

ASSOCIAÇÃO DE CONSTITUINTES QUÍMICOS ABUNDANTES EM ÓLEOS ESSENCIAIS  
E CULTIVARES RESISTENTES NO MANEJO DE *Callosobruchus maculatus* (FABR., 1775)  
EM FEIJÃO-CAUPI

por

DOUGLAS RAFAEL E SILVA BARBOSA

(Sob Orientação do Professor José Vargas de Oliveira - UFRPE)

RESUMO

O presente trabalho objetvou: (i) avaliar a resistência de cultivares de feijão-caupi a *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775); (ii) determinar a toxicidade por contato e o efeito repelente de compostos sintéticos de óleos essenciais em *C. maculatus*; (iii) avaliar a associação de cultivares resistentes de feijão-caupi e compostos sintéticos no controle de *C. maculatus*. Na avaliação da resistência de feijão-caupi foram selecionadas as cultivares BRS Tracuateua, BR 17 Gurgueia, BRS Tumucumaque, BRS Inhuma, Canapuzinho, Epace 10 e Pingo de ouro 1-2 em teste sem chance de escolha, as quais posteriormente foram utilizadas em teste com chance de escolha. As cultivares BRS Inhuma, BR 17 Gurgueia, Canapuzinho e Pingo de ouro 1-2 destacaram-se em ambos os testes por reduzir a viabilidade da fase imatura. BRS Tracuateua e Epace 10 foram menos preferidas para a oviposição. As cultivares Canapuzinho, BRS Tumucumaque, Epace 10 e BRS Tracuateua apresentaram atividade hemaglutinante e inibidora de tripsina. Nos testes de toxicidade e repelência as  $CL_{50}$  e  $CL_{95}$  de Limoneno, Eugenol, Geraniol,  $\alpha$  – Pineno e trans – Anetole variaram de 60,99 a 2142 ppm e 79,76 a 3217 ppm, respectivamente. O número de ovos e a emergência de adultos reduziram com o aumento das concentrações. As taxas instantâneas de crescimento populacional ( $r_i$ ) foram negativas nas maiores concentrações.

Geraniol e  $\alpha$  – Pineno foram repelentes aos níveis das CL<sub>50</sub> e CL<sub>95</sub>. Na associação dos compostos com cultivares resistentes, BRS Tracuateua, BR 17 Gurgueia, Epace 10 e Sempre Verde foram associadas a Eugenol, Geraniol, e trans - Anetole. As CL<sub>30</sub> e CL<sub>50</sub> destes compostos variaram de 54,77 a 103,48 ppm e 60,99 a 125,18 ppm, respectivamente. Na maioria dos parâmetros a CL<sub>50</sub> obteve efeito adverso significativamente maior que a CL<sub>30</sub>. A cultivar BR 17 Gurgueia associada a Eugenol e Geraniol afetou mais significativamente *C. maculatus*, em relação à associação com trans – Anetole.

**PALAVRAS-CHAVE:** Caruncho do feijão-caupi, inseticidas naturais, bioatividade, cultivares resistentes.

ASSOCIATION OF ABUNDANT CHEMICAL CONSTITUENTS IN ESSENTIAL OILS AND  
RESISTANT CULTIVARS ON *Callosobruchus maculatus* MANAGEMENT IN COWPEA

by

DOUGLAS RAFAEL E SILVA BARBOSA

(Under the Direction of Professor José Vargas de Oliveira - UFRPE)

ABSTRACT

The present study aimed to: (i) evaluate the resistance of cowpea cultivars to *Callosobruchus maculatus* (Fabr, 1775.); (ii) determine the toxicity of contact and the repellent effect of synthetic compounds of essential oils on *C. maculatus adults*; (iii) evaluate the effects of the association of cowpea cultivars with synthetic compounds in control of *C. maculatus*. In the evaluation of cowpea resistance have been selected the cultivars BR 17 Gurgueia, BRS Tumucumaque, BRS Inhuma, Canapuzinho, Epace 10 and Pingo de ouro 1-2 in no-choice test, which were used in free choice test. BRS Inhuma, BR 17 Gurgueia, Canapuzinho and Pingo de ouro 1-2 highlighted in both tests reducing viability of immature phase. Canapuzinho BRS Tumucumaque, Epace 10 and BRS Tracuateua showed hemagglutinating and trypsin inhibitory activities. In toxicity and repellency tests the LC<sub>50</sub> and LC<sub>95</sub> of the compounds Limoneno, Eugenol, Geraniol,  $\alpha$  - Pinene e trans - Anethole ranged from 60.99 to 2142 ppm and 79.76 to 3217 ppm, respectively. The number of eggs and adult emergence were inversely proportional to the increase of concentrations. The instantaneous rate of growth (ri) were negative at the highest concentrations used. The major compounds  $\alpha$  - Pinene and Geraniol were repellent at levels of LC<sub>50</sub> and LC<sub>95</sub>. In association of the synthetic compounds with resistant cultivars BRS Tracuateua, BR 17 Gurgueia, Epace 10 and Sempre Verde were associated with Eugenol,

Geraniol, e trans - Anethole. The  $LC_{30}$  and  $LC_{50}$  of these synthetic compounds ranged from 54.77 to 103.48 ppm and 60.99 to 125.18 ppm, respectively. In the most of the parameters evaluated,  $LC_{50}$  had adverse effect significantly higher than  $LC_{30}$ . BR 17 Gurgueia associated with Eugenol and Geraniol affected more significantly the biological parameters of *C. maculatus* than when associated with trans - Anethole.

**KEY WORDS:** Cowpea weevil, natural insecticides, bioactivity, resistant cultivars.

ASSOCIAÇÃO DE CONSTITUINTES QUÍMICOS ABUNDANTES EM ÓLEOS ESSENCIAIS  
E CULTIVARES RESISTENTES NO MANEJO DE *Callosobruchus maculatus* (FABR., 1775)  
EM FEIJÃO-CAUPI

por

DOUGLAS RAFAEL E SILVA BARBOSA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Doutor em Entomologia Agrícola.

RECIFE - PE

[Fevereiro - 2015]

ASSOCIAÇÃO DE CONSTITUINTES QUÍMICOS ABUNDANTES EM ÓLEOS ESSENCIAIS  
E CULTIVARES RESISTENTES NO MANEJO DE *Callosobruchus maculatus* (FABR., 1775)  
EM FEIJÃO-CAUPI

por

DOUGLAS RAFAEL E SILVA BARBOSA

Comitê de Orientação:

José Vargas de Oliveira - UFRPE

Paulo Henrique Soares da Silva – Embrapa Meio-Norte

ASSOCIAÇÃO DE CONSTITUINTES QUÍMICOS ABUNDANTES EM ÓLEOS ESSENCIAIS  
E CULTIVARES RESISTENTES NO MANEJO DE *Callosobruchus maculatus* (FABR., 1775)  
EM FEIJÃO-CAUPI

por

DOUGLAS RAFAEL E SILVA BARBOSA

Orientador:

---

José Vargas de Oliveira – UFRPE

Examinadores:

---

Daniela M<sup>a</sup> do Amaral Ferraz Navarro – UFPE

---

José Eudes de Moraes Oliveira – Embrapa Semiárido

---

Paulo Henrique Soares da Silva- Embrapa Meio-Norte

---

Valéria Wanderley Teixeira – UFRPE

## DEDICATÓRIA

A minha mãe, Maria das Graças e Silva Barbosa, por sempre me incentivar a não desistir em chegar aos objetivos almejados.

**Ofereço.**



## AGRADECIMENTOS

A Deus por me permitir chegar até a conclusão de um sonho;

À Universidade Federal Rural de Pernambuco e ao Programa de Pós-graduação em Entomologia pela oportunidade de realizar o curso;

À FACEPE pela concessão da bolsa de estudos;

À minha mãe Maria das Graças, que sempre me apoiou em todos os momentos e em minhas decisões;

Ao meu pai Francisco Barbosa, pela amizade e carinho;

Aos meus irmãos Diogo Brunno e Diógenes Fabrício que sempre me apoiaram e me ajudaram até em experimentos;

À minha cunhada Maria Regiane por proporcionar a oportunidade da conclusão de experimentos no Laboratório de Biologia Aplicada da UFPI/Floriano.

À Universidade Federal do Piauí – Campus Amílcar Ferreira Sobral pela infraestrutura para conclusão de parte dos experimentos;

Ao meu orientador, Prof. José Vargas de Oliveira, por sua orientação e amizade;

Ao meu co-orientador Dr. Paulo Henrique Soares da Silva pelo auxílio na correção da tese e pela produção e multiplicação das cultivares de caupi avaliadas no experimento;

Aos Prof. Thiago Henrique e Emmanuel Pontual pelo auxílio nas análises bioquímicas utilizadas nos experimentos;

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Entomologia pelos ensinamentos e por proporcionar meu crescimento profissional.

Aos colegas de trabalho do IFPI/Floriano por compreender a necessidade de concentração na conclusão de experimentos e redação da tese.

Aos amigos do Laboratório de Entomologia Agrícola: Carolina Guedes, Cynara Moura, Fabiana Soares, Sérgio Alves, Glaucilane Cruz, Alberto Belo, Kelly Adrienne, Kamilla Dutra, Solange França e Alice Maria pela amizade e me proporcionar momentos felizes e deixar esta caminhada menos árdua.

Às amigas Mauricéa Fidelis e Mariana Breda também do Laboratório de Entomologia Agrícola, meu agradecimento especial pela amizade, carinho e inúmeros auxílios na realização e avaliação de experimentos.

Ao aluno da UFPI/Floriano Vinícius Lima pelo auxílio na realização dos últimos experimentos;

Aos amigos Jadson Emanuel e Louise Oliveira pela amizade, carinho e acolhimento nessa estadia em Recife;

A todos os amigos do Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola.

## SUMÁRIO

	Página
AGRADECIMENTOS .....	ix
CAPÍTULOS	
1 INTRODUÇÃO .....	01
LITERATURA CITADA.....	10
2 SELEÇÃO DE CULTIVARES DE FEIJÃO-CAUPI E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA RELACIONADA OU NÃO COM O GRAU DE RESISTÊNCIA A <i>Callosobruchus maculatus</i> (FABR.) (COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE: BRUCHINAE).....	18
RESUMO.....	19
ABSTRACT.....	20
INTRODUÇÃO .....	21
MATERIAL E MÉTODOS .....	23
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	27
AGRADECIMENTOS .....	36
LITERATURA CITADA .....	36
3 TOXICIDADE E REPELÊNCIA DE CONSTITUINTES QUÍMICOS ABUNDANTES EM ÓLEOS ESSENCIAIS NO MANEJO DE <i>Callosobruchus</i> <i>maculatus</i> (FABR.) (COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE: BRUCHINAE) .....	51
RESUMO.....	52
ABSTRACT.....	53

INTRODUÇÃO .....	54
MATERIAL E MÉTODOS .....	56
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	60
AGRADECIMENTOS .....	65
LITERATURA CITADA .....	65
4 COMBINAÇÃO DE CULTIVARES RESISTENTES COM CONSTITUINTES QUÍMICOS ABUNDANTES EM ÓLEOS ESSENCIAIS PARA O MANEJO DE <i>Callosobruchus maculatus</i> (FABR.) (COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE: BRUCHINAE).....	77
RESUMO.....	78
ABSTRACT.....	79
INTRODUÇÃO .....	80
MATERIAL E MÉTODOS .....	82
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	85
AGRADECIMENTOS .....	89
LITERATURA CITADA .....	89

## CAPÍTULO 1

### INTRODUÇÃO

O feijão-caupi é uma planta herbácea, autógama, anual, cuja região de origem mais provável situa-se na parte oeste e central da África. É uma das leguminosas melhor adaptadas às condições edafoclimáticas do Nordeste brasileiro, versátil e nutritiva entre as espécies cultivadas, sendo um importante alimento e componente essencial dos sistemas de produção nas regiões secas dos trópicos, cobrindo parte da Ásia, Estados Unidos, Oriente Médio e Américas Central e do Sul (Singh *et al.* 2002).

No Brasil, apesar da baixa produtividade em nível nacional, em torno de 369 kg ha<sup>-1</sup>, o feijão-caupi apresenta-se como opção de cultura de entressafra e ser explorada numa diversidade de sistemas de produção e níveis tecnológicos, obtendo-se produtividades superiores a 2.500 kg ha<sup>-1</sup>, podendo alcançar patamares ainda mais elevados, principalmente em regiões de clima favorável e em função das cultivares de elevada produtividade e adaptadas ao local de cultivo (Freire Filho *et al.* 2005, Rocha *et al.* 2007, Freire Filho *et al.* 2011).

Nas regiões Norte e Nordeste do Brasil, o cultivo de feijão-caupi é feito, principalmente, em sistema de consórcio, na sua maioria por pequenos agricultores, sendo cultivado para produção de grãos verdes e secos (Teixeira *et al.* 1988, Granjeiro *et al.* 2005). Tradicionalmente, é uma cultura de subsistência, no entanto, tem avançado para a produção em áreas mais tecnificadas, utilizando práticas de correção, fertilização e irrigação, em rotação com outras culturas (Freire Filho *et al.* 2005). O Estado do Ceará, juntamente com os Estados do Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Piauí e Rio Grande do Norte constituem grandes produtores da região Nordeste. Nestes, o feijão-caupi também é utilizado na produção de feno para nutrição protéica dos animais, bem como uma opção

para fixação de nitrogênio e incorporação de matéria orgânica em solos, uma vez que é capaz de se desenvolver em situações de baixa fertilidade (Freitas 2006). Para a população brasileira, o feijão-caupi constitui uma importante fonte de proteína, calorias e outros nutrientes para a dieta, contribuindo para o controle da subnutrição e desnutrição dos brasileiros (Fagéria *et al.* 2006).

Os grãos do caupi contêm teores de proteínas, variando de 20 a 26%, importantes frações de lipídeos, açúcares, cálcio, ferro, potássio, fósforo e aminoácidos essenciais como isoleucina, leucina, fenilalanina, tirosina, metionina, dentre outros, com destaque para a última por estar presente em quantidades bem superiores ao feijão do gênero *Phaseolus* (Mousinho 2005). Além disso, possuem grande quantidade de fibras dietéticas, baixa quantidade de gordura (2% em média) e ausência de colesterol (Andrade Júnior *et al.* 2003); porém a composição destes nutrientes pode variar devido às práticas agronômicas realizadas na cultura e no manejo pós-colheita (Ferreira Neto *et al.* 2006).

Alguns estudos têm sido realizados na área de qualidade nutricional dos grãos, concentrando-se, principalmente, na avaliação de genótipos com relação ao teor de proteínas e carboidratos em grãos secos (Silva *et al.* 2002). A biofortificação dos grãos, por meio do desenvolvimento de cultivares com altos teores de ferro e zinco, representa uma ferramenta eficaz no combate à anemia ferropriva e no fortalecimento do sistema imunológico das populações carentes do Nordeste brasileiro (Rocha *et al.* 2008).

Apesar da expressiva produção dessa cultura devido a sua importância econômica e nutricional, especialmente no Nordeste Brasileiro, há ainda vários fatores bióticos e abióticos que impõem restrições ao cultivo e utilização do feijão-caupi. Dentre os de natureza biótica, ressaltam-se o ataque de pragas e as doenças (Freire-filho *et al.* 1999).

O caruncho, *Callosobruchus maculatus* (Fabr.), é considerado a praga mais importante do feijão-caupi armazenado em regiões tropicais e subtropicais (Pereira *et al.* 2008). Apresenta

infestação cruzada, ou seja, inicia o ataque no campo e intensificando-se nas unidades armazenadoras. É classificado como uma praga primária interna, sendo capaz de atacar os grãos inteiros e sadios, cujas larvas perfuram e penetram nos grãos para completar o seu desenvolvimento (Lorini *et al.* 2010). Este inseto causa perdas quantitativas e qualitativas substanciais decorrentes da perfuração das sementes e conseqüente redução de peso, valor de mercado e germinação (Oluwafemi 2012).

Estudos desenvolvidos por Bastos (1973) mostraram que sementes de caupi com 5 e 100% de injúrias apresentaram desvalorização comercial de 53,3% e 81,27%, respectivamente. Sementes de caupi com um, dois, três e quatro furos tiveram a germinação reduzida em 18,3; 51,7; 66,7 e 100%, respectivamente (Santos & Vieira 1971).

A descrição das fases de *C. maculatus* feita por Bastos (1981) menciona que os ovos apresentam formato assimétrico, cor branca, medindo 0,5mm de comprimento e 0,3mm de largura, sendo depositados e aderidos aos grãos. Os ovos viáveis são facilmente diferenciados dos inviáveis, pois são opacos e apresentam a coloração das partículas roídas pelas larvas durante a eclosão e penetração nas sementes; as larvas são de coloração branca, cabeça marrom, formato curvilíneo e quando completamente desenvolvidas têm o comprimento de aproximadamente 3,0mm; após a eclosão penetram diretamente nas sementes, onde completam todo o seu desenvolvimento. Pupas de coloração branca com pernas e olhos vestigiais, e quando próximas a se transformar em adultos, atingem o comprimento aproximado de 4,0mm e apresentam coloração marrom; também desenvolvem-se no interior dos grãos. Adultos de tamanho variável entre 2,5 a 3,0mm de comprimento, com cabeça, tórax e abdômen pretos, apresentando pubescência no tórax e abdome, variando do branco ao dourado. Os élitros são estriados, exibindo cada um três manchas bem distintas, porém quando vistas em conjunto formam uma mancha em forma de X.

Em feijão-caupi, *C. maculatus* à temperatura de  $30^{\circ} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  e  $70 \pm 2\%$  de umidade relativa, apresentou os seguintes resultados na sua biologia: número médio de ovos/fêmea - 87,2; períodos de pré oviposição, oviposição e pós oviposição menor que 1; 5,30 e 1,10 dias, respectivamente; longevidade dos adultos - 6,84 dias; média de ovos inférteis/fêmea - 6,2%; no 3º dia de postura houve um maior percentual de ovos férteis que originaram adultos; período de ovo a adulto recém-emergido - 23,80 dias; razão sexual - 0,5 (Santos 1971).

O controle da infestação causada por *C. maculatus* e outras pragas de grãos armazenados pode ser conseguido com o uso de inseticidas convencionais que, via de regra, podem provocar efeitos adversos a aplicadores e consumidores, bem como selecionar populações de insetos resistentes (Kawuki *et al.* 2005). Estes produtos também podem causar impactos negativos ao meio ambiente, aos seres humanos e a organismos não-alvo. No entanto, a maioria dos pequenos produtores não adota novas formas de manejo devido a razões financeiras e técnicas. Assim, há a necessidade do desenvolvimento de táticas de controle mais econômicas, seguras e de fácil utilização para o manejo de *C. maculatus* (Tiroesele *et al.* 2015).

A diversidade da flora brasileira apresenta um imenso potencial para a produção de compostos secundários, como os alcalóides, flavonóides, taninos, quinonas, óleos essenciais, saponinas, dentre outros. Estas substâncias servem como defesa das plantas contra as adversidades do ambiente, como estresse hídrico, baixas temperaturas e ataque de pragas (fungos, insetos, bactérias e vírus) (Fazolin *et al.* 2002).

Plantas com potencial inseticida vêm sendo testadas na busca de compostos que apresentem maior segurança, seletividade, biodegradabilidade, viabilidade econômica e aplicabilidade em programas de manejo de pragas e baixo impacto ambiental, já que muitos dos inseticidas disponíveis no mercado são tóxicos e de custos elevados (Viegas Junior 2003).



Os inseticidas botânicos têm ação rápida, mas embora a morte não ocorra em poucas horas ou dias, os insetos podem parar de se alimentar quase que imediatamente após a aplicação; muitos dos inseticidas botânicos têm baixa à moderada toxicidade aos mamíferos; a rápida degradação e o curto período residual os tornam mais seguros para o meio ambiente; alguns são seletivos a inimigos naturais; também podem ser preparados na propriedade rural a baixo custo, quando se dispõe de material vegetal e as substâncias bioativas são solúveis em água (Kathrina & Antônio 2004).

As plantas com atividade inseticida atuam nos insetos por ingestão, contato e/ou fumigação, podendo ser utilizadas como pós, extratos aquosos ou orgânicos, óleos essenciais e compostos constituintes; e também serem associadas com outras táticas de controle, como o controle biológico e cultivares resistentes, em programas de manejo integrado de pragas (Ketoh *et al.* 2005). As espécies botânicas mais promissoras para serem usadas como plantas inseticidas pertencem às famílias: Asteraceae, Annonaceae, Canellaceae, Lamiaceae, Malvaceae, Meliaceae, Myrtaceae, Piperaceae, Poaceae, Rutaceae e Zingiberaceae (Rajendran & Sriranjini 2008).

Das plantas podem ser extraídos óleos essenciais que vêm sendo bastante utilizados no controle de diversas pragas. A maioria dos óleos essenciais são misturas altamente complexas de mono- (C10) e sesquiterpenos (C15), incluindo fenóis biogeneticamente relacionados (fenilpropenos e cinamatos). Estes compostos são geralmente responsáveis pelos odores característicos e / ou aromas das plantas de onde são obtidos (Isman & Machial 2006).

Os óleos essenciais podem conter centenas de diferentes constituintes, mas certos componentes se apresentam em quantidades maiores. Por exemplo, 1,8-cineole é predominante no óleo essencial de *Eucalyptus* spp., linalol em *Ocimum* spp., limoneno em *Citrus* spp., mirceno em *Curcuma longa* L., carvone em *Carum carvi* L., asarone em *Acorus calamus* L. e glucosinatos em plantas pertencentes a Brassicaceae, cianidrinhas em *Manihot esculenta* Crantz, tiosulfatos em

*Allium* spp., salicilato de metila em *Securidaca longepedunculata* (Fresen.), assim como  $\beta$ -thujoplicine em *Thujopsis dolabrata* (Thunb. ex L. f.) Siebold & Zucc.. Entre os componentes do óleo essencial, os monoterpenóides têm atraído a maior atenção para atividade fumigante contra insetos de grãos armazenados (Rajendran & Sriranjini 2008). Segundo Ootani *et al.* (2013) a ação inseticida, bactericida e fungicida dos óleos essenciais deve-se à presença de monoterpenos e sesquiterpenos em grande quantidade, sendo possível a identificação dessas substâncias através da análise cromatográfica. No entanto, pouco se sabe sobre os efeitos fisiológicos dos óleos essenciais e seus constituintes nos insetos, mas alguns dos sintomas sugerem um modo de ação neurotóxico. Os óleos essenciais podem afetar sítios alvo octopinérgicos, reforçando a hipótese de que são fortemente inseto-específicos como é o neurotransmissor octopamina e possuem a habilidade de imitar a ação de octopamina em baixas concentrações (Kostyukovsky *et al.* 2002). O monoterpeno linalol demonstrou ação no sistema nervoso, afetando o transporte de íons e a liberação de acetilcolinesterase nos insetos (Re *et al.* 2000).

Vários testes com óleos essenciais têm sido utilizados para o controle de *C. maculatus*, em diversos países. Keita *et al.* (2001), trabalhando com óleos essenciais, estimaram CL<sub>50</sub> de 65 mL/g e 116 mL/g para *Ocimum basilicum* L. e *O. gratissimum*, respectivamente, após um período de exposição de 48 horas. Brito *et al.* (2006), avaliando a toxicidade de óleos essenciais de *Eucalyptus* spp, observaram diminuição dos tempos letais e doses letais 50, com um aumento no tempo de exposição e da dose aplicada. Ketoh *et al.* (2006) observaram que o óleo essencial de *Cymbopogon schoenanthus* (L.) Sprengel foi efetivo, como fumigante na concentração CL<sub>50</sub> de 2,7  $\mu$ L/L de ar, enquanto que Pereira *et al.* (2009), utilizando óleos essenciais de *Cymbopogon martini* (Roxb.) Will. Watson, *Piper aduncum* L., *Piper hispidinervum* C. DC. e outros na concentração de 50 $\mu$ L/20g obtiveram 100% de mortalidade, logo após a impregnação. Gusmão *et al.* (2013), testando óleos essenciais de *Foeniculum vulgare* Mill., *Eucalyptus citriodora* Hook.,

*Cymbopogon winterianus* Jowitt e *Eucalyptus staigeriana* F. em teste de contato, estimou as CL<sub>50</sub> em 178,13, 298,17, 328,42 e 345,57 ppm, respectivamente.

Compostos majoritários de óleos essenciais também têm sido utilizados no controle de pragas de grãos armazenados. Obeng-Ofori & Reichmuth (1997) testando eugenol para o controle de *Sitophilus granarius* L. encontraram dose letal de 2,5 µg/besouro. Ho *et al.* (1997), testando efeito fumigante de Trans-anetole para *T. castaneum* obtiveram CL<sub>50</sub> de 48,1 µL/L, enquanto que Lee *et al.* (2001) encontraram este mesmo efeito com Menthone para *Sitophilus oryzae*, com CL<sub>50</sub> de 61,5 µL/L. Huang & Ho (1998), avaliando a toxicidade de aldeído cinâmico em *T. castaneum* encontraram CL<sub>50</sub> de 0,70 mg/cm<sup>2</sup>. Park *et al.* 2003, testando constituintes de folhas de *Chamaecyparis obtusa* Endl. em *Callosobruchus chinensis* L., observaram mortalidade de 97% com α-phellandrene a 0,1 mg/cm<sup>2</sup>. Rozman *et al.* (2007) observaram mortalidade de 100% de *Rhyzopertha dominica* F. quando utilizaram os constituintes camphor e linalol, após 24h da aplicação, a partir de uma concentração de 0,1 µL/720 mL.

Para o controle de *C. maculatus* com constituintes majoritários destacam-se os trabalhos de Don-Pedro (1996), com os fumigantes menthone e *d*-limoneno, estimando CL<sub>50</sub> de 8,3 µL/L e 5,5 µL/L de ar, respectivamente, e Ajayi *et al.* (2014), que obtiveram DL<sub>50</sub> de 31,4 µL/L de ar de α-pineno para adultos desse inseto.

O uso de cultivares resistentes também constitui uma das táticas promissoras no manejo de *C. maculatus*, pela facilidade de utilização, baixo custo e compatibilidade com outras táticas de controle (Lima *et al.* 2001). Deste modo, várias pesquisas têm procurado selecionar fontes de resistência a *C. maculatus*, com o objetivo de reduzir as injúrias e danos no armazenamento. Barreto e Quinderé (2000) observaram que os parâmetros número de ovos, insetos emergidos e sementes danificadas correlacionaram-se positivamente, sendo considerados relevantes na avaliação da resistência de feijão-caupi ao *C. maculatus*. Jackai e Asante (2003) recomendaram

que a % de emergência de adultos, o índice de crescimento populacional e a % de perda de peso dos grãos sejam os indicadores mais confiáveis para avaliar a resistência de genótipos de feijão-caupi ao caruncho.

Lima *et al.* (2002), estudando a estabilidade da resistência de genótipos de feijão-caupi ao *C. maculatus* em gerações sucessivas, não observaram adaptação deste inseto aos genótipos testados, mantendo-se a resistência estável através das gerações. Costa e Boiça Júnior (2004) observaram que os genótipos de feijão-caupi TE 90 170 29F, TE 90 170 76F, CNCX 405 17F e TE 87 108 6G apresentaram resistência do tipo não preferência para alimentação e/ou antibiose, sendo que os dois últimos também apresentam não preferência para oviposição.

Pesquisas, também, têm demonstrado que as proteínas de defesa de sementes, como os inibidores de tripsina (Gatehouse *et al.* 1989) e vicilinas (globulinas de reserva 7S) (Macedo *et al.* 1993) são importantes fatores de resistência de genótipos de feijão comum e caupi a bruquídeos.

Muitas das proteínas de defesa de plantas podem ser divididas em dois principais grupos, segundo a forma pelas quais podem causar efeitos tóxicos no processo de digestão dos insetos. No primeiro grupo, encontram-se proteínas inibidoras de enzimas digestivas, como os inibidores de  $\alpha$ -amilases (Franco *et al.* 2005) e os inibidores de proteases (Oliveira *et al.* 2003, Franco *et al.* 2004, Gomes *et al.* 2005). Os efeitos tóxicos causados por estas proteínas são devido à privação de nutrientes pela inibição seletiva de enzimas digestivas presentes no trato intestinal dos insetos (Jongsma & Bolter 1997, Gatehouse *et al.* 1999). No segundo grupo estão as proteínas que se ligam à quitina, como as lectinas (Dutta *et al.* 2005, Gupta *et al.* 2005, Macedo *et al.* 2007) e vicilinas (Moura *et al.* 2007), que são capazes de se ligarem à membrana peritrófica interferindo na assimilação de nutrientes, levando o inseto à morte (Sales *et al.* 1996).

Os inibidores de origem protéica encontram-se amplamente distribuídos em animais, microrganismos e plantas e são capazes de produzir complexos estequiométricos com enzimas e, assim, inibir competitivamente as atividades catalíticas destas (Valueva & Moslov 1999).

Os inibidores de proteinases têm sido encontrados nas mais variadas espécies vegetais, onde as angiospermas dicotiledôneas, particularmente as famílias Leguminosae e Solanaceae, apresentam o maior número de espécies contendo esses inibidores (Birk 1996). Apesar desta ocorrência generalizada, a quantidade de inibidores é extremamente variável, mesmo entre espécies do mesmo gênero, e até mesmo entre variedades de uma mesma espécie (Xavier-Filho *et al.* 1989).

Além de inibidores de tripsina, os de quimiotripsina também tem sua função bem conhecida como proteínas de armazenamento, sendo igualmente importantes em proporcionar resistência (Liener & Kakade 1980, Ryan 1990). Alguns estudos mostraram que a resistência está associada com polipeptídeos de vicilina, os quais são expressos principalmente nos cotilédones das sementes resistentes, e que há associação de vicilinas com a quitina presente no intestino médio dos insetos (Miranda *et al.* 1998).

Dados mais recentes mostraram a capacidade de interação das vicilinas de feijão-caupi com a quitina, propriedade que está diretamente relacionada com a defesa das plantas contra insetos (Sales *et al.* 2001). Nos genótipos de feijão-caupi que são resistentes ao *C. maculatus* verificou-se uma associação mais forte das vicilinas variantes com as membranas quitinosas do tubo digestivo (Firmino *et al.* 1996).

Várias lectinas de plantas também demonstraram efeitos entomotóxicos quando administradas a insetos das ordens Coleoptera, Hemiptera e Lepidoptera (Carlini & Grossi-de-Sá 2002). Os mecanismos pelos quais as lectinas matam insetos têm sido estudados e podem envolver interações com glicoconjugados ao longo do trato digestivo, resistência à proteólise e

ligação à enzimas digestivas. Estes efeitos podem resultar em lesões morfológicas no trato digestivo, rompimento do epitélio do intestino médio e da matriz peritrófica ou a estimulação de atividades enzimáticas que promovem a instabilidade metabólica e prejudicam a nutrição e comportamento alimentar (Zhu-Salzman *et al.* 1998, Carlini & Grossi-de-Sá 2002, Sauvion *et al.* 2004, Macedo *et al.* 2007, Coelho *et al.* 2009, Napoleão *et al.* 2012).

A associação de cultivares resistentes com óleos essenciais e seus constituintes torna-se também uma importante tática de manejo de pragas de grãos armazenados, sendo uma alternativa à utilização de inseticidas químicos fumigantes como a fosfina. Trabalhos como os de Castro *et al.* (2013), avaliando os efeitos da associação de genótipos resistentes de feijão-caupi com óleos essenciais de diferentes espécies e Lale & Mustapha (2000), que avaliaram o potencial da combinação de óleo de nim e cultivares resistentes, comprovam a eficiência desta tática de controle no manejo de *C. maculatus*.

Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivos: (i) avaliar a resistência de cultivares de feijão-caupi a *C. maculatus*; (ii) determinar a toxicidade por contato e o efeito repelente de constituintes químicos abundantes em óleos essenciais sobre adultos; (iii) avaliar os efeitos da associação de cultivares de feijão-caupi e constituintes de óleos essenciais no controle dessa praga.

### Literatura Citada

- Ajay, O.E., A.G. Appel & H.Y. Fadamiro. 2014.** Fumigation Toxicity of Essential Oil Monoterpenes to *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae). *J. Insects* 2014: 1-7.
- Andrade Junior, A.S., A.A. dos Santos, Athayde Sobrinho, C., E.A.F. de B. Bastos, F.M.P. Viana, F.R. Freire Filho, J. da S. Carneiro, M. de M. Rocha, Cardoso. M.J., P. H. S. da Silva & V.Q. Ribeiro. 2003.** Cultivo de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). Teresina: Embrapa-Meio Norte. 110 p. (Embrapa Meio-Norte. Sistema de Produção, 2).
- Barreto, P.D. & M.A.W. Quinderé. 2000.** Resistência de genótipos de caupi ao caruncho. *Pesq. Agropec. Bras.* 35: 779-785.

- Bastos, J.A.M. 1973.** Avaliação dos prejuízos causados pelo gorgulho *Callosobruchus maculatus* em amostras de feijão-de-corda, *Vigna sinensis*, colhidas em Fortaleza, Ceará. *Pesq. Agropec. Bras.* 8: 131-132.
- Bastos, J.A.M. 1981.** Principais pragas das culturas e seus controles. Nobel, SP. 477p.
- Birk, Y. 1996.** Protein proteinase inhibitors in legume seeds. *Arch. Latinoam. Nutr.* 44: 26S–30S.
- Brito, J.P., J.E.M. Oliveira & S.A. De Bortoli. 2006.** Toxicidade de óleos essenciais de *Eucalyptus* spp. sobre *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) (Coleoptera: Bruchidae). *Rev. Biol. Cienc. Terra* 6: 96-103.
- Carlini, C.R. & M.F. Grossi-de-Sá. 2002.** Plant toxic proteins with insecticidal properties. A review on their potentialities as bioinsecticides. *Toxicon* 40: 1515-1539.
- Castro, M.J.P. 2013.** Efeitos de genótipos de feijão-caupi e de espécies botânicas em diferentes formulações sobre *Callosobruchus maculatus* (Fabr.). Tese de Doutorado, UNESP, Botucatu, 131p.
- Coelho, J.S., N.D.L. Santos, T.H. Napoleão, F.S. Gomes, R.S. Ferreira, R.B. Zingali, L.C.B.B. Coelho, S.P. Leite, D.M.A.F. Navarro & P.M.G. Paiva. 2009.** Effect of *Moringa oleifera* lectin on development and mortality of *Aedes aegypti* larvae. *Chemosphere* 77: 934-938.
- Costa, N.P. & A.L. Boiça Júnior. 2004.** Efeito de genótipos de caupi, *Vigna unguiculata* (L.) Walp., sobre o desenvolvimento de *Callosobruchus maculatus* (Fabricius) (Coleoptera: Bruchidae). *Neotrop. Entomol.* 33: 77-83.
- Don-Pedro, KN. 1996.** Investigation of single and joint fumigant insecticidal action of citruspeel oil components. *Pestic. Sci.* 46:79–84.
- Dutta, I., P. Saha, P. Majumder, A Sarkar, D. Chakraborti, S. Banerjee & S. Das. 2005.** The efficacy of a novel insecticidal protein, *Allium sativum* leaf lectin (ASAL), against homopteran insects monitored in transgenic tobacco. *Plant Biotechnol. J.* 3: 601-611.
- Fagéria, N.K., O.F. Silva, P.M. Silveira, R. Stralio, S.C. Silva, S. Steinmetz & T. Cobucci. 2006.** Cultivo do feijoeiro comum. Embrapa Arroz e Feijão. Disponível em [http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Feijao/Cultivo do Feijoeiro / importancia.htm](http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Feijao/Cultivo%20do%20Feijoeiro/importancia.htm)> acesso em 01 de mai. 2006.
- Fazolin, M., J.L.V. Estrela, A.P. Lima, & V.M. Argolo. 2002.** Avaliação de plantas com potencial inseticida no controle da vaquinha-do-feijoeiro (*Cerotoma tingomarianus* Bechyné). Rio Branco: Embrapa Acre. 42 p. (Embrapa Acre. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 37).

- Ferreira Neto, J.R.C., M. de M. Rocha, F.R. Freire Filho, S.M. de S. Silva, A.C. de. A. Lopes & L.J.D. Franco. 2006.** Composição química dos grãos secos em genótipos de feijão-caupi. In: Congresso Nacional de Feijao-Caupi, 1.; Reunião Nacional de Feijao-Caupi, Teresina. Tecnologias para o agronegócio: Anais. Teresina: Embrapa Meio-Norte
- Firmino, F., K.V.S., Fernandes, M.P. Sales, V.M. Gomes, M.R.A. Miranda, S.J.S. Domingues & J. Xavier-Filho. 1996.** Cowpea (*Vigna unguiculata*) vicilins associate with putative chitinous structures in midgut and feces of the bruchid beetles *Callosobruchus maculatus* and *Zabrotes subfasciatus*. Braz. J. Med. Biol. Res. 29: 749-756, 1996.
- Franco, O.L. F.R. Melo, P.A. Mendes, N.S. Paes, M. Yokoyama, M.V. Coutinho, C. Bloch & M.F. Grossi-De-Sa. 2005.** Characterization of two *Acanthoscelides obtectus* alpha-amylases and their inactivation by wheat inhibitors. J. Agric. Food Chem. 53: 1585-1590.
- Franco, O.L., S.C. Dias, C.P. Magalhaes, A.C.S. Monteiro, C. Bloch, F.R. Melo, O.B. Oliveira-Neto, R.G. Monnerat & M.F. Grossi-de-Sá. 2004.** Effects of soybean Knutiz trypsin inhibitor on the cotton boll weevil (*Anthonomus grandis*). Phytochemistry 65: 81-89.
- Freire Filho, F.R., J.A.A. Lima & V.Q. Ribeiro (Ed.). 2005.** Feijão-caupi: Avanços tecnológicos. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica. 519p.
- Freire Filho, F.R., V.Q. Ribeiro, M.M. Rocha, K.J.D. Silva, M.S.R. Nogueira & E.V. Rodrigues. 2011.** Feijão-caupi no Brasil: produção, melhoramento genético, avanços e desafios. Teresina, Embrapa Meio-Norte, 84p.
- Freire, R., V.Q. Ribeiro, P.D. Barreto & C.A.F. Santos, 1999.** Melhoramento genético de feijão-de-corda (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) na região do Nordeste. In: Recursos Genéticos e Melhoramento de Plantas para o Nordeste brasileiro. (online). Versão 1.0. Petrolina-PE: Embrapa Semi-Árido/Brasília-DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Disponível em <http://www.cpatia.embrapa.br>. ISBN 85-7405-001-6.
- Freitas, J.B.S. 2006.** Mecanismos de resposta fisiológica ao estresse salino em duas cultivares contrastantes de feijão-caupi. Dissertação de Mestrado, UFC, Fortaleza, 134p.
- Gatehouse, A.M. R., J.A. Gatehouse, P. Dobie, A.M. Kilminster & D. Boulter. 1989.** Biochemical basis of insect resistance in *Vigna unguiculata*. J. Sci. Food Agr. 30: 948-958.
- Gatehouse, A.M.R., E. Norton, G.M. Davison, S.M. Babbe, C.A. Newell & J.A. Gatehouse. 1999.** Digestive proteolytic activity in larvae of tomato moth, *Lacanobia oleracea*; effects of plant protease inhibitors in vitro and in vivo. J. Insect Physiol. 45: 545-558.
- Gomes, A.D.G., S.C. Dias, C. Bloch, F.R. Melo, J.R. Furtado, R.G. Monnerat, M.F. Grossi-de-S & O.L. Franco. 2005.** Toxicity to cotton boll weevil *Anthonomus grandis* of a trypsin inhibitor from chickpea seeds. Comp. Biochem. Physiol., Part B, Biochem. Mol. Biol. 140: 313-319.



- Granjeiro, T.B., R.E.R Castellón, F.M.M.C Araújo, S.M.S Silva, E.A Freire, J.B. Cajazeiras, M. Andrade Neto, M.B Granjeiro & B.S Cavada. 2005.** Composição bioquímica da semente. In: Freire Filho, F.R., J.A.A. Lima & Ribeiro, V.Q. (Org). Feijão-caupi: avanços tecnológicos. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica. p.339 - 365.
- Gupta, G.P., A. Birah & S Rani. 2005.** Effect of plant lectins on growth and development of American bollworm (*Helicoverpa armigera*). Indian J. Agr Sci. 75: 207-212.
- Gusmão, N.M.S., J.V. Oliveira, D.M.A.F. Navarro, K.A. Dutra, W.A. Silva, M.J.A. Wanderley. 2013.** Contact and fumigant toxicity and repellency of *Eucalyptus citriodora* Hook., *Eucalyptus staigeriana* F., *Cymbopogon winterianus* Jowitt and *Foeniculum vulgare* Mill. essential oils in the management of *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) (Coleoptera: Chrysomelidae, Bruchinae). J. Stored Prod. Res. 54: 41-47.
- Ho, S.H., Y. Ma & Y. Huang. 1997.** Anethole, a potential insecticide from *Illicium verum* Hook F, against two stored product insects. Int. Pest Control 39:50–51.
- Huang, Y. & SH. Ho.1998.** Toxicity and antifeedant activities of cinnamaldehyde against the grain storage insects, *Tribolium castaneum* (Herst) and *Sitophilus zeamais* Motsch. J. Stored Prod. Res. 34:11–17.
- Isman, M.B. & C.M. Machial. 2006.** Pesticides based on plant essential oils: from traditional practice to commercialization. In: Advances in phytomedicine: naturally occurring bioactive compounds. Rai M. & M.C. Carpinella, Eds. Elsevier, New York, NY.
- Jackai, L.E.N. & S.K. Asant. 2003.** A case for the standardization of protocols used in screening cowpea, *Vigna unguiculata* for resistance to *Callosobruchus maculatus* (Fabricius) (Coleoptera: Bruchidae). J. Stored Prod. Res. 39: 251–263.
- Jongsma, M.A. & C. Bolter. 1997.** The adaptation of insects to plant protease inhibitors. J. Insect Physiol. 43: 885-895.
- Kathrina, G. A. & L.O.J. Antonio. 2004.** Controle biológico de insectos mediante extractos botánicos. In: Carball, M. & F. Guaharay (ED.). Control biológico de plagas agrícolas. Managua: CATIE, p. 137-160. (Serie Técnica. Manual Técnico/CATIE, 53).
- Kawuki, R. S.; A. Agona, P. Nampala & E Adipala. 2005.** A comparison of effectiveness of plant-based and synthetic insecticides in the field management of pod and storage pests of cowpea. Crop Prot. 24: 473–478.
- Keita, S.M., C. Vincent, J.P. Schmit, J.T. Arnason & A. Belanger. 2001.** Efficacy of essential oil of *Ocimum basilicum* L. and *O. gratissimum* L. applied as an insecticidal fumigant and powder to control *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) (Coleoptera: Bruchidae). J. Stored Prod. Res. 37: 339-349.
- Ketoh, G.H., H.K. Koumaglo & I.A. Glitho. 2005.** Inhibition of *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) development with essential oil extracted from *Cymbopogon*

*schoenanthus* L. Spreng (Poaceae), and the wasp *Dinarmus basalis* (Rondani) (Hymenoptera: Pteromalidae). J. Stored Prod. Res. 41:363-371.

**Ketoh, G.K., K. Honore, I.A. Koumaglo & J.H. Glitho. 2006.** Comparative effects of *Cymbopogon schoenanthus* essential oil and piperitone on *Callosobruchus maculatus* development. Fitoterapia. 77: 506–510.

**Kostyukovsky, M., A. Rafaeli, C. Gileadi, N. Demchenko & E. Shaaya. 2002.** Activation of octopaminergic receptors by essential oil constituents isolated from aromatic plants: possible mode of action against insect pests. Pest Manag. Sci. 58: 1101–1106.

**Lale, N.E.S. & A. Mustapha. 2000.** Potential of combining neem (*Azadirachta indica* A. Juss) seed oil with varietal resistance for the management of the cowpea bruchid, *Callosobruchus maculatus* (F.). J Stored Prod. Res. 36: 215-222.

**Lee, B.H., W.S. Choi, S.E. Lee & B.S. Park. 2001.** Fumigant toxicity of essential oils and their constituent compounds towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.). Crop Protect. 20:317–320.

**Liener, I.E. & M.L. Kakade. 1980.** Protease inhibitors. In: Liener, I.E. (Ed.), Toxic Constituents of Plant Foodstuffs. Academic Press, New York.

**Lima, M.P.L., J.V. Oliveira, R. Barros, J.B. Torres & M.E.C. Gonçalves. 2002.** Estabilidade da resistência de genótipos de caupi a *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) em gerações sucessivas. Sci. Agric. 59: 275-280.

**Lima, M.P.L., J.V. Oliveira, R. Barros & J.B. Torres. 2001.** Identificação de genótipos de caupi *Vigna unguiculata* (L.) Walp. resistentes a *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) (Coleoptera: Bruchidae). Neotrop. Entomol. 30: 289-295.

**Lorini, I., F.C. Krzyzanowski, J.B. França-Neto & A.A. Henning. 2010.** Principais Pragas e Métodos de Controle em Sementes durante o Armazenamento – Série Sementes. Londrina, Embrapa, 10p.

**Macedo, L.L.P. 2007.** Atividade bioinceticida e mecanismo de ação de vicilinas de sementes *Erythrina velutina* sobre moscas-das-frutas *Ceratitis capitata*. Dissertação de Mestrado, UFRN, Natal, 100 p.

**Macedo, M.L.R., L.B.S. Andrade, R.A. Moraes & Xavier-Filho. J. 1993.** Vicilin variants and the resistance of cowpea (*Vigna unguiculata*) seeds to the cowpea weevil (*Callosobruchus maculatus*), Comp. Biochem. Physiol. 105: 89-94.

**Miranda, M.R.A., A.E.A. Oliveira, K.V.S Fernandes & J. Xavier-Filho. 1998.** Chemical modifications of vicilins from *Vigna unguiculata* seeds. XXVII Meeting of the Brazilian Biochemistry and Molecular Biology Society, Caxambu (MG) Brazil. Abstract Book, p34.

- Moura, F.T., A.S. Oliveira, L.L.P Macedo, A.L.B.R. Vianna, L.B.S. Andrade, A.S. Martins-Miranda, J.T.A. Oliveira, E.A. Santos & M.P. Sales. 2007.** Effects of a chitin binding vicilin from *Enterolobium contortisiliquum* seeds on bean bruchid pests (*Callosobruchus maculatus* and *Zabrotes subfasciatus*) and phytopathogenic fungi (*Fusarium solani* and *Colletrichum lindemuntianum*). *J. Agr. Food Chem.* 55: 260-266.
- Mousinho, F.E.P. 2005.** Viabilidade econômica da irrigação do feijão caupi no Estado do Piauí. Tese de Doutorado, ESALQ, Piracicaba, 103p.
- Napoleão, T.H., Pontual, E.V., Lima, T.A., Santos, N.D.L., Sá, R.A., Coelho, L.C.B.B., Navarro, D.M.A.F., Paiva, P.M.G., 2012.** Effect of *Myracrodruon urundeuva* leaf lectin on survival and digestive enzymes of *Aedes aegypti* larvae. *Parasitol. Res.* 110: 609-616.
- Obeng-Ofori, D. & C.H. Reichmuth. 1997.** Bioactivity of eugenol, a major component of essential oil of *Ocimum suave* (Wild.) against four species of stored-product Coleoptera. *Int. J. Pest Manage.* 43:89-94.
- Oliveira, A.S., J. Xavier-Filho & M.P. Sales. 2003.** Cysteine proteinases and cystatins. *Braz. Arch. Biol. Techn.* 46: 91-104.
- Oluwafemi, A.R. 2012.** Comparative effects of three plant powders and pirimiphos-methyl against the infestation of *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) in cowpea seeds. *SOAJ Entomol.* 1: 87-99.
- Ootani, M.A., R.W. Aguiar, A.C.C. Ramos, D.R. Brito, J.B. Silva & J.P. Cajazeira. 2013.** Use of Essential Oils in Agriculture. *J. Biotec. Biodivers.* 4: 162-174.
- Park, I.K., L. Sang-Gil, D.H. Choi, J.D. Park & Y.J. Ahn 2003.** Insecticidal activities of constituents identified in the essential oil from leaves of *Chamaecyparis obtusa* against *Callosobruchus chinensis* (L.) and *Sitophilus oryzae* (L.). *J. Stored Prod. Res.* 39: 375-384.
- Pereira, A.C.R.L., J.V. de Oliveira, M.G.C. Gondim Junior & C.A.G. da Câmara. 2009.** Influência do período de armazenamento do caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.], tratado com óleos essenciais e fixos, no controle de *Callosobruchus maculatus* (Fabricius, 1775) (Coleoptera, Chrysomelidae, Bruchinae). *Ciênc. Agrotec.* 33: 319-325.
- Pereira, A.C.R.L., J.V. Oliveira, M.G.C. Gondim Junior & C.A.G. Câmara. 2008.** Atividade inseticida de óleos essenciais e fixos sobre *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) (Coleoptera: Bruchidae) em grãos de caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]. *Cienc. Agrotec.* 32: 717-724.
- Rajendran, S. & V. Sriranjini. 2008.** Plants products as fumigants for stored-products insect control. *J. Stored Prod. Res.* 44: 126-135.
- Re, L., S. Barocci, S. Sonnino, A. Mencarelli, C. Vivani, G. Paolucci, A. Scarpantonio, L. Rinaldi & E. Mosca. 2000.** Linalool modifies the nicotinic receptor-ion channel kinetics at the mouse neuromuscular junction. *Pharmacol. Res.* 42: 177-181.

- Rocha, M.M., F.R. Freire Filho, V.Q. Ribeiro, H.W.L. Carvalho, J. Belarmino Filho & J.A.A. Raposo. 2007.** Adaptabilidade e estabilidade produtiva de genótipos de feijão-caupi de porte semi-ereto na Região Nordeste do Brasil. *Pesq. Agropec. Bras.* 42: 1283-1289.
- Rocha, M.M.; F.R. Freire Filho, K.J. Damasceno-Silva, V.Q. Ribeiro, A.L.H. Barreto, L.J.D. Franco, P.Z. Bassinelo, M. R. Nutti & J.L.V. Carvalho. 2008.** Avaliação dos conteúdos de proteína, ferro e zinco em germoplasma elite de feijão-caupi. Teresina: Embrapa Meio-Norte. 3p. (Embrapa Meio-Norte. Comunicado Técnico, 212).
- Rozman, V., I. Kalinovic & Z. Korunic. 2007.** Toxicity of naturally occurring compounds of Lamiaceae and Lauraceae to three stored-product insects. *J. Stored Prod. Res.* 43:349-355.
- Ryan, C.A. 1990.** Protease inhibitors: genes for improving defenses against insects and pathogens. *Annu. Rev. Phytopathol.* 28: 425-449.
- Sales, M.P., P.P. Pimenta, N.S. Paes, M.F. Grossi-de-Sá & J. Xavier-Filho. 2001.** Vicilins (7S storage globulins) of cowpea (*Vigna unguiculata*) seeds bind to chitinous structure of the midgut of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) larvae. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 34: 27-34.
- Sales, M.P., V.M. Gomes, K.V.S. Fernandes & J. Xavier, 1996.** Chitin-binding proteins from cowpea (*Vigna unguiculata*) seeds. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 29: 319-326.
- Santos, J.H.R. & F.V. Vieira. 1971.** Ataque do *Callosobruchus maculatus* (F.) a *Vigna sinensis* Endl. I- Influência sobre o poder germinativo de sementes da cv. Seridó. *Ciência Agron.* 1: 71-73.
- Santos, J.H.R. dos. 1971.** Aspectos da biologia do *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1792) (Col., Bruchidae) sobre sementes de *Vigna sinensis* Endl. Dissertação de Mestrado, ESALQ, Piracicaba, 87p.
- Sauvion, N., H. Charles, G. Febvay & Y. Rahbé. 2004.** Effects of jackbean lectin (ConA) on the feeding behaviour and kinetics of intoxication of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. *Entomol. Exp. Appl.* 110: 31-44.
- Silva, S.M. S.; J.M. Maia, Z.B. Araujo & F.R. Freire Filho. 2002.** Composição química de 45 genótipos de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). Teresina: Embrapa Meio-Norte. 2p. (Embrapa Meio-Norte. Comunicado Técnico, 149).
- Singh, B.B., J.D. Ehlers, B. Sharma & F.R. Freire Filho. 2002.** Recent progress in cowpea breeding. In: Fatokun, C.A., S.A. Tarawali, B.B. Singh, P.M. Kormawa, M. Tamò, (Eds.). Challenges and opportunities for enhancing sustainable cowpea production. Ibadan: IITA. p. 22-40.

- Teixeira, S.M., P.H. May & A.C.de Santana. 1988.** Produção e importância econômica do caupi no Brasil. In: Araujo, J.P.P. & E.E. Watt. O caupi no Brasil. Brasília: International Institute of Tropical Agriculture/Embrapa. p.99-136.
- Tiroesele, B., K. Thomas & S. Seketeme. 2015.** Control of Cowpea Weevil, *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae), Using Natural Plant Products. *Insects* 6: 77-84.
- Valueva, T.A. & V.V. Moslov. 1999.** Protein inhibitors of proteinases in seeds: 1. Classification, distribution, structure and properties. *Russ. J. Plant Physiol.* 46: 307-321.
- Viegas Junior, C.V. 2003.** Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. *Q. Nova* 3: 390-400.
- Xavier-Filho, J., F.A.P. Campos, M.B. Ary, C.P. Silva, M.M.M. Carvalho, M.L.R Macedo, F.J.A. Lemos & G. Grant. 1989.** Poor correlation between the levels of proteinase inhibitors found in seeds of different cultivars of cowpea (*Vigna unguiculata*) and the resistance/susceptibility to predation by *Callosobruchus maculatus*. *J. Agric. Food chem.* 37: 1139-1143.
- Zhu-Salzman, K., R.E. Shade, H. Koiwa, R.A. Salzman, M. Narasimhan, R.A. Bressan, P.M. Hasegawa & , L.L. Murdock. 1998.** Carbohydrate binding and resistance to proteolysis control insecticidal activity of *Griffonia simplicifolia* lectin II. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95: 15123-15128.

## CAPÍTULO 2

### SELEÇÃO DE CULTIVARES DE FEIJÃO-CAUPI E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA RELACIONADA OU NÃO COM O GRAU DE RESISTÊNCIA A *Callosobruchus maculatus* (FABR.) (COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE: BRUCHINAE)

DOUGLAS R. S. BARBOSA<sup>1</sup>, JOSÉ V. OLIVEIRA<sup>1</sup>, PAULO H. S. SILVA<sup>2</sup>, MAURICÉA F. SANTANA<sup>1</sup>, THIAGO H. NAPOLEÃO<sup>3</sup>, EMMANUEL V. PONTUAL<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Agronomia – Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, 52171-900, Recife, PE, Brasil.

<sup>2</sup>Laboratório de Entomologia, Embrapa Meio-Norte, Av. Duque de Caxias 5650, Buenos Aires, 64006-220, Teresina, PI, Brasil.

<sup>3</sup>Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pernambuco, Cidade Universitária, 50670-420, Recife, PE, Brasil

<sup>1</sup>Barbosa, D.R.S., J.V. Oliveira, P.H.S. Silva, M.F. Santana, T.H. Napoleão & E.V. Pontual. Seleção de cultivares de feijão-caupi e avaliação da atividade enzimática relacionada ou não com o grau de resistência a *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae). A ser submetido.

RESUMO – O presente trabalho teve como objetivo selecionar cultivares de feijão-caupi *Vigna unguiculata* (L.) Walp. resistentes a *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) e avaliar a atividade de lectina e inibidor de tripsina presentes nestas cultivares. Foram avaliadas 22 cultivares de feijão-caupi mais a testemunha Sempre Verde em teste sem chance de escolha, selecionando-se as cultivares BRS Tracuateua, BR 17 Gurgueia, BRS Tumucumaque, BRS Inhuma, Canapuzinho, Epace 10 e Pingo de ouro 1-2, a serem utilizadas em teste com chance de escolha por apresentarem antibiose, afetando a maior parte dos parâmetros biológicos de *C. maculatus*. As cultivares BRS Inhuma, BR 17 Gurgueia, Canapuzinho e Pingo de ouro 1-2 destacaram-se em ambos os testes por reduzir a viabilidade da fase imatura. BRS Tracuateua e Epace 10 foram menos preferidas para a oviposição. As cultivares Canapuzinho, BRS Tumucumaque, Epace 10 e BRS Tracuateua apresentaram atividade hemaglutinante e inibidora de tripsina. As cultivares BR 17 Gurgueia, BRS Inhuma e Pingo de ouro 1-2 apresentaram somente atividade hemaglutinante.

PALAVRAS-CHAVE: Caruncho do feijão-caupi, *Vigna unguiculata*, resistência de plantas, atividade enzimática.

SELECTION OF COWPEA CULTIVARS AND EVALUATION OF ENZYMATIC ACTIVITY  
RELATED OR NOT WITH RESISTANCE LEVEL TO *Callosobruchus maculatus* (FABR.)  
(COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE: BRUCHINAE)

ABSTRACT- This study aimed to select cowpea cultivars *Vigna unguiculata* (L.) Walp. resistant to *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) and evaluate lectin and trypsin inhibitor activities present in these cultivars. Were evaluated 22 cowpea cultivars besides control Sempre Verde in no-choice test, selecting the cultivars BR 17 Gurgueia, BRS Tumucumaque, BRS Inhuma, Canapuzinho, Epace 10 and Pingo de ouro 1-2, to be used in free choice test for present atibiosis, affecting most of the biological parameters of *C. maculatus*. BRS Inhuma, BR 17 Gurgueia, Canapuzinho and Pingo de ouro 1-2 highlighted in both tests reducing viability of immature phase. Canapuzinho BRS Tumucumaque, Epace 10 and BRS Tracuateua showed hemagglutinating and trypsin inhibitory activities. BR 17 Gurgueia, BRS Inhuma and Pingo de ouro 1-2 presented only hemagglutinating activity.

KEY WORDS: Cowpea weevil, *Vigna unguiculata*, plant resistance, enzymatic activity.



## Introdução

O feijão-caupi, *Vigna unguiculata* (L.) Walp, constitui a principal cultura de subsistência das regiões Norte e Nordeste do Brasil, especialmente no Semiárido Nordestino (Lima 2007). É uma espécie bem adaptada às condições edafoclimáticas da região, possuindo ampla variabilidade genética, elevado valor nutricional e alto potencial produtivo. É uma cultura de importância estratégica para as populações com poucas alternativas, sendo os Estados do Ceará, Piauí e Pernambuco os maiores produtores para as safras 2005 a 2009 (Freire Filho *et al* 2011). O consumo na forma de grãos secos, vagens ou grãos verdes como hortaliça, com 60 a 70% de umidade torna-se excelente alternativa de comercialização para os agricultores (Oliveira *et al.* 2001).

De um modo geral, a comercialização do feijão-caupi é realizada por meio de mercados públicos, com a venda em atacado ou a varejo, onde a maioria do produto armazenado encontra-se estocado no próprio local de distribuição (Sousa *et al.* 2008).

Nos trópicos e subtropicais, o caruncho do feijão-caupi, *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Crysomelidae: Bruchinae) constitui a principal praga dos grãos armazenados desta leguminosa (Dimetry *et al.* 2007); a infestação inicia-se no campo e o crescimento populacional subsequente nos locais de armazenamento; pode causar elevada perda de peso dos grãos dentro de seis meses, se medidas profiláticas não forem adotadas (Sanon *et al.* 2005).

A fim de reduzir perdas durante o armazenamento, várias táticas de controle têm sido desenvolvidas, destacando-se o uso de inseticidas químicos. Estes produtos provocam impactos negativos aos aplicadores, consumidores e a organismos não-alvo. No entanto, a maioria dos pequenos agricultores não adota novas formas de manejo devido a razões financeiras e técnicas. Assim, há a necessidade do desenvolvimento de táticas de controle mais econômicas, seguras e de fácil utilização para o manejo dessa praga (Tiroesele *et al.* 2015).

O uso de cultivares resistentes é uma tática promissora para o manejo de *C. maculatus*, uma vez que é capaz de manter a população da praga abaixo do nível de dano econômico, sem causar distúrbios ou poluição ao meio ambiente. Além disso, não exige conhecimentos específicos do agricultor, sendo de fácil utilização, baixo custo e compatível com outras táticas de controle, estando em consonância com a filosofia do Manejo Integrado de Pragas (Vendramim & Guzzo 2009). A resistência a *C. maculatus* têm sido bastante avaliada, como nos trabalhos de Sales *et al.* (2001), Mota *et al.* (2002), Kellouche *et al.* (2004), Swella e Mushobozy (2009), Onyido *et al.* (2011), Desphande *et al.* (2011) que comprovaram importantes resultados sobre a seleção de cultivares resistentes.

A resistência de sementes a pragas de grãos armazenados pode estar relacionada a proteínas com atividade inseticida como vicilinas que atuam sobre a quitina presente no intestino médio (Uchôa *et al.* 2006), inibidores de  $\alpha$ -amilases responsáveis pela inibição de enzimas que catalisam a hidrólise de ligações glicosídicas prevenindo o crescimento e desenvolvimento das larvas (Engkagul *et al.* 2004), lectinas que podem interferir em enzimas digestivas e proteínas assimiladoras, inibindo assim a digestão dos alimentos (Zhu *et al.* 1996, Coelho *et al.* 2009, Napoleão *et al.* 2012) e inibidores de tripsina, os quais são produzidos com o objetivo de modular a atividade de auto-proteases, podendo conferir resistência a insetos pragas por inibir enzimas que são importantes para a nutrição, crescimento e desenvolvimento (Laskowski & Qasim 2000, Bhattacharyya *et al.* 2007).

Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivos selecionar cultivares resistentes a *C. maculatus*, através de testes com e sem chance de escolha e avaliar a atividade de lectina e inibidor de tripsina presentes nas cultivares.

## Material e Métodos

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Entomologia Agrícola do Departamento de Agronomia, Área de Fitossanidade da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), com temperatura e umidade relativa monitoradas e fotofase de 12 h. As análises bioquímicas foram realizadas no Laboratório de Glicoproteínas do Departamento de Bioquímica da Universidade Federal de Pernambuco.

**Criação de *Callosobruchus maculatus*.** Os insetos foram provenientes da criação estoque mantida no Laboratório de Entomologia Agrícola da UFRPE. Foram criados por várias gerações, em grãos de feijão-caupi, *V. unguiculata* cv. Sempre Verde, acondicionados em recipientes de vidro de 400 mL de capacidade, devidamente fechados com tampa plástica perfurada, revestida internamente com tecido fino transparente tipo *voil* para permitir a passagem do ar.

Insetos de 0-48 h de idade foram confinados durante quatro dias para efetuarem a postura, em seguida retirados, e os recipientes mantidos sob temperatura de  $26,0 \pm 2,0$  °C, umidade relativa de  $63,08 \pm 2,6\%$  e fotofase de 12h até a emergência dos adultos.

**Cultivares de Feijão-caupi.** Utilizaram-se as cultivares provenientes da Embrapa Semiárido: BRS Paraguaçu, BRS Tracuateua, BRS Cauamé, BRS Milênio e BRS Pujante; e da Embrapa Meio-Norte: Patativa, Pingo de ouro 1-2, Canapuzinho, Epace 10, Paulistinha, BRS Inhuma, BRS Tumucumaque, Canapuzinho 1-2, Canapuzinho 2, Pingo de ouro 2, BRS Rouxinol, Sazi sambili, Capela, Corujinha, BR 17 Gurguéia, Mulato e BRS Pajeu.

**Teste sem Chance de Escolha.** As cultivares foram testadas quanto à resistência a *C. maculatus* em delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições, sendo a cultivar Sempre Verde, proveniente da UFRPE, usada como testemunha. Avaliaram-se os seguintes parâmetros: total de ovos e ovos por grão, viabilidade de ovos (%), total de adultos emergidos e adultos emergidos por grão, viabilidade da fase imatura (%), taxa instantânea de crescimento populacional ( $r_i$ ), peso

fresco de insetos (mg), perda de peso dos grãos (%), período de ovo a adulto e longevidade de adultos.

A viabilidade da fase imatura foi obtida em função do total de insetos emergidos, em relação ao número de ovos viáveis. A taxa instantânea de crescimento ( $r_i$ ) foi calculada através da equação de Walthall e Stark (1997):  $r_i = [\ln(N_f/N_0)]/\Delta t$ , em que  $N_f$  = Número final de insetos;  $N_0$  = Número inicial de insetos; e  $\Delta t$  = Número de dias em que o ensaio foi executado. Para o cálculo do período de ovo a adulto utilizou-se a fórmula:  $[\Sigma(\text{número diário de insetos emergidos} \times \text{número de dias após a infestação})/\text{total de insetos emergidos}]$ .

Para cada cultivar foram utilizadas parcelas com 20g de feijão-caupi, infestados com 10 fêmeas de *C. maculatus* com 0-48h de idade, acondicionadas em recipientes de vidro de 250 mL de capacidade, devidamente fechados com tampa perfurada e revestida com tecido fino, transparente tipo *voil* para permitir as trocas gasosas com o exterior e impedir a fuga dos insetos.

Decorridos sete dias após a montagem dos experimentos, os insetos foram retirados e iniciada a contagem de ovos após 12 dias do início do experimento. O total de adultos emergidos foi contabilizado, diariamente, a partir do início da emergência, cessando a contagem após quatro dias consecutivos sem emergência. Para a determinação do peso fresco dos insetos emergidos (0-24 h), estes foram acondicionados nos mesmos recipientes utilizados no teste, colocados em geladeira por 1 a 2 minutos e pesados. Para determinação da longevidade de adultos, separou-se 10 casais provenientes de cada cultivar, acondicionando-os em tubos de ensaio (25 x 85 mm) com as tampas fechadas com algodão e computando-se a mortalidade diária.

Os dados foram submetidos à análise de variância ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Scott & Knott (1974) a 5% de probabilidade, através do programa Sisvar versão 5.0 (Ferreira 2011).

**Teste com Chance de Escolha.** Foram selecionadas sete cultivares de feijão-caupi que apresentaram os melhores resultados em relação à resistência a *C. maculatus* dentre todos os parâmetros avaliados no teste sem chance de escolha, além da testemunha Sempre Verde. Testes individuais com chance de escolha foram realizados em arenas compostas por dois recipientes fechados, com 120 mL de capacidade, interligados por tubos plásticos a um recipiente central, também fechado.

Num dos recipientes laterais colocou-se 20g de feijão-caupi, cv. Sempre Verde (testemunha) e no outro a mesma quantidade de cada cultivar testada. No recipiente central foram liberadas 20 fêmeas de *C. maculatus* com 0-24 h de idade. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, com dois tratamentos (Testemunha e cultivar testada) em 10 repetições. Após 48h, os insetos atraídos em cada recipiente foram contados e descartados, e os grãos transferidos para outros recipientes com a finalidade de contabilizar o número de ovos e de adultos emergidos, respectivamente, seguindo a mesma metodologia do teste sem chance de escolha.

Avaliou-se a preferência dos insetos, utilizando-se os parâmetros: número de insetos atraídos, total de ovos e ovos por grão, viabilidade de ovos (%), total de adultos emergidos e adultos emergidos por grão, viabilidade da fase imatura (%), peso fresco de insetos (mg), perda de peso dos grãos (%) e período de ovo a adulto. A viabilidade da fase imatura e o período de ovo a adulto foram calculados da mesma forma que no teste sem chance de escolha.

Os dados foram submetidos à análise de variância ANOVA e as médias comparadas pelo teste t a 5% de probabilidade, através do programa SAS version 8.02 (SAS Institute 2001). Para o número de insetos atraídos fez-se a análise de frequência de escolha, adotando-se o PROC FREQ do SAS (SAS Institute 2001) e a interpretação, mediante o teste de qui-quadrado a 5% de probabilidade.

**Atividade de Proteínas Inseticidas (Lectina e Inibidor de Tripsina).** Realizou-se atividade hemaglutinante de lectina e inibidora de tripsina para as sete cultivares utilizadas no teste com chance de escolha mais a testemunha Sempre Verde.

**Atividade Hemaglutinante.** Esta atividade foi avaliada em placas de microtitulação (TPP-TechnoProdutos Plásticos, Trasadingen, Suíça) de acordo com a metodologia descrita por Napoleão *et al.* (2011).

Uma diluição seriada dos extratos das sementes das cultivares de feijão-caupi foi realizada e as amostras incubadas com uma suspensão de eritrócitos de coelho tratados com o glutaraldeído 2,5% (v/v), de acordo com Bing *et al.* (1967). A atividade hemaglutinante foi definida como o inverso da maior diluição da amostra que promoveu total hemaglutinação. A atividade hemaglutinante específica foi definida como a razão entre o título e a concentração da proteína (mg/mL). Os resultados foram observados após 45 min da adição da suspensão de eritrócitos.

**Atividade Inibidora de Tripsina.** Esta atividade foi determinada em microplacas, sendo adicionados 5 µL de tripsina bovina a 0,1 mg/mL (em tampão Tris-HCl 0,1 M, pH 8,0, contendo CaCl<sub>2</sub> 0,02 M) a 5 µL do substrato N-α-benzoil-DL-arginina-p-nitroanilida (BAPNA) e incubados com os extratos (5-15 µL) de sementes das cultivares de feijão-caupi. O volume de cada poço foi ajustado para 200 µL com tampão Tris-HCl 0,1 M, pH 8,0 contendo NaCl 0,15 M. Controles do substrato (ausência da enzima e inibidor), da amostra (ausência de enzima e substrato) e controle 100% (ausência do inibidor) foram realizados. Após 30 min de incubação, a hidrólise do BAPNA foi determinada pela medida da absorbância a 405 nm. Uma unidade de atividade inibidora de tripsina foi definida como a quantidade de inibidor que reduz a absorbância em 0,01 após 30 min a 37 °C em relação ao controle (Pontual *et al.* 2014).

## Resultados e Discussão

**Teste Sem Chance de Escolha.** Houve diferença estatística entre as cultivares para o total de ovos de *C. maculatus* ( $F=5,97$ ;  $P<0,0001$ ), que variou de  $231,60 \pm 24,03$  a  $705,00 \pm 43,93$  ovos (Tabela 1). As cultivares BRS Paraguaçu, BRS Tracuateua, BRS Cauamé, BR 17 Gurguéia, BRS Tumucumaque, BRS Milênio, BRS Pujante, BRS Inhuma, BRS Capela, Epace 10, Paulistinha, Canapuzinho e Rouxinol obtiveram os menores valores, não se diferenciando da cultivar Sempre Verde (testemunha). Castro *et al.* (2013), caracterizando a resistência de 50 genótipos de feijão-caupi a *C. maculatus* não observaram diferença estatística no total de ovos. Carvalho *et al.* (2011) observaram menor número de ovos (20,00 ovos/10 g de semente) para a cultivar Patativa.

As cultivares BRS Paraguaçu, BR 17 Gurguéia, BRS Inhuma, Canapuzinho, Epace 10 e Sazi sambili apresentaram, respectivamente, os menores valores de ovos por grão (2,30; 1,72; 2,91; 2,79; 2,75 e 2,44). Características físicas das sementes, como cor, textura, tamanho e dureza estão associadas à resistência de algumas cultivares de feijão-caupi a *C. maculatus*, proporcionando um decréscimo na oviposição (Gbaye & Holloway 2011, Lephale *et al.* 2012). No entanto, nem sempre os genótipos mais ovipositados são os mais suscetíveis, porque poderão existir outros fatores que impeçam o desenvolvimento larval do inseto, e dessa forma, um genótipo muito ovipositado pode ainda apresentar resistência (Lara 1991). Na presente pesquisa, a cultivar Pingo de ouro 1-2 apresentou elevado número de ovos ( $705,00 \pm 43,93$  ovos), no entanto, afetou significativamente a maioria dos parâmetros biológicos de *C. maculatus*; a presença de atividade hemaglutinante de lectina com 2,36 U/mg (Figura 1) nesta cultivar pode explicar os efeitos adversos ao inseto.

Lale e Kolo (1998) sugeriram que a presença de fatores bioquímicos no tegumento, independentemente da textura da semente, podem causar redução de oviposição e baixa sobrevivência desse inseto-praga em algumas cultivares de feijão-caupi resistentes.

As cultivares BR 17 Gurguéia e Pingo de ouro 1-2 proporcionaram a menor viabilidade de ovos (%) de 43,69 e 37,58%, respectivamente. Lima *et al.* (2002) verificaram menor viabilidade de ovos na cultivar Mulato por cinco gerações, no entanto não avaliaram as características morfológicas dos grãos que dificultaram a penetração das larvas, ou químicas que proporcionaram alta mortalidade daquelas recém eclodidas. Os grãos de BR 17 Gurguéia têm tamanho reduzido, podendo esta característica morfológica e características bioquímicas como a atividade hemaglutinate de lectina influenciar a viabilidade de ovos.

As cultivares BRS Paraguaçu, BRS Tracuateua, BR 17 Gurguéia, BRS Tumucumaque, BRS Milênio, BRS Pujante, BRS Inhuma, Canapuzinho, Capela, Epace 10, Paulistinha, Pingo de ouro 1-2 e Rouxinol, as quais não diferiram estatisticamente da cultivar Sempre Verde, destacaram-se em relação ao total de adultos emergidos. Esta redução na emergência de adultos nas cultivares BRS Tracuateua, BRS Tumucumaque e Epace 10 deve estar relacionada à presença de atividade hemaglutinante de lectina e inibidora de tripsina; já nas cultivares BR 17 Gurgueia e Pingo de ouro 1-2 a atividade hemaglutinante de lectina foi fator importante (Figura 1).

Sharma e Thakur (2014), estudando o desenvolvimento de *C. maculatus* em diferentes genótipos de feijão-caupi encontraram porcentagens de emergência variando de 70,25 a 89,75%. Marsaro Junior e Vilarinho (2011) constataram 30,33 insetos emergidos, em média, na cultivar BR 17 Gurgueia, sendo esta uma das que proporcionou menor emergência de insetos. Na presente pesquisa a cultivar BR 17 Gurgueia e BRS Tracuateua apresentaram baixa emergência, respectivamente, com 131,60 e 148,20 insetos. Costa e Boiça Júnior (2004) consideraram a



variável emergência de insetos um forte indicador de atributos de resistência por antibiose em sementes de feijão-caupi a *C. maculatus*.

O número de adultos emergidos por grão foi menor para as cultivares BR 17 Gurgueia e Sazi sambili que apresentaram, respectivamente, médias de 0,68 e 0,66 insetos (Tabela 2). O pequeno tamanho dos grãos da cultivar Sazi sambili pode explicar a baixa emergência de insetos. Já a cultivar BR 17 Gurgueia, além do tamanho diminuto dos grãos, o baixo número de ovos e viabilidade (%), além das características bioquímicas, como a presença de proteínas inseticidas podem ser responsáveis pelo baixo número de insetos emergidos.

A menor viabilidade da fase imatura (%) foi obtida na cultivar Pingo de ouro 1-2 (44,04%). Esta característica reflete diretamente na emergência de insetos, estando relacionada especialmente à características bioquímicas inerentes aos grãos, como a presença de proteínas inseticidas vicilinas, inibidores de tripsina, lectina etc. Castro *et al.* (2013) verificaram que os genótipos IT81 D-1045 Ereto IT81 D-1045 Enramador apresentaram uma baixa viabilidade da fase imatura para *C. maculatus*. Lima *et al.* (2001), identificando genótipos resistentes a *C. maculatus*, verificaram a menor viabilidade da fase imatura (59,5%) para IT89KD-245.

Nenhuma das cultivares obtiveram taxa instantânea de crescimento populacional ( $r_i$ ) negativa, no entanto as menores taxas de 0,06651; 0,05836 e 0,06889 foram estimadas, respectivamente, em BRS Tracuateua, BR 17 Gurgueia e Epace 10. Melo *et al.* 2012 constataram menor taxa instantânea de crescimento (0,052) para o genótipo TE96-290-126.

As cultivares BRS Paraguaçu, BRS Tracuateua, BRS Cauamé, BR 17 Gurgueia, Canapuzinho 1-2, Canapuzinho 2, Capela, Corujinha, Patativa Rouxinol e Sazi sambili apresentaram menor peso de insetos, em relação à cultivar Sempre verde (testemunha). Soares (2012) verificou que as cultivares crioulas AM-61-1-Costela de Vaca e AM-61-3-Lizão Carioquinha proporcionaram os menores pesos secos médios de insetos de 1,751 e 2,205 mg,

respectivamente. No presente trabalho, os pesos médios frescos de 4,13; 4,17 e 4,18 mg foram obtidos para as cultivares Capela, Sazi sambili e BRS Cauamé, respectivamente.

As cultivares BRS Tracuateua, BR 17 Gurgueia, BRS Tumucumaque, BRS Inhuma, Epace 10 apresentaram as menores perdas de peso dos grãos (%), respectivamente, de 11,06; 13,83; 13,48; 13,60 e 14,78% (Tabela 3). Mogbo *et al.* (2014), estudando a resistência de sementes de caupi a *C. maculatus*, observaram que a cultivar Kafanji apresentou, em média, perda de peso de 16,5%. Amusa *et al.* (2013) constataram perda de peso de 25,33% para o genótipo TVx 3236.

A cultivar Epace 10 apresentou o maior período de ovo a adulto de 30,83 dias (Tabela 3) Swella e Mushobozy (2009), comparando a susceptibilidade de sementes de diferentes leguminosas à infestação de *C. maculatus*, obtiveram um período de desenvolvimento médio de 25,2 dias em feijão-caupi. Carvalho *et al.* (2011) observaram um maior alongamento do período de ovo a adulto na cultivar Patativa, a qual proporcionou o desenvolvimento total de *C. maculatus* em 25,97 dias. O alongamento do período de ovo a adulto é um parâmetro muito importante na avaliação da resistência de cultivares de feijão-caupi, ou seja, quanto maior este período maior o grau de resistência da cultivar. Assim, a cultivar Epace 10 apresentou alta resistência a *C. maculatus* devido ao alongamento do período ovo a adulto.

A longevidade de machos não apresentou diferença estatística entre as cultivares de feijão-caupi ( $F=1,63$ ;  $P= 0,06$ ). A longevidade de fêmeas foi menor para as cultivares BRS Paraguaçu, BRS Cauamé, BRS Tumucumaque, BRS Milênio, BRS Inhuma, Epace 10, Mulato e Patativa, com médias de 11,80; 11,80, 11,50; 12,60; 11,0; 13,40; 11,40 e 12,90 dias, respectivamente. A longevidade média de adultos pode ser um parâmetro importante na avaliação da resistência de cultivares de feijão-caupi, pois efeitos negativos na alimentação das larvas podem refletir na sobrevivência de adultos. Soares (2012) observou que as linhagens IT81-D-1053 (6,6 dias), IT81-D-1045-SP (6,8 dias) e IT81-D-1045-SE (7,6 dias) e a cultivar crioula AM1-2-Quarentinha-1.2

(8,2 dias) reduziram a longevidade de *C. maculatus* não levando em consideração o sexo, e a cultivar BRS Guariba, com média de consumo de biomassa de 57,0%, apresentou uma longevidade, em média, de 11,4 dias.

**Teste com Chance de Escolha.** A partir dos resultados obtidos no teste sem chance de escolha foram selecionadas as cultivares BRS Tracuateua, BR 17 Gurgueia, BRS Tumucumaque, BRS Inhuma, Canapuzinho, Epace 10 e Pingo de ouro 1-2, por apresentarem resistência do tipo antibiose a *C. maculatus*.

O número médio de insetos atraídos foi, significativamente, menor em quase todas as cultivares testadas em comparação à cultivar Sempre Verde, com exceção da cultivar Canapuzinho. As cultivares Epace 10 e BRS Tracuateua atraíram em média 6,8 e 4,9 insetos, respectivamente, correspondendo aos menores valores entre as cultivares testadas (Figura 2).

A atração ou não de insetos adultos pode afetar a decisão de oviposição, a qual pode ser influenciada por características morfológicas ou químicas dos grãos. Cope e Fox (2003) sugeriram que as fêmeas de *C. maculatus* avaliam com precisão a quantidade relativa de recursos disponíveis dentro da semente e que elas não só depositam mais ovos em sementes maiores, como os distribui de acordo com a massa relativa das sementes disponíveis.

O número total de ovos foi, significativamente, menor que na cultivar Sempre Verde na maioria das cultivares testadas, exceto para a cultivar Pingo de ouro 1-2, que não diferiu estatisticamente desta ( $t=1,56$ ;  $P=0,1368$ ), e a cultivar BR 17 Gurgueia que obteve mais ovos que na Sempre Verde ( $t=3,78$ ;  $P=0,0014$ ). Nas cultivares BRS Tracuateua e Epace 10, o número de ovos de 172,0 e 168,0 foi considerado baixo, respectivamente (Tabela 4). Nestas cultivares, a redução no número médio de adultos atraídos pode ter influenciado a redução na aviposição. Soares (2012) observou que a cultivar BRS-Itaim foi menos preferida para a oviposição com 10,37 ovos e a cultivar crioula AM-9-1-Riso do Ano Zé Vieira (18,38 ovos) a mais preferida por

*C. maculatus*. Obopile *et al.* (2011) observaram que os genótipos B109C e B001B foram menos ovipositados, com 48,75 e 51,0 ovos, respectivamente.

Em relação ao número de ovos por grão, apenas as cultivares BRS Tracuateua ( $t=1,26$ ;  $P=0,2227$ ), BR 17 Gurgueia ( $t=0,65$ ;  $P=0,5248$ ) e Pingo de ouro 1-2 ( $t=0,36$ ;  $P=0,7251$ ) não apresentaram diferença estatística com a Sempre verde. Barreto e Quinderé (2000), avaliando a resistência de diferentes linhagens de feijão-caupi a *C. maculatus*, constaram que EVx 31-3E foi a menos ovipositada. No presente trabalho, a cultivar Epace 10 destacou-se com 1,66 ovos por grão.

As cultivares BR 17 Gurgueia ( $t=6,22$ ;  $P<0,0001$ ), BRS Inhuma ( $t=4,23$ ;  $P=0,0005$ ), Canapuzinho ( $t=19,92$ ;  $P<0,0001$ ) e Pingo de ouro 2 ( $t=9,86$ ;  $P<0,0001$ ) proporcionaram menor viabilidade de ovos, sendo que a última apresentou uma viabilidade de apenas 32,85%. Melo *et al.* (2012) não observaram diferença estatística entre os genótipos BRS Guariba, BR 17 Gurgueia, BRS Rouxinol e TE96-290-12G, em teste com chance de escolha.

O total de adultos emergidos foi significativamente menor para quase todas as cultivares, com exceção de BR 17 Gurgueia ( $t=0,01$ ;  $P<0,9946$ ). Amusa *et al.* (2013) verificaram emergência de apenas 8,50 insetos para o genótipo IT81D-994 de feijão-caupi. Nesta pesquisa, as cultivares BRS Inhuma e Epace 10 proporcionaram baixa emergência de insetos com 110,2 e 106,6 adultos, respectivamente (Tabela 5). Todas as cultivares testadas apresentaram, significativamente, menos adultos emergidos por grão, em relação à Sempre Verde.

Para a viabilidade da fase imatura, apenas a cultivar BRS Tumucumaque ( $t=0,63$ ;  $P<0,5351$ ) não apresentou viabilidade significativamente menor que a cultivar Sempre verde. A cultivar Pingo de ouro 1-2 foi a que mais afetou a viabilidade da fase imatura (42,5%) de *C. maculatus*. Lima *et al.* (2004), estudando os efeitos da alternância de genótipos na biologia de *C. maculatus*, observaram que BR 17 Gurgueia resistente (5ª geração de infestação) proporcionou 76% de

viabilidade da fase imatura. Na presente pesquisa a viabilidade de BR 17 Gurgueia, em teste com chance de escolha, foi de 61,09%.

Quanto ao peso fresco de insetos, nenhuma das cultivares diferiu estatisticamente da cultivar Sempre Verde (Tabela 6). Já para a perda de peso dos grãos (%) apenas a cultivar BR 17 Gurgueia ( $t=0,56$ ;  $P=0,5817$ ) não apresentou menor perda de peso que a cultivar Sempre Verde. A menor perda de peso em relação à testemunha foi obtida para a cultivar BRS Tracuateua (9,16%). Nalini *et al.* (2012), estudando a resistência de genótipos de feijão-caupi, observaram menor perda de peso (12,67%) para o genótipo CP 274, dentre 38 genótipos avaliados.

As cultivares BR 17 Gurgueia ( $t=9,04$ ;  $P<0,001$ ), BRS Tumucumaque ( $t=16,34$ ;  $P<0,0001$ ), BRS Inhuma ( $t=5,23$ ;  $P<0,0001$ ) e Canapuzinho ( $t=6,18$ ;  $P<0,0001$ ) alongaram o período de ovo a adulto de *C. maculatus*, em comparação com a cultivar Sempre Verde, em teste com chance de escolha. Badii *et al.* (2013), estudando a susceptibilidade varietal de feijão-caupi a *C. maculatus*, verificaram que o genótipo SARC 3-122-2 foi o que mais alongou o período de desenvolvimento do inseto (21,5 dias). No presente trabalho a cultivar Canapuzinho, em teste com chance de escolha, proporcionou o desenvolvimento de *C. maculatus* em 26,67 dias.

**Atividade Hemaglutinante.** A atividade de lectina obtida nas cultivares no teste sem chance de escolha foi maior nas cultivares Canapuzinho, Pingo de ouro 1-2, BRS Inhuma e BRS Tumucumaque, correspondendo a 2,22; 2,36; 3,07 e 3,25 (U/mg), respectivamente. Esse resultado foi semelhante ao da cultivar Sempre Verde, que apresentou atividade de 2,44 (U/mg) (Figura 1). Nas demais cultivares a atividade obtida foi abaixo de 2 (U/mg).

A atividade inseticida de lectinas de plantas e proteínas lectina-like contra espécies de insetos pertencentes às ordens Coleoptera, Lepidoptera, Díptera e Hemiptera tem sido bem documentada (Carlini & Grossi-de-Sá 2002, Macedo *et al.* 2007). Estas proteínas apresentam uma

vantagem como agentes inseticidas contra as pragas, que restringem o aumento na produção da colheita, pois ocorrem naturalmente na natureza.

De modo geral, a utilização de bioensaios *in vitro* é utilizada para avaliar as características biológicas e incluir estas proteínas em dietas artificiais, bem como oferecê-las aos insetos-alvo durante um determinado período de tempo. Vários parâmetros avaliaram os efeitos nocivos das lectinas e proteínas lectin-like nos insetos, tais como: peso larval, tamanho, cor, mortalidade, inibição da alimentação, efeitos antimetabólicos, níveis de excreção de “honeydew”, pupação, retardamento no tempo total de desenvolvimento, emergência dos adultos e/ou fecundidade na primeira e/ou segunda geração dos insetos nas quais foram criados nas dietas artificiais (Vasconcelos & Oliveira 2004). Uma outra complicação antinutricional adicional para os insetos alimentados com dieta contendo lectina é a possibilidade de que estas possam desestabilizar o metabolismo do inseto, por interferir com a função enzimática do intestino, seja indiretamente ou pela ligação a enzimas digestivas glicosiladas no intestino (Van Damme *et al.* 1998).

Um pré-requisito para a toxicidade das lectinas seria a sua capacidade de sobreviver ao ambiente proteolítico do intestino médio dos insetos. Dependendo da sua resistência, a proteólise intestinal e sua especificidade aos receptores de carboidratos, as lectinas podem-se ligar a diferentes partes do intestino e causar varias mudanças na função e morfologia (Puszai *et al.* 1990).

Macedo *et al.* (2007) observaram que a lectina ligante de galactose presente em folhas de *Bauhinia monandra* (BmoLL), quando incorporada em dieta artificial e oferecida a *C. maculatus*, apresentou efeitos adversos consideráveis. Lectinas, como as presentes em sementes de *Koeleruteria paniculata* (KpLec), também exibiram efeitos tóxicos sobre o desenvolvimento larval de *C. maculatus*, proporcionando redução de 50 % no peso médio larval. A lectina de

*Talisia esculenta* (St. Hil.) Radlk. ligante de glicose/manose produziu 90% de mortalidade, quando incorporada a 2% em dieta artificial para *C. maculatus* (Macedo *et al.* 2002a).

**Atividade Inibidora de Tripsina.** As cultivares BRS Tracuateua, BRS Tumucumaque, Epace 10 e Canapuzinho exibiram alta atividade inibidora de tripsina, com os valores de 353,12; 355,82; 366,65 e 422,21 (U/mg), respectivamente. As demais cultivares não apresentaram atividade inibidora (Figura 1).

Muitos dos inibidores de proteinases serínicas, tais como o inibidor de tripsina de sementes de soja, de feijão-caupi e o de faveiro, afetam o desenvolvimento de vários lepidópteros e coleópteros (Macedo *et al.* 2002b, Oliveira *et al.*, 2002). O efeito causado pelos inibidores de proteinases no processo digestivo dos insetos se deve à diminuição da assimilação de nutrientes, através de sua ligação específica a enzimas proteolíticas do intestino, impedindo que estas executem suas funções primordiais no processo de digestão protéica (Ryan 1990).

Quando os insetos são submetidos a uma dieta artificial contendo inibidores específicos para a principal classe de proteinases de seus intestinos, estes têm seu desenvolvimento retardado, bem como podem apresentar mortalidade bastante significativa (Franco *et al.* 2003). Alguns trabalhos, como os de Siqueira-Júnior *et al.* (2002), Sales *et al.* (2005), Uchôa *et al.* (2006) e Souza *et al.* (2010) demonstraram o efeito tóxico de diversas proteínas em larvas de *C. maculatus*.

Pesquisas têm evidenciado que os inibidores não atuam somente atrasando ou impedindo o desenvolvimento larval dos insetos. Essas proteínas também podem impedir ou retardar o estágio de pupa, o surgimento de adultos mal formados e também prejudicar a fecundidade dos insetos (De Leo & Gallerani 2002, Franco *et al.* 2004).

De acordo com Lara (1991), alguns dos parâmetros que podem caracterizar a ocorrência de resistência são: menor número de posturas, baixa viabilidade da fase de ovo-adulto, emergência reduzida dos adultos, prolongamento do período de desenvolvimento, menor consumo e menor

peso dos insetos. Enquanto a redução na oviposição e na alimentação estão comumente relacionados a não-preferência (antixenose), as demais alterações no desempenho biológico costumam estar relacionadas à antibiose.

As cultivares BRS Tracuateua, BR 17 Gurgueia, BRS Tumucumaque, BRS Inhuma, Canapuzinho, Epace 10 e Pingo de ouro 1-2 apresentaram resistência do tipo antibiose a *C. maculatus*. As cultivares BRS Tracuateua e Epace 10 foram menos preferidas para oviposição. BRS Inhuma, BR 17 Gurgueia, Canapuzinho e Pingo de ouro 1-2 destacaram-se por apresentar resistência do tipo antibiose e também não-preferência, reduzindo principalmente a viabilidade da fase imatura.

As cultivares Canapuzinho, BRS Tumucumaque, Epace 10 e BRS Tracuateua, apresentaram atividade hemaglutinante proporcionada pela lectina e inibidora de tripsina. BR 17 Gurgueia, BRS Inhuma e Pingo de ouro 1-2 apresentaram somente atividade hemaglutinante, demonstrando que estas proteínas presentes nas cultivares podem ser determinantes na resistência a *C. maculatus*.

### **Agradecimentos**

À FACEPE pela bolsa de estudos concedida ao primeiro autor deste trabalho. Aos colegas do Laboratório de Entomologia Agrícola da UFRPE pela solidariedade e amizade.

### **Literatura citada**

**Amusa, O.D., A.L. Ogunkanni, K. Bolrinwa & O. Ojobo. 2013.** Evaluation of four cowpea lines for bruchid (*Callosobruchus maculatus*) tolerance. J. Nat. Sci. Res. 3: 46-52.

**Badii, K.B., S.K. Asante & E.N.K. 2013.** Varietal Susceptibility of cowpea (*Vigna unguiculata* L.) To the storage beetle, *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae). IJSTR 2: 82-89.



- Barreto, P.D. & M.A.W. Quinderé. 2000.** Resistência de genótipos de caupi ao caruncho. *Pesq. Agropec. Bras.* 35: 779-785.
- Barros, R. & J.D. Vendramim. 1999.** Efeito de cultivares de repolho, utilizadas para criação de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), no desenvolvimento de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *An. Soc. Entomol. Brasil* 28: 469-476.
- Bhattacharyya, A., S.M. Leighton & C.R. Babu. 2007.** Bioinsecticidal activity of *Archidendron ellipticum* trypsin inhibitor on growth and serine digestive enzymes during larval development of *Spodoptera litura*. *Comp Biochem Physiol C* 145: 669-677.
- Bing, D.H., J.G.M. Weyand & A.B. Stavitsky. 1967.** Hemagglutination with aldehyde-fixed erythrocytes for assay of antigens and antibodies. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 124: 1166-1170.
- Carlini, C.R. & M.F. Grossi-de-Sá. 2002.** Plant toxic proteins with insecticidal properties. A review on their potentialities as bioinsecticides. *Toxicon* 40: 1515-1539.
- Carvalho, R.O., A.C.S. Lima & J.M.A. Alves. 2011.** Resistência de genótipos de feijão-caupi ao *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) (Coleoptera: Bruchidae). *Rev. Cienc. Agron.* 5: 50-56.
- Castro, M.J.P., E.L.L. Baldin, P.L. Cruz, C.M. Souza & P.H.S. Silva. 2013.** Characterization of cowpea genotype resistance to *Callosobruchus maculatus*. *Pesq. Agropec. Bras.* 9: 1201-1209.
- Coelho, J.S., N.D.L. Santos, T.H. Napoleão, F.S. Gomes, R.S. Ferreira, R.B. Zingali, L.C.B.B. Coelho, S.P. Leite, D.M.A.F. Navarro & P.M.G. Paiva. 2009.** Effect of *Moringa oleifera* lectin on development and mortality of *Aedes aegypti* larvae. *Chemosphere* 77: 934-938.
- Cope, J.M. & C.W. Fox. 2003.** Oviposition decisions in the seed beetle, *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae): effects of seed size on superparasitism. *J. Stored Prod. Res.* 39: 355-365.
- Costa, N.P. & A.L. Boiça Júnior. 2004.** Efeito de genótipos de caupi, *Vigna unguiculata* (L.) Walp., sobre o desenvolvimento de *Callosobruchus maculatus* (Fabricius) (Coleoptera: Bruchidae). *Neotrop. Entomol.* 33: 77-83.
- De Leo, G.J. & R. Gallerani. 2002.** The mustard trypsin inhibitor 2 affects the fertility of *Spodoptera littoralis* larvae fed on transgenic plants. *Ins. Biochem. Mol. Biol.* 32: 489-496.
- Desphande, V.K., B. Makanur, S.K. Desphande, S. Adiger & P.M. Salimath. 2011.** Quantitative and qualitative losses caused by *Callosobruchus maculatus* in cowpea during seed storage. *Plant Arch.* 11: 723-731.

- Dimetry, N.Z., S. El-Gengaihi & A.M. E.A. El-Salam. 2007.** Protection of stored cowpea from *Callosobruchus maculatus* (F.) attack by some plant extracts formulations in different storage sacks. *Herba Pol.* 53: 71–84.
- Engkagul, A., P. Hormchan & A. Wongpiyasatid. 2004.** Gamma-irradiation induced alteration in mungbean R-amylase inhibitory activities: effect on R-amylase and development of mungbean weevil (*Callosobruchus maculatus*). *Kasetsart J. (Nat. Sci.)*. 38: 207–215.
- Ferreira, D.F. 2011.** Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciênc. Agrotec.*, 35: 1039-1042.
- Freire Filho, F.R., V.Q. Ribeiro, M.M. Rocha, K.J.D. Silva, M.S.R. Nogueira & E.V. Rodrigues. 2011.** Feijão-caupi no Brasil: produção, melhoramento genético, avanços e desafios. Teresina, Embrapa Meio-Norte, 84p.
- Franco, O.L., R.C. Santos, J.A.N. Batista, A.C.M. Mendes, M.A.M. Araújo, R.G. Monnerat, M.F. Grossi-de-Sá & S.M. Freitas. 2003.** Effects of Black-Eyed Pea Trypsin/Chymotrypsin inhibitor on Proteolytic Activity and on Development of *Anthonomus grandis*. *Phytochemistry*, 63:343-349.
- Franco, O.L., S.C. Dias, C.P. Magalhães, A.C.S. Monteiro, C. Bloch Jr, F.R. Melo, O.B. Oliveira-Neto, R.G. Monnerat & M.F. Grossi-de-Sá. 2004.** Effects of Kunitz trypsin inhibitor on the cotton boll weevil (*Anthonomus grandis*). *Phytochemistry* 65: 81-89.
- Gbaye, O.A. & G.J Holloway. 2011.** Varietal effects of cowpea, *Vigna unguiculata*, on tolerance to malathion in *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). *J. Stored Prod. Res.* 47:365-371.
- Kellouche, A., N. Soltani & J Huignard. 2004.** Reproductive activity and of (Coleoptera: Bruchidae) in seeds of different cultivars of *Vigna unguiculata* (Walp) and *Cicer arietinum* (L.). *Int. J. Trop. Insect Sci.* 24: 304-310.
- Kornegay, J., C. Cardona & C.E. Posso. 1993.** Inheritance of resistance to mexican bean weevil in common bean, determined by bioassay and biochemical tests. *Crop Sci.* 33: 589-594.
- Lale, N.E.S. & A.A. Kolo. 1998.** Susceptibility of eight genetically improved local cultivars of cowpea to *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) in Nigeria. *Int. J. Pest Manag.* 44: 25-27.
- Laskowski J.R.M. & M. Qasim. 2000.** What can the structures of enzyme–inhibitor complexes tell us about the structures of enzyme substrate complexes? *Biochim. Biophys. Acta* 1477: 324–337.
- Lara, F.M. 1991.** Princípios de resistência de plantas a insetos. 2.ed. São Paulo: Ícone. 336p.

- Lephale, S., A. Addo-Bediako & V. Ayodele. 2012.** Susceptibility of seven cowpea cultivars (*Vigna unguiculata*) to cowpea beetle (*Callosobruchus maculatus*). *Agric. Sci. Res. J.* 2: 65-69.
- Lima, M.P.L., J.V. Oliveira, R. Reginaldo Barros & J.B. Torres. 2001.** Identificação de genótipos de caupi *Vigna unguiculata* (L.) Walp. resistentes a *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) (Coleoptera: Bruchidae). *Neotrop. Entomol.* 30: 289-295.
- Lima, M.P.L., J.V. Oliveira, R. Barros, J.B. Torres & M.E.C. Gonçalves. 2002.** Estabilidade da resitência de genótipos de caupi a *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) em gerações sucessivas. *Sci. Agric.* 59: 275-280.
- Lima, M.P.L., J.V. Oliveira, R. Barros & J.B. Torres. 2004.** Alternância de genótipos de caupi afeta a biologia de *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) (Coleoptera: Bruchidae). *Sci. agric.* 61: 27-31.
- Lima, C.J.G.S., F.A. Oliveira, J.F. Medeiros, M.K.T. Oliveira & A.B. Almeida Júnior. 2007.** Resposta do Feijão Caupi a Salinidade da Água de Irrigação. *GVAA.* 2: 79-86.
- Macedo, M.L.R., M.G.M. Freire, J.C. Novello & S. Marangoni. 2002a.** *Talisia esculenta* lectin and larval development of *Callosobruchus maculatus* and *Zabrotes subfasciatus* (Coleoptera: Bruchidae). *Biochim. Biophys. Acta General Subjects.* 1571: 83-88.
- Macedo, M.L.R., G.C. Mello, M.G.M. Freire, J.C. Novello, S. Marangoni & D.G.G Matos. 2002.** Effect of a Trypsin Inhibitor from *Dimorphandra mollis* seeds on the Development of *Callosobruchus maculatus*. *Plant Physiol. Biochem.* 40:891-898.
- Macedo, M.L.R., M.G.M. Freire, M.B.R. Silva, L.C.B.B. Coelho. 2007.** Insecticidal action of *Bauhinia monandra* leaf lectin (BmoLL) against *Anagasta kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae), *Zabrotes subfasciatus* and *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). *Comp. Biochem. Physiol. Part A Mol. Integr. Physiol.* 146: 486-498.
- Marsaro Júnior, A.L. & A.A. Vilarinho. 2011.** Resistência de cultivares de feijão-caupi ao ataque de *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchidae) em condições de armazenamento. *Rev. Acad. Ciênc. Agrár. Ambient.* 9: 51-55.
- Melo, A.F., L.S. Fontes, D.R.S. Barbosa, A.A.R. Araújo, E.P.S. Sousa, L.L.L. Soares & P.R.R. Silva, 2012.** Resistência de genótipos de feijão-caupi ao ataque de *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae). *Arq. Inst. Biol.* 79: 425-429.
- Mogbo, T.C., T.E. Okeke & C.E. Akunne. 2014.** Studies on the Resistance of Cowpea Seeds (*Vigna unguiculata*) to Weevil (*Callosobruchus maculatus*) Infestations. *AJZR* 2: 37-40.
- Mota, A.C., K.V.S. Fernandes, M.P. Sales, V.M.Q. Flores & E. Xavier Filho. 2002.** Cowpea vicilins: fraction of urea denatured sub-units and effects on *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae) development. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 45: p.1-5.

- Nalini, R., R.U. Kumari, D.S. Rajavel & R.K.M. Baskaran. 2012.** Studies on relative resistance of cowpea genotypes to *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) both under field and laboratory condition. IJABR. 2: 496-499.
- Napoleão, T.H., F.S. Gomes, T.A. Lima, N.D.L. Santos, R.A. Sá, A.C. Albuquerque, L.C.B.B. Coelho & P.M.G. Paiva. 2011.** Termiticidal activity of lectins from *Myracrodruon urundeuva* against *Nasutitermes corniger* and its mechanisms. Int. Biodeterior. Biodegrad. 65: 52-59.
- Napoleão, T.H., E.V. Pontual, T.A. Lima, N.D.L. Santos, R.A. Sá, L.C.B.B., Coelho, D.M.A.F., Navarro & P.M.G. Paiva, 2012.** Effect of *Myracrodruon urundeuva* leaf lectin on survival and digestive enzymes of *Aedes aegypti* larvae. Parasitol. Res. 110: 609-616.
- Obopile, M., K. Masiapeto & C. Gwafila. 2011.** Variation in reproductive and developmental parameters of *Callosobruchus maculatus* (F) reared on ten Botswana cowpea landraces. Afr. J Biotechnol. 10: 3924-13928.
- Oliveira, A.P., J.S. Araújo, E.U. Alves, M.A S. Noronha, C.M. Cassimiro & F.G. Mendonça. 2001.** Rendimento de feijão-caupi cultivado com esterco bovino e adubo mineral. Hortic. Bras. 19: 81-84.
- Oliveira, A.S., R.A Pereira, L.M. Lima, A.H.A. Morais, F. Melo, O.L. Franco, C. Bloch Jr, M.F. Grossi de Sá & M.P. Sales. 2002.** Activity toward Bruchid Pest of a Kunitz-Type Inhibitor from Seeds of the Algaroba tree (*Prosopis juliflora* d.c.). Pestic. Biochem. Phys. 72: 122-132.
- Onyido, A.E., C.C. Zeibe, N.J. Okonkwo, I.K. Ezugbo-Nwobi, C.M. Egbuche, O.I. Udemezue & L.C. Ezeanya. 2011.** Damage Caused by the Bean Bruchid, *Callosobruchus maculatus* (Fabricius) on different legume seeds on sale in Awka and Onitsha markets, Anambra State, South Eastern Nigeria. AFRREV 5:116-123.
- Pontual, E.V., N.D.L. Santos, M.C. Moura, L.C.B.B. Coelho, D.M.A.F. Navarro, T.H. Napoleão & P.M.G. Paiva. 2014.** Trypsin inhibitor from *Moringa oleifera* flowers interferes with survival and development of *Aedes aegypti* larvae and kills bacteria inhabitant of larvae midgut. Parasitol. Res. 113:727-733.
- Pusztai, A., S.W.B. Ewen, G.Grant, W.J. Peumans, E.J.M. Van Damme, L. Rubio & S. Bardocz. 1990.** Relationship between survival and binding of plant lectins during small intestinal passage and their effectiveness as growth factors. Digestion 46: 308-316.
- Ryan, C.A. 1990.** Protease inhibitors in plants: genes for improving defenses against insects and pathogens. Annu. Re. Phytopathol. 28: 425- 449.
- Sales, M.P., P.P. Pimenta, N.S. Paes, M.F. Grossi-de-Sà, J. Xavier-Filho. 2001.** Vicilins (7S storage globulins) of cowpea (*Vigna unguiculata*) seeds bind to chitinous structures of the

midgut of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) larvae. Braz. J. Med. Biol. Res. 34: 27–34.

**Sales, M.P., L.B.S. Andrade, M.B. Ary, M.R.A. Miranda, F.M. Teixeira, A.S. Oliveira & J. Xavier-Filho. (2005).** Performance of bean bruchids *Callosobruchus maculatus* and *Zabrotes subfasciatus* (Coleoptera: Bruchidae) reared on resistant (IT81D-1045) and susceptible (Epace 10) *Vigna unguiculata* seeds: Relationship with trypsin inhibitor and vicilin excretion. Comp. Biochem. Physiol., Part A Mol. Integr. Physiol. 142: 422-426.

**Sanon, A., L.C.B. Dabir´e, A.P. Ou´edraogo & J. Huignard. 2005.** Field occurrence of bruchid pests of cowpea and associated parasitoids in a sub humid zone of Burkina Faso: importance on the infestation of two cowpea varieties at harvest. J. Plant Pathol. 4: 14–20.

**SAS Institute. 2001.** User’s guide, version 8.02, TS level 2MO. SAS Institute Inc., Cary, NC.

**Scott, A.J. & M.A. Knott. (1974).** A cluster analysis method for grouping means in the analyses of variance. Biometrics, 30: 502-512.

**Sharma, S. & D.R. Thakur. 2014.** Comparative developmental compatibility of *Callosobruchus maculatus* on cowpea, chickpea and soybean genotypes. Asian J. Biol. Sci. 7: 270-276.

**Siqueira-Júnior, C.L., K.V.S. Fernandes, O.L.T. Machado, M. Cunha, V.M. Gomes, D. Moura & D. Jacinto, T. 2002.** 87kDa tomato cystatin exhibits properties of a defense protein and forms protein crystals In prosystemin overexpressing transgenic plants. Plant Physiol. Biochem. 40: 247-254.

**Soares, L.L.L. 2012.** Avaliação da resistência de genótipos de feijão-caupi *Vigna unguiculata* (L.) Walp. ao caruncho *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) (Coleoptera: Crysomelidae). Dissertação de Mestrado, UFPI, Teresina, 65p.

**Sousa, A.H., J.E. Brito, P.H.S. Maia, P.B. Maracajá & L.D. Geremias. 2008.** Ataque de *Callosobruchus maculatus* ao feijão caupi comercializado em Teresina-PI. Expressão 39: 77-80.

**Souza, S.M., A.F. Uchôa, J.R. Silva, R.I. Samuels, A.E.A. oliveira, E.M. Oliveira, R.T. Linhares, D. Alexandre & C.P. Silva. 2010.** The fate of vicilins, 7S storage globulins, in larvae and adult *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae). J. Insect Phys. 56: 1130-1138.

**Swella, G.B. & D.M.K. Mushobozy. 2009.** Comparative susceptibility of different legume seeds to infestation by cowpea bruchid *Callosobruchus maculatus* (F.). (Coleoptera: Chrysomelidae). Plant Prot. Sci. 42: 19-24.

**Tiroesele, B., K. Thomas & S. Seketeme. 2015.** Control of Cowpea Weevil, *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae), Using Natural Plant Products. Insects 6: 77-84.

- Uchôa, A.F., R.A. Damatta, C.A. Retamal, J.M. Albuquerque-Cunha, S.M. Souza, R.I. Samuels, C.P. Silva & J. Xavier-Filho. 2006.** Presence of the storage seed protein vicilin in internal organs of larval *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). *J. Insect Physiol.* 52: 169-178.
- Van Damme, E.J.M., W.J. Peumans, A. Barre & P. Rougé. 1998.** Plant lectins: a composite of several distinct families of structurally and evolutionary related proteins with diverse biological roles. *Crit. Rev. Plant Sci.* 17: 575-692.
- Vendramim, J.D. & E.C. Guzzo. 2009.** Resistência de plantas e a bioecologia e nutrição dos insetos. In: Panizzi, A.R. & J.R.P. Parra (Eds.). *Bioecologia e nutrição de insetos: base para o manejo integrado de pragas.* Brasília DF: Embrapa Informação Tecnológica. p.1055-1105.
- Vasconcelos, I.M. & J.T.A. Oliveira. 2004.** Antinutritional properties of plant lectins. *Toxicon* 44: 1737-1747.
- Walthall, W.K. & J.D. Stark. 1997.** Comparasion of two population level ecotoxicological endpoints: The intrinsic (rm) and instantaneous (ri) rates of increase. *Environ. Toxicol. Chem.* 16: 1068-1073.
- Zhu, K., J.E. Huesing, R.E. Shade, R.A. Bressan, P.M. Hasegawa & L.L. Murdock. 1996.** An insecticidal N-acetylglucosamine-specific lectin gene from *Griffonia simplicifolia* (Leguminosae), *Plant Physiol.* 110: 195– 202.

Tabela 1. Valores de total de ovos, ovos por grão, viabilidade de ovos (%) e total de adultos emergidos de *Callosobruchus maculatus* em diferentes cultivares de feijão-caupi. Teste sem chance de escolha.

Cultivar	Total de ovos <sup>2</sup>	Ovos por grão <sup>2</sup>	Viabilidade de ovos (%) <sup>2</sup>	Total de adultos emergidos <sup>1</sup>
Sempre Verde <sup>1</sup>	353,20±35,52b	4,45±0,45b	64,53±2,69b	227,60±24,6b
BRS Paraguaçu	290,40±43,32b	2,30±0,33c	75,69±2,15a	217,40±30,06b
BRS Tracuateua	231,60±24,03b	3,52±0,36b	63,54±3,03b	148,20±18,70b
BRS Cauamé	401,60±59,87b	3,97±0,59b	74,40±1,51a	299,80±45,33a
BR 17 Gurguéia	292,60±95,96b	1,72±0,55c	43,69±4,47d	131,60±42,01b
BRS Tumucumaque	373,80±84,32b	3,56±0,83b	59,59±2,47c	219,40±44,35b
BRS Milênio	281,60±33,11b	3,33±0,36b	76,78±2,64a	215,60±24,97b
BRS Pujante	306,60±23,76b	3,97±0,28b	70,86±4,33a	216,80±21,20b
BRS Pajeu	506,00±76,48a	3,78±0,56b	72,68±1,01a	365,00±50,83a
BRS Inhuma	362,50±74,40b	2,91±0,73c	50,40±2,31c	178,75±31,68b
Canapuzinho	348,25±58,06b	2,79±0,45c	55,86±4,83c	188,50±24,86b
Canapuzinho 1-2	606,80±58,26a	6,10±0,60a	51,78±4,43c	309,40±33,26a
Canapuzinho 2	679,00±31,57a	6,29±0,28a	54,55±2,26c	368,40±12,36a
Capela	405,20±58,85b	4,42±0,63b	56,53±2,05c	225,80±27,84b
Corujinha	552,80±79,91a	3,73±0,55b	62,75±3,66b	357,20±61,77a
Epace 10	279,20±48,79b	2,75±0,47c	60,30±1,80c	166,20±26,93b
Mulato	549,20±35,91a	3,82±0,24b	70,29±5,38a	380,80±20,36a
Patativa	509,20±32,82a	3,90±0,27b	55,62±1,74c	281,20±10,91a
Paulistinha	368,50±37,05b	3,52±0,37b	62,52±7,65b	231,50±35,62b
Pingo de ouro 1-2	705,00±43,93a	7,00±0,42a	37,58±0,99d	264,20±14,93b
Pingo de ouro 2	520,00±54,58a	5,02±0,51a	59,10±1,71c	305,60±29,41a
Rouxinol	427,40±56,10b	3,73±0,48b	59,29±4,36c	244,40±18,94b
Sazi sambili	572,00±55,46a	2,44±0,24c	55,79±1,95c	316,00±22,16a

<sup>1</sup>Testemunha

<sup>2</sup>Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem pelo teste de Sott & Knott a 5% de probabilidade.

Tabela 2. Valores de insetos emergidos por grão, viabilidade da fase imatura (%), taxa instantânea de crescimento populacional ( $r_i$ ) e peso fresco de insetos de *Callosobruchus maculatus* em diferentes cultivares de feijão-caupi. Teste sem chance de escolha.

Cultivar	Adultos emergidos por grão <sup>2</sup>	Viabilidade da fase imatura (%) <sup>2</sup>	Taxa instantânea de crescimento ( $r_i$ ) <sup>2</sup>	Peso fresco de insetos (mg) <sup>2</sup>
Sempre Verde <sup>1</sup>	2,85±0,30a	79,24±2,65b	0,07753±0,002b	4,80±0,14a
BRS Paraguaçu	1,72±0,23c	90,87±1,67a	0,07584±0,003b	4,22±0,10b
BRS Tracuateua	2,25±0,28b	78,02±2,26b	0,06651±0,003c	4,28±0,05b
BRS Cauamé	2,97±0,44a	89,54±0,81a	0,08372±0,004a	4,18±0,03b
BR 17 Gurguéia	0,68±0,03d	68,49±3,99c	0,05836±0,009c	4,38±0,08b
BRS Tumucumaque	2,08±0,43b	71,70±2,75c	0,07513±0,005b	5,07±0,18a
BRS Milênio	2,55±0,27b	90,57±1,29a	0,07611±0,002b	4,70±0,11a
BRS Pujante	2,81±0,27a	90,19±2,26a	0,07647±0,002b	4,80±0,20a
BRS Pajeu	0,84±0,02a	84,87±2,77a	0,08896±0,003a	4,60±0,28a
BRS Inhuma	1,69±0,30c	57,03±1,62c	0,07093±0,004b	4,78±0,03a
Canapuzinho	1,51±0,19c	71,70±6,80c	0,07276±0,003b	4,82±0,18a
Canapuzinho 1-2	3,10±0,33a	60,58±7,23c	0,08521±0,002a	3,93±0,24b
Canapuzinho 2	3,41±0,09a	60,87±3,49c	0,09010±0,0008a	4,40±0,08b
Capela	2,46±0,29b	67,20±6,45c	0,07698±0,003b	4,13±0,29b
Corujinha	2,41±0,42b	73,65±3,35b	0,08710±0,005a	4,38±0,48b
Epace 10	1,64±0,26c	76,26±1,81b	0,06889±0,004c	4,87±0,17a
Mulato	2,65±0,13b	76,64±6,17b	0,09083±0,001a	5,21±0,20a
Patativa	2,15±0,08b	61,89±1,79c	0,08333±0,001a	4,32±0,21b
Paulistinha	2,20±0,32b	82,42±7,58b	0,07746±0,004b	5,09±0,10a
Pingo de ouro 1-2	2,62±0,14b	44,04±1,34d	0,08167±0,001a	4,62±0,07a
Pingo de ouro 2	2,94±0,27a	65,94±1,67c	0,08490±0,002a	4,96±0,18a
Rouxinol	2,13±0,16b	66,33±4,12c	0,07959±0,002b	4,41±0,05b
Sazi sambili	0,66±0,02d	66,34±2,37c	0,08609±0,001a	4,17±0,22b

<sup>1</sup>Testemunha

<sup>2</sup>Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem pelo teste de Sott & Knott a 5% de probabilidade.



Tabela 3. Valores de perda de peso dos grãos (%), período de ovo a adulto, longevidade de machos e fêmeas de *Callosobruchus maculatus* em diferentes cultivares de feijão-caupi. Teste sem chance de escolha.

Cultivar	Perda de peso dos grãos (%) <sup>2</sup>	Período ovo a adulto <sup>2</sup>	Long. de machos <sup>2</sup>	Long. de fêmeas <sup>2</sup>
Sempre Verde <sup>1</sup>	35,79±1,12a	27,41±0,12e	8,70±0,33a	16,90±0,55a
BRS Paraguaçu	30,99±2,84b	27,01±0,21e	6,80±0,75a	11,80±1,30b
BRS Tracuateua	11,06±0,58d	27,60±0,18d	8,40±0,95a	14,10±1,62a
BRS Cauamé	20,16±0,53c	27,91±0,28d	6,80±0,75a	11,80±1,87b
BR 17 Gurguéia	13,83±0,85d	29,94±0,43b	7,60±0,43a	15,60±0,82a
BRS Tumucumaque	13,48±3,52d	28,46±0,14c	9,30±0,64a	11,50±0,74b
BRS Milênio	29,40±1,81b	25,15±0,29f	7,30±0,58a	12,60±0,50b
BRS Pujante	29,65±1,71b	25,70±0,56f	8,20±0,20a	14,30±1,17a
BRS Pajeu	33,50±1,74a	27,85±0,21d	8,30±0,46a	16,00±0,57a
BRS Inhuma	13,60±2,68d	28,92±0,27c	7,75±0,43a	11,00±0,86b
Canapuzinho	21,32±4,32c	28,93±0,12c	8,50±0,35a	15,00±0,97a
Canapuzinho 1-2	32,53±2,11a	27,97±0,15d	7,50±0,61a	14,70±0,37a
Canapuzinho 2	35,66±2,39a	27,97±0,35d	8,00±0,57a	16,10±1,05a
Capela	24,19±2,22b	28,20±0,43d	8,90±0,29a	14,60±0,99a
Corujinha	33,20±4,79a	27,07±0,10e	6,80±0,20a	14,60±0,94a
Epace 10	14,78±3,85d	30,83±0,16a	7,90±0,24a	13,40±0,50b
Mulato	38,07±0,69a	26,88±0,11e	8,30±0,64a	11,40±0,88b
Patativa	28,49±1,27b	27,96±0,32d	8,30±0,12a	12,90±0,74b
Paulistinha	25,67±3,68b	28,81±0,64c	8,37±0,12a	15,12±1,39a
Pingo de ouro 1-2	20,25±1,30c	28,97±0,10c	8,10±0,73a	15,20±1,42a
Pingo de ouro 2	29,71±1,43b	28,54±0,11c	8,30±0,33a	15,00±0,82a
Rouxinol	27,61±1,86b	27,32±0,15e	7,60±0,57a	16,30±0,99a
Sazi sambili	33,65±2,04a	27,91±0,20d	8,40±0,95a	14,00±0,35a

<sup>1</sup>Testemunha

<sup>2</sup>Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem pelo teste de Sott & Knott a 5% de probabilidade.

Tabela 4. Valores de total de ovos, ovos por grão e viabilidade de ovos (%) de *Callosobruchus maculatus* em diferentes cultivares de feijão-caupi. Teste com chance de escolha.

Cultivar	Total de ovos <sup>1</sup>		Ovos por grão <sup>1</sup>		Viabilidade de ovos (%) <sup>1</sup>	
	Sempre Verde	Cultivar	Sempre Verde	Cultivar	Sempre Verde	Cultivar
BRS Tracuateua	299,0±19,37	172,0±25,15*	3,07±0,20	2,45±0,44	75,79±5,54	55,69±9,93
BR 17 Gurguéia	235,2±27,77	355,4±15,50*	2,29±0,27	2,10±0,09	75,72±3,60	50,95±1,69*
BRS Tumucumaque	377,2±3,54	254,2±33,83*	3,84±0,02	2,43±0,32*	74,23±3,54	65,15±2,35
BRS Inhuma	284,4±19,17	209,8±33,03	2,90±0,17	2,02±0,32*	70,98±1,19	52,26±4,25*
Canapuzinho	379,2±18,57	257,6±14,37*	3,77±0,19	2,04±0,11*	80,12±0,94	57,23±0,65*
Epace 10	342,4±45,39	168,0±8,22*	3,53±0,47	1,66±0,08*	64,83±3,67	64,09±2,32
Pingo de ouro 1-2	378,8±4,47	354,2±15,14	3,77±0,07	3,82±0,14	66,04±0,46	32,85±3,33*

<sup>1</sup>\* Significativo pelo teste t a 5% de probabilidade.

Tabela 5. Valores de total de adultos emergidos, adultos emergidos por grão e viabilidade da fase imatura (%) de *Callosobruchus maculatus* em diferentes cultivares de feijão-caupi. Teste com chance de escolha.

Cultivar	Total de adultos emergidos <sup>1</sup>		Adultos emergidos por grão <sup>1</sup>		Viabilidade da fase imatura (%) <sup>1</sup>	
	Sempre Verde	Cultivar	Sempre Verde	Cultivar	Sempre Verde	Cultivar
BRS Tracuateua	221,0±15,82	89,4±21,26*	2,27±0,16	1,36±0,31*	86,65±6,30	60,89±7,73*
BR 17 Gurguéia	182,2±26,79	182,0±11,98	1,78±0,26	1,07±0,07*	80,55±3,20	61,09±1,80*
BRS Tumucumaque	280,8±15,56	160,0±15,96*	2,85±0,14	0,77±0,02*	80,36±3,62	77,66±2,25
BRS Inhuma	200±10,56	110,2±17,16*	2,04±0,09	1,06±0,16*	83,62±1,80	61,59±4,68*
Canapuzinho	303,4±14,14	147,0±7,69*	3,01±0,14	1,16±0,06*	85,34±1,22	65,05±1,66*
Epace 10	209±21,48	106,6±3,91*	2,15±0,22	1,05±0,04*	82,14±2,99	72,02±2,42*
Pingo de ouro 1-2	256,67±2,90	137,05±9,83*	2,48±0,05	1,24±0,10*	76,44±1,98	42,50±4,02*

<sup>1</sup>\* Significativo pelo teste t a 5% de probabilidade.

Tabela 6. Valores de peso fresco de insetos, perda de peso dos grãos (%) e período de ovo a adulto de *Callosobruchus maculatus* em diferentes cultivares de feijão-caupi. Teste com chance de escolha.

Cultivar	Peso fresco de insetos (mg) <sup>1</sup>		Perda de peso dos grãos (%) <sup>1</sup>		Período ovo a adulto <sup>1</sup>	
	Sempre Verde	Cultivar	Sempre Verde	Cultivar	Sempre Verde	Cultivar
BRS Tracuateua	4,80±0,03	4,86±0,17	22,61±1,50	9,16±1,97*	26,40±0,08	26,64±0,18
BR 17 Gurguéia	4,79±0,09	4,36±0,13	23,78±3,43	25,74±1,06	26,52±0,10	27,54±0,05*
BRS Tumucumaque	4,77±0,09	4,59±0,04	36,50±1,65	19,51±1,07*	26,51±0,05	27,53±0,02*
BRS Inhuma	4,99±0,28	4,86±0,06	19,95±1,07	12,12±1,69*	26,57±0,03	27,04±0,08*
Canapuzinho	4,98±0,13	4,94±0,15	37,77±0,97	22,39±0,68*	26,89±0,06	27,67±0,10*
Epace 10	4,96±0,49	4,86±0,08	20,85±2,39	14,11±0,70*	26,76±0,06	26,67±0,14
Pingo de ouro 1-2	4,78±0,23	4,47±0,07	35,96±0,33	15,39±0,76*	27,21±0,08	27,11±0,09

<sup>1</sup>\* Significativo pelo teste t a 5% de probabilidade.

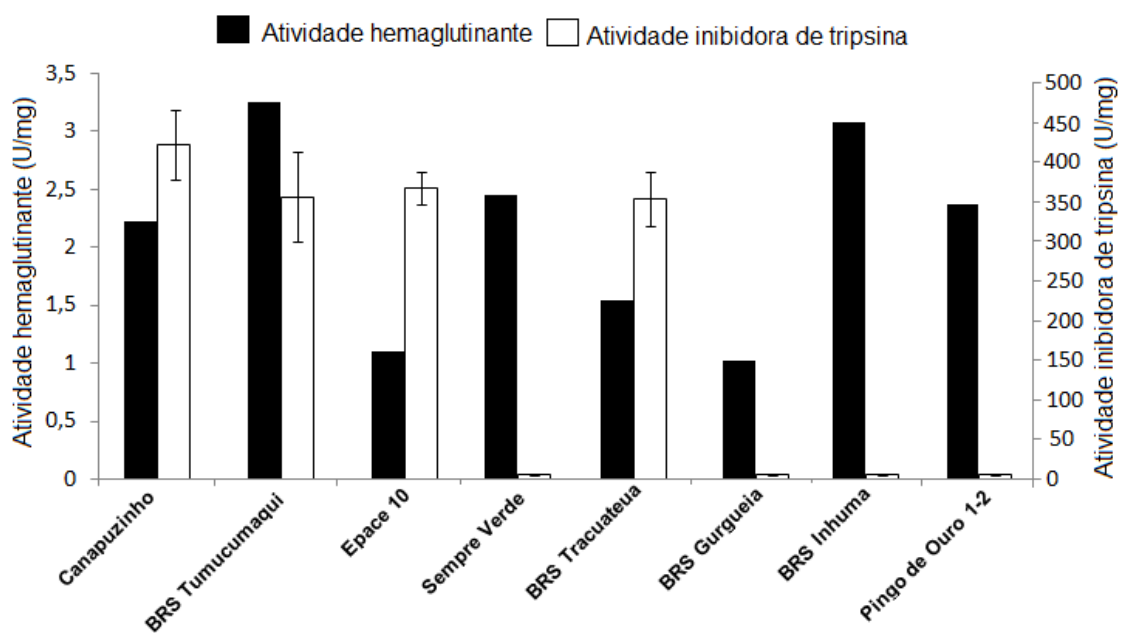


Figura 1. Atividades hemaglutinante e inibidora de tripsina de diferentes cultivares de feijão-caupi.

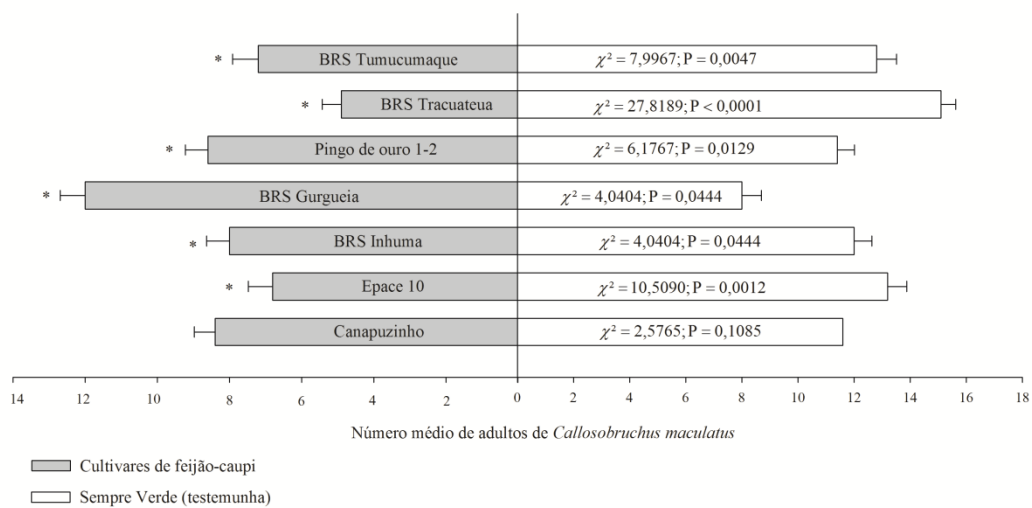


Figura 2. Número médio de adultos atraídos de *Callosobruchus maculatus* em diferentes cultivares de feijão-caupi.

### CAPÍTULO 3

TOXICIDADE E REPELÊNCIA DE CONSTITUINTES QUÍMICOS ABUNDANTES EM  
ÓLEOS ESSENCIAIS NO MANEJO DE *Callosobruchus maculatus* (FABR.) (COLEOPTERA:  
CHRYSOMELIDAE: BRUCHINAE).

DOUGLAS R. S. BARBOSA<sup>1</sup>, JOSÉ V. OLIVEIRA<sup>1</sup>, PAULO H. S. SILVA<sup>2</sup>, MAURICÉA F.  
SANTANA<sup>1</sup>, MARIANA O. BREDÁ E VINÍCIUS L. MIRANDA<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Agronomia – Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua  
Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, 52171-900, Recife, PE, Brasil.

<sup>2</sup>Laboratório de Entomologia, Embrapa Meio-Norte, Av. Duque de Caxias 5650, Buenos Aires,  
64006-220, Teresina, PI, Brasil.

<sup>3</sup>Campus Amílcar Ferreira Sobral- Departamento de Biologia, Universidade Federal do Piauí, BR  
343 km 3,5, Meladão, 64800-000, Floriano, PI, Brasil.

<sup>1</sup>Barbosa, D.R.S., J.V. Oliveira, P.H.S. Silva, M.F. Santana, M.O. Breda & V.L. Miranda. Toxicidade e repelência de constituintes químicos abundantes em óleos essenciais no manejo de *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae). A ser submetido.

RESUMO – O presente trabalho teve como objetivo avaliar a toxicidade, os efeitos na oviposição, emergência de adultos, taxa instantânea de crescimento populacional e repelência de cinco constituintes químicos de óleos essenciais sobre *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) em feijão-caupi, *Vigna unguiculata* (L.) Walp. Utilizaram-se os terpenos Limoneno, Geraniol e  $\alpha$  – Pineno e os fenil propenos Eugenol e trans - Anetole. As  $CL_{50}$  e  $CL_{95}$  destes constituintes químicos variaram de 60,99 a 2142 ppm e 79,76 a 3217 ppm, respectivamente. O número de ovos e emergência de adultos foram inversamente proporcionais ao aumento das concentrações. As taxas instantâneas de crescimento populacional ( $r_i$ ) foram negativas nas maiores concentrações utilizadas. Os constituintes químicos  $\alpha$  – Pineno e Geraniol foram repelentes aos níveis das  $CL_{50}$  e  $CL_{95}$ .

PALAVRAS-CHAVE: Caruncho do feijão-caupi, inseticidas naturais, bioatividade.



TOXICIT AND REPELLENCY OF ABUNDANT CHEMICAL CONSTITUENTS IN  
ESSENTIAL OILS ON *Callosobruchus maculatus* (FABR.) (COLEOPTERA:  
CHRYSOMELIDAE: BRUCHINAE) MANAGEMENT

ABSTRACT- This study aimed to evaluate the effects on oviposition, adult emergence, instantaneous rate of growth and repellency of five chemical constituents of essential oils on *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) in cowpea *Vigna unguiculata* (L.) Walp. Were used the terpenes Limonene, Geraniol and  $\alpha$  - Pinene the phenylpropenes Eugenol and trans - Anethole. The LC<sub>50</sub> and LC<sub>95</sub> of these chemical constituents ranging from 60.99 to 2142 ppm and 79.76 to 3217 ppm, respectively. The number of eggs and adult emergence were inversely proportional to the increase of concentrations. The instantaneous rate of growth (ri) were negative at the highest concentrations used. The chemical constituents  $\alpha$  - Pinene and Geraniol were repellent at levels of LC<sub>50</sub> and LC<sub>95</sub>.

KEY WORDS: Cowpea weevil, botanical insecticides, bioactivity.

## Introdução

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) é uma espécie de ampla distribuição mundial, principalmente nas regiões tropicais, em virtude de apresentarem condições edafoclimáticas semelhantes às da África, a sua região de origem (Brito *et al.* 2009). Tem significativa importância socioeconômica para o Brasil, como suprimento alimentar, na fixação de mão-de-obra no campo e como componente da produção agrícola, especialmente nas regiões Norte e Nordeste (Bezerra *et al.* 2008).

Dentre as pragas que danificam os grãos durante o armazenamento, destaca-se o gorgulho-do-caupi, *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Chyromelidae: Bruchidae), por reduzir a qualidade e o valor comercial do produto (Sousa *et al.* 2005). O seu controle é feito comumente com inseticidas químicos fumigantes, usados com o objetivo de controlar as infestações existentes (controle curativo), apesar dos inconvenientes relatados ao seu custo, toxicidade e a seleção de população de insetos resistentes (Kellouche *et al.* 2010).

A crescente preocupação da sociedade quanto aos efeitos colaterais provocados pelos agrotóxicos sintéticos tem despertado a atenção de pesquisadores, no sentido de desenvolverem estudos com novas táticas de controle alternativo de pragas, como o uso de inseticidas de origem vegetal (Almeida *et al.* 2004, Ketoh *et al.* 2005, Tavares & Vendramim 2005). Plantas com atividade inseticida são ricas em compostos secundários, destacando-se os monoterpênicos e seus análogos, que são compostos tipicamente lipofílicos, tendo alto potencial para interferências tóxicas em processos bioquímicos básicos, com consequências fisiológicas e comportamentais em insetos (Prates & Santos 2002). Os óleos essenciais provenientes de diversas espécies de plantas e seus constituintes bioativos também têm sido utilizados como alternativa a produtos sintéticos, no controle de insetos. Um crescente interesse no uso de óleos essenciais e seus constituintes para

proteção de produtos agrícolas ocorre devido à sua baixa toxicidade a mamíferos e baixa persistência no ambiente (Raja *et al.* 2001, Papachristos & Stamopoulos 2002).

Os óleos essenciais são constituídos de hidrocarbonetos terpênicos, alcoóis simples e terpênicos, aldeídos, cetonas, fenóis e ésteres etc. Considerando-se que os compostos terpênicos constituem a maioria nos óleos essenciais, os monoterpenos mais comuns encontrados são o linalol, geraniol, tujona, cânfora e limoneno. Entre os sesquiterpenos mais comuns encontram-se o farnesol, nerolidol, bisaboleno e outros (Simões *et al.* 2003). A atividade inseticida de óleos essenciais pode ocorrer de diversas formas, tais como: mortalidade, deformações em diferentes estágios de desenvolvimento dos insetos, como também repelência e deterrência de alimentação e oviposição, sendo a atividade repelente bastante comum (Isman 2006).

Vários experimentos com óleos essenciais e seus constituintes têm sido utilizados para o controle de *C. maculatus*. Don-Pedro (1996) estimou  $CL_{50}$  de 8,3  $\mu\text{L/L}$  e 5,5  $\mu\text{L/L}$  de ar para os compostos menthone e *d*-limoneno, respectivamente. Abbasipour *et al.* (2011) determinaram para o óleo de *Elettaria cardamomum* L. (Maton) uma  $CL_{50}$  de 78,79  $\text{mg}\cdot\text{cm}^{-3}$ . Hashemi e Safavi (2012), utilizando óleos essenciais de frutos de *Platycladus orientalis* (L.) Franco, contendo 50,7% de  $\alpha$  - pineno encontraram  $CL_{50}$  de 9,24  $\mu\text{L}$  de ar, em testes de fumigação. Zandi-Sohani *et al.* (2013) constataram repelência de 94% na concentração de 0,4  $\mu\text{L}\cdot\text{cm}^{-2}$  de *Callistemon citrinus* (Curtis). Toudert-Tale *et al.* (2014) obtiveram inibição total na oviposição com uma concentração de 12  $\mu\text{L}/50$  g, utilizando óleos de *Eucalyptus globulus* Labill., *Eucalyptus radiata* Sieber ex DC, *Myrtus communis* L., *Salvia officinalis* L., *Laurus nobilis* L. e *Pistacia lentiscus* L., contendo os monoterpenos  $\alpha$  - Pineno e  $\beta$  - pineno em comum.

Assim, o presente trabalho teve como objetivos avaliar a toxicidade, os efeitos na oviposição, emergência de adultos, taxa instantânea de crescimento populacional e repelência dos

constituintes de óleos essenciais Limoneno, Eugenol, Geraniol,  $\alpha$  – Pineno e trans – Anetole em *C. maculatus*.

### **Material e Métodos**

Os bioensaios e a criação de *C. maculatus* foram conduzidos no Laboratório de Biologia Aplicada do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Piauí (UFPI) – Campus Amílcar Ferreira Sobral, com temperatura e umidade relativa monitoradas e fotofase de 12 h.

**Criação de *Callosobruchus maculatus*.** Os insetos foram obtidos da criação estoque mantida no Laboratório de Entomologia Agrícola do Departamento de Agronomia, Área de Fitossanidade da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) e criados por várias gerações, em grãos de feijão-caupi, *V. unguiculata* cv. Sempre Verde, acondicionados em recipientes de vidro de 400 mL de capacidade, devidamente fechados com tampa plástica perfurada, revestida internamente com tecido fino transparente tipo *voil* para permitir a passagem do ar. Nesses recipientes os insetos foram confinados durante quatro dias para efetuarem a postura, em seguida retirados, e os recipientes mantidos sob temperatura de  $26,0 \pm 2,0$  °C, umidade relativa de  $63,08 \pm 2,6\%$  e fotofase de 12h até a emergência dos adultos.

**Constituintes de Óleos Essenciais.** Os compostos sintéticos padrão de óleos essenciais foram adquiridos na empresa Sigma-Aldrich®. Utilizaram-se os compostos Eugenol, Geraniol,  $\alpha$  – Pineno e trans – Anetole com graus de pureza de 98% e Limoneno com grau de pureza de 97% (Figura 1).

**Testes de Toxicidade por Contato.** Os experimentos foram conduzidos à temperatura de  $26,0 \pm 2,0$  °C, umidade relativa de  $63,08 \pm 2,6\%$  e fotofase de 12h. Testes preliminares em delineamento

inteiramente casualizado com quatro repetições, visando definir as faixas de concentração de cada óleo, capazes de promover mortalidades em torno de 5 e 95% nos insetos testados, foram realizados inicialmente, utilizando-se grãos de feijão-caupi, cv. Sempre Verde, juntamente com os compostos, individualmente. Para diluição dos compostos utilizou-se 1 ml de acetona p.a., sendo esta concentração determinada a partir de testes preliminares, nos quais não foram observados efeitos adversos na oviposição e emergência dos insetos.

Para obtenção das concentrações intermediárias dos compostos utilizou-se a fórmula de Finney 1971:  $q = \sqrt[n+1]{\frac{a_n}{a_1}}$

onde: q = razão da progressão geométrica (p.g.); n = número de concentrações a extrapolar;  $a_n$  = limite superior da p.g. (concentração que provocou mortalidade de cerca de 95%, determinada por meio de teste preliminar);  $a_1$  = limite inferior da p.g. (concentração que provocou mortalidade de cerca de 5%, determinada por meio de teste preliminar) (Finney 1971).

Para cada composto foram utilizadas parcelas com 20g de feijão caupi, infestados com 10 fêmeas de *C. maculatus* de 0-48h de idade, acondicionadas em recipientes de vidro de 250 mL de capacidade, devidamente fechados com tampa perfurada e revestida com tecido fino, transparente tipo *voil* para permitir as trocas gasosas com o exterior e impedir a fuga dos insetos. A acetona foi adicionada aos grãos com auxílio de pipetador manual de vidro, e em seguida os compostos com pipetador automático; os grãos foram submetidos à agitação manual durante dois minutos e os insetos foram adicionados aos grãos após um tempo total de quatro minutos entre agitação e secagem para evaporação do solvente. Após 48 horas de confinamento, avaliou-se a mortalidade dos adultos.

De acordo com o resultado obtido nos testes preliminares foram estabelecidos os tratamentos com as concentrações para os compostos Limoneno (1575; 1788,3; 2305,35; 2617,65,

3150 e 3375 ppm), Eugenol (82,5; 110; 165; 220 e 275 ppm), Geraniol (43; 79,98; 109,65; 149,64; 204,68 e 279,5 ppm),  $\alpha$  – Pineno (54,75; 95,63; 132,13; 182,5 e 255,5 ppm) e trans – Anetole (47,5; 57; 66,5; 76 e 85,5 ppm), seguindo a mesma metodologia utilizada nos testes preliminares com quatro repetições. As testemunhas para cada teste, contendo 20g de feijão-caupi, sem os compostos foram também confinadas com 10 fêmeas da praga. Decorridas 48h após a montagem dos experimentos, avaliou-se a mortalidade e as fêmeas foram eliminadas. Os ovos depositados nos grãos foram contabilizados aos 12 dias e os insetos emergidos aos 32 dias após o confinamento.

As Concentrações Letais ( $CL_{50}$  e  $CL_{95}$ ) dos compostos foram determinadas através do PROC PROBIT do programa SAS version 8.02 (SAS Institute 2001). As Razões de Toxicidade (RT) foram obtidas, através do quociente entre a  $CL_{50}$  e/ou  $CL_{95}$  do composto de menor toxicidade e as  $CL_{50}$  e/ou  $CL_{95}$  dos demais compostos, individualmente. Os dados do número de ovos e insetos emergidos foram submetidos à análise de regressão, mediante o programa SAS version 8.02 (SAS Institute 2001).

**Taxa Instantânea de Crescimento Populacional.** Os ensaios de taxa instantânea de crescimento ( $r_i$ ) foram realizados juntamente com os testes de toxicidade por contato, porém como as concentrações que causaram mortalidade próxima a 95% não proporcionaram emergência de insetos, foram descartadas devido à incompatibilidade com a fórmula utilizada no cálculo da ( $r_i$ ).

A ( $r_i$ ) foi calculada pela equação sugerida por Walthall e Stark (1997):  $r_i = [\ln(N_f/N_0)]/\Delta t$ , em que  $N_f$ = Número final de insetos;  $N_0$  = Número inicial de insetos; e  $\Delta t$  = Número de dias em que o ensaio foi executado. Os resultados de taxa instantânea de crescimento populacional foram submetidos à análise de regressão, mediante o programa SAS version 8.02 (SAS Institute 2001).

**Efeito Repelente dos Óleos Essenciais.** Com base nos resultados dos testes de toxicidade por contato foram utilizados como tratamentos as CL<sub>50</sub> e CL<sub>95</sub> de cada composto: Limoneno (2142; 3217 ppm), Eugenol (125,18; 227,39 ppm), Geraniol (77,42; 229,27 ppm),  $\alpha$  – Pineno (69,92 e 216,13 ppm) e trans – Anetole (60,99 e 79,76 ppm).

Os testes individuais de repelência foram realizados em arenas compostas por dois recipientes fechados, com 120 mL de capacidade, interligados por tubos plásticos a um recipiente central, também fechado. Num dos recipientes colocou-se 20g de feijão-caupi, cv. Sempre Verde impregnado com a respectiva concentração do composto e na outra a mesma quantidade de feijão-caupi sem o composto (testemunha). Na placa central foram liberadas 20 fêmeas de *C. maculatus* com 0-24 h de idade.

Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, com dois tratamentos (concentração do composto e a testemunha) em 10 repetições. Após 48h, os insetos atraídos em cada recipiente foram contados e descartados, e os grãos transferidos para outros recipientes com a finalidade de contabilizar o número de ovos e de adultos emergidos, respectivamente, após 12 e 32 dias da infestação. O Índice de repelência (IR) foi calculado pela fórmula:  $IR = 2G / (G + P)$ , onde G = % de insetos atraídos no tratamento e P = % de insetos atraídos na testemunha. Os valores de IR variam entre zero e dois, sendo que IR = 1 indica repelência semelhante entre o tratamento e a testemunha (tratamento neutro), IR > 1 indica menor repelência do tratamento em relação à testemunha (tratamento atraente) e IR < 1 indica a maior repelência do tratamento em relação à testemunha (tratamento repelente). O intervalo de segurança utilizado para considerar se o tratamento é ou não repelente foi obtido, usando-se a média dos IR e o respectivo desvio padrão (DP), ou seja, se a média dos IR for menor que 1 - DP, o óleo é repelente; se for maior que 1 + DP

o óleo é atraente e se estiver entre  $1 - DP$  e  $1 + DP$  o óleo é considerado neutro. Este índice é uma adaptação da fórmula para índice de consumo citada por Lin *et al.* (1990).

As percentagens de insetos atraídos em cada concentração do óleo e na testemunha e as médias do número de ovos e de insetos emergidos foram avaliadas pelo teste “t”, mediante o programa computacional SAS version 8.02 (SAS Institute 2001). Para o cálculo do percentual médio de redução de ovos e de emergência de adultos, foi usada a fórmula adaptada de Obeng-Ofori (1995):  $PR = [(NC - NT) / (NC) \times 100]$ , sendo PR a porcentagem média de redução; NC o número total de ovos ou insetos emergidos na testemunha; NT o número total de ovos ou insetos emergidos em cada tratamento.

## Resultados e Discussão

**Teste de Toxicidade por Contato.** Os valores das  $CL_{50}$  e  $CL_{95}$  dos compostos majoritários foram estimados em 60,99 e 79,76 ppm, 69,92 e 216,13 ppm, 77,42 e 229,27 ppm, 125,18 e 227,39 ppm e 2142 e 3217 ppm, respectivamente, para trans – Anetole,  $\alpha$  – Pineno, Geraniol, Eugenol e Limoneno. Os compostos trans – Anetole,  $\alpha$  – Pineno e Geraniol apresentaram, portanto, os menores valores para  $CL_{50}$ , diferenciando dos demais pelo intervalo de confiança. No entanto, trans – Anetole apresentou a maior razão de toxicidade de 35,12 vezes, e o menor valor de  $CL_{95}$ , correspondendo a uma razão de toxicidade de 40,33 vezes (Tabela 1).

Diversos estudos têm sido desenvolvidos, visando avaliar a bioatividade de óleos essenciais no controle de *C. maculatus*. Islam *et al.* (2009), testando o óleo essencial de *Cinnamomum aromaticum* (Nees) (5,36% de Eugenol) determinaram uma  $CL_{50}$  de 23,16  $\mu\text{g cm}^{-2}$  após 48 h de exposição. Na presente pesquisa, em teste de contato, estimou-se para Eugenol uma  $CL_{50}$  de 125,18 ppm (2,27  $\mu\text{L}$  de Eugenol), após o mesmo período de exposição. Keita *et al.* (2001),



trabalhando com óleos essenciais, determinam  $CL_{50}$  de 65 mL/g e 116 mL/g para *Ocimum basilicum* L. e *O. gratissimum* L., respectivamente, após um período de exposição de 48 horas. Em trans - Anetole, que é encontrado em *O. gratissimum*, estimou-se uma  $CL_{50}$  de apenas 60,99 ppm.

Os valores do número de ovos e de *C. maculatus* emergidos foram inversamente proporcionais ao aumento das concentrações dos compostos, indicando que o modelo de regressão linear foi o que melhor se ajustou para o Eugenol, apresentando o maior coeficiente de determinação para ambas as equações de regressão (Figuras 2 e 3).

Geraniol e Eugenol apresentaram os menores valores médios para o número de ovos e de insetos emergidos, variando, respectivamente, de  $88,75 \pm 3,172$  a  $0,5 \pm 0,288$  e  $78,5 \pm 2,986$  a 0 para Geraniol;  $251,75 \pm 15,189$  a  $1 \pm 0,408$  e  $235,0 \pm 13,403$  a 0 para Eugenol. Em todos os compostos majoritários as maiores concentrações utilizadas não permitiram emergência de insetos. Ajayi *et al.* (2014) observaram que Eugenol e Mentone inibiram completamente a emergência de adultos, em testes de fumigação; no entanto, Limoneno,  $\beta$  - pineno e  $\alpha$  - pineno não foram efetivos na prevenção da oviposição e na emergência de adultos.

Hedjal-Chehheb *et al.* (2013) observaram que o óleo essencial de *Cupressus sempervirens* L. que continha 40,47% de  $\alpha$  - Pineno obtiveram uma postura de 640 ovos de *C. maculatus* com 12,5  $\mu$ L. Já para *Tetraclinis articulata* (Vahl) com 9,54% de Limoneno, obtiveram com a mesma concentração 74,25 ovos. No presente trabalho, com Limoneno a 1575 ppm (35  $\mu$ L) obteve-se postura média de 186,75 ovos, e com 255,5 ppm de  $\alpha$  - Pineno (7  $\mu$ L), a postura foi de apenas dois ovos. Para os demais compostos nas maiores concentrações, obtiveram-se para o Geraniol a 279,5 ppm (6,5  $\mu$ L), uma postura de 0,5 ovos; para trans - Anetole a 85,5 ppm (1,8  $\mu$ L) não houve produção de ovos, e em se tratando de Eugenol a 275 ppm (5  $\mu$ L), apenas um ovo foi depositado.

Ekeh *et al.* (2013), avaliando *Citrus sinensis* (L.) Osbeck (que apresentou em sua composição 70% de Limoneno) em *C. maculatus*, observaram que 2 mL/40 g proporcionou uma emergência média de apenas um adulto. Com Limoneno obteve-se no presente trabalho emergência média de 13 insetos, usando-se a concentração 3150 ppm. Geraniol na concentração de 204,68 ppm (4,76 µL) proporcionou emergência de apenas 1,75 adultos.

Pereira *et al.* (2008) constataram redução de 100% do número de ovos viáveis e de insetos emergidos com os óleos de *Cymbopogon martini* Roxb., *Piper aduncum* L. e *Lippia gracillis* Schauer, nas concentrações de 10, 20, 30, 40 e 50 µL/20 g de feijão. Keita *et al.* (2000) constataram que *O. basilicum* na concentração de 150 mL/g reduziu em 100% a emergência de adultos. Em todos os compostos utilizados, as concentrações que causaram mortalidade próxima a 95% (Limoneno 3375 ppm, Eugenol 275 ppm, Geraniol 279,5 ppm,  $\alpha$  – Pineno 255,5 e trans – Anetole 85,5 ppm) não permitiram emergência de adultos de *C. maculatus*.

**Taxa Instantânea de Crescimento Populacional.** As taxas instantâneas de crescimento populacional ( $r_i$ ) dos compostos majoritários foram negativas nas maiores concentrações utilizadas, com exceção de Limoneno, com valores de: 0,0297670, -0,0293064, -0,0460713, -0,0170065 e -0,0719558 para Limoneno, Eugenol, Geraniol,  $\alpha$  – Pineno e trans – Anetole, respectivamente. Assim, o composto trans – Anetole proporcionou a maior redução populacional de *C. maculatus* nesta concentração (Figura 4). Correa (2011), testando óleos essenciais de cravo e canela em diferentes populações de *Sitophilus zeamais* Mots., constatou taxa de crescimento populacional de 0,012 para a população proveniente de Coimbra, quando tratada com óleo de cravo.

A taxa instantânea de crescimento tem sido bastante utilizada em estudos de toxicidade, pois permite avaliar os efeitos letais e subletais de inseticidas e acaricidas sobre uma população, após um tempo previamente determinado, integrando-se valores de sobrevivência e fecundidade (Stark

& Banks 2003). De acordo com os resultados obtidos, pode-se observar a redução populacional com o aumento gradativo das concentrações de compostos majoritários, com a maioria dos compostos apresentando taxa instantânea de crescimento negativa, podendo levar a uma iminente extinção populacional.

**Efeito Repelente dos Compostos majoritários.** Baseando-se no número médio de insetos adultos atraídos (%) por tratamento e no índice de repelência, os compostos majoritários  $\alpha$  – Pineno e Geraniol foram repelentes, tanto para a CL<sub>50</sub> quanto para CL<sub>95</sub>. Os demais compostos foram classificados como neutros (P>0,05). O número médio de insetos atraídos (%) foi significativamente menor para  $\alpha$  – Pineno de 33,42±4,69 (t=4,99; P<0,0001) e 33,68±3,00 (t=7,69; P<0,0001), respectivamente, para CL<sub>50</sub> e CL<sub>95</sub>. Para Geraniol, o número médio de insetos atraídos (%) para CL<sub>50</sub> e CL<sub>95</sub> foi de 20,61±4,62 (t=9,99; P<0,0001) e 17,35±3,01 (t=15,34; P<0,0001), respectivamente (Tabela 2).

Gusmão *et al.* (2013), avaliando a repelência de óleos essenciais em *C. maculatus* classificaram como repelentes *Eucalyptus. staigeriana* F. na maior concentração 558 ppm (28,75% Limoneno; 15,20% Geraniol) e *Cymbopogon winterianus* (Jowitt) (21,83% Geraniol) em todas as concentrações. Zandi-Sohani *et al.* (2012) observaram que o óleo essencial de *Lantana camara* L. (1,04%  $\alpha$  – Pineno) apresentou forte atividade de repelência contra adultos em todas as concentrações testadas, após 2 e 4h horas de exposição, observando 97,4 e 100% de repelência na concentração de 0,4  $\mu$ L. cm<sup>-2</sup>. Ogendo *et al.* (2008) constataram repelência em *Callosobruchus chinensis* (L.), variando de 37,5 a 100% e de 45 a 100% para o óleo de *O. gratissimum* (2,43% Eugenol; 0,39%  $\alpha$ - Pineno) e Eugenol, respectivamente. Na presente pesquisa, Geraniol e  $\alpha$  – Pineno nas CL<sub>50</sub> e CL<sub>95</sub> apresentaram alta repelência a *C. maculatus*.

Nas CL<sub>50</sub>, Limoneno (t=5,87; P<0,0001), Eugenol (t=4,65; P=0,0002) e trans – Anetole (t=2,18; P=0,0425) apresentaram menor número de ovos de *C. maculatus* em relação à

testemunha. Nas CL<sub>95</sub> houve um número de ovos significativamente menor ( $P < 0,05$ ) em comparação com o tratamento testemunha, com exceção de Eugenol ( $t=1,62$ ;  $P=0,1216$ ). Geraniol, Limoneno,  $\alpha$  – Pineno e trans – Anetole proporcionaram maior redução do número de ovos nas CL<sub>95</sub>, sendo que Geraniol e  $\alpha$  – Pineno proporcionaram redução de 88,10 e 84,31% de ovos, respectivamente, quando comparados com a testemunha (Tabela 3).

Limoneno ( $t=5,70$ ;  $P < 0,0001$ ) e Eugenol ( $t=4,39$ ;  $P=0,0004$ ) proporcionaram significativamente menor número de insetos emergidos, em relação à testemunha nas CL<sub>50</sub>. Os Geraniol ( $t=10,95$ ;  $P < 0,0001$ ) e  $\alpha$  – Pineno ( $t=6,76$ ;  $P < 0,0001$ ) apresentaram número de insetos emergidos significativamente menor que na testemunha e proporcionaram redução de 91,10 e 85,65% na emergência de adultos (Tabela 4). Dutra (2014) obteve redução de ovos e emergência de adultos nas maiores concentrações utilizadas em teste de repelência, encontrando para *Citrus sinensis* L. Osbeck (93,84% Limoneno) redução do número de ovos em 71,66% na concentração 1343 ppm e para *Citrus aurantifolia* Swingle (2,09%  $\alpha$ - Pineno, 57,77% Limoneno) redução do número de insetos emergidos em 85,31% na concentração de 1620 ppm.

A variabilidade de atividade biológica entre óleos essenciais extraídos de diferentes espécies de plantas pode ser explicada pelas diferenças em sua composição química (Ngmano *et al.* 2007). Esta composição é geralmente caracterizada pela presença de compostos mono e sesquiterpenos. Ainda que óleos essenciais extraídos de diferentes espécies de plantas compartilhem vários compostos, as proporções destes podem variar e afetar a sua atividade biológica (Ilboudo *et al.* 2010). Assim, a eficiência de óleos essenciais e seus compostos precisam ser testadas em condições mais realísticas e particularmente sob longos períodos de exposição, objetivando testar a sua persistência. Os óleos essenciais também são produtos complexos compostos de várias substâncias voláteis que podem ser facilmente alteradas durante sua extração, conservação ou ainda no seu uso em sistemas de armazenamento (Isman 2000).

Os resultados encontrados neste trabalho comprovam a importância do uso de compostos majoritários isolados de óleos essenciais no controle de *C. maculatus*, sendo que trans-Anetole apresentou maior toxicidade por contato, além de reduzir o crescimento populacional. Os compostos Geraniol e Eugenol reduziram a oviposição e emergência de insetos em teste de contato. Geraniol e  $\alpha$  – Pineno foram repelentes a *C. maculatus*, e conseqüentemente reduziram a oviposição e emergência de adultos, quando testados com chance de escolha.

De maneira geral, Geraniol apresenta-se como uma excelente alternativa de controle para *C. maculatus*, podendo fazer parte de uma formulação efetiva, em relação à eficácia, quando aplicado em maior quantidade de grãos e em sistemas de armazenamento.

### **Agradecimentos**

À FACEPE pela bolsa de estudos concedida ao primeiro autor deste trabalho. Aos colegas do Laboratório de Entomologia Agrícola da UFRPE pela solidariedade e amizade.

### **Literatura citada**

- Abbasipour, H. Mahmoudvand, F. Rastegar & M.H. Hosseinpour. 2011.** Fumigant toxicity and oviposition deterrency of the essential oil from cardamom, *Elettaria cardamomum*, against three stored-product insects. *J. Insect Sci.* 11: 165.
- Almeida, S.A., F.A.C. Almeida, N.R. Santos, M.E.R. Araújo & J.P. Rodrigues. 2004.** Atividade inseticida de extratos vegetais sobre *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) (Coleoptera: Bruchidae). *Rev. Bras. Agrocienc.* 10: 67-70.
- Ajay, O.E., A.G. Appel & H.Y. Fadamiro. 2014.** Fumigation Toxicity of Essential Oil Monoterpenes to *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae). *J. Insects* 2014: 1-7.
- Bezerra, A.A.C., F.J.A.F Távora, F.R. Freire Filho & V.Q. Ribeiro. 2008.** Morfologia e produção de grãos em linhagens modernas de feijão-caupi submetidas a diferentes densidades populacionais. *Rev. Biol. Cienc. Terra* 8: 85-93.

- Brito, M.M.P., T.M. Edson & C. Silva. 2009.** Marcha de absorção do nitrogênio do solo, do fertilizante e da fixação simbiótica em feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) e feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) determinada com uso de <sup>15</sup>N. Ver. Bras. Cienc. Solo 33: 895-905.
- Correa, Y.D.C.G. 2011.** Resposta de populações de *Sitophilus zeamais* à exposição dos óleos essenciais de cravo e de canela. Dissertação de Mestrado, UFV, Viçosa, 49p.
- Don-Pedro, KN. 1996.** Investigation of single and joint fumigant insecticidal action of citruspeel oil components. Pestic. Sci. 46:79–84.
- Dutra, K.A. 2014.** Óleos essenciais de plantas cítricas no manejo de *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae), em grãos de *Vigna unguiculata* (L.) WALP. Dissertação de Mestrado, UFRPE, Recife-PE, 60p.
- Ekeh F.N., K.I. Oleru, N. Ivoke, C.D. Nwani & J.E. Eyo. 2013.** Effects of citrus sinensis peel oil on the oviposition and development of cowpea beetle *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae) in some legume grains. Pak. J. Zool. 45: 967-974.
- Finney, D.J. 1971.** Probit analysis. 3. ed. London: Crambridge Press. 338 p.
- Gusmão, N.M.S., J.V. Oliveira, D.M.A.F. Navarro, K.A. Dutra, W.A. Silva, M.J.A. Wanderley. 2013.** Contact and fumigant toxicity and repellency of *Eucalyptus citriodora* Hook., *Eucalyptus staigeriana* F., *Cymbopogon winterianus* Jowitt and *Foeniculum vulgare* Mill. essential oils in the management of *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) (Coleoptera: Chrysomelidae, Bruchinae). J. Stored Prod. Res. 54: 41-47.
- Hashemi, S.M. & S.A. Safavi. 2012.** Chemical constituents and toxicity of essential oils of oriental arborvitae, *Platycladus orientalis* (L.) Franco, against three stored-product beetles. Chil. J. Agric. Res. 72: 188-194.
- Hedjal-Chehheb, M., K. Toudert-Taleb, M.L. Khoudja, R. Benabdesselam, M. Mellouk & A. Kellouche. 2013.** Essential oils compositions of six conifers and their biological activity against the cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus* Fabricius, 1775 (Coleoptera: Bruchidae) and *Vigna unguiculata* Seeds. Afr. Entomol. 21: 243-254.
- Ilboudo, Z., L.C.B. Dabiré, R.C.H. Nébié, I.O. Dicko, S. Dugravot, A.M. Corteserom & A. Sanon. 2010.** Biological activity and persistence of four essential oils towards the main pest of stored cowpeas, *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). J. Stored Prod. Res. 46: 124-128.
- Islam, R., Khan, R.I., Al-Reza, S.M., Jeong, Y.T., Song, C.H. & Khalequzzaman, M. 2009.** Chemical composition and insecticidal properties of *Cinnamomum aromaticum* (Nees) essential oil against the stored product beetle *Callosobruchus maculatus* (F.). J. Sci. Food Agric. 89: 1241–1246.

- Isman, M.B. 2000.** Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Prot.* 19: 603-608.
- Isman, M.B. 2006.** Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and increasing regulated world. *Annu. Rev. Entomol.* 51: 45-66.
- Kellouche, A., F. Ait-Aider, K. Labdaoui, D. Moula, K. Ouendi, N. Hamadi, A. Ouramdane, B. Frerot & M. Mellouk. 2010.** Biological activity of ten essential oils against cowpea beetle, *Callosobruchus maculatus* Fabricius (Coleoptera: Bruchidae). *IJIB* 10: 86-89.
- Keita, S.M., C. Vincent, J.P. Schmit, J.T. Arnason & A. Belanger. 2001.** Efficacy of essential oil of *Ocimum basilicum* L. and *O. gratissimum* L. applied as an insecticidal fumigant and powder to control *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) (Coleoptera: Bruchidae). *J. Stored Prod. Res.* 37: 339-349.
- Keita, S.M., C. Vincent, J.P. Schmit, S. Ramaswamy & A. B'elanger. 2000.** Effect of various essential oils on *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). *J. Stored Prod Res.* 36:355–364.
- Ketoh, G.H., H.K. Koumaglo & I.A. Glitho. 2005.** Inhibition of *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) development with essential oil extracted from *Cymbopogon schoenanthus* L. Spreng (Poaceae), and the wasp *Dinarmus basalis* (Rondani) (Hymanoptera: Pteromalidae). *J. Stored Prod. Res.* 41:363-371.
- Lin, H., M. Kogan & D. Fischer. 1990.** Induced resistance in soybean to the mexican bean beetle (Coleoptera: Coccinelidae): comparisons of inducing factors. *Environ. Entomol.* 19: 1852-1857.
- Ngamo, T.S.L., A. Goudoum, Ngassoum, M.B. P.M. Mapongmestsem, G. Lognay, F. Malaisse & T. Hance. 2007.** Chronic toxicity of essential oils of 3 local aromatic plants towards *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera:Curculionidae). *Afr. J.Agric.l Res.* 2:164-167.
- Obeng-Ofori, D. 1995.** Plant oils as grain protectants against infestations of *Cryptolestes pusillus* and *Rhyzopertha dominica* in stored grain. *Entomol. Exp. Appl.* 77: 133-139.
- Ogendo, J.O., M. Kostyukovsky, U. Ravid, J.C. Matasyoh, A.L. Deng, E.O. Omolo, S.T. Kariuki & E. Shaaya. 2008.** Bioactivity of *Ocimum gratissimum* L. oil and two of its constituents against five insect pests attacking stored food products. *J. Stored Prod. Res.* 44:328–334.
- Papachristos, D.P. & D.C. Stamopoulos. 2002.** Repellent, toxic and reproduction inhibitory effects of essential oil vapours on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *J. Stored Prod. Res.* 38: 117–128.
- Pereira, A.C.R.L., J.V. Oliveira, M.G.C. Gondim Jr. & C.A.G. Câmara. 2008.** Atividade inseticida de óleos essenciais e fixos sobre *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775)

(Coleoptera: Bruchidae) em grãos de caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.]. Ciênc. Agrotec. 32: 717-724.

**Prates, H.T & J.P. Santos. 2002.** Óleos essenciais no controle de pragas de grãos armazenados, p. 443-461. IN: I. Lorini, L.H. Miike & V.M. Senssel (eds.), Armazenagem de grãos. Campinas, Inst. Bio Geneziz, 1000p.

**Raja, N.S., S.I. Gnacimusthu & S. Dorn. 2001.** Effect of plant volatile oils in protecting stored cowpea *Vigna unguiculata* (L.) Walpers against *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) infestation. J. Stored Prod. Res. 37: 127-132.

**SAS Institute. 2001.** User's guide, version 8.02, TS level 2MO. SAS Institute Inc., Cary, NC.

**Simões, C.M.O., E.P. Schenkel, G. Gosman, J.C.P. Mello, L.A. Mentz & P.R. Petrovick. 2003.** Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5 ed. Porto Alegre: Universidade. 1102 p.

**Sousa, A.H., P.B Maracajá, R.M.A. da Silva, Moura, A.M.N. de & W.G. de Andrade. 2005.** Bioactivity of vegetal powders against *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) in caupi bean and seed physiological analysis. Rev. Biol. e Ciênc. Terra. 5: 2.

**Stark, J.D. & J.E. Banks. 2003.** Population-level effects of pesticides and other toxicants on arthropods. Ann. Rev. Entomol. 48: 505-519.

**Tavares, M.A.G.C. & J.D. Vendramim. 2005.** Atividade inseticida da erva-de-Santa-Maria *Chenopodium ambrosioides* L. (Chenopodiaceae) em relação a *Sitophilus zeamais* Mots., 1885 (Col., Curculionidae). Arq. Inst. Biol. 72: 51-55.

**Toudert-Tale, K.,M. Hedjal-Chebheb, H. Hami, J-F. Debras & A. Kellouche. 2014.** Composition of essential oils extracted from six aromatic plants of Kabylia origin (Algeria) and evaluation of their bioactivity on *Callosobruchus maculatus* (Fabricius, 1775) (Coleoptera: Bruchidae). Afr. Entomol. 22: 417-427.

**Walthall, W.K. & J.D. Stark. 1997.** Comparison of two population level ecotoxicological endpoints: The intrinsic (rm) and instantaneous (ri) rates of increase. Environ. Toxicol. Chem. 16: 1068-1073.

**Zandi-Sohani, N., M. Hojjati & A.A. Carbonell-Barrachina. 2012.** Bioactivity of *Lantana camara* L. essential oil against *Callosobruchus maculatus* (Fabricius). Chil. J. Agric. Res. 74: 502-506.

**Zandi-Sohani, N., M. Hojjati & A.A. Carbonell-Barrachina. 2013.** Insecticidal and Repellent Activities of the Essential Oil of *Callistemon citrinus* (Myrtaceae) against *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). Neotrop Entomol. 42: 89-94.



Tabela 1. Toxicidade por contato (ppm) de compostos de óleos essenciais em adultos de *Callosobruchus maculatus* em grãos de feijão-caupi.

Tratamento	n	GL	Inclinação (±EP)	CL <sub>50</sub> (IC95%)	RT <sub>50</sub>	CL <sub>95</sub> (IC95%)	RT <sub>90</sub>	$\chi^2$
Limoneno	240	4	9,31±0,97	2142 (2029-2251)	-	3217 (2984-3576)	-	2,88
Eugenol	200	3	6,34±0,72	125,18 (114,55-135,98)	17,11	227,39 (200,81-272,55)	14,15	3,32
Geraniol	240	4	3,48±0,61	77,42 (49,43-100,84)	27,66	229,27 (162,37-538,33)	14,03	8,42
$\alpha$ - Pineno	200	3	3,35±0,51	69,92 (55,07-82,16)	30,63	216,13 (174,35-310,32)	14,88	1,14
trans - Anetole	200	3	14,11±1,62	60,99 (58,58-63,29)	35,12	79,76 (75,45-86,51)	40,33	0,64

n= número de insetos usados no teste; GL= grau de liberdade; EP = erro padrão da média; IC = intervalo de confiança; RT = razão de toxicidade,  $\chi^2$ = Qui-quadrado.

Tabela 2. Efeito repelente de compostos de óleos essenciais em adultos de *Callosobruchus maculatus* em grãos de feijão-caupi.

Tratamento	Conc. (ppm)	Adultos Atraídos (%)		IR(M ± DP) <sup>2</sup>	Classificação
		Testemunha	Composto <sup>1</sup>		
Limoneno	2142	45±2,78	55±2,78	1,1±0,18	Neutro
	3217,05	42±3,88	58±3,88	1,16±0,24	Neutro
Eugenol	124,85	59±2,76	41±2,76	0,82±0,17	Neutro
	227,15	55±6,05	45±6,05	0,9±0,36	Neutro
Geraniol	77,4	79,39±4,62	20,61±4,62*	0,41±0,29	Repelente
	229,19	82,65±3,01	17,35±3,01*	0,34±0,19	Repelente
α – Pineno	69,71	66,58±4,69	33,42±4,69*	0,67±0,29	Repelente
	216,08	66,32±3,00	33,68±3,00*	0,67±0,19	Repelente
Trans-Anetole	60,8	50±4,08	50±4,08	1±0,26	Neutro
	79,32	56±4,86	44±4,86	0,88±0,18	Neutro

<sup>1</sup>\*Significativo pelo teste “t” (P < 0,05);

<sup>2</sup>IR (Índice de repelência) = 2G/G+P (G=% de insetos atraídos no tratamento; P=% de insetos atraídos na testemunha).

Tabela 3. Redução da oviposição de *Callosobruchus maculatus* em teste de repelência com compostos de óleos essenciais.

Tratamento	Conc, (ppm)	Número de ovos ( $\pm$ EP)		Redução (%) <sup>2</sup>
		Testemunha	Composto <sup>1</sup>	
Limoneno	2142	207,2 $\pm$ 3,34	169,6 $\pm$ 5,46*	18,15
	3217,05	210,8 $\pm$ 7,98	135,4 $\pm$ 6,63*	35,77
Eugenol	124,85	275,2 $\pm$ 22,32	167,4 $\pm$ 6,28*	39,17
	227,15	146,9 $\pm$ 7,56	114,4 $\pm$ 18,52	22,12
Geraniol	77,4	134,2 $\pm$ 26,99	67 $\pm$ 26,64	50,07
	229,19	172,6 $\pm$ 8,44	20,4 $\pm$ 12,60*	88,10
$\alpha$ - Pineno	69,71	105 $\pm$ 23,80	66,5 $\pm$ 23,56	36,67
	216,08	144,7 $\pm$ 11,19	22,7 $\pm$ 11,26*	84,31
Trans-Anetole	60,8	235,4 $\pm$ 25,17	149,9 $\pm$ 29,99*	36,32
	79,32	194 $\pm$ 32,81	72 $\pm$ 32,76*	62,88

<sup>1</sup>\* Significativo pelo teste t (P < 0,05);

<sup>2</sup>PR = [(NC - NT) / (NC) x 100], sendo PR= porcentagem de redução de postura; NC= número de ovos na testemunha e NT= número de ovos no tratamento.

Tabela 4. Redução da emergência de adultos de *Callosobruchus maculatus* em teste de repelência com compostos majoritários de óleos essenciais.

Tratamento	Conc, (ppm)	Número de insetos emergidos ( $\pm$ EP)		Redução(%) <sup>2</sup>
		Testemunha	Composto <sup>1</sup>	
Limoneno	2142	184,56 $\pm$ 2,02	153,6 $\pm$ 4,81*	7,52
	3217,05	192,2 $\pm$ 7,37	113,4 $\pm$ 6,45*	40,99
Eugenol	124,85	244,8 $\pm$ 21,43	146,7 $\pm$ 6,36*	40,07
	227,15	123 $\pm$ 7,07	101,6 $\pm$ 17,69	17,39
Geraniol	77,4	114 $\pm$ 28,05	51,2 $\pm$ 21,93	55,08
	229,19	146,2 $\pm$ 8,53	13 $\pm$ 8,66*	91,10
$\alpha$ - Pineno	69,71	84,7 $\pm$ 20,21	53,9 $\pm$ 20,03	36,36
	216,08	128,9 $\pm$ 12,92	18,5 $\pm$ 9,98*	85,65
Trans-Anetole	60,8	224,2 $\pm$ 24,67	149 $\pm$ 20,77	33,54
	79,32	180,4 $\pm$ 32,55	67,8 $\pm$ 31,49*	62,42

<sup>1</sup>\* Significativo pelo teste t ( $P < 0,05$ );

<sup>2</sup>PR = [(NC - NT) / (NC) x 100], sendo PR= porcentagem de redução de emergência; NC= número de adultos na testemunha e NT= número de adultos no tratamento.

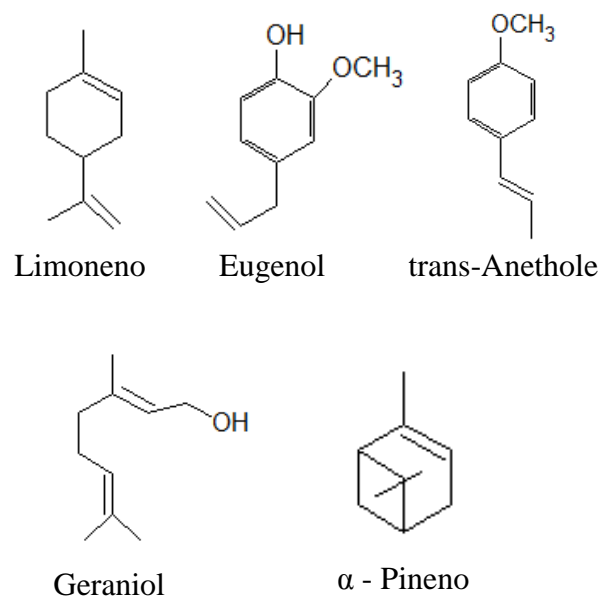


Figura 1. Estrutura química dos constituintes de óleos essenciais utilizados no manejo de *Callosobruchus maculatus*.

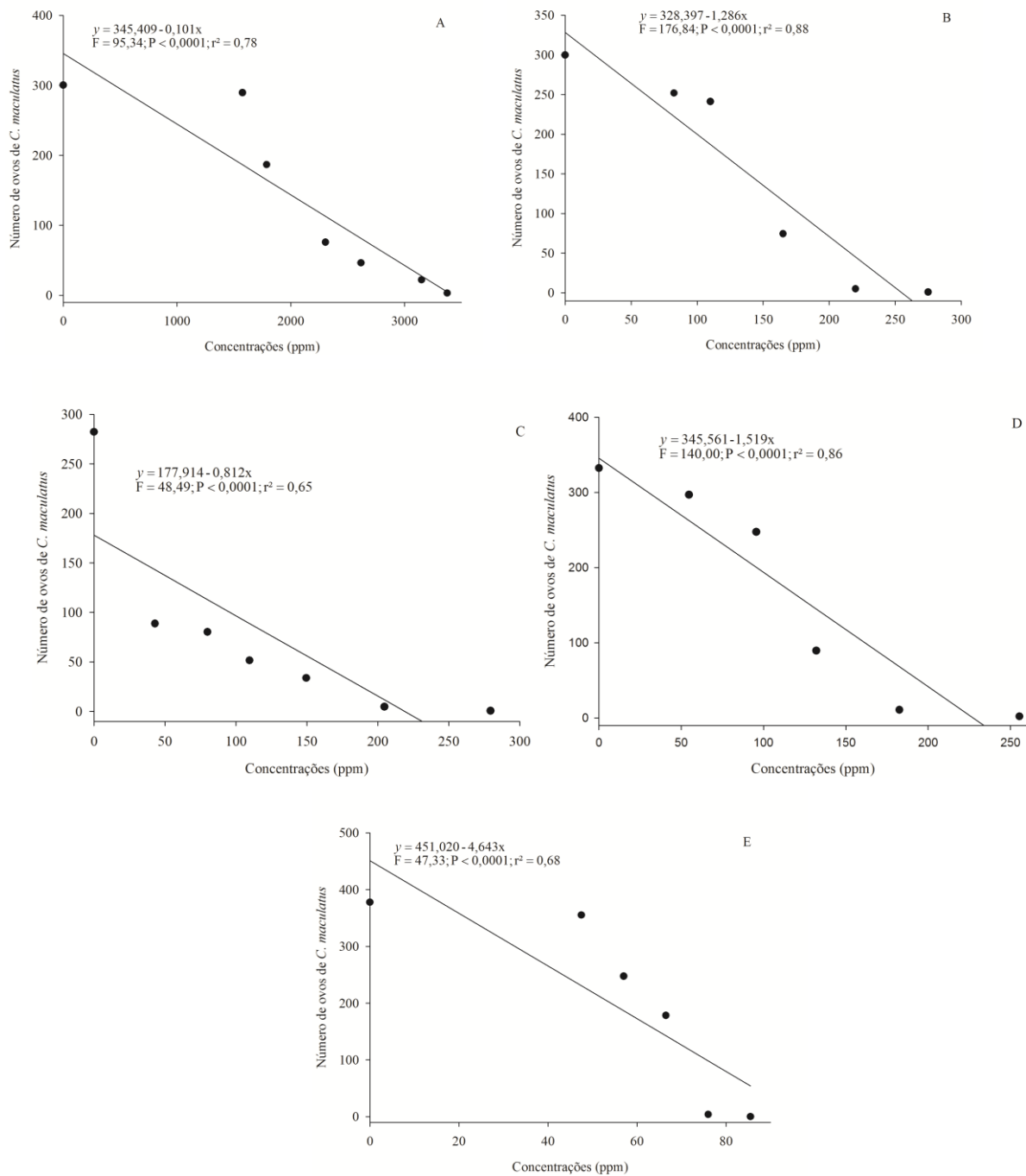


Figura 2. Número de ovos de *Callosobruchus maculatus* em grãos de feijão-caupi tratados com compostos majoritários de óleos essenciais. A) Limoneno; B) Eugenol; C) Geraniol; D)  $\alpha$  - Pineno; E) trans - Anetole.

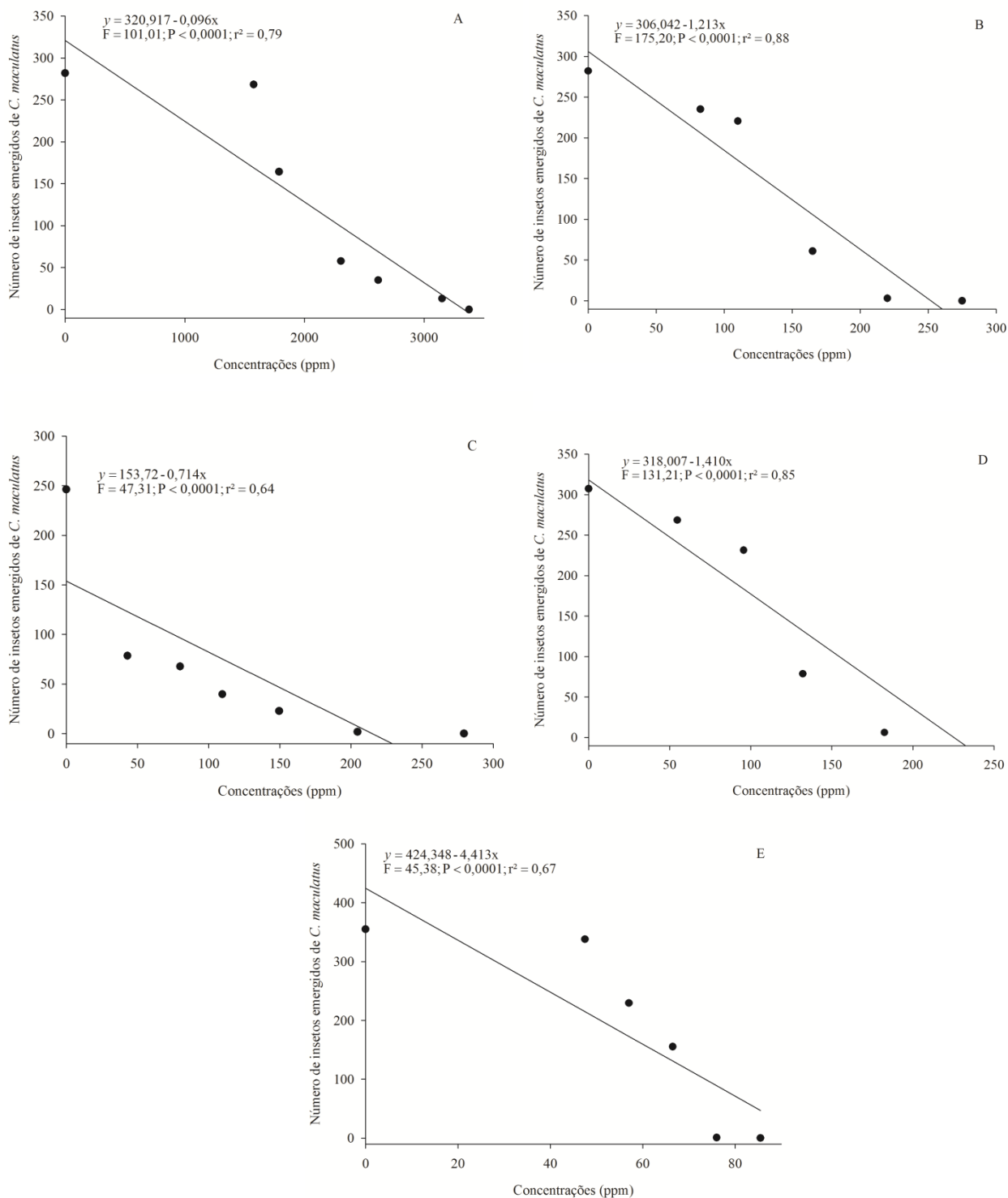


Figura 3. Número de adultos emergidos de *Callosobruchus maculatus* em grãos de feijão-caupi tratados com compostos majoritários de óleos essenciais. A) Limoneno; B) Eugenol; C) Geraniol; D)  $\alpha$  - Pineno; E) trans - Anetole.

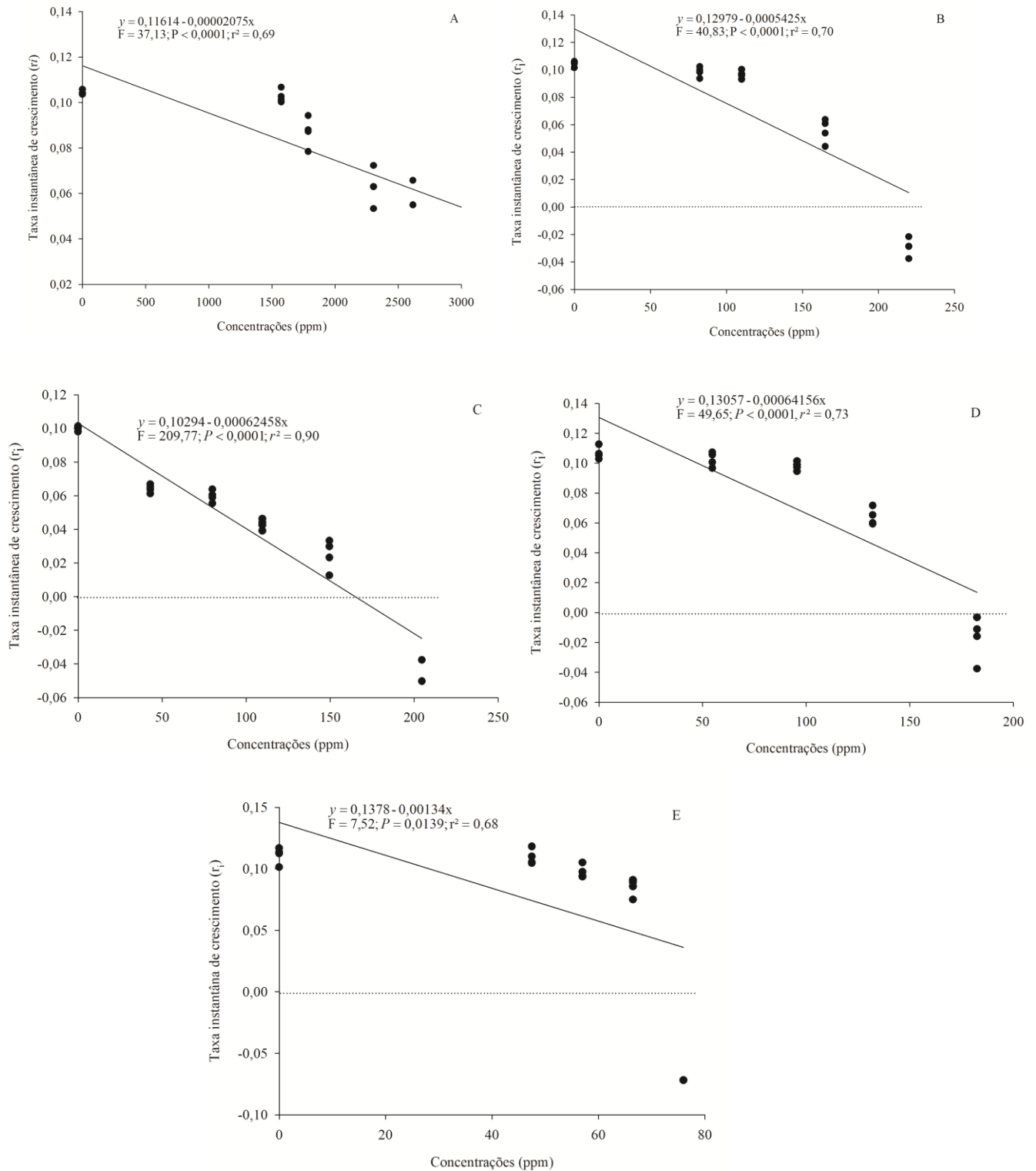


Figura 4. Taxa instantânea de crescimento ( $r_i$ ) de *Callosobruchus maculatus* em grãos de feijão-caupi tratados com compostos majoritários de óleos essenciais. A) Limoneno; B) Eugenol; C) Geraniol; D)  $\alpha$  – Pineno; E) trans - Anetole.



## CAPÍTULO 4

### COMBINAÇÃO DE CULTIVARES RESISTENTES COM CONSTITUINTES QUÍMICOS ABUNDANTES EM ÓLEOS ESSENCIAIS PARA O MANEJO DE *Callosobruchus maculatus* (FABR.) (COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE: BRUCHINAE)

DOUGLAS R. S. BARBOSA<sup>1</sup>, JOSÉ V. OLIVEIRA<sup>1</sup>, PAULO H. S. SILVA<sup>2</sup>, MARIANA O.  
BREDA<sup>1</sup>, KAMILA A. DUTRA, FABIANA S.C. LOPES<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Agronomia – Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua  
Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, 52171-900, Recife, PE, Brasil.

<sup>2</sup>Laboratório de Entomologia, Embrapa Meio-Norte, Av. Duque de Caxias 5650, Buenos Aires,  
64006-220, Teresina, PI, Brasil.

<sup>1</sup>Barbosa, D.R.S., J.V. Oliveira, P.H.S. Silva, M.O. Breda, K.A. Dutra & F.S.C. Lopes. Combinação de cultivares resistentes com constituintes químicos abundantes em óleos essenciais para o manejo de *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae). A ser submetido.

RESUMO – O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da combinação de cultivares de feijão-caupi *Vigna unguiculata* (L.) Walp. com constituintes químicos abundantes em óleos essenciais sobre *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775). Foram avaliadas quatro cultivares de feijão-caupi: BRS Tracuateua, BR 17 Gurgueia, Epace 10 e Sempre Verde (utilizada na criação) combinadas com os compostos Eugenol, Geraniol, e trans - Anetole. Foram estimadas as CL<sub>30</sub> e CL<sub>50</sub> destes compostos, as quais variaram de 54,77 a 103,48 ppm e 60,99 a 125,18 ppm, respectivamente. Na maioria dos parâmetros avaliados a CL<sub>50</sub> obteve efeito adverso significativamente maior que a CL<sub>30</sub>. A cultivar BR 17 Gurgueia combinada com Eugenol e Geraniol afetou mais significativamente os parâmetros biológicos de *C. maculatus* do que na combinação com trans – Anetole, o mais tóxico, reduzindo o número de ovos, insetos emergidos e viabilidade de ovos.

PALAVRAS-CHAVE: Caruncho do feijão-caupi, *Vigna unguiculata*, resistência de plantas, inseticidas botânicos.

COMBINATION OF RESISTANT CULTIVARS WITH ABUNDANT CHEMICAL  
CONSTITUENTS IN ESSENTIAL OILS FOR *Callosobruchus maculatus* (FABR.)  
(COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE: BRUCHINAE) MANAGEMENT

ABSTRACT- This study aimed to evaluate the effect of the combination of cowpea cultivars *Vigna unguiculata* (L.) Walp. with abundant chemical constituents in essential oils against *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775). Were evaluated four cowpea cultivars: BRS Tracuateua, BR 17 Gurgueia, Epace 10 and Sempre Verde (used in the insect rearing) combined with major compounds Eugenol, Geraniol and trans - Anethole. Were determined the LC<sub>30</sub> and LC<sub>50</sub> of these major compounds, which ranged from 54.77 to 103.48 ppm and 60.99 to 125.18 ppm, respectively. In the most of the parameters evaluated, LC<sub>50</sub> had adverse effect significantly higher than LC<sub>30</sub>. BR 17 Gurgueia combined with Eugenol and Geraniol affected more significantly the biological parameters of *C. maculatus* than when associated with trans - Anethole more toxic, reducing the number of eggs, insects emerged and egg viability.

KEY WORDS: Cowpea weevil, *Vigna unguiculata*, plant resistance, botanical insecticides.

## Introdução

O feijão-caupi, (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.), é uma Fabaceae bastante cultivada nos trópicos semiáridos da África, Brasil e Estados Unidos. No Brasil, a cultura tem grande importância nas regiões Norte e Nordeste, que têm tradição em seu cultivo, comércio e consumo. Apresenta crescente avanço na região Centro-Oeste, onde o cultivo tem sido conduzido de forma mecanizada, sendo crescente a demanda por cultivares de porte ereto (Rocha *et al.* 2009).

Na região Nordeste o cultivo do feijão-caupi é uma atividade de grande importância para o desenvolvimento agrícola, tanto no aspecto econômico como no nutricional, pois é um alimento básico na alimentação das populações mais pobres, exercendo função social no suprimento das necessidades nutricionais dessa camada da população (Teófilo *et al.* 2008), além de ser fixadora de mão-de-obra (Távora *et al.* 2001, Hall 2003).

O caruncho do feijão-caupi, *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Crysomelidae: Bruchinae), tem uma importância considerável como praga cosmopolita desta cultura no campo e em armazenamento (Ndong *et al.* 2012). Causa perdas quantitativas e qualitativas substanciais decorrentes da perfuração das sementes e conseqüente redução de peso, valor de mercado e germinação (Oluwafemi 2012). A sua infestação constitui um enorme problema entomológico, contribuindo para a escassez de alimento em países tropicais e subtropicais (Rotimi & Ekperusi 2012).

O controle efetivo desse inseto-praga pode ser realizado com o uso de inseticidas fumigantes e protetores. Entretanto, estes inseticidas podem provocar efeitos adversos aos aplicadores e consumidores (Kawuki *et al.*, 2005). Assim, é importante utilizar métodos alternativos de controle, como o uso de cultivares resistentes e inseticidas botânicos (Barbosa & Fontes 2011).

O desenvolvimento e a liberação de cultivares de feijão-caupi resistentes a *C. maculatus* apresentam uma série de vantagens, como a facilidade de utilização, baixo custo e compatibilidade com outras táticas de controle (Lima *et al.* 2001, Appleby & Credland 2004), tendo incentivado várias publicações, como as de Marsaro Junior e Vilarinho (2011), Obopile *et al.* (2011), Amusa *et al.* (2013), Castro *et al.* (2013b), Sharma e Thakur (2014) e Mogbo *et al.* (2014).

Um grande número de substâncias derivadas de plantas causam efeitos fisiológicos e comportamentais em insetos de produtos alimentícios armazenados, tornando-se também uma alternativa ao uso de inseticidas sintéticos (Rajedran & Sriranjini 2008). Algumas dessas substâncias, como os terpenóides, que são óleos essenciais voláteis e de baixo peso molecular, têm sido eficientes no manejo de *C. maculatus* (Knaak & Fiuza 2010).

As concentrações de óleos essenciais e seus constituintes, necessários para controlar insetos-praga, e os seus mecanismos de ação, são potencialmente seguros para humanos e vertebrados (Tripathi *et al.* 2009). Há evidências sobre a sua interferência de óleos essenciais e seus constituintes no neuromodulador octopamina, que é encontrado em todos os invertebrados, mas não em mamíferos, ou em canais de cálcio modulados pelo GABA (Isman 2006). Trabalhos de Kheradmand *et al.* (2010), Nyamador *et al.* (2010), Zandi-Sohani *et al.* (2012), Toudert-Tale *et al.* (2014), Ajay *et al.* (2014) investigaram a eficiência de óleos essenciais e seus constituintes no controle de *C. maculatus*.

Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da combinação de cultivares resistentes com constituintes químicos abundantes em óleos essenciais sobre *C. maculatus*.

## Material e Métodos

A criação e os bioensaios com *C. maculatus* foram conduzidos no Laboratório de Biologia Aplicada do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Piauí (UFPI) – Campus Amílcar Ferreira Sobral, com temperatura e umidade relativa monitoradas e fotofase de 12 h.

**Criação de *Callosobruchus maculatus*.** Os insetos foram provenientes da criação estoque mantida no Laboratório de Entomologia Agrícola do Departamento de Agronomia, Área de Fitossanidade da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Os insetos foram criados, por várias gerações, em grãos de feijão-caupi, *V. unguiculata* cv. Sempre Verde, acondicionados em recipientes de vidro de 400 mL de capacidade, devidamente fechados com tampa plástica perfurada, revestida internamente com tecido fino transparente tipo *voil* para permitir a passagem do ar. Foram confinados durante quatro dias para efetuarem a postura, em seguida retirados, e os recipientes mantidos sob temperatura de  $26,0 \pm 2,0$  °C, umidade relativa de  $63,08 \pm 2,6\%$  e fotofase de 12h até a emergência dos adultos.

**Constituintes de Óleos Essenciais.** Os compostos sintéticos padrão, Eugenol, Geraniol e trans – Anetole com grau de pureza de 98%, foram adquiridos na empresa Sigma-Aldrich®.

**Teste de Toxicidade.** Os experimentos foram conduzidos à temperatura de  $26,0 \pm 2,0$  °C, umidade relativa de  $63,08 \pm 2,6\%$  e fotofase de 12h. Testes preliminares em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições, visando definir as faixas de concentração de cada óleo, capazes de promover mortalidades em torno de 5 e 95% nos insetos testados, foram realizados inicialmente, utilizando-se grãos de feijão-caupi, cv. Sempre Verde.

Para diluição dos compostos utilizou-se 1 ml de acetona p.a., sendo este volume determinado, a partir de testes preliminares, nos quais não foram observados efeitos adversos na

oviposição e emergência dos insetos. Para obtenção das concentrações intermediárias dos compostos utilizou-se a fórmula de (Finney 1971): 
$$q = \sqrt[n+1]{\frac{a_n}{a_1}}$$

Onde: q = razão da progressão geométrica (p.g.); n = número de concentrações a extrapolar;  $a_n$  = limite superior da p.g. (concentração que provocou mortalidade de cerca de 95%, determinada por meio de teste preliminar);  $a_1$  = limite inferior da p.g. (concentração que provocou mortalidade de cerca de 5%, determinada por meio de teste preliminar) (Finney 1971).

Para cada composto foram utilizadas parcelas com 20g de feijão-caupi infestados com 10 fêmeas de *C. maculatus* de 0-48h de idade, acondicionadas em recipientes de vidro de 250 mL de capacidade, devidamente fechados com tampa perfurada e revestida com tecido fino, transparente tipo *voil* para permitir as trocas gasosas com o exterior e impedir a fuga dos insetos. A acetona foi adicionada aos grãos com auxílio de pipetador manual, e em seguida, os compostos com pipetador automático, e submetidos à agitação manual durante dois minutos; os insetos foram colocados nos grãos, após um tempo total de quatro minutos entre a agitação e secagem para evaporação do solvente.

Após 48 horas de confinamento, avaliou-se a mortalidade dos adultos. De acordo com o resultado obtido nos testes preliminares foram estabelecidos os tratamentos com as concentrações para os compostos Eugenol (82,5; 110; 165; 220 e 275 ppm), Geraniol (43; 79,98; 109,65; 149,64; 204,68 e 279,5 ppm), e trans – Anetole (47,5; 57; 66,5; 76 e 85,5 ppm), com quatro repetições, seguindo a mesma metodologia utilizada nos testes preliminares. As testemunhas para cada teste, contendo 20g de feijão-caupi, sem os compostos majoritários foram também confinadas com 10 fêmeas da praga. Decorridas 48h após a montagem dos experimentos, avaliou-se a mortalidade e as fêmeas foram eliminadas.

As Concentrações Letais ( $CL_{30}$  e  $CL_{50}$ ) dos compostos majoritários foram determinadas, através do PROC PROBIT do programa SAS version 8.02 (SAS Institute 2001). As Razões de Toxicidade (RT) foram obtidas, através do quociente entre a  $CL_{30}$  e/ou  $CL_{50}$  do composto de menor toxicidade e as  $CL_{30}$  e/ou  $CL_{05}$  dos demais compostos, individualmente.

**Combinação de Cultivares Resistentes com Constituintes de Óleos Essenciais.** Foram utilizadas as  $CL_{30}$  e  $CL_{50}$  estimadas no teste de toxicidade, associadas às cultivares de feijão-caupi BR 17 Gurgueia, BRS Tracuateua, Epace 10 e Sempre verde (utilizada na criação). Para cada composto foram utilizadas parcelas com 20g de feijão-caupi de cada cultivar, as quais foram infestadas com 10 fêmeas de *C. maculatus* de 0-48h de idade, acondicionadas em recipientes de vidro de 250 mL de capacidade, devidamente fechados com tampa perfurada e revestida com tecido fino, transparente tipo *voil* para permitir as trocas gasosas com o exterior e impedir a fuga dos insetos. A acetona foi adicionada aos grãos com auxílio de pipetador manual de vidro, e os compostos com pipetador automático; os grãos foram submetidos à agitação manual durante dois minutos. Os insetos foram adicionados aos grãos após um tempo total de quatro minutos entre a agitação e secagem para evaporação do solvente. Decorridas 48 h após a aplicação dos compostos, os insetos foram retirados.

Na avaliação dos efeitos da combinação de cultivares de feijão-caupi com os compostos utilizaram-se os parâmetros: número de ovos total e por grão, viabilidade de ovos (%), número de insetos emergidos total e por grão, viabilidade da fase imatura (%), taxa instantânea de crescimento populacional ( $r_i$ ), peso seco de insetos (mg), perda de peso dos grãos (%) e período de ovo a adulto.

A viabilidade da fase imatura foi obtida pelo quociente do total de insetos emergidos e o número de ovos viáveis. A taxa instantânea de crescimento ( $r_i$ ) foi estimada através da equação de



Walthall e Stark (1997):  $r_i = [\ln(N_f/N_0)]/\Delta t$ , em que  $N_f$  = Número final de insetos;  $N_0$  = Número inicial de insetos; e  $\Delta t$  = Número de dias em que o ensaio foi executado (35 dias).

Para o cálculo do período de ovo a adulto utilizou-se a fórmula:  $[\Sigma(\text{número diário de insetos emergidos} \times \text{número de dias após a infestação})/\text{total de insetos emergidos}]$ . A contagem de insetos emergidos foi realizada diariamente, cessando-se após quatro dias sem emergência. Para determinar o peso, os insetos após a emergência foram acondicionados em frascos de vidro com capacidade de 120 ml e colocados em freezer (-5 °C) até morrerem. Os recipientes foram abertos e colocados em estufa (40 °C) por 48 h, sendo pesados em balança de precisão.

Os dados foram submetidos à análise de variância ANOVA em esquema fatorial quatro (cultivares) x três (compostos) x duas (concentrações letais), sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, através do programa Sisvar versão 5.0 (Ferreira 2011).

## Resultados e Discussão

**Teste de Toxicidade.** Os valores das  $CL_{30}$  e  $CL_{50}$  dos compostos foram estimados em 103,48 e 125,18; 54,77 e 77,42; 55,98 e 60,99 ppm, respectivamente, para Eugenol, Geraniol e trans – Anetole. Os dois últimos apresentaram os menores valores para  $CL_{30}$  e  $CL_{50}$ , diferenciando de Eugenol pelo intervalo de confiança. No entanto, Geraniol apresentou a maior razão de toxicidade para a  $CL_{30}$  de 1,89 vezes e trans – Anetole a maior para a  $CL_{50}$  de 2,05 vezes (Tabela 1).

Diversos estudos têm sido desenvolvidos, visando avaliar a bioatividade de óleos essenciais e seus constituintes no controle de *C. maculatus*. Gusmão *et al.* (2013) estimaram para os óleos essenciais de *Cymbopogon winterianus* Jowitt (Geraniol 21,83%) e *Eucalyptus staigeriana* F. (Limoneno 28,75%, e Geraniol 15,20%)  $CL_{50}$  de 328,42 e 345,57 ppm, respectivamente, em teste de contato. Islam *et al.* (2009), testando o óleo essencial de *Cinnamomum aromaticum* (Nees) (5,36% de Eugenol), determinaram uma  $CL_{50}$  de 23,16  $\mu\text{g cm}^{-2}$  após 48 h de exposição.

**Combinação de Cultivares Resistentes com Constituintes de Óleos essenciais.** Nesta combinação houve interação significativa ( $P < 0,05$ ) entre os três fatores (cultivares, compostos e concentrações) para os parâmetros: total de ovos e ovos por grão, total de adultos emergidos e adultos emergidos por grão, período de ovo a adulto e perda de peso. Na maioria dos parâmetros a CL<sub>50</sub> apresentou efeito adverso significativamente maior ( $P < 0,05$ ) que a CL<sub>30</sub>.

O número total de ovos e de ovos por grão nas CL<sub>30</sub> e CL<sub>50</sub> dos compostos foi menor em Eugenol e Geraniol em cada uma das quatro cultivares testadas. BRS Tracuateua apresentou em média menor número de ovos que a cultivar Sempre Verde, exceção feita ao composto Geraniol, onde BRS Tracuateua proporcionou em média 68,0 ovos, no entanto, não diferiu estatisticamente de Sempre Verde ( $P > 0,05$ ) (Tabela 2).

Carvalho *et al.* (2011), avaliando a resistência de cultivares de feijão-caupi a *C. maculatus* observaram menor número de ovos para a cultivar Patativa com 20,00 ovos/10 g e BR 17 Gurgueia com 29,25 ovos/10 g de sementes. Hedjal-Chehheb *et al.* (2013) observaram que o óleo essencial de *Tetraclinis articulata* (Vahl) (9,54% de Limoneno) reduziu a postura de *C. maculatus*. Na presente pesquisa, BRS Tracuateua e BR 17 Gurgueia quando associadas à CL<sub>50</sub> de Geraniol apresentaram número médio de ovos de 65,50 e 75,75, respectivamente, no entanto, não diferiram das demais cultivares.

Izakmehri *et al.* (2013), testando efeitos letais e subletais de óleos essenciais em *C. maculatus*, observaram que a CL<sub>20</sub> (14,24 mL/L de ar) de *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh reduziu em 27,58% a fecundidade média de fêmeas, e a postura média foi de 51,48 ovos. Na presente pesquisa, BR 17 Gurgueia proporcionou a menor média de 0,75 ovos por grão de *C. maculatus*, quando associada à CL<sub>30</sub>, e 0,65 ovos quando associada à CL<sub>50</sub> de Eugenol, e 1,64 e 1,52 ovos quando associada à CL<sub>30</sub> e CL<sub>50</sub> de trans – Anetole, respectivamente, comparando-se as

cultivares em cada composto. Segundo Desneux *et al.* (2007), o limiar de mortalidade recomendada para o uso de óleos essenciais no manejo integrado de pragas foi estimado de 30%.

A viabilidade de ovos (%) foi menor em BR 17 Gurgueia, em relação às demais cultivares nas CL<sub>30</sub> e CL<sub>50</sub> em cada um dos três compostos, e proporcionou uma viabilidade média de 49,86%, quando associada à CL<sub>50</sub> de Eugenol e 49,83% quando associada à CL<sub>30</sub> de trans - Anetole. Lima *et al.* (2002) verificaram que a cultivar Mulato proporcionou uma viabilidade média de 85,9% em seis gerações de *C. maculatus*, sendo a menor dentre os genótipos testados.

Nas quatro cultivares testadas, o número total de adultos emergidos e de adultos por grão foi menor, quando estas foram associadas a Eugenol e Geraniol (Tabela 3). Lale e Mustapha (2000), testando o potencial da combinação de nim (*Azadirachta indica* A. Juss) com a resistência de cultivares de feijão-caupi, verificaram que a cultivar Kanannado proporcionou em média três insetos emergidos, quando associada ao óleo de nim na concentração de 100 mg/5 g de sementes. A cultivar BR 17 Gurgueia associada à CL<sub>50</sub> de Geraniol apresentou em média 38,5 insetos emergidos. Abeywickrama *et al.* (2006) observaram em média 2,16 insetos emergidos, quando utilizaram 1,8-cineole (constituente majoritário de *Alpinia calcarata* Rosc.) na concentração de 0,060 g L<sup>-1</sup>.

Geraniol, em ambas as concentrações letais, proporcionou a menor taxa instantânea de crescimento populacional, comparando-se os compostos dentro de cada cultivar, no entanto, todas as taxas foram positivas. Araújo (2014), avaliando a taxa instantânea de crescimento populacional de diferentes populações de *Sitophilus zeamais* Mots., observaram que todas as populações apresentaram taxa de crescimento positiva, variando de 0,007 a 0,014. Melo *et al.* (2012) estimaram taxa instantânea de crescimento populacional de *C. maculatus* de 0,058 na cultivar BR 17 Gurgueia. Na presente pesquisa, esta cultivar, quando associada a CL<sub>50</sub> de Geraniol apresentou taxa instantânea de crescimento de 0,038455.

A viabilidade da fase imatura (%) foi menor em BR 17 Gurgueia nas CL<sub>30</sub> e CL<sub>50</sub>, quando associada a qualquer um dos compostos (Tabela 4). Lima *et al.* (2004), avaliando os efeitos da alternância de genótipos na biologia de *C. maculatus*, observaram 76% de viabilidade da fase imatura para a cultivar BR 17 Gurgueia resistente (5<sup>a</sup> geração de infestação).

A viabilidade da fase imatura pode ser afetada por proteínas inseticidas presentes nos grãos. Segundo Carlini e Grossi-de-Sá (2002), os componentes químicos de defesa das plantas incluem antibióticos, alcalóides, terpenos, glicosídeos cianogênicos e proteínas. As proteínas geralmente associadas com os mecanismos de defesa são as lectinas, inibidores de alfa-amilases, inibidores de proteinases, proteínas inativadoras de ribossomos, proteínas de reservas (vicilinas) modificadas, proteínas de transporte de lipídios, glucanases e quitinases. Entre os fatores antinutricionais de maior relevância encontrados nas sementes de leguminosas em geral e também no feijão-caupi, estão as lectinas e os inibidores de proteases. Outros fatores não-protéicos, como taninos e ácido fítico, também têm sido detectados em sementes de diversas cultivares de feijão-caupi, agindo diretamente no sistema gastrointestinal, outros agindo ainda no sistema nervoso, no balanço hormonal e no metabolismo de seus consumidores (Grangeiro *et al.* 2005).

Em relação ao peso seco dos insetos houve diferença estatística ( $P < 0,05$ ) apenas em trans – Anetole, entre as cultivares, quando associadas a cada um dos compostos, com os insetos emergidos da cultivar BR 17 Gurgueia com peso médio de 1,35 mg na CL<sub>30</sub>. Ao avaliar a resistência de cultivares de feijão-caupi a *C. maculatus*, Soares (2012) verificou que a cultivar AM-61-1-Costela de Vaca teve o menor peso seco médio de 1,751 mg. Quando se comparou o peso seco nos compostos dentro de cada cultivar, verificou-se que Sempre Verde associada à CL<sub>30</sub> de Geraniol apresentou menor peso de insetos (1,47 mg).

As cultivares Sempre Verde, Epace 10 e BR 17 Gurgueia proporcionaram menor perda de peso quando associadas a Eugenol e Geraniol nas duas concentrações testadas, comparando-se os

compostos em cada cultivar. Castro (2013a), testando a associação de genótipos de feijão-caupi a óleos essenciais, observou menor perda de peso quando associou *Vitex agnus castus* L. e *Piper callosum* Ruiz e Pav a BRS - Urubuquara, os quais proporcionaram um consumo médio de 0,010 g. No presente trabalho BR 17 Gurgueia associada à CL<sub>50</sub> de Geraniol e Eugenol proporcionou perda de peso de 7,32% e 6,40%, respectivamente.

O período de ovo a adulto foi mais longo em BR 17 Gurgueia e Epace 10, quando se comparou as cultivares em cada composto. No entanto, quando a comparação foi efetuada com os compostos em cada cultivar, houve diferença estatística apenas em Epace 10 na CL<sub>30</sub>, com trans – Anetole, proporcionando período de ovo a adulto de 28,99 dias. Sales *et al.* (2005) observaram um período de ovo a adulto de 28 dias para a cultivar Epace 10, suscetível a *C. maculatus*.

A combinação de cultivares resistentes com constituintes de óleos essenciais pode ser um método de controle promissor para *C. maculatus*, por seguir os princípios do manejo integrado de pragas e com potencial para ser uma importante alternativa à utilização de inseticidas químicos. De modo geral, a cultivar BR 17 Gurgueia combinada com Eugenol e Geraniol afetou mais significativamente os parâmetros biológicos de *C. maculatus* do que em combinação com trans – Anetole, reduzindo o número de ovos, insetos emergidos e viabilidade de ovos.

### **Agradecimentos**

À FACEPE pela bolsa de estudos concedida ao primeiro autor deste trabalho. Aos colegas do Laboratório de Entomologia Agrícola da UFRPE pela solidariedade e amizade.

### **Literatura citada**

**Abeywickrama, K., A.A.C.K. Adhikari, P. Paranagama & C.S.P. Gamage. 2006.** The efficacy of essential oil of *Alpinia calcarata* (Rosc.) and its major constituent, 1,8-cineole, as

protectants of cowpea against *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). Can. J. Plant. Sci. 86: 821-827.

**Ajay, O.E., A.G. Appel & H.Y. Fadamiro. 2014.** Fumigation Toxicity of Essential Oil Monoterpenes to *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae). J. Insects 2014: 1-7.

**Amusa, O.D., A.L. Ogunkanni, K. Bolrinwa & O. Ojobo. 2013.** Evaluation of four cowpea lines for bruchid (*Callosobruchus maculatus*) tolerance. J. Nat. Sci. Res. 3: 46-52.

**Appleby, J.H. & P.F. Credland. 2004.** Environmental conditions affect the response of West African *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) populations to susceptible and resistant cowpeas. J. Stored Prod. Res. 40: 269-287.

**Araújo, A.M.N. 2014.** Toxicidade, efeitos comportamentais e sinergismo de óleos essenciais em *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). Tese de Doutorado, UFRPE, Recife, 84p.

**Barbosa, D.R.S. & L.S. Fontes. 2011.** Radiação microondas para o controle de pupas de *Callosobruchus maculatus* em cultivares de feijão-caupi. Agrária 6: 551-556.

**Carlini, C.R. & M.F. Grossi-de-Sá. 2002.** Plant toxic proteins with insecticidal properties. A review on their potentialities as bioinsecticides. Toxicon 40: 1515-1539.

**Carvalho, R.O., A.C.S. Lima & J.M.A. Alves. 2011.** Resistência de genótipos de feijão-caupi ao *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) (Coleoptera: Bruchidae). Rev. Cienc. Agron. 5: 50-56.

**Castro, M.J.P. 2013a.** Efeitos de genótipos de feijão-caupi e de espécies botânicas em diferentes formulações sobre *Callosobruchus maculatus* (Fabr.). Tese de Doutorado, UNESP, Botucatu, 131p.

**Castro, M.J.P., E.L.L. Baldin, P.L. Cruz, C.M. Souza & P.H.S. Silva. 2013b.** Characterization of cowpea genotype resistance to *Callosobruchus maculatus*. Pesq. Agropec. Bras. 9: 1201-1209.

**Desneux, N., A. Decourtye & J.M. Delpuech. 2007.** The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. Annu. Rev. Entomol. 52: 81-106.

**Ferreira, D.F. 2011.** Sisvar: a computer statistical analysis system. Ciênc. Agrotec., 35: 1039-1042.

**Finney, D.J. 1971.** Probit analysis. 3. ed. London: Crambridge Press. 338 p.

**Grangeiro, T.B., R.E.R. Castellón, F.M.M.C. Araújo, S.M.S. Silva, E.A. Freire, J.B. Cajazeiras, M.A. Neto, M.B. Grangeiro & B.S. Cavada. 2005.** Composição bioquímica da semente. In: F.R. Freire Filho, J.A. Lima & V.Q. Ribeiro (Eds.). Feijão-caupi: avanços tecnológicos. Brasília DF: Embrapa Informação Tecnológica, p.338-365.

- Gusmão, N.M.S., J.V. Oliveira, D.M.A.F. Navarro, K.A. Dutra, W.A. Silva, M.J.A. Wanderley. 2013.** Contact and fumigant toxicity and repellency of *Eucalyptus citriodora* Hook., *Eucalyptus staigeriana* F., *Cymbopogon winterianus* Jowitt and *Foeniculum vulgare* Mill. essential oils in the management of *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) (Coleoptera: Chrysomelidae, Bruchinae). *J. Stored Prod. Res.* 54: 41-47.
- Hall, A.E. 2003.** Future directions of bean/cowpea collaborative research support program. *Field Crops Res.* 82: 233-240.
- Hedjal-Chehheb, M., K. Toudert-Taleb, M.L. Khoudja, R. Benabdesselam, M. Mellouk & A. Kellouche. 2013.** Essential oils compositions of six conifers and their biological activity against the cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus* Fabricius, 1775 (Coleoptera: Bruchidae) and *Vigna unguiculata* Seeds. *Afr. Entomol.* 21: 243-254.
- Islam, R., Khan, R.I., Al-Reza, S.M., Jeong, Y.T., Song, C.H. & Khalequzzaman, M. 2009.** Chemical composition and insecticidal properties of *Cinnamomum aromaticum* (Nees) essential oil against the stored product beetle *Callosobruchus maculatus* (F.). *J. Sci. Food Agric.* 89: 1241–1246.
- Isman, M.B. 2006.** Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and increasing regulated world. *Annu. Rev. Entomol.* 51: 45-66.
- Izakmehri, K., M. Saber, A. Mehrvar, M.B. Hassanpouraghdam & S. Vojoudi. 2013.** Lethal and Sublethal Effects of Essential Oils from *Eucalyptus camaldulensis* and *Heracleum persicum* Against the Adults of *Callosobruchus Maculatus*. *J. Insect Sci.* 13: 1-10.
- Kawuki, R.S., A. Agona, P. Nampala & E. Adipala. 2005.** A comparison of effectiveness of plant-based and synthetic insecticides in the field management of pod and storage pests of cowpea. *Crop Prot.* 24: 473-478.
- Knaak, N. & L.M. Fiuza. 2010.** Potencial dos óleos essenciais de plantas no controle de insetos e microrganismos. *Neotrop. Biol. Conserv.* 5: 120-132.
- Kheradmand, K., S.A.S. Noori & G.H. Sabahi. 2010.** Repellent effects of essential oil from *Simmondasia chinensis* (Link) against *Oryzaephilus surinamensis* Linnaeus and *Callosobruchus maculatus* (Fabricius). *Res. J. Agric. Sci.* 1: 66-68.
- Lale, N.E.S. & A. Mustapha. 2000.** Potential of combining neem (*Azadirachta indica* A. Juss) seed oil with varietal resistance for the management of the cowpea bruchid, *Callosobruchus maculatus* (F.). *J Stored Prod. Res.* 36: 215-222.
- Lima, M.P.L., J.V. Oliveira, R. Reginaldo Barros & J.B. Torres. 2001.** Identificação de genótipos de caupi *Vigna unguiculata* (L.) Walp. resistentes a *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) (Coleoptera: Bruchidae). *Neotrop. Entomol.* 30: 289-295.

- Lima, M.P.L., J.D. Oliveira, R. Barros, J.B. Torres & M.E.C. Gonçalves. 2002.** Estabilidade da resitência de genótipos de caupi a *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) em gerações sucessivas. *Sci. Agric.* 59: 275-280.
- Lima, M.P.L., J.V. Oliveira, R. Barros & J.B. Torres. 2004.** Alternância de genótipos de caupi afeta a biologia de *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) (Coleoptera: Bruchidae). *Sci. agric.* 61: 27-31.
- Marsaro Júnior, A.L. & A.A. Vilarinho. 2011.** Resistência de cultivares de feijão-caupi ao ataque de *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchidae) em condições de armazenamento. *Rev. Acad. Ciênc. Agrár. Ambient.* 9: 51-55.
- Melo, A.F., L.S. Fontes, D.R.S. Barbosa, A.A.R. Araújo, E.P.S. Sousa, L.L.L. Soares & P.R.R. Silva, 2012.** Resistência de genótipos de feijão-caupi ao ataque de *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae). *Arq. Inst. Biol.* 79: 425-429.
- Mogbo, T.C., T.E. Okeke & C.E. Akunne. 2014.** Studies on the Resistance of Cowpea Seeds (*Vigna unguiculata*) to Weevil (*Callosobruchus maculatus*) Infestations. *AJZR* 2: 37-40.
- Ndong, A., K. Kébé, C. Thiaw, T. Diome & M. Sembène. 2012.** Genetic distribution of the cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) bruchid (*Callosobruchus maculatus* F., Coleoptera, Bruchidae) populations in different agro-ecological areas of West Africa. *J. Anim. Sci. Adv.* 2: 616-630.
- Nyamador, W.S., G.K. Ketoh, K. Amévoïn, Y. Nuto, H.K. Koumaglo & I.A. Glitho. 2010.** Variation in the susceptibility of two *Callosobruchus* species to essential oils. *J. Stored Prod. Res.* 46: 48–51.
- Obopile, M., K. Masiapeto & C. Gwafila. 2011.** Variation in reproductive and developmental parameters of *Callosobruchus maculatus* (F) reared on ten Botswana cowpea landraces. *Afr. J Biotechnol.* 10: 13924-13928.
- Oluwafemi, A.R. 2012.** Comparative effects of three plant powders and pirimiphos-methyl against the infestation of *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) in cowpea seeds. *SOAJ Entomol.* 1: 87–99.
- Rajendran, S. & V. Sriranjini. 2008.** Plants products as fumigants for stored-products insect control. *J. Stored Prod. Res.* 44: 126-135.
- Rocha, M.M., K.J.M. Carvalho, F.R. Freire Filho, A.C.A. Lopes, R.L.F. Gomes & I.S. Sousa. 2009.** Controle genético do comprimento do pedúnculo em feijão-caupi. *Pesq. Agropec. Bras.* 44: 270-275.
- Rotimi, J. & O.A. Ekperusi. 2012.** Effectiveness of citrus oils as cowpea seed protectant against damage by the cowpea Bruchid *Callosobruchus maculatus* (F) (Coleopteran: Bruchidae). *Adv. Appl. Science Res.* 3: 3540-3544.



- Sales, M.P., L.B.S. Andrade, M.B. Ary, M.R.A. Miranda, F.M. Teixeira, A.S. Oliveira & J. Xavier-Filho. (2005).** Performance of bean bruchids *Callosobruchus maculatus* and *Zabrotes subfasciatus* (Coleoptera: Bruchidae) reared on resistant (IT81D-1045) and susceptible (Epace 10) *Vigna unguiculata* seeds: Relationship with trypsin inhibitor and vicilin excretion. *Comp. Biochem. Physiol., Part A Mol. Integr. Physiol.* 142: 422-426.
- SAS Institute. 2001.** User's guide, version 8.02, TS level 2MO. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Sharma, S. & D.R. Thakur. 2014.** Comparative developmental compatibility of *Callosobruchus maculatus* on cowpea, chickpea and soybean genotypes. *Asian J. Biol. Sci.* 7: 270-276.
- Soares, L.L.L. 2012.** Avaliação da resistência de genótipos de feijão-caupi *Vigna unguiculata* (L.) Walp. ao caruncho *Callosobruchus maculatus* (Fabr.) (Coleoptera: Crysomelidae). Dissertação de Mestrado, UFPI, Teresina, 65p.
- Távora, F.J.A.F., S.L. Nogueira, J.L.N. Pinho. 2001.** Arranjo e população de plantas em cultivares de feijão-de-corda com diferentes características de copa. *Rev. Cienc Agron.* 32: 69-77.
- Teófilo, E.M., A.S. Dutra, J.B. Pitimbeira, F.T.C. Dias & F.S. Barbosa. 2008.** Potencial fisiológico de sementes de feijão caupi produzidas em duas regiões do Estado do Ceará. *Rev. Cienc Agron.* 39: 443-448.
- Toudert-Tale, K., M. Hedjal-Chebheb, H. Hami, J-F. Debras & A. Kellouche. 2014.** Composition of essential oils extracted from six aromatic plants of Kabylia origin (Algeria) and evaluation of their bioactivity on *Callosobruchus maculatus* (Fabricius, 1775) (Coleoptera: Bruchidae). *Afr. Entomol.* 22: 417-427.
- Tripathi, A.K., S. Upadhyay, M. Bhuiyan & P.R. Bhattacharya. 2009.** A review on prospects of essential oils as biopesticide in insect-pest management. *J. Pharmacognosy Phytother.* 1: 52-63.
- Walthall, W.K. & J.D. Stark. 1997.** Comparison of two population level ecotoxicological endpoints: The intrinsic (rm) and instantaneous (ri) rates of increase. *Environ. Toxicol. Chem.* 16: 1068-1073.
- Zandi-Sohani, N., M. Hojjati & A.A. Carbonell-Barrachina. 2012.** Bioactivity of *Lantana camara* L. essential oil against *Callosobruchus maculatus* (Fabricius). *Chil. J. Agric. Res.* 74: 502-506.

Tabela 1. Toxicidade de compostos majoritários de óleos essenciais em adultos de *Callosobruchus maculatus* em grãos de feijão-caupi.

Tratamento	n	GL	Inclinação (±EP)	CL <sub>30</sub> (IC95%)	RT <sub>30</sub>	CL <sub>50</sub> (IC95%)	RT <sub>50</sub>	$\chi^2$
Eugenol	200	3	6,34±0,72	103,48 (92,17-113,20)	-	125,18 (114,55-135,98)	-	3,32
Geraniol	240	4	3,48±0,61	54,77 (26,81-74,59)	1,89	77,42 (49,43-100,84)	1,62	8,42
trans - Anetole	200	3	14,11±1,62	55,98 (53,09-58,31)	1,84	60,99 (58,58-63,29)	2,05	0,64

n= número de insetos usados no teste; GL= grau de liberdade; EP = erro padrão da média; IC = intervalo de confiança; RT = razão de toxicidade,  $\chi^2$ = Qui-quadrado.

Tabela 2. Valores de total de ovos, ovos por grão e viabilidade de ovos (%) de *Callosobruchus maculatus* em diferentes cultivares de feijão-caupi associadas a compostos majoritários de óleos essenciais.

Cultivares	Total de ovos <sup>1</sup>		
	CL <sub>30</sub>		
	Eugenol	Geraniol	trans - Anetole
Sempre Verde	204,75±4,55aB	94,25±4,42aC	333,75±8,13aA
Epace 10	125,25±2,89bB	81,50±1,10aB	299,75±23,41abA
BRS Tracuateua	104,00±3,80bB	68,00±1,65aB	241,25±12,20bA
BR 17 Gurgueia	130,75±6,47bB	79,75±2,49aB	280,00±32,08abA
Cultivares	Total de ovos <sup>1</sup>		
	CL <sub>50</sub>		
	Eugenol	Geraniol	trans - Anetole
Sempre Verde	142,50±13,37aB	91,25±5,15aB	256,25±30,53aA
Epace 10	113,00±1,91aB	78,25±2,25aB	230,50±55,52aA
BRS Tracuateua	99,25±2,59aB	65,50±5,11aB	152,75±6,08bA
BR 17 Gurgueia	111,50±4,44aB	75,75±3,75aB	257,75±26,50aA
Cultivares	Ovos por grão <sup>1</sup>		
	CL <sub>30</sub>		
	Eugenol	Geraniol	trans - Anetole
Sempre Verde	1,940±0,13aB	0,85±0,04aC	3,16±0,07abA
Epace 10	1,16±0,02bcB	0,73±0,01aB	2,76±0,24bA
BRS Tracuateua	1,52±0,05abB	0,97±0,07aC	3,57±0,17aA
BR 17 Gurgueia	0,75±0,03cB	0,47±0,02aB	1,64±0,18cA
Cultivares	Ovos por grão <sup>1</sup>		
	CL <sub>50</sub>		
	Eugenol	Geraniol	trans - Anetole
Sempre Verde	1,35±0,03aB	0,89±0,03aB	2,44±0,25Aa
Epace 10	1,03±0,02abB	0,72±0,01aB	2,12±0,50aA
BRS Tracuateua	1,45±0,03aB	0,94±0,02aC	2,23±0,11aA
BR 17 Gurgueia	0,65±0,02cB	0,44±0,01aB	1,520±0,16bA
Cultivares	Viabilidade de ovos (%) <sup>1</sup>		
	CL <sub>30</sub>		
	Eugenol	Geraniol	trans - Anetole
Sempre Verde	72,53±1,46aA	72,98±3,18aA	73,61±1,34aA
Epace 10	63,64±0,83bA	63,50±0,54bA	62,77±0,60bA
BRS Tracuateua	72,95±3,25aA	73,72±2,59aA	73,03±2,87aA
BR 17 Gurgueia	52,46±2,37cA	53,34±3,19cA	49,83±0,73cA
Cultivares	Viabilidade de ovos (%) <sup>1</sup>		
	CL <sub>50</sub>		
	Eugenol	Geraniol	trans - Anetole
Sempre Verde	67,43±0,68aB	73,63±1,00aA	67,35±0,88aB
Epace 10	62,64±0,61aA	63,25±1,05bA	61,84±0,65aA
BRS Tracuateua	66,29±0,79aA	66,87±1,08bA	65,31±0,43aA
BR 17 Gurgueia	49,86±0,997cA	50,81±0,53cA	50,55±2,88bA

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 3. Valores de total de adultos emergidos, adultos emergidos por grão e taxa instantânea de crescimento populacional ( $r_i$ ) de *Callosobruchus maculatus* em diferentes cultivares de feijão-caupi associadas a compostos majoritários de óleos essenciais.

Cultivares	Total de adultos emergidos <sup>1</sup>		
	CL <sub>30</sub>		
	Eugenol	Geraniol	trans - Anetole
Sempre Verde	148,50±10,34aB	68,50±2,98aC	245,50±5,20aA
Epace 10	79,75±2,49bB	51,75±1,49aB	188,00±14,07bA
BRS Tracueteua	75,50±0,64bB	49,75±2,13aB	176,75±13,64bcA
BR 17 Gurgueia	68,25±2,28bB	42,25±1,37aB	140,00±17,35cA
Cultivares	Total de adultos emergidos <sup>1</sup>		
	CL <sub>50</sub>		
	Eugenol	Geraniol	trans - Anetole
Sempre Verde	96,00±2,27aB	67,25±3,72aB	172,75±20,91aA
Epace 10	70,75±0,62abB	49,50±1,19aB	143,50±35,29abA
BRS Tracueteua	65,75±0,25abAB	43,75±0,47aB	99,75±3,90cA
BR 17 Gurgueia	55,50±1,65bB	38,50±1,44aB	129,00±10,10bcA
Cultivares	Adultos emergidos por grão <sup>1</sup>		
	CL <sub>30</sub>		
	Eugenol	Geraniol	trans - Anetole
Sempre Verde	1,40±0,1Ba	0,62±0,02abC	2,32 ±0,05aA
Epace 10	0,74±0,02bcB	0,46±0,01abB	1,72±0,14bA
BRS Tracueteua	1,10±0,01abB	0,71±0,02aC	2,62±0,21aA
BR 17 Gurgueia	0,39±0,01cB	0,25±0,09bB	0,82 ±0,10cA
Cultivares	Adultos emergidos por grão <sup>1</sup>		
	CL <sub>50</sub>		
	Eugenol	Geraniol	trans - Anetole
Sempre Verde	0,91±0,01aB	0,65±0,03aB	1,65±0,17aA
Epace 10	0,65±0,01abB	0,45±0,01abB	1,32±0,31aA
BRS Tracueteua	0,95±0,01aB	0,63±0,01aB	1,45±0,07aA
BR 17 Gurgueia	0,32±0,01bB	0,22±0,06bB	0,76±0,06bA
Cultivares	Taxa instantânea de crescimento populacional ( $r_i$ ) <sup>1</sup>		
	CL <sub>30</sub>		
	Eugenol	Geraniol	trans - Anetole
Sempre Verde	0,076883±0,001aB	0,054898±0,001aC	0,091433±0,0006aA
Epace 10	0,059280±0,0009bB	0,046933±0,0008abC	0,083583±0,002abA
BRS Tracueteua	0,057758±0,0002bB	0,045763±0,001bC	0,081793±0,002bA
BR 17 Gurgueia	0,054830±0,0009bB	0,041125±0,0009bC	0,074740±0,003bA
Cultivares	Taxa instantânea de crescimento populacional ( $r_i$ ) <sup>1</sup>		
	CL <sub>50</sub>		
	Eugenol	Geraniol	trans - Anetole
Sempre Verde	0,064598±0,0006aB	0,054320±0,001aC	0,080783±0,003aA
Epace 10	0,055898±0,0002abB	0,045675±0,0006abC	0,072590±0,008abA
BRS Tracueteua	0,053795±0,0005bB	0,042160±0,0003bC	0,065648±0,001bA
BR 17 Gurgueia	0,048925±0,0008bB	0,038455±0,001bC	0,072783±0,002abA

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 4. Valores de viabilidade da fase imatura (%), peso seco de insetos (mg), perda de peso dos grãos (%) e período de ovo a adulto de *Callosobruchus maculatus* em diferentes cultivares de feijão-caupi associadas a compostos majoritários de óleos essenciais.

Cultivares	Viabilidade da fase imatura (%) <sup>1</sup>		
	CL <sub>30</sub>		
	Eugenol	Geraniol	trans - Anetole
Sempre Verde	87,00±0,91aA	85,00±0,71aA	87,25±0,75aA
Epace 10	77,75±1,03bA	78,50±0,96bA	78,50±1,19bA
BRS Tracuateua	80,75±0,85bA	80,75±1,11abA	82,75±0,63abA
BR 17 Gurgueia	69,50±1,71cA	70,50±1,55cA	68,25±0,85cA
Cultivares	Viabilidade da fase imatura (%) <sup>1</sup>		
	CL <sub>50</sub>		
	Eugenol	Geraniol	trans - Anetole
Sempre Verde	86,25±1,11aA	85,00±1,15aA	87,00±1,15aA
Epace 10	76,50±1,55bA	76,75±0,85bA	76,750±1,11bA
BRS Tracuateua	77,00±2,74bA	79,50±1,55bA	79,50±1,94bA
BR 17 Gurgueia	68,75±0,75cA	68,50±0,96cA	69,00±1,08cA
Cultivares	Peso seco de insetos (mg) <sup>1</sup>		
	CL <sub>30</sub>		
	Eugenol	Geraniol	trans - Anetole
Sempre Verde	1,95±0,17aAB	1,47±0,06aC	2,45±0,40aA
Epace 10	1,77±0,30aB	2,00±0,25aAB	2,52±0,11aA
BRS Tracuateua	1,67±0,15aA	2,00±0,16aA	2,20±0,18aA
BR 17 Gurgueia	1,45±0,13aA	1,57±0,10aA	1,35±0,05bA
Cultivares	Peso seco de insetos (mg) <sup>1</sup>		
	CL <sub>50</sub>		
	Eugenol	Geraniol	trans - Anetole
Sempre Verde	1,45±0,05aA	1,25±0,10aA	1,30±0,06aA
Epace 10	1,60±0,17aA	1,52±0,14aA	1,60±0,18aA
BRS Tracuateua	1,55±0,15aA	1,85±0,21aA	1,60±0,20aA
BR 17 Gurgueia	1,40±0,08aA	1,42±0,09aA	1,60±0,14aA
Cultivares	Perda de peso dos grãos (%) <sup>1</sup>		
	CL <sub>30</sub>		
	Eugenol	Geraniol	trans - Anetole
Sempre Verde	14,65±0,28aB	11,35±0,42aC	35,59±0,01aA
Epace 10	7,94±0,18bB	9,74±0,58abB	14,97±0,80bA
BRS Tracuateua	8,55±0,48bB	9,25±0,27abB	14,40±1,69bcA
BR 17 Gurgueia	6,85±0,23bB	8,23±0,52bB	11,63±0,68cA
Cultivares	Perda de peso dos grãos (%) <sup>1</sup>		
	CL <sub>50</sub>		
	Eugenol	Geraniol	trans - Anetole
Sempre Verde	12,18±0,53aB	10,60±0,28aB	26,835±2,80aA
Epace 10	7,21±0,29bB	9,50±0,29bB	12,52±0,51bcA
BRS Tracuateua	7,81±0,39bA	7,57±0,49abA	9,75±0,85cA
BR 17 Gurgueia	6,40±0,46bB	7,32±0,30bB	13,91±1,05bA
Cultivares	Período de ovo a adulto <sup>1</sup>		
	CL <sub>30</sub>		
	Eugenol	Geraniol	trans - Anetole
Sempre Verde	28,29±0,23abA	27,91±0,06bA	27,85±0,09cA
Epace 10	28,36±0,05abB	28,00±0,03abB	28,99±0,09aA
BRS Tracuateua	27,91±0,01bA	27,99±0,10abA	27,59±0,07cA

Continuação da Tabela 4.

BR 17 Gurgueia	28,76±0,03aA	28,41±0,08aA	28,37±0,30bA
Cultivares	Período de ovo a adulto <sup>1</sup>		
	CL <sub>50</sub>		
	Eugenol	Geraniol	trans – Anetole
Sempre Verde	27,78±0,07bA	27,98±0,04abA	27,53±0,22bA
Epace 10	28,27±0,01abA	28,06±0,05abA	28,42±0,22aA
BRS Tracuateua	27,91±0,02bA	27,74±0,04bA	27,80±0,08bA
BR 17 Gurgueia	28,75±0,03aA	28,44±0,13aA	28,74±0,34aA

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula nas linhas, não diferem entre

si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.