela 2); não ocorreu emergência na DL₉₀ de cravo. Já para o óleo essencial de canela, o modelo Lorentzian e polinomial foram os que melhores se ajustaram para a emergência diária dos adultos de *A. obtectus* (Figura 3 e Tabela 2) sendo, portanto, utilizados. Foram verificadas diferenças significativas na emergência diária de *A. obtectus* expostos aos óleos essenciais de cravo e canela nas diferentes doses aplicadas.

Em relação ao óleo essencial de cravo, as curvas de emergência diária de *A. obtectus* expostos às DL₁₀ (2,80 µL) e DL₃₀ (5,54 µL) apresentam semelhança entre si, sendo que a máxima emergência diária foi observada entre oito e dez dias, após o início da emergência (Figura 2). O maior número de indivíduos emergidos na presença do óleo essencial de cravo foi verificado nos frascos contendo grãos de feijão expostos com DL₁₀ (2,80 µL). Insetos expostos à DL₅₀ (8,88 µL) e DL₇₀ (14,22 µL) requereram entre 10 e 12 dias, após o início da emergência, para alcançarem a máxima emergência diária. Não foi constatada emergência diária de *A. obtectus* expostos à DL₉₀ (28,08 µL) após 48 dias. A curva de emergência diária máxima dos insetos no controle foi registrada entre seis e oito dias após o início da emergência. À medida que se aumentou as doses letais dos óleos essenciais de cravo e canela, observou-se uma redução na emergência diária de *A. obtectus* (Figura 2 e 3).

Já para ao óleo essencial de canela, as curvas de emergência diária de *A. obtectus* expostos às DL₅₀ (9,71 µL), DL₃₀ (6,93 µL) e DL₁₀ (4,25 µL) foram semelhantes. Insetos expostos a essas doses requereram seis dias, após o início da emergência diária, para alcançarem a máxima emergência diária. O maior número de indivíduos emergidos na presença do óleo essencial de canela foi observado nos frascos contendo grãos de feijão expostos com 4,25 µL. A curva de emergência diária máxima de *A. obtectus* expostos à dose de 13,60 µL foi alcançada oito dias após o início da emergência. Não foi constatada emergência diária de *A. obtectus* expostos à dose de 22,14 µL após 48 dias. Em relação ao controle, a curva de emergência diária máxima dos insetos foi registrada entre quatro e seis dias, após o início da emergência.

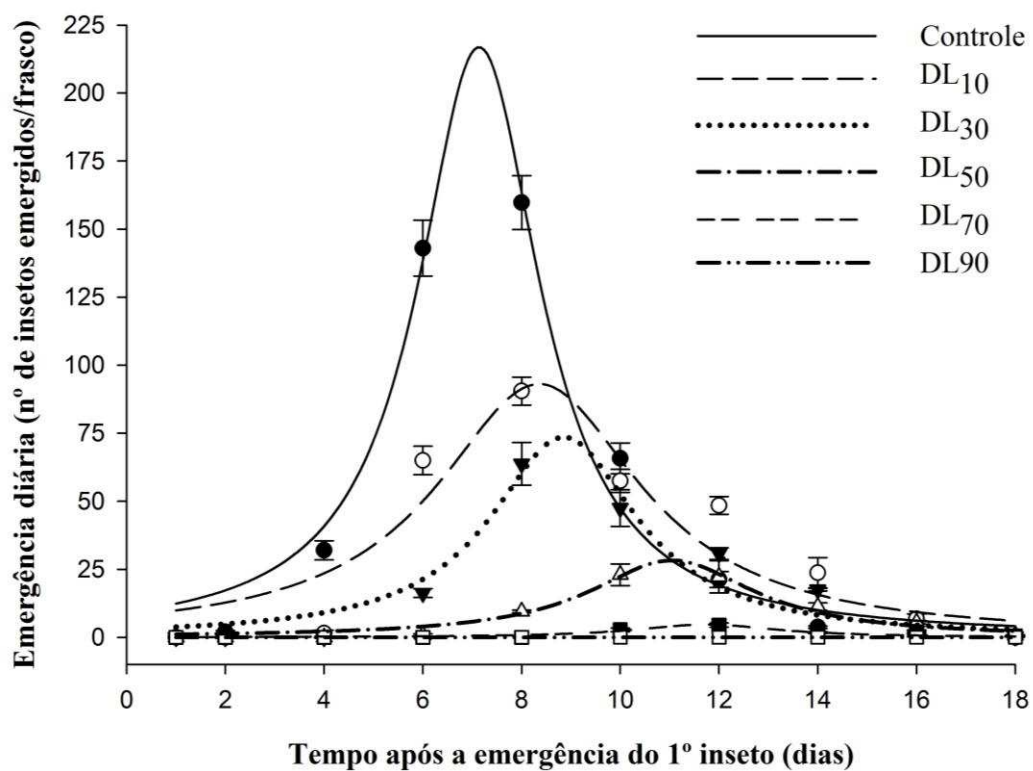


Figura 2. Emergência diária de *Acanthoscelides obtectus* expostos ao contato de óleos essenciais de *Syzygium aromaticum* (cravo) e sem a presença dos óleos (controle) em função da DL₁₀ (2,80 µL), DL₃₀ (5,54 µL), DL₅₀ (8,88 µL), DL₇₀ (14,22 µL) e DL₉₀ (28,08 µL) por um período de 48 dias.

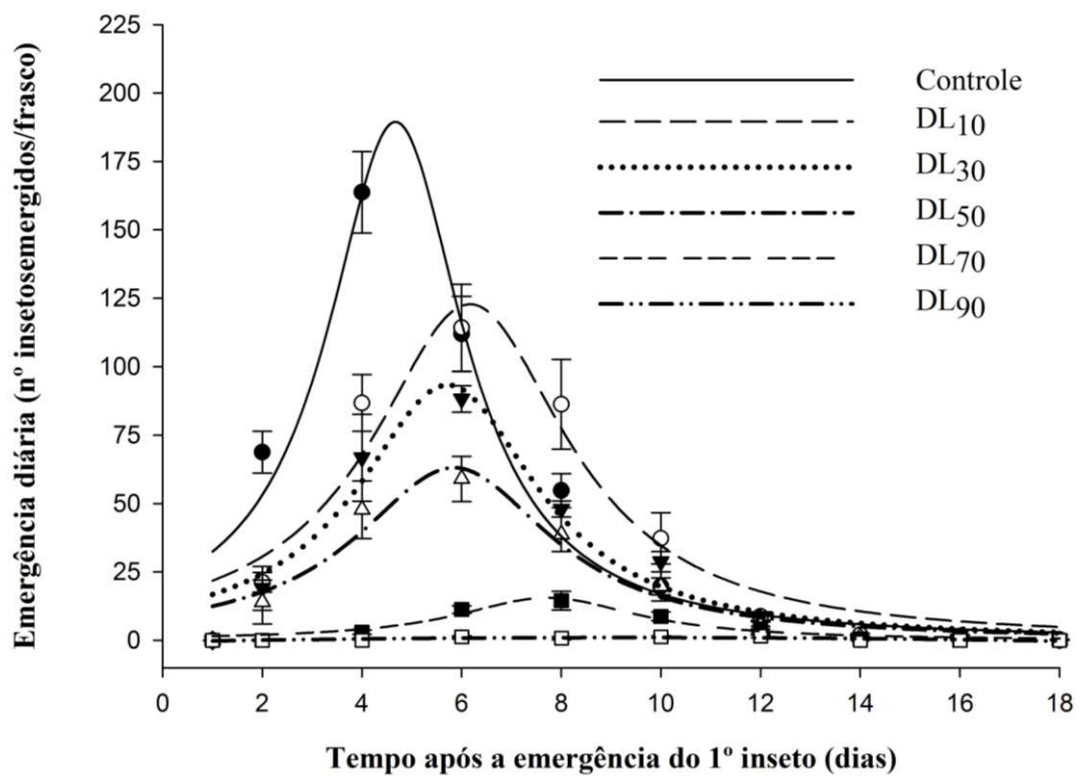


Figura 3. Emergência diária de *Acanthoscelides obtectus* expostos ao contato de óleos essenciais de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) e sem a presença dos óleos (controle) em função da DL₁₀ (4,25 µL), DL₃₀ (6,93 µL), DL₅₀ (9,71 µL), DL₇₀ (13,60µL) e DL₉₀ (22,14 µL) após de 48 dias. β

Tabela 2. Equações ajustadas para as curvas de emergência acumulada e emergência diária de *Acanthoscelides obtectus*.

Óleo	Modelo	Doses (μL)	Parâmetros estimados ($\pm\text{EPM}$)			G.L.erro	F	P	R ²
			a	b	c				
Canela	$y=a/(1+((x-x_0)/b)^2)$	Controle	189,48 \pm 26,17	1,67 \pm 0,31	4,67 \pm 0,17	10	57,70	<0,0001	0,94
		4,25	122,81 \pm 13,16	2,40 \pm 0,36	6,17 \pm 0,29	10	43,30	<0,0001	0,92
		6,93	93,29 \pm 8,92	2,21 \pm 0,30	5,70 \pm 0,24	10	55,14	<0,0001	0,94
		9,71	63,04 \pm 6,48	2,41 \pm 0,35	5,84 \pm 0,29	10	45,77	<0,0001	0,92
		13,60	15,54 \pm 1,54	2,22 \pm 0,31	7,72 \pm 0,25	10	53,71	<0,0001	0,63
	$y=y_0+a*x+b*x^2$	22,14	-0,52 \pm 0,42	0,33 \pm 0,11	-0,02 \pm 0,01	10	4,93	0,0462	0,58
Cravo	$y=a/(1+((x-x_0)/b)^2)$	Controle	216,89 \pm 27,17	1,51 \pm 0,25	7,14 \pm 0,09	10	122,31	<0,0001	0,97
		2,80	93,06 \pm 14,31	2,53 \pm 0,55	8,35 \pm 0,41	10	20,38	0,0012	0,85
		5,53	73,48 \pm 12,65	1,82 \pm 0,44	8,85 \pm 0,21	10	34,19	0,0002	0,90
		8,88	28,24 \pm 2,79	2,04 \pm 0,29	11,04 \pm 0,15	10	86,36	<0,0001	0,96
		14,22	4,70 \pm 0,52	1,75 \pm 0,28	11,72 \pm 0,26	10	36,25	<0,0001	0,66
	28,09	-	-	-	-	-	-	-	

G.L. erro = Grau de liberdade do erro; F = Teste F; P = Probabilidade; R² = Coeficiente de determinação. Todos os parâmetros estimados foram significativos a P<0,01 pelo teste t-Student.

4.5. Persistência da atividade inseticida dos óleos essenciais

Apresenta-se, na Figura 4, as curvas de regressão que descrevem o comportamento da dissipação dos óleos essenciais de cravo e canela nos grãos de feijão com o aumento dos dias de exposição, após a aplicação, sobre a mortalidade de *A. obtectus*. A susceptibilidade de *A. obtectus* aos óleos essenciais *S. aromaticum* DL₁₀₀ (71,86 µL) e *C. zeylanicum* DL₁₀₀ (43,35 µL) variaram significativamente com o aumento dos dias de exposição dos insetos após a aplicação ($r^2 = 0,93$; $F_{1,32} = 420,76$; $P < 0,0001$ e $r^2 = 0,97$; $F_{1,32} = 1123,82$; $P < 0,0001$, respectivamente). Nota-se redução na mortalidade de *A. obtectus* com o aumento do tempo e a exposição dos insetos aos grãos tratados (Figura 4).

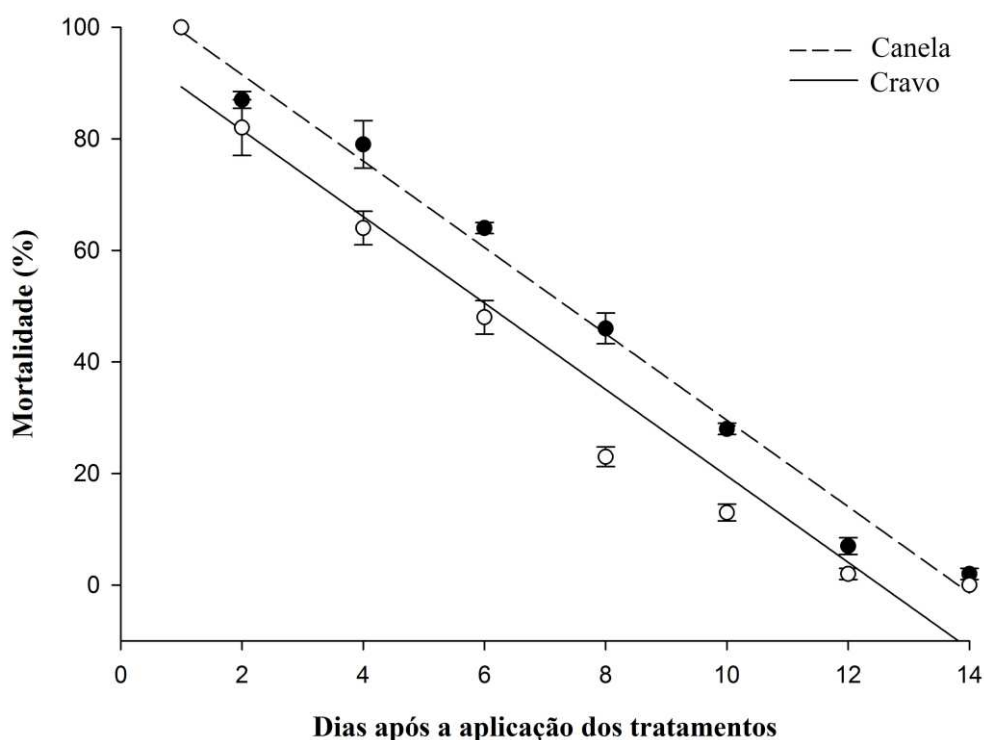


Figura 4. Redução da porcentagem de mortalidade com o passar do tempo de adultos de *Acanthoscelides obtectus* expostos ao contato de óleos essenciais de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) e *Syzygium aromaticum* (cravo) na DL₁₀₀ (43,35 µL) para óleo de canela e (71,86 µL) para óleo de cravo.

4.6. Avaliação da Repelência

Não foi observada diferença significativa na atividade repelente para o óleo essencial de cravo entre as arenas tratadas e não tratadas (controle), independentemente da dose utilizada DL₁₀ (2,80 µL) ($t = -1,37$; $P < 0,218$); DL₅₀ (8,88 µL) ($t = 0,21$; $P < 0,837$) e DL₉₀ (28,09 µL) ($t = -0,21$; $P < 0,838$) após 24 h (Figura 5).

Já para o óleo essencial de canela, a atividade repelente sobre *A. obtectus*, na DL₉₀ (22,14 µL) variou significativamente entre as arenas tratadas com o óleo e não tratadas (controle) ($t = -7,84$; $P < 0,0001$) após 24 h. Entretanto, não houve diferença significativa na atividade repelente do óleo essencial de canela entre as arenas tratadas e não tratadas na DL₅₀ (9,71 µL) ($t = -3,53$; $P < 0,012$) e DL₁₀ (4,25 µL) ($t = -2,10$; $P < 0,080$) após 24 h (Figura 6).

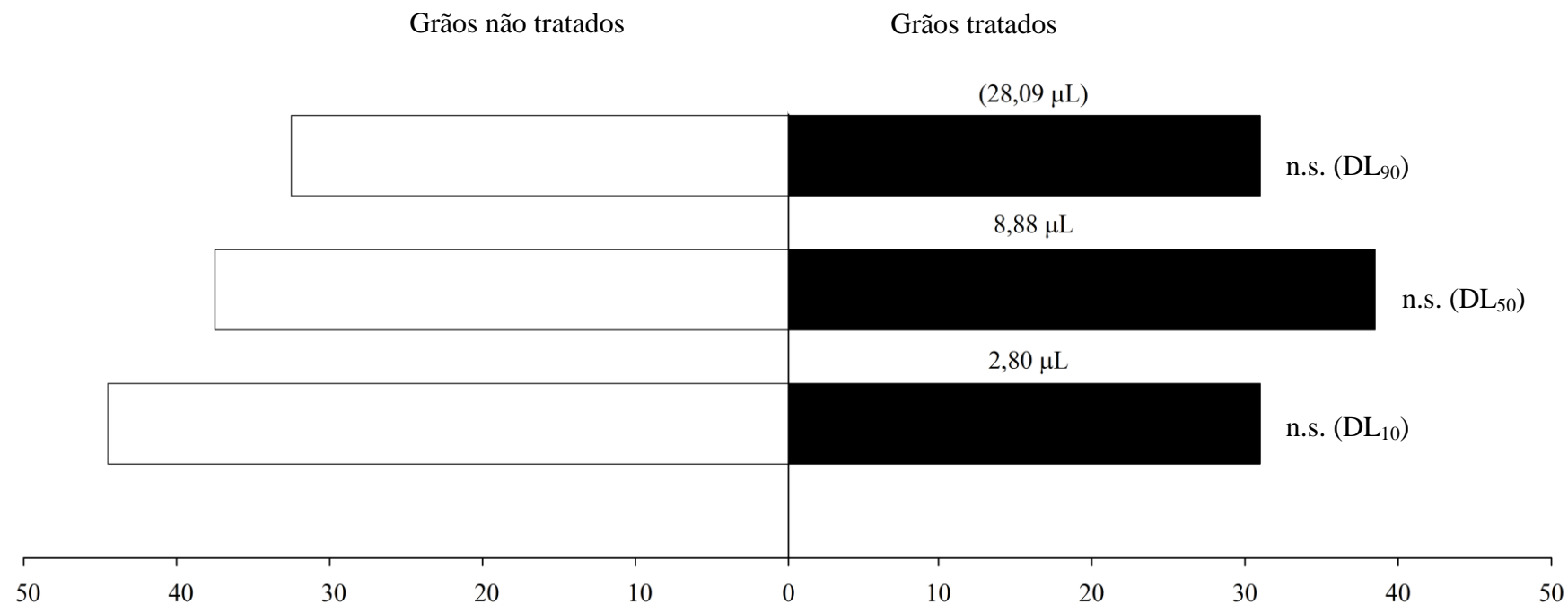


Figura 5. Preferência (%) de *Acanthoscelides obtectus* aos grãos de feijão tratados com óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (cravo) na DL₁₀ (2,80 µL), DL₅₀ (8,88 µL) e DL₉₀ (28,09 µL) por um período de 24 h.
n.s. = valores não significativos a 5% de probabilidade por teste t ($p < 0,0001$)

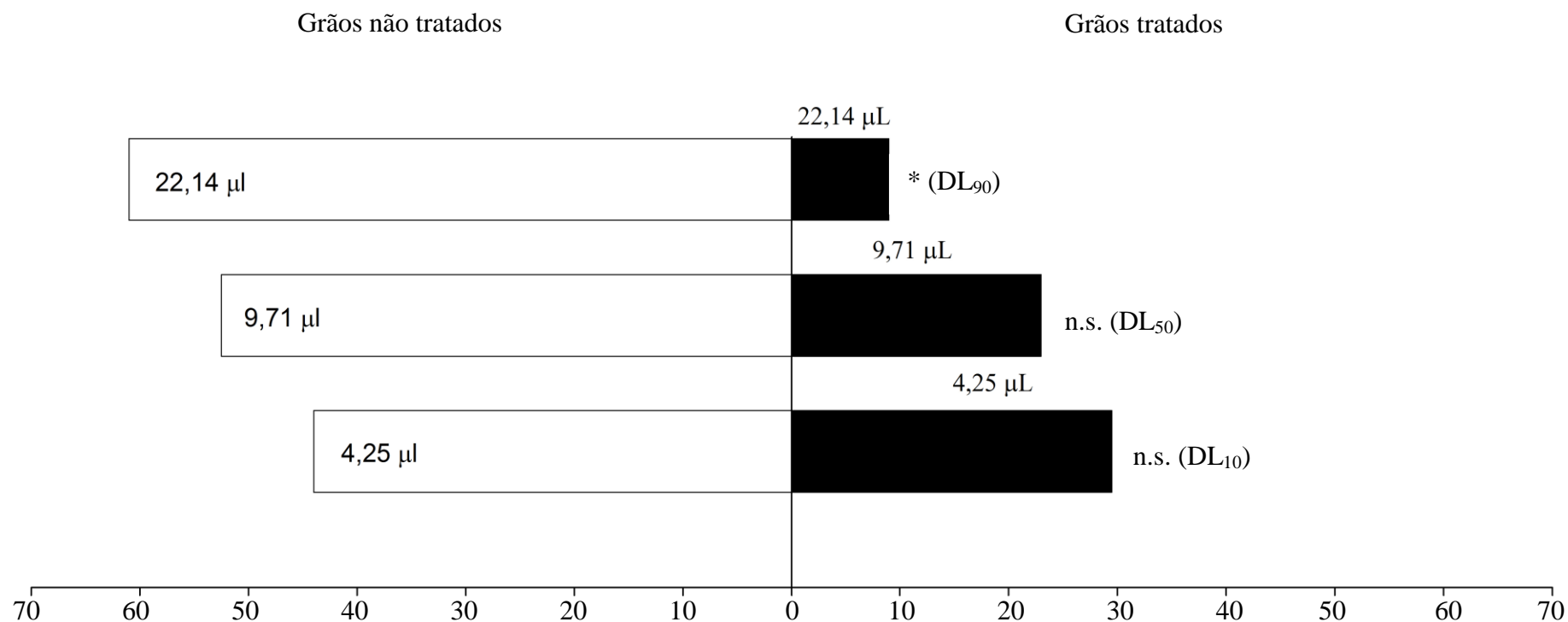


Figura 6. Preferência (%) de *Acanthoscelides obtectus* aos grãos de feijão tratados com óleo essencial de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) na DL₁₀ (4,25 µL), DL₅₀ (9,71 µL) e DL₉₀ (22,14 µL) por um período de tempo de 24 h.

*valores significativos

n.s. = valores não significativos a 5% de probabilidade pelo teste t ($p < 0,0001$)

4.7. Perda de massa dos grãos

As curvas de regressão que descreveram o comportamento da perda de massa de grãos de feijão expostos aos óleos essenciais de cravo e canela nas diferentes doses após 48 dias de armazenamento são apresentadas na Figura 7. A perda de massa dos grãos de feijão foi influenciada significativamente entre as doses dos óleos essenciais de cravo ($r^2 = 0,73$; $F_{1,19} = 49,41$; $P < 0,0001$) e de canela ($r^2 = 0,60$; $F_{1,19} = 27,19$; $P < 0,0001$) após 48 dias. Para o feijão tratado com óleo essencial de cravo a perda média de massa foi de 6,6%, e no controle de 9,6%; já para os ensaios com óleo essencial de canela a perda média foi de 6,8% e 9,2% para os tratamentos e controle, respectivamente.

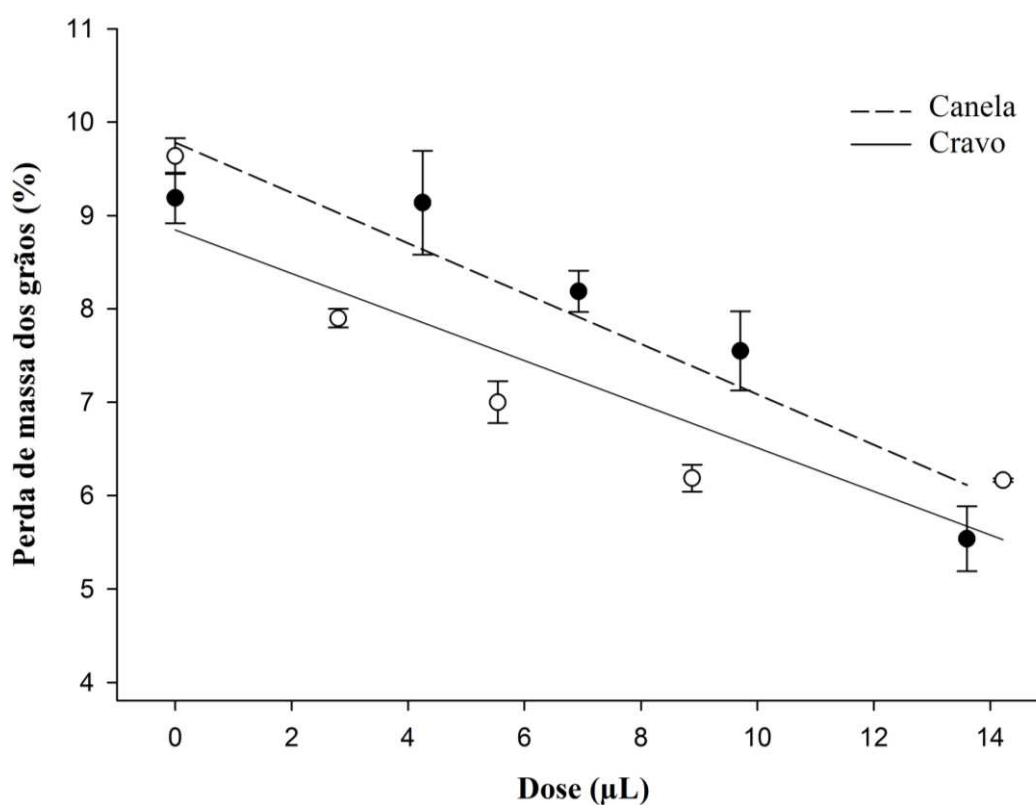


Figura 7. Perda de massa dos grãos de grão de feijão tratados ou não (controle) com óleos essenciais de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) e *Syzygium aromaticum* (cravo) nas DL₁₀, DL₃₀, DL₅₀, DL₇₀ e DL₉₀, na presença de *Acanthoscelides obtectus* por um período de exposição de 48 dias.

5. DISCUSSÃO

Óleos essenciais de plantas apresentam um potencial uso para o controle de pragas de grãos armazenados. Sua eficácia depende de fatores como dose, espécie de insetos, superfície de aplicação, via de penetração, método de aplicação e composição do óleo. Este último fator depende da fonte, estação do ano, condições ecológicas, método e tempo de extração e parte da planta utilizada (DON-PEDRO, 1996; LEE et al., 2001).

Segundo Bakkali et al. (2008), os monoterpenos são as moléculas mais representativas, que constituem 90% dos óleos essenciais, caracterizando-se por dois ou três grandes componentes em concentrações relativamente altas (20-70%) em comparação com os outros compostos presentes em quantidades inferiores. Geralmente, estes componentes principais determinam as propriedades biológicas dos óleos essenciais, podendo ser uma fonte alternativa de materiais para o controle de insetos de grãos armazenados.

Neste estudo, os resultados mostraram que os maiores componentes do óleo essencial de cravo são eugenol ($C_{10}H_{12}O_2$) com 90,40% e 9,60% de β -cariofileno ($C_{15}H_{24}$) e para o óleo essencial de canela 92,94% de eugenol e 7,06% de β -cariofileno. Trabalhos feitos por Trajano et al. (2010), Chaieb et al. (2007) e Fichi et al. (2007) mostraram que os principais compostos destes óleos são eugenol e β -cariofileno, corroborando com os resultados deste trabalho.

Observou-se neste estudo que os óleos essenciais de cravo e canela apresentaram atividade inseticida por contato sobre adultos de *A. obtectus*. Resultados semelhantes foram obtidos em estudos feitos por Phillips e Appel (2010b) no quais verificaram que o eugenol foi mais tóxico por contato do que como fumigante para *Blattella germanica* (Blattodea: Blattellidae). Tal fato pode ser explicado pela presença de monoterpenos como eugenol, que está presente em grandes quantidades nos óleos essenciais testados.

Estudos feitos por Dayan et al. (2009) sugeriram que o eugenol é um composto com características de inseticida de contato e ação rápida contra várias espécies de artrópodes. Evans (1981) assegurou que o eugenol tem efeito específico sobre os receptores de octopamina (monoamina que atua como neuro-hormônio, neuromodulador e neurotransmissor em invertebrados) e exerce suas propriedades inseticidas através desta ação. Salinas et al. (2012) demonstraram que monoterpenos presentes em *Tagetes ssp.* (Asteraceae), entre eles β -cariofileno, tem efeito tóxico

para insetos e ácaros. Da mesma forma, Lee et al. (2008) observaram que β -carofileno é altamente tóxico para *S. oryzae* via fumigante e contato residual. Kafle e Shih (2013) indicaram que eugenol e β -cariofileno são tóxicos para a formiga *S. invicta*, ao contato.

Do mesmo modo, a atividade neuroinsecticida de eugenol em *Periplaneta americana* (Blattaria: Blattidae), *Camponotus pennsylvanicus* De Geer (Hymenoptera: Formicidae) e *B. germanica* foi demonstrada por Enan (2001). Chang et al. (2002) revelaram a susceptibilidade de *Coptotermes formosanus* (Isoptera: Rhinotermitidae) ao ser exposta diretamente ao eugenol; a toxicidade de óleo de cravo para formigas foi atribuída ao eugenol por Park et al. (2005).

O efeito inseticida de cravo para *Pediculus capitis* (Phthiraptera: Pediculidae) foi demonstrado por Yang et al. (2003). Da mesma maneira, Huang et al. (2002) demonstraram que o eugenol também é eficaz contra várias espécies de coleópteros como *S. zeamais* e *T. castaneum*. Em estudo semelhante, Kim et al. (2003) mostraram que o óleo essencial de *Cinnamomum* ssp. e *Eugenia caryophyllata* (*S. aromaticum*) causaram a mortalidade de *S. oryzae* e *Callosobruchus chinensis* (Coleoptera: Bruchidae) após um dia de terem sido expostos aos óleos contato.

A susceptibilidade de *A. obtectus* para os óleos essenciais também foi demonstrada por Regnault-Roger et al. (1993) e Regnault-Roger (1997). Foi mostrado que os óleos de *Origanum majorana* L. (Lamiaceae), *Thymus serpyllum* L. (Lamiaceae), *Lavandula hybrida* (Lamiaceae), *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae) são tóxicos para esse inseto. Jovanovic et al. (2007) mostraram que *A. obtectus* é altamente susceptível ao contato com extratos de *Urtica dioica* L. (Urticaceae) e *Taraxacum officinale* L. (Asteraceae); e a monoterpenos fenólicos (REGNAULT-ROGER, 2002a). Além disso, Roeder (1992) sugeriu que os monoterpenoides são altamente seletivos aos insetos devido ao fato de o sistema receptor de octopamina estar presente em animais não mamíferos, o que faz dos óleos essenciais uma alternativa para o uso na proteção de grãos armazenados.

A atividade biológica dos óleos essenciais deve-se a sua capacidade de manter ativos seus compostos por um tempo determinado. Segundo Regnault-Roger et al. (2002b) o curto período em que os óleos essenciais permanecem ativos é devido ao fato de suas moléculas serem compostos vegetais que pertencem aos grupos de monoterpenos, diterpenos e sesquiterpenos que são voláteis e possuem baixa foto-estabilidade (degradação na presença de luz). Ainda a persistência pode

variado de acordo com o inseto e a natureza do produto tratado (GOUDOUM et al., 2013).

Neste estudo a persistência diminuiu relativamente num curto período de tempo, perdendo-se totalmente aos 12 dias para *S. aromaticum* e aos 14 dias para *C. zeylanicum*. Um fator que pode ter contribuído para o curto período de toxicidade foi o fato de os recipientes com o feijão tratado não terem sido fechados hermeticamente. No trabalho feito por Ngamo et al. (2007), no qual testaram o óleo essencial de *Hyptis spicigera* (Lamiaceae) para *C. maculatus* a atividade inseticida decresceu a zero depois de 12 h da aplicação. No entanto, Ilboudo et al. (2010) avaliaram o óleo essencial da mesma espécie e para o mesmo inseto e a atividade tóxica caiu a zero somente depois de 10 dias da aplicação do óleo, indicando que a metodologia empregada é outro fator a ser considerado para avaliar a persistência.

Da mesma forma, Huang e Ho (1998) observaram que os óleos essenciais com um alto teor de compostos hidrogenados perdem sua atividade mais rapidamente que os que contêm principalmente compostos oxigenados. Isto é devido à maior velocidade de oxidação dos monoterpenos hidrogenados, e esta oxidação conduz à redução da eficácia inseticida do óleo (KIM et al., 2002).

Devido à sua volatilidade, os óleos essenciais têm persistência limitada em condições de campo; portanto, são considerados seguros para o manejo por humanos e é pouco provável que ocorra intoxicação por contato com seus resíduos, como ocorre com inseticidas convencionais. Por exemplo, Stroh et al. (1998) testaram a toxicidade na água de eugenol, um inseticida piretroide e um organofosforado para a truta arco-íris *Oncorhynchus mykiss* (Salmoniformes: Salmonidae) e verificaram que o eugenol foi 1.500 vezes menos tóxico que o piretroide, e 15.000 vezes menos tóxico que o organofosforado.

Não foi constatado efeito repelente do óleo essencial de cravo para adultos de *A. obtectus* nas doses testadas; entretanto, o óleo essencial de canela apresentou repelência na maior dose (DL₉₀). Esses dados divergem dos obtidos por Trongtokit et al. (2005) e Prajapati et al. (2005) que apresentaram os óleos essenciais de *C. Zeylanicum* e *S. aromaticum* como repelentes para insetos do ordem Diptera (*Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti*, *Culex quinquefasciatus* e *Anopheles dirus*). Recentemente Kafle e Shih (2013) mostraram que eugenol e β -cariofileno apresentam atividade repelente contra a formiga *S. invicta*. Esta diferença na repelência destes compostos para *A. obtectus* concorda com Toloza et al. (2006) que

afirmou que o potencial de uma planta como um repelente varia em diferentes grupos de hematófagos.

A diferença na atividade repelente destes óleos, embora os compostos principais sejam os mesmos, pode ser atribuída à presença de compostos particulares em cada óleo que podem ter um fenômeno sinérgico ou antagônico e dar uma maior ou menor bioatividade repelente a estes metabólitos. Nerio et al. (2010) mostraram que os componentes de menor importância também contribuem para a atividade repelente e confirmaram a importância da complexidade composicional em conferir bioatividade às misturas de terpenoides naturais. Outro fator, pode ser devido às metodologias empregadas para este teste; para avaliar repelência existem diferentes métodos, o que dificulta a classificação do grau de repelência de um óleo essencial, ainda que para um mesmo inseto.

A taxa instantânea de crescimento populacional (r_i) mede a capacidade de uma população em aumentar exponencialmente em um ambiente; pode ser considerado um modelo prático, do ponto de vista experimental, pois apresenta um rápido resultado, utilizando populações de insetos conhecidas, em um determinado período de exposição (WALTHALL e STARK, 1997).

Neste estudo, a r_i mostrou diferença significativa entre as doses testadas de cada óleo essencial. Com o aumento das doses, a r_i de *A. obtectus* decresceu significativamente, o que indica que a população deste inseto diminuiu até a extinção. Estes dados concordam com um trabalho feito por Ndomo et al. (2008) que encontrou que a r_i de *A. obtectus* decresceu à medida que a dose por contato de óleo essencial de *Clausena anisata* (Willd) aumentou. Assim, a redução da r_i pode ter sido afetada pelos compostos voláteis dos óleos reduzindo assim a eclosão das larvas (SCHMIDT et al., 1991). Outro fator a ser considerado na redução da r_i é que, provavelmente, o breve período de sobrevivência dos insetos adultos nos grãos tratados com doses altas de óleos essenciais não foi suficiente para a oviposição, impedindo a progênie.

Nos resultados obtidos neste trabalho nota-se que no feijão tratado com óleos essenciais de cravo e canela, os adultos de *A. obtectus* tardaram mais tempo em emergir em relação ao controle. Isto pode ser devido ao fato de os compostos destes óleos terem efeitos inibitórios na alimentação das larvas recém-emergidas ou afetarem suas atividades fisiológicas. No estudo realizado por Muckensturm et al. (1982), os autores verificaram que o eugenol diminuiu a alimentação de *Mythimna*

unipuncta (Lepidoptera: Noctuidae). Este efeito pode evidenciar também na perda de massa dos grãos; a perda de massa das sementes foi inversamente proporcional ao número de adultos emergidos. Segundo Gurusubramanian e Krishna (1996) além da toxicidade dos vapores dos óleos essenciais aos ovos de insetos, também foram observados fortes efeitos adversos na progênie que emerge dos ovos tratados, o que faria tardar a emergência dos adultos.

Os resultados obtidos neste estudo, aliados às informações disponíveis na literatura, confirmam que o uso dos óleos essenciais de cravo e canela pode vir a ser uma alternativa viável no controle de insetos-praga de produtos armazenados, constituindo-se numa alternativa para a proteção de grãos de feijão em pequena escala, reduzindo o risco de possíveis intoxicações para o produtor e o consumidor dos grãos.

Os óleos de cravo e canela podem ser utilizados em alternância com inseticidas convencionais a fim de diminuir o risco de resistência destes insetos aos inseticidas tradicionais. Além disso, a matéria-prima para obter os óleos essenciais pode ser cultivada na mesma propriedade, e estes podem ser obtidos de forma artesanal pelo produtor, o que facilitaria ainda mais seu uso para a proteção dos grãos armazenados.

6. CONCLUSÃO

Pelos resultados obtidos neste trabalho e considerando os objetivos propostos, conclui-se que os óleos essenciais de cravo e de canela têm efeito inseticida por contato em adultos de *Acanthoscelides obtectus* e promovem redução na taxa de crescimento populacional deste inseto. Esta redução é proporcional ao aumento da dose dos óleos utilizada.

O óleo essencial de cravo não apresentou efeito repelente sobre os insetos, enquanto o óleo de canela apresentou repelência somente na maior dose.

A persistência dos óleos essenciais de cravo e canela é reduzida, o que poderia ser compensado com uma maior frequência de aplicação e/ou o armazenamento dos grãos em recipientes hermeticamente fechados.

Trabalhos futuros deverão ser desenvolvidos com o intuito de explorar o efeito destes óleos para estágios imaturos (ovos, larvas e pupas) desta praga, por contato e fumigação.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABBASIPOUR, H.; MAHMOUDVAND, M.; RASTEGAR, F.; HOSSEINPOUR, M. H. Fumigant Toxicity and Oviposition Deterreny of the Essential Oil from Cardamom, *Elettaria cardamomum*, Against Three Stored-product Insects. **Journal of Insect Science**, v. 11, n. 165, p. 1-10, 2011.
2. ABDELGHANY, A.Y.; AWADALLA, S.S.; ABDEL-BAKY, N.F.; EL-SYRAFI, H.A.; FIELDS P.G. Stored-Product insects in botanical warehouses. **Journal of Stored Products Research**, v. 46, p. 93-97, 2010.
3. 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.
4. ÁLVAREZ, N.; MCKEY, D.; MCKEY, M. H.; BORN, C.; MERCIER, L.; BENREY, B. Ancient and recent evolutionary history of the bruchid beetle, *Acanthoscelides obtectus* (Say), a cosmopolitan pest of beans. **Molecular Ecology**, v. 14, p. 1015-1024, 2005.
5. ANGIONI, A.; BARRA, A.; CORONEO, V.; DESSI, S.; CABRAS, P. Chemical composition, seasonal variability, and antifungal activity of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* essential oils from stem/leaves and flowers. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 4364-4370, 2006.
6. ATHIÉ, I.; PAULA, D.C. **Insetos de grãos armazenados: aspectos biológicos e identificação** (ed.) Varela editora. São Paulo-SP, 2002, p.23-24.
7. BAGAVAN, A.; RAHUMAN, A. A.; KAMARAJ, CH.; ELANGO, G.; ZAHIR, A. A.; JAYASEELAN, CH.; SANTHOSHKUMAR, T.; MARIMUTHU S. Contact and fumigant toxicity of hexane flower bud extract of *Syzygium aromaticum* and its compounds against *Pediculus humanus capitis* (Phthiraptera: Pediculidae). **Research Parasitology**, v. 109, p. 1329-1340, 2011.
8. BAIER, A.; WEBSTER, B. Control of *Acanthoscelides obtectus* say (Coleoptera: Bruchidae) in *Phaseolus vulgaris* L. Seed stored on small farms-i. Evaluation of damage. **Journal of Stored Products Research**, v. 28, n. 4, p. 289-293, 1992.
9. BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils - A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46 n. 46, p. 446-475, 2008.
10. BATISH, D. R.; SINGH, H.P.; KOHLI, R.K.; KAUR, S. Eucalyptus essential oil as a natural. **Forest Ecology and Management**, v. 256, p. 2166-2174, 2008.
11. BJØRLING-POULSEN, M.; ANDERSEN, H.; GRANDJEAN, P. Potential developmental neurotoxicity of pesticides used in Europe. **Environmental Health**, v. 7, p. 50, 2008.

12. BROUGHTON, W. J.; HERNANDEZ, G.; BLAIR, M.; BEEBE, S.; GEPTS, P.; VANDERLEYDEN, J. Beans (*Phaseolus* spp.): model food legumes. **Plant and Soil**, v. 252, 55-128, 2003.
13. CARDADOR, M. A.; LOARCA, P. G.; OOMAH, B. D. Antioxidant activity in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 6975-6980, 2002.
14. CARDONA, C. Insects and other invertebrate bean pests in Latin America. In: Schwartz, H.F., Pastor-Corrales, M.A. (Eds.). **Bean Production Problems in the Tropics**, CIAT, Cali, 1989. p. 505-570.
15. CHAIEB, K.; HAJLAOUI, H.; ZMANTAR, T.; KAHLA, A. B.; ROUABHIA, M.; MAHDOUANI, K.; BAKHROUF, A. The Chemical Composition and Biological Activity of Clove Essential Oil, *Eugenia caryophyllata* (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): A Short Review. **Phytotherapy Research**, v. 21, p. 501-506, 2007.
16. CHANG, SH. T., CHENG, S. S. Antitermitic Activity of Leaf Essential Oils and Components from *Cinnamomum osmophleum*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p.1389-1392, 2002.
17. CHERICONI, S.; PRIETO, J. M.; IACOPINI, P.; CIONI, P.; MORELLI, I. In Vitro Activity of the Essential Oil of *Cinnamomum zeylanicum* and Eugenol in Peroxynitrite-Induced Oxidative Processes. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 4762-4765, 2005.
18. CHIASSON, H.; BÉLANGER, A.; BOSTANIAN, N. ; VINCENT, CH.; POLIQUIN, A. Acaricidal properties of *Artemisia absinthium* and *Tanacetum vulgare* (Asteraceae) essential oils obtained by three methods of extraction. **Journal of Economic Entomology**, v. 94 p. 167-171, 2001.
19. CHOZE, R.; ALCANTARA, G. B.; ALVES, E.; SILVA, M. L.; FARIA, J. C.; LIÃO L. M. Distinction between a transgenic and a conventional common bean genotype by ¹H HR-MAS NMR. **Food Chemistry**, v. 141, p. 2841-2847, 2013.
20. CHU, SH. SH.; WANG, CH.F.; DU, SH.SH.; LIU, SH.L.; LIU, ZH.L. Toxicity of the essential oil of *Illicium difengpi* stem bark and its constituent compounds towards two grain storage insects. **Journal of Insect Science**, v. 11, n.152, p. 1-10, 2011.
21. CLARK, R. J.; MENARY, R. C. Variations in composition of peppermint oil in relation to production areas. **Economic Botanic**, v. 35, p. 59-69, 1981.
22. CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da Safra Brasileira de grãos - Segundo Levantamento**, v. 2, p. 46, Setembro de 2013. Disponível em: http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13_11_11_08_54_13_boletim_portugues_novembro_2013_-_ok.pdf>Acesso em: 27 Nov. 2013.

23. CORSINI, E.; SOKOOTI, M.; GALLI, C. L.; MORETTO, A.; COLOSIO, C. Pesticide induced immunotoxicity in humans: A comprehensive review of the existing evidence. **Toxicology**, v. 307, p. 123-135, 2013.
24. DAYAN, F. E.; CANTRELL, CH. L.; DUKE, S. O. Natural products in crop protection. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 17 p. 4022-4034, 2009.
25. DEMUNER, A. J.; ALMEIDA, L. C.; MAGALHAES C. G.; DA SILVA, C. J.; ALVARES, C. R.; PINHEIRO, A. L. Seasonal Variation in the Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Volatile Oils of Three Species of *Leptospermum* (Myrtaceae) Grown in Brazil. **Molecules**, v. 16, p. 1181-1191, 2011.
26. DON-PEDRO, K.N. Investigation of single and joint fumigant insecticidal action of citruspeel oil components. **Pesticide Science**, v. 46, p. 79-84, 1996.
27. Enan, E. E. Insecticidal activity of essential oils: octopaminergic sites of action. **Comparative Biochemistry Physiology C Toxicology Pharmacology**, v. 130, p. 325-337, 2001.
28. EVANS, P.D. Multiple receptor types for octopamine in the locust. **Journal of Physiology**, v. 318, p. 99-122, 1981.
29. EVERETT, C. J.; MATHESON, E. M. Pesticide Exposure and Diabetes. **Encyclopedia of Environmental Health**, p. 407-411, 2011.
30. FARIA, L.C.; MELO, P.G.S.; PEREIRA, H. S.; PELOSO, M. J.; BRÁGA, A. J.; MOREIRA, J. A. A.; LEMOS, H. W.; MELO, L. C. Genetic progress during 22 years of improvement of carioca-type common bean in Brazil. **Field Crops Research**, v.142, p. 68-74, 2013.
31. FARONI, L. R. A.; SOUSA, A. H. Aspectos biológicos e taxonômicos dos principais insetos-praga de produtos armazenados. In: Almeida, F. A. C.; Duarte, M. E. M.; Mata, M. E. R. M. C. **Tecnologia de Armazenagem em sementes, Campina Grande**, UFCG, p. 371-402, 2006.
32. FERNÁNDEZ, M. D.; RANGEL, J. A., JUÁREZ, J. M.; MUÑIZ, R. B.; HERNÁNDEZ, S. M.; ELOS, M. M. Oleorresina de jícama para controlar *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleóptera: Bruchidae) en semilla de frijol. **Agronomía mesoamericana**, v. 20, p. 59-69, 2009.
33. FICHI, G.; FLAMINI, G.; ZARALLI, L. J.; PERRUCCI, S. Efficacy of an essential oil of *Cinnamomum zeylanicum* against *Psoroptes cuniculi*. **Phytomedicine**, v. 14, p.227-231, 2007.
34. FOUAD, H. A.; FARONI, L. R. A.; RIBEIRO, R. C.; TAVARES, W.; PETACCI, F. Extraction and repellent activity of *Lepidoploa aurea* and *Memora nodosa* against stored grain and by product pests. **Vie et Milieu-Life and Environment**, v. 62, n. 1, p. 11-15, 2012.

35. GERSHENZON, J.; MCCONKEY, M. E.; CROTEAU, R. B. Regulation of monoterpene accumulation in leaves of peppermint. **Plant Physiology**, v. 122, p. 205-213, 2000.
36. GOLEBIOWSKI, M.; MALINSKI E.; NAWROT J.; STEPNOWSKI, P. Identification and characterization of surface lipid components of the dried-bean beetle *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 44, p. 386-388, 2008.
37. GONZÁLEZ, A. M.; MONTEAGUDO, A. B.; CASQUERO, P. A.; DE RON, A. M.; SANTALLA, M. Genetic variation and environmental effects on agronomical and commercial quality traits in the main European market classes of dry bean. **Field Crops Research**, v. 95, p. 336-347, 2006.
38. GOUDOUM, A.; TINKEU, L. S. N.; NGASSOUM, M. B.; MBOFUNG, C. M. Persistence of active compounds of essential oils of *clausena anisata* (rutaceae) and *plectranthus glandulosus* (labiateae) used as insecticides on maize grains and flour. **African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development**, v. 13, p. 7326-7338, 2013.
39. 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.
40. HAG, E. A.; EL NADI, A. H.; ZAITOON, A. A. Toxic and growth retarding effects of three plant extracts on *Culex pipiens* larvae (Diptera: Culicidae). **Phytotherapy Research**, v. 13, p. 388-392, 1999.
41. HANSTED, L.; JAKOBSEN, H. B.; OLSEN C. E. Influence of temperature on the rhythmic emission of volatiles from *Ribes nigrum* flowers in situ. **Plant Cell & Environment**, v. 17, p. 1069-1072, 1994.
42. HASAN, M. M.; REICHMUTH, C. Relative toxicity of phosphine against the bean bruchid *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Col., Bruchidae). **Blackwell Verlag Berlin**, v. 00850, p. 332-336, 2004.
43. HERTLEIN, M. B.; THOMPSON, G. D.; SUBRAMANYAM B.; ATHANASSIOU CH. G. SPINOSAD. A new natural product for stored grain protection. **Journal of Stored Products Research**, v. 47, n. 3, p. 131-146, 2011.
44. HOWE, R. W.; CURRIE, J. E. Some laboratory observations on the rates of development, mortality, and oviposition of several species of Bruchidae breeding in stored pulses. **Bulletin of Entomological Research**, v. 55, p. 437-477, 1964.
45. HUANG, Y.; HO, S.H. Toxicity and antifeedant activities of cinnamaldehyde against grain storage insects, *Tribolium castaneum* (Herbst) and *Sitophilus zeamais* Motsch. **Journal of Stored Products Research**, v. 34, p. 11-17. 1998.

46. HUANG, Y.; HO, SH. H.; LEE, H. CH.; YAP, Y. L. Insecticidal properties of eugenol, isoeugenol and methyleugenol and their effects on nutrition of *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 38, p. 403-412, 2002.
47. Huignard, J.; Lapied, B.; Dugravot, S.; Magnin-Robert, M.; Ketoh, G. K. Modes d'action neurotoxiques des d'ériv'es soufr'es et de certaines huiles essentielles et risques li'es `a leur utilisation. **See Ref.**, v. 98, p. 219-231, 2008.
48. ILBOUDO, Z.; DABIRÉ, L.C.; NÉBIÉ, R.C.; 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.
49. INEC. 2010. INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICAS Y CENSO. (on line) disponivel em <http://157.100.43.205/lcds-samples/testdrive-remoteobject/main.html#app=44e4&9270-selectedIndex=1> [acesso em: 25 do Março. 2013].
50. ISMAN, M. B. Plant essential oils for pest and disease management. **Crop Protection**, v. 19, p. 603-608, 2000.
51. ISMAN, M. B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology**, v. 51, p. 45-66, 2006.
52. JHAM, G.; DHINGRA, O.; JARDIM, C.; VALENTE, V. Identification of the Major Fungitoxic Component of Cinnamon Bark Oil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, p. 404-408, 2005.
53. JOVANOVIC, Z.; KOSTIC, M.; POPOVIC, Z. Grain-protective properties of herbal extracts against the bean weevil *Acanthoscelides obtectus* Say. **Industrial Crops and Products**, v. 26, p. 100-104, 2007.
54. KAFLE, L.; SHIH, CH. J. Toxicity and Repellency of Compounds from Clove (*Syzygium aromaticum*) to Red Imported Fire Ants *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae). **Bio One Research Evolved**, v. 106, n. 1, p. 131-135, 2013.
55. KAVVALAKIS, M.; TSATSAKIS, A. The atlas of DAPs; assessment of cumulative human organophosphorus pesticides' exp osure. **Forensic Science International**, v. 218, p. 111-122, 2012.
56. KHANI, A.; ASGHARI, J. Insecticide Activity of Essential Oils of *Mentha longifolia*, *Pulicaria gnaphalodes* and *Achillea wilhelmsii* Against Two Stored Product Pests, the Flour Beetle, *Tribolium castaneum*, and the Cowpea Weevil, *Callosobruchus maculatus*. **Journal of Insect Science**, v. 12, n. 73, p. 1-10, 2012.

57. KIM, E. H.; KIM, H. K.; AHN, Y. J. Acaricidal activity of clove bud oil compounds against *Dermatophagoides farinae* and *Dermatophagoides pteronyssinus* (Acari: Pyroglyphidae). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 885-889, 2003.
58. KIM, S. I.; ROH, J. Y.; KIM, D. H. Insecticidal activities of aromatic plant extract and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. **Journal of Stored Products Research**, v. 38, p. 102-107, 2002.
59. KIM, S. I.; ROH, J. Y.; KIM, D. H.; LEE, H. S.; AHN, Y. J. Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. **Journal of Stored Products Research**, v. 39, p. 293-303, 2003.
60. KOSTYUKOVSKY, M.; RAFAELI, A.; GILEADI, C.; DEMCHENKO, N.; SHAAAYA, 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.
61. LEE, B. H.; ANNIS, P. C.; TUMAALII, F.; CHOI, W. Fumigant toxicity of essential oils from the Myrtaceae family and 1,8-cineole against 3 major stored-grain insects. **Journal of Stored Products Research**, v. 40 p. 553-564, 2004.
62. LEE, E. J.; KIM, J. R.; CHOI, D. R.; AHN, Y.J. Toxicity of Cassia and Cinnamon Oil Compounds and Cinnamaldehyde-Related Compounds to *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Economic Entomology**, v.101, n. 6, p. 1960-1966, 2008.
63. LEE, S. E.; LEE, B. H.; CHOI, W. S.; PARK, B. S.; KIM, J. G.; CAMPBELL, B. C. Fumigant toxicity of volatile natural products from Korean spices and medicinal plants towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L). **Pest Management Science**, v. 57, p. 548-553, 2001.
64. MA, Y.; BLISS, F. A. Seed proteins of common bean. **Crop Science**, v.17, p.431-437, 1978.
65. MASOTTI, V.; JUTEAU, F.; BESSIÈRE, J.M.; VIANO, J. Seasonal and phenological variations of the essential oil from the narrow endemic species *Artemisia molinieri* and its biological activities. **Journal of Agricultural. Food Chemistry**, v. 51, p. 7115-7121, 2003.
66. MCKINLAY, R.; PLANT, J. A.; BELL, J. N.; VOULVOULIS, N. Endocrine disrupting pesticides: implications for risk assessment. **Environment International**, v. 34, p. 168-183, 2008.
67. MEKALI, J.; NAGANAGOUD, A.; KAPASI, M.; SREENIVAS, A. G.; NIDONI, U.; BASKAR, K. Management of *Rhyzopertha dominica* Fab. under modified atmospheric condition in stored sorghum. **Journal of Entomological Studies**, v. 2, p. 34-43, 2013.

68. MOSTAFALOU, S.; ABDOLLAHI, M. Pesticides and human chronic diseases: Evidences, mechanisms, and perspectives. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 268, p. 157-177, 2013.
69. MUCKENSTURM, B.; DUPLAY, D.; MOHAMMADI, F.; MORADI, A.; ROBERT, P.C.; SIMONIS, M.T.; KIELEN, J.C. Role of natural phenylpropanoids as antifeeding agents for insects. *Les Colloques de l'INRA* (me'diateurs chimiques agissant sur le comportement des insectes) v. 7, p. 131-135, 1982.
70. NDOMO, A. F.; NGAMO, L. T.; TAPONDJOU, L. A.; TCHOUANGUEP, F. M.; HANCE, T. Insecticidal effects of the powdery formulation based on clay and essential oil from the leaves of *Clausena anisata* (Willd.) J. D. Hook ex. Benth. (Rutaceae) against *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). **Journal Pest Science**, v. 81, p. 227-234, 2008.
71. NENAAH, G. Individual and synergistic toxicity of solanaceous glycoalkaloids against two coleopteran stored-product insects. **Journal Pest Science**, v. 84 p. 77-86, 2011.
72. NERIO, L. S.; OLIVERO V. J.; STASHENKO, E. E. Repellent activity of essential oils from seven aromatic plants grown in Colombia against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera). **Journal of Stored Products Research**, v. 45, p. 212-214, 2010.
73. NERIO, L. S.; VERBEL, J. O.; STASHENKO, E. Repellent activity of essential oils: a review. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 372-378, 2010.
74. NGAMO, T. S. L.; NGATANKO, I.; NGASSOUM, M. B.; MAPONGMESTSEM, P. M.; HANCE, T. Persistence of insecticidal activities of crude essential oils of three aromatic plants towards four major stored product insect pests. **African Journal of Agricultural Research**, v. 2, n. 4, p. 173-177, 2007.
75. OLIVEIRA, J.; VENDRAMIM, J.; HADDAD, M. Bioatividade de pós vegetais sobre o caruncho do feijão armazenados. **Revista de Agricultura**, v. 4, p.44-48, 1999.
76. OLIVEIRA, M. R.; CORREA, A. S.; SOUZA, G. A.; GUEDES, R. N.; OLIVEIRA, L. O. Mesoamerican Origin and Pre- and Post-Columbian Expansions of the Ranges of *Acanthoscelides obtectus* (Say), a Cosmopolitan Insect Pest of the Common Bean. **PLOS ONE**, v. 8 (7) p. 1-12, 2013.
77. PADIN, S.; BELLO, G. D.; FABRIZIO, M. Grain loss caused by *Tribolium castaneum*, *Sitophilus oryzae* and *Acanthoscelides obtectus*. Stored durum wheat and beans treated with *Beauveria bassiana*. **Journal of Stored Products Research**, v. 38, p. 69-74, 2002.
78. PAPACHRISTOS D.P.; KARAMANOLI K.I.; STAMOPOULOS D.C.; MENKISSOGLU S. U. The relationship between the chemical composition of

- three essential oils and their insecticidal activity against *Acanthoscelides obtectus* (Say). **Pest Management Science**, v. 60, p. 514-520, 2004.
79. 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, p. 117-128, 2002.
 80. PARK, K. I.; SHIN, S. CH. Fumigant Activity of Plant Essential Oils and Components from Garlic (*Allium sativum*) and Clove Bud (*Eugenia caryophyllata*) Oils against the Japanese Termite (*Reticulitermes speratus*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, p. 4388-4392, 2005.
 81. PARSONS, D.; CREDLAND, P. Determinants of oviposition in *Acanthoscelides obtectus*: a nonconformist bruchid. **Physiological Entomology**, v. 28, p. 221-231, 2003.
 82. PHILLIPS, A. K.; APPEL, A. G. Fumigant Toxicity of Essential Oils to the German Cockroach (Dictyoptera: Blattellidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 103, n. 3, p. 781-790, 2010a.
 83. PHILLIPS, A. K.; APPEL, A. G.; SIMS, S. R. Topical toxicity of essential oils to the German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae). **Journal Economic Entomology**, v.103 p. 448-459, 2010b.
 84. PICHERSKY, E.; NOEL, J.P.; DUDAREVA, N. Biosynthesis of plant volatiles: nature's diversity and ingenuity. **Science**, v. 311, p. 808-811, 2006.
 85. PIMENTEL, M. A.; FARONI, L. R. A.; GUEDES, R. N.; SOUSA, A. H.; TÓTOLA, M.R. Phosphine resistance in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* Motschusky (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 45, n.1, p. 71-74, 2009.
 86. PRAJAPATI, V.; TRIPATHI, A. K.; AGGARWAL, K. K.; KHANUJA, S. P. Insecticidal, repellent and oviposition-deterrent activity of selected essential oils against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. **Bioresource Technology**, v. 96, p.1749-1757, 2005.
 87. Price, D. N.; Berry, M. S. Comparison of effects of octopamine and insecticidal essential oils on activity in the nerve cord, foregut and dorsal unpaired median neurons of cockroaches. **Journal Insect Physiology**, v. 52, p. 309-319, 2006.
 88. RAGUSO, R. A.; PICHERSKY, E. A day in the life of a linalool molecule: chemical communication in a plant-pollinator system. Part 1: linalool biosynthesis in flowering plants. **Plant Species Biology**, v. 14 p. 95-120, 1999.
 89. RAHMAN, M. M.; SCHMIDT, G. H. Effect of *Acorus calamus* (L.) (Araceae) essential oil vapours from various origins on *Callosobruchus phaseoli* (Gyllenhal) (Coleoptera: Bruchidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 35, p. 285-295, 1999.

90. RAJASHEKAR, Y.; KUMAR, H. V.; RAVINDRA K. V.; BAKTHAVATSALAM, N. Isolation and characterization of biofumigant from leaves of *Lantana camara* for control of stored grain insect pests. **Industrial Crops and Products**, v. 51, p. 224-228, 2013.
91. RAJENDRAN, S.; SRIANJINI, V. Plant products as fumigants for stored-product insects control. **Journal of Stored Products Research**, v. 44, p. 126-135, 2008.
92. RAMIREZ, A.; VERA, J.; AGUILERA, M.; GARZA, R. Preference, survival and fecundity of *Acanthoscelides obtectus* (say) in four genotypes of bean resistant to *Apion godmani* (Wagner). **Agrociencia**, v. 37, p. 195-202, 2003.
93. RANASINGHE, L.; JAYAWARDENA B.; ABEYWICKRAMA K. Fungicidal activity of essential oils of *Cinnamomum zeylanicum* (L.) and *Syzygium aromaticum* (L.) Merritt & Perry against crown rot and anthracnose pathogens isolated from banana. **Letters in Applied Microbiology**, v. 35, p. 208-211, 2002.
94. REGNAULT-ROGER C. De nouveaux phyto-insecticides pour le troisième millénaire? In **Biopesticides d'Origine Végétale**, ed. C Regnault-Roger, BJR Philogène, C Vincent, p. 19-40. Paris: Lavoisier Tech & Doc, 2002a.
95. REGNAULT-ROGER, C. Recherche de nouveaux biopesticides d'origine végétale à caractère insecticide: démarches méthodologiques et application aux plantes aromatiques méditerranéennes. **See Ref**, 98, p. 25-50, 2008.
96. REGNAULT-ROGER, C. The potential of botanical essential oils for insect pest control. **Integrated Pest Management Reviews**, v. 2, p. 25-34, 1997.
97. REGNAULT-ROGER, C., HAMRAOUI, A., HOLEMAN, M., THERON, E., PINEL, R. Insecticidal effect of essential oils from Mediterranean plants upon *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae), a pest of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of Chemical Ecology**, v. 14, p. 1965-1975, 1993.
98. REGNAULT-ROGER, C.; HAMRAOUI, A. Inhibition of reproduction of *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera), a kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) bruchid, by aromatic essential oils. **Crop Protection**, v. 13, n. 8 p. 624-628, 1994.
99. REGNAULT-ROGER, C.; PHILOGÈNE, B. J. R.; VINCENT, C. **Biopesticides d'origine végétales**, Tec & Doc Eds. Paris. 2002b. 337p.
100. Regnault-Roger, C.; Vincent, Ch.; Arnason J. T. Essential Oils in Insect Control: Low-Risk Products in a High-Stakes World. **Annual Review Entomology**, v. 57, p. 405-424, 2012.

1. REYES, C.; PAREDES, O. Hard-to-cook phenomenon in common bean-a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 33, p. 227-286, 1993.
2. ROEDER, T. A new octopamine receptor class in locust nervous tissue, the octopamine 3 (OA3) receptor. **Life Sciences**, v. 50, p. 21-28, 1992.
3. ROZMAN, V.; KALINOVIC, I.; KORUNIC, Z. Toxicity of naturally occurring compounds of Lamiaceae and Lauraceae to three stored-product insects. **Journal of Stored Products Research**, v. 43, p. 349-355, 2007.
4. SALINAS, D. O.; LLANOS, L. A.; VALDÉS, M.; OCHOA, M. E.; OCHOA, M. G.; VALLADARES, G.; RODRÍGUEZ, E. Insecticidal Activity of *Tagetes erecta* extracts on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), **Florida Entomologist**, v. 95, n. 2, p. 428-432, 2012.
5. SANTIN, J. R.; LEMOS, M.; KLEIN, L. C.; MACHADO, I. D.; COSTA, P.; OLIVEIRA, A. P.; TILIA, C.; SOUZA, J. P.; BARRETO, J. P.; BASTOS, J. K.; FALONI, S. Gastroprotective activity of essential oil of the *Syzygium aromaticum* and its major component eugenol in different animal models. **Naunyn Schmied Arch Pharmacol**, v. 383, p.149-158, 2011.
6. SANTORO, G. F.; CARDOSO, M. G.; GUIMARÃES, L. G.; MENDONÇA L. Z.; SOARES, M. J. *Trypanosoma cruzi*: Activity of essential oils from *Achillea millefolium* L., *Syzygium aromaticum* L. and *Ocimum basilicum* L. on epimastigotes and trypomastigotes. **Experimental Parasitology**, v. 116, p. 283-290, 2007.
7. SAS Institute. **SAS/STAT User`s Guide**, version 8.0. Cary: SAS Institute Inc., 2002.
8. SAVKOVIC, U.; VUCKOVIC, I.; STOJKOVIC, B. The growth on different stored legume species affects the profiles of cuticular hydrocarbon (CHC) in *Acanthoscelides obtectus* (Say). **Journal of Stored Products Research**, v. 50, p. 66-72, 2012.
9. SCHMALE, I.; WACKERS, F. L.; CARDONA, C., DORN, S. Biological control of the bean weevil, *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Col.: Bruchidae), by the native parasitoid *Dinarmus basalis* (Rondani) (Hym: Pteromalidae) on small-scale farms in Colombia. **Journal of Stored Products Research**, v. 42, p. 31-41, 2006.
10. SCHMIDT, G. H.; RISHA, E. M.; EL-NAHAL, A. K. Reduction of progeny of some stored-product Coleoptera by vapours of *Acoms calamus* oil. **Journal of Stored Products Research**, v. 27, n.2, p. 121-127, 1991.
11. SOLÓRZANO, F.; MIRANDA M. G. Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agentes. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 23, p. 136-141, 2012.

12. SONG, X.; WANG, P.; ZHANG, H.; Phosphine resistance in *Rhyzopertha dominica* (Fabricius) (Coleoptera: Bostrichidae) from different geographical populations in China. **African Journal of Biotechnology**, v. 10 p. 16367-16373, 2011.
13. SOUSA, A. H.; FARONI, L. R. A.; GUEDES, R.N.; TÓTOLA, M. R.; URRUCHI, W. I. Ozone as a management alternative against phosphine-resistant insect-pests of stored products. **Journal of Stored Products Research**, v. 44, n. 4, p. 379-385, 2008.
14. SPSS. **Sigma Plot user's guide**. Version 7.0 (Revised Edition). SPSS Inc., Chicago, USA. 2001.
15. STROH, J., WAN, M.T., ISMAN, M.B., MOUL, D.J. Evaluation of the acute toxicity to juvenile pacific coho salmon and rainbow trout of some plant essential oils, a formulated product, and the carrier. Bull. **Environmental Contamination and Toxicology**, v. 60, p. 923-930, 1998.
16. SUTHISUT, D.; FIELDS, P. G.; CHANDRAPATYA, A. Contact Toxicity, Feeding Reduction, and Repellency of Essential Oils from Three Plants from the Ginger Family (Zingiberaceae). **Journal of Economic Entomology**, v. 104, n. 4, p.1445-1454, 2011.
17. TALUKDER, Z. I.; ANDERSON, E.; MIKLAS, P. N.; BLAIR, M. W.; OSORNO, J.; DILAWARI, M.; HOSSAIN, K. G. Genetic diversity and selection of genotypes to enhance Zn and Fe content in common bean. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 90, p. 49-60, 2010.
18. 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.
19. TRAJANO, V. N; LIMA, E. O; TRAVASSOS, A. E; SOUZA, E. L. Inhibitory effect of the essential oil from *Cinnamomum zeylanicum* (Blume) leaves on some food-related bacteria. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 3, p. 771-775, 2010.
20. TREMATERRA, P.; FONTANA, F.; MANCINI, M. Analysis of development rates of *Sitophilus zeamais* (L.) in cereals of the genus *Triticum*. **Journal of Stored Products Research**, v. 32, p. 315-322, 1996.
21. TRONGTOKIT, Y.; RONGSRIYAM, Y.; KOMALAMISRA, N.; APIWATHNASORN, C. Comparative repellency of 38 essential oils against mosquito bites. **Phytotherapy Research**, v. 19, p. 303-309, 2005.
22. VELTEN, G.; ROTT, A. S.; CARDONA, C.; DORN, S. The inhibitory effect of the natural seed storage protein arcelin on the development of *Acanthoscelides obtectus*. **Journal of Stored Products Research**, v. 43, p. 550-557, 2007.

23. VENTER, C.; EYSEN, E. More legumes for better overall health. **South African Journal of Clinical Nutrition**, v.14, n. 3, p. 32-38, 2001.
24. VIEIRA, C.; PAULA JR, P.T.J.; BORÉM, A. Feijão. 600 pp. Viçosa, Brasil, Universidade Federal de Viçosa. (2006).
25. WAKIL, W.; RIASAT, T.; LORDC, J. C. Effects of combined thiamethoxam and diatomaceous earth on mortality and progeny production of four Pakistani populations of *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae) on wheat, rice and maize. **Journal of Stored Products Research**, v. 52, n. 1, p. 28-35, 2013.
26. WALTHALL, W.K.; STARK, J. D. Comparasion of two population level ecotoxicological endpoints: The intrinsic (r_m) and instantaneous (r_i) rates of increase. **Environment Toxicology and Chemistry**, v. 16, p. 1068-1073, 1997.
27. YANG, Y. C.; LEE, H. S.; LEE, S. H.; CLARK, J. M.; AHN, Y.J. Ovicidal and adulticidal activities of *Cinnamomum zeylanicum* bark essential oil compounds and related compounds against *Pediculus humanus capitis* (Anoplura: Pediculidae). **International Journal for Parasitology**, v. 35, p. 1595-1600, 2005.
28. YANG, Y. C.; LEE, S. H.; LEE, W. J.; CHOI, D. H.; AHN, Y. J. Ovicidal and adulticidal effects of *Eugenia caryophyllata* bud and leaf oil compounds on *Pediculus capitis*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 4884-4888, 2003.
29. ZAGANAS, I; KAPETANAKI, S.; MASTORODEMOS, V.; KANAVOURAS, K., COLOSIO, C.; WILKS, M. F.; TSATSAKIS, A. M. Linking pesticide exposure and dementia: What is the evidence? **Toxicology**, v. 307, p. 3-11, 2013.
30. ZHANG, Y.; ZHAO, M.; JIN, M.; XU, C.; WANG, C.; LIU, W. Immunotoxicity of pyrethroid metabolites in an in vitro model. **Environment Toxicology and Chemistry**, v. 29, p. 2505-2510, 2010.