

ISABELLA RUBIO CABRAL

**TOXICIDADE E EFEITOS COMPORTAMENTAIS DE ÓLEOS ESSENCIAIS SOBRE
Zabrotes subfasciatus (BOH.) (COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE: BRUCHINAE).**

Botucatu

2023

ISABELLA RUBIO CABRAL

**TOXICIDADE E EFEITOS COMPORTAMENTAIS DE ÓLEOS ESSENCIAIS SOBRE
Zabrotes subfasciatus (BOH.) (COLEOPTERA: CHRYSOMELIDAE: BRUCHINAE).**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao
Instituto de Biociências de Botucatu – Unesp como
parte dos requisitos para obtenção do título de
Bacharel em Ciências Biológicas.

Carlos Gilberto Raetano

Orientador

Luciana Maria Lunardi Campos

Supervisora

Botucatu

2023

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: MARIA CAROLINA A. CRUZ E SANTOS-CRB 8/10188

Cabral, Isabella Rubio.

Toxicidade e efeitos comportamentais de óleos essenciais sobre *Zabrotes Subfasciatus* (Boh.) (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae) / Isabella Rubio Cabral. - Botucatu, 2023

Trabalho de conclusão de curso (bacharelado - Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Carlos Gilberto Raetano

Capes: 50102028

1. Essências e óleos essenciais. 2. Feijão comum.
3. Inseticidas botânicos.

Palavras-chave: Óleo essencial; Bioatividade; Feijão armazenado; Inseticidas botânicos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que contribuíram para a realização desta pesquisa, em especial:

Ao grupo de pesquisa LARESPI (Laboratório de Resistência de Plantas a Insetos e Plantas Inseticidas), onde o trabalho foi realizado e aos que cruzaram meu caminho durante os anos de graduação, em especial à Jéssica, Sabrina, Maria Clezia, Yago, Alisson, Paulinha, Thais, Vinicius (Sem), Muriel e Rodrigo que tornaram meus dias mais leves e divertidos.

Ao Prof. Dr. Carlos Gilberto Raetano pelo apoio, atenção e parceria para a realização desta pesquisa.

À Profa. Dra. Luciana Maria Lunardi Campos pelo aceite do convite para ser a minha supervisora durante a realização do estudo.

Aos meus amigos Luís Thadeo e Carolina Destro por todas as conversas, risadas e momentos compartilhados.

À minha mãe Marcia e minha tia-avó Jacira pelo amor e apoio incondicional durante todos os anos de graduação. Agradeço também ao meu irmão Vinicius por sempre estar ao nosso lado.

Ao meu amigo e eterno orientador Edson Luiz Lopes Baldin (*in memoriam*), por todos os valiosos ensinamentos, conversas e conselhos, que me fizeram amadurecer no âmbito profissional e pessoal. Serei eternamente grata.

Muito obrigada!

RESUMO

O feijoeiro-comum, *Phaseolus vulgaris* L. (Fabales: Fabaceae), ocupa destacada importância mundial, em que vagens e sementes constituem-se como uma das principais fontes proteicas da população. O caruncho, *Zabrotes subfasciatus* (Bohemann, 1833) (Coleoptera: Chrysomelidae, Bruchinae), é considerado praga-chave durante o armazenamento dos grãos de feijão, em função dos danos diretos e indiretos que ocasiona, com impactos significativos sobre a produtividade. O controle desse caruncho é realizado principalmente pelo uso de inseticidas sintéticos. Deste modo, é necessário o desenvolvimento de métodos de controle eficientes e mais sustentáveis para *Z. subfasciatus*. Nesse sentido, os óleos essenciais são considerados uma ferramenta valiosa dentro do Manejo Integrado de Pragas (MIP). Assim, o objetivo do trabalho foi avaliar a toxicidade de óleos essenciais de *Chenopodium ambrosioides* L. (Chenopodiaceae), *Pelargonium graveolens* L. (Geraniaceae) e *Piper callosum* (Ruiz & Pav) (Piperaceae) e o comportamento de *Z. subfasciatus* expostos aos óleos. Bioensaios de toxicidade foram realizados para determinar as CL₅₀ e CL₉₀, bem como DL₅₀ e DL₉₀, via fumigação e contato, respectivamente. Posteriormente, determinou-se o tempo letal dos óleos essenciais. Por fim, foram conduzidos ensaios para avaliação do efeito residual dos óleos essenciais e as respostas comportamentais de adultos do caruncho expostos às substâncias. Com base nos resultados obtidos, todos os óleos essenciais testados foram tóxicos à adultos de *Z. subfasciatus*, em exposição por fumigação, contato e residual, com destaque para o óleo essencial de *C. ambrosioides*, com efeito mais potente. O rastreamento computacional demonstrou que os óleos essenciais de *C. ambrosioides* e *P. graveolens*, considerados substâncias irritativas, aumentaram a distância percorrida e a velocidade de deslocamento dos insetos.

Palavras-chave: óleo essencial, bioatividade, feijão armazenado, inseticidas botânicos.

SUMÁRIO

RESUMO.....	4
1 INTRODUÇÃO	6
2 MATERIAL E MÉTODOS	9
2.1 Criação estoque de <i>Z. subfasciatus</i>	9
2.2 Bioensaios.....	10
2.3 Curvas de concentração-mortalidade dos óleos essenciais para adultos de <i>Z. subfasciatus</i> por exposição à fumigação.....	10
2.4 Curvas de concentração-mortalidade dos óleos essenciais para adultos de <i>Z. subfasciatus</i> por contato	12
2.5 Tempo letal.....	13
2.6 Efeito residual de óleos essenciais para adultos de <i>Z. subfasciatus</i>	13
2.7 Bioensaios comportamentais	14
2.8 Análises estatísticas	15
3 RESULTADOS	16
3.1 Curvas de concentração-mortalidade dos óleos essenciais para adultos de <i>Z. subfasciatus</i> por exposição à fumigação.....	16
3.2 Curvas de concentração-mortalidade dos óleos essenciais para adultos de <i>Z. subfasciatus</i> por contato	18
3.3 Tempo letal.....	18
3.4 Efeito residual de óleos essenciais para adultos de <i>Z. subfasciatus</i>	19
3.5 Bioensaios comportamentais	19
4 DISCUSSÃO	21
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	24
6 REFERÊNCIAS.....	24

1 INTRODUÇÃO

O feijoeiro-comum, *Phaseolus vulgaris* L. (Fabales: Fabaceae), é reconhecido mundialmente como fonte de proteínas, vitaminas e minerais (Aydin, Baloch, 2019; Nadeen et al., 2020). Além de apresentar elevado conteúdo energético, é considerado uma importante fonte alimentar para mais de 300 milhões de pessoas, desempenhando um papel vital na dieta humana e nos sistemas agrícolas de países em desenvolvimento (Akibode; Maredia, 2012; Petry et al., 2015; Yeken et al., 2018). Essa leguminosa pode ser consumida na forma de vagens frescas ou sementes comestíveis, além de possuir atividades biológicas benéficas, devido à alta quantidade de polifenóis presentes em seus grãos, que lhes conferem um elevado teor antioxidante e ser considerada uma cultura de importância econômica e social (Messina, 2014; Nchanji; Lutomia, 2021).

O Brasil situa-se entre os maiores produtores mundiais de feijão, com uma produção média de 85,9 mil toneladas na safra de 2021/22 (Conab, 2022). Apesar de sua importância para a economia brasileira, existe uma grande diferença entre a produtividade real e o potencial de rendimento da cultura (Hillocks et al., 2006; Baijukya et al., 2016). Dentre os principais problemas fitossanitários que podem comprometer essa produtividade e o bom desempenho da cadeia feijoeira, destacam-se àqueles relacionados ao ataque de carunchos, os quais podem comprometer até 40% do peso seco do produto, representando perdas variáveis entre 1,59 e 9,12 milhões de toneladas a cada ano (Stathers et al., 2008; Paul et al., 2009; Mesele et al., 2019).

A espécie *Zabrotes subfasciatus* (Bohemann, 1833) (Coleoptera: Chrysomelidae, Bruchinae), é mundialmente considerada uma das pragas de maior relevância para os grãos de *P. vulgaris* no período pós-colheita, ocasionando perdas quantitativas e qualitativas (Vilca Mallqui et al., 2013; Morales et al., 2018). As populações desse inseto apresentam rápido crescimento em grãos de feijão e quando não controladas, podem comprometer grandes volumes de produção em poucos meses de armazenamento (Lima et al., 1983; Golebiowski et al., 2008).

O desenvolvimento desse inseto é holometabólico, passando pelas fases de ovo, larva, pupa e adulto. Os adultos da espécie apresentam acentuado dimorfismo sexual, com machos adultos que medem em média 1,8 mm de comprimento e pesam em média 1,7 mg e fêmeas que medem 2,5 mm e 3 mg (Ferreira, 1960). Além das fêmeas serem

maiores que os machos, também exibem élitros pretos e brilhantes, com uma mancha branca transversal em cada élitro, além de uma pubescência branca na base do pronoto, enquanto os machos possuem coloração marrom-clara. Os adultos possuem capacidade de acasalar e reiniciar a infestação em média 15 minutos após a emergência (Southgate, 1978; Athié; De Paula, 2002; Gallo et al., 2002).

Os ovos, com 0,60 mm de comprimento, apresentam formato arredondado, sendo aderidos aos grãos pela liberação de um líquido pegajoso no momento da oviposição das fêmeas, que facilita a penetração da larva no interior do grão (Abate; Ampofo, 1996). Apresentam coloração translúcida após a postura e esbranquiçado próximo ao momento da eclosão (Gallo et al., 2002). As larvas apresentam corpo robusto do tipo curculioniforme, tegumento fino e coloração branco-leitosa. As mandíbulas bem desenvolvidas possibilitam que as larvas penetrem o grão durante o primeiro ínstar, onde permanecem se alimentando do cotilédone das sementes até o momento da emergência dos adultos, sendo apenas nessa fase larval onde é possível constatar a alimentação do inseto (Ferreira, 1960; Hill, 2002). Ao final do último instar, empupam dentro de pequenas câmaras com a mandíbula voltada à janela de saída, para que o adulto possa emergir. As pupas possuem coloração branca e o formato da extremidade do abdome permite a diferenciação dos sexos já nessa fase, retilíneo nas fêmeas e arqueado nos machos (Ferreira, 1960; Athié; De Paula, 2002; Gallo et al., 2002).

O ataque direto do caruncho provoca redução do peso dos grãos e significativas perdas em sua qualidade. Além disso, o inseto favorece danos indiretos, uma vez que as perfurações nos grãos facilitam a entrada de ácaros e microrganismos. Como consequência, ocorre a diminuição do potencial germinativo das sementes e o comprometimento da comercialização (Ishimoto; Chrispeels, 1996; Brito et al., 2006; Baldin et al., 2017; Mutungi et al., 2020). Além do desperdício alimentar, o ataque do inseto frustra a expectativa dos produtores que investem recursos (área, fertilizantes, inseticidas e outros insumos), desde o plantio até o armazenamento (Endshaw; Hury, 2020).

Visando à redução das perdas ocasionadas pelo ataque de carunchos, diversas estratégias têm sido implementadas, incluindo práticas culturais, químicas e biológicas (Isman, 2006; Getu, 2009). A adoção do controle químico para o manejo desses insetos,

principalmente a partir de fumigações (fosfina) e/ou pulverizações (piretroides), é predominante nos armazéns. Esse uso contínuo de inseticidas sintéticos com o mesmo princípio ativo e/ou com modo de ação similar, tem implicado em perda de eficiência e seleção de populações de insetos resistentes (Weber 2001; Wasala et al., 2016; Mutungi et al., 2020).

Além disso, o desenvolvimento de práticas sustentáveis que possam ser incorporadas ao sistema de produção de alimentos ainda representa um grande desafio no Brasil, uma vez que os atuais programas de manejo de pragas são pautados na aplicação dessas moléculas sintéticas de forma sistemática e rotineira (Prasifka; Gray 2012). Esse uso abusivo também pode onerar os custos de produção, ser tóxico ao meio ambiente e aos trabalhadores, além de gerar resíduos tóxicos nos alimentos, quando as aplicações são realizadas próximo ao período de consumo do produto (Lara, 1991). Assim, torna-se cada vez mais importante a busca por outros métodos eficazes de controle, mas que ao mesmo tempo sejam mais sustentáveis e adequados ao Manejo Integrado de Pragas (MIP).

Visando ampliar os métodos de controle para o manejo de *Z. subfasciatus*, o uso de óleos essenciais é considerado uma estratégia promissora. As atividades inseticidas dos óleos essenciais geralmente são atribuídas à presença de monoterpenos, sesquiterpenos e outros compostos derivados do metabolismo secundário das plantas, provocando, individualmente ou em sinergismo, efeitos letais e/ou subletais para diversos artrópodes-praga (Isman, 2006; Christofoli et al., 2015; Baldin et al., 2015; Gonçalves et al., 2017; Alves et al., 2020; Barreto et al., 2022).

Os óleos essenciais são formados por uma ampla variedade de compostos orgânicos produzidos pelo metabolismo secundário das plantas. Compostos como terpenos (mono e sesquiterpenos), fenilpropanóides, compostos oxigenados e aromáticos geralmente estão presentes em sua constituição. Contudo, a composição química dos óleos pode variar entre plantas da mesma espécie, e entre espécies diferentes (Regnault-Roger et al., 2012). Essa variação química e as interações moleculares tornam a ação dos óleos essenciais sobre insetos bastante complexa (Rattan, 2010). Além disso, há menor pressão de seleção devido presença de inúmeros compostos e menor toxicidade sobre organismos não-alvo (Koul et al., 2008).

Óleos essenciais de *Chenopodium ambrosioides* L. (Chenopodiaceae), *Pelargonium graveolens* L. (Geraniaceae) e *Piper callosum* (Ruiz & Pav) (Piperaceae) são promissores para utilização no controle de pragas. A atividade inseticida desses óleos vem sendo estudada para diversas pragas de importância agrícola como *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae), *Bemisia tabaci* MEAM1 (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) e *Sitophilus zeamais* (Mots.) (Coleoptera: Curculionidae) (Trindade et al., 2015; Wei et al., 2015; Fanela et al., 2016; Pereira; Barbosa, 2022) e necessita ser investigada sobre *Z. subfasciatus*.

Diante do exposto, o presente projeto propôs avaliar a bioatividade de óleos essenciais de *C. ambrosioides*, *P. graveolens* e *P. callosum* sobre *Z. subfasciatus*, e o comportamento de *Z. subfasciatus* expostos aos óleos, em condições de laboratório.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram conduzidos no Laboratório de Resistência de Plantas a Insetos e Plantas Inseticidas (LARESPI) do Departamento de Proteção Vegetal/FCA-UNESP, Campus de Botucatu-SP, durante o ano de 2023.

2.1 Criação estoque de *Z. subfasciatus*

Para os ensaios, foram utilizados insetos provenientes da criação estoque de *Z. subfasciatus* já existente no laboratório. Os insetos foram mantidos em frascos de vidro transparente (800 mL), e a parte superior fechada com tecido voil, para permitir aeração interna. Cerca de 300 g de feijão Bolinha (*P. vulgaris*) foram depositados nos frascos e, posteriormente, infestados com adultos do caruncho (Figura 1). Periodicamente, o material era peneirado e os adultos utilizados para a infestação de novos frascos, a fim de se manter insetos em número suficiente para a realização dos testes propostos. Os frascos contendo os grãos e os insetos foram acondicionados no interior de câmara climática, sob condições controladas ($T = 27 \pm 2^\circ \text{C}$, $UR = 65 \pm 10\%$ e fotoperíodo = 12 horas).



Figura 1. Recipiente utilizado para a manutenção da criação-estoque de *Zabrotes subfasciatus*.

2.2 Bioensaios

Os óleos essenciais de *C. ambrosioides*, *P. graveolens* e *P. callosum* foram fornecidos pelos Profs. Drs. Renata Takeara (UFAM) e Wagner Antônio Bernardes (UNICERP). As concentrações letais (CL's) e doses letais (DL's) dos óleos essenciais foram estimados para adultos de *Z. subfasciatus*, com base em bioensaios de concentração/dose-mortalidade. Os ensaios foram conduzidos em condições de laboratório ($T = 26 \pm 2^\circ\text{C}$, $UR = 65 \pm 10\%$ e fotoperíodo = 14h).

2.3 Curvas de concentração-mortalidade dos óleos essenciais para adultos de *Z. subfasciatus* por exposição à fumigação

Bioensaios de concentração-mortalidade iniciais, situando-se entre os limites inferior (0%) e o superior (100%) de mortalidade, foram realizados para estimar as concentrações letais (CL's) dos óleos essenciais sobre adultos de *Z. subfasciatus*, a fim de obter uma faixa de mortalidade de $> 1\%$ e $< 99\%$.

As concentrações foram aplicadas em papel filtro (1 cm²) utilizando uma microseringa (10 µL; Hamilton®) (Figura 2). O papel tratado foi mantido na tampa de frascos de acrílico de 50 mL (câmara de fumigação) e coberto com tecido organza para evitar o contato direto dos insetos com as substâncias. Em seguida, os insetos foram acondicionados no fundo dos frascos e esses recipientes ajustados e mantidos a 180° para permitir a saturação e homogeneização do vapor dos óleos essenciais (Oliveira et al. 2018). Os frascos foram hermeticamente fechados com tampa plástica e plástico PVC e acondicionados em câmara climática, sob condições controladas, conforme descrito no item 2.1. Como controle negativo, o solvente acetona foi aplicado isoladamente sobre o papel filtro.

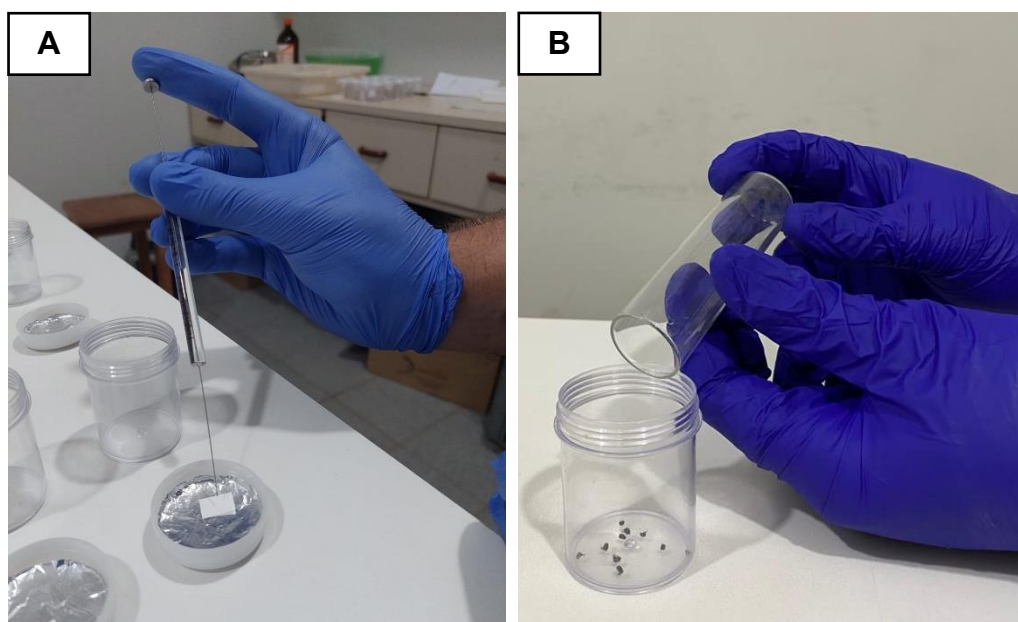


Figura 2. (A) Aplicação das concentrações em papel filtro com auxílio de uma microseringa. (B) Liberação dos insetos no frascos para posteriormente serem hermeticamente fechados com tampa e plástico PVC.

Os óleos essenciais foram solubilizados em solvente orgânico de acetona (99,9% de pureza). Cada unidade experimental constituiu-se de 10 insetos (5 casais sexados) de 48 horas de idade e um frasco de acrílico, totalizando cinco repetições por tratamento,

seguindo delineamento inteiramente casualizado. A avaliação de mortalidade foi realizada 24h, 48h e 72h após a exposição.

2.4 Curvas de concentração-mortalidade dos óleos essenciais para adultos de *Z. subfasciatus* por contato

Para determinar as doses aplicadas (μl de substância por mg de inseto), a massa de 40 indivíduos (20 machos e 20 fêmeas) foi obtida em balança analítica com 0,001g de precisão (Shimadzu). Os óleos essenciais (0,5 μl) foram aplicados na região do pronoto de cada indivíduo com auxílio de uma microseringa (10 μL ; Hamilton®) e placas de Petri (90 × 15 mm) forradas com papel filtro foram utilizadas para a contenção de 5 casais de *Z. subfasciatus* (48 horas de idade) (Figura 3). Para a obtenção das curvas dose-mortalidade (50 e 90) foram testadas de seis a doze doses, empregando um delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições para cada dose testada. O controle consistiu na aplicação do solvente acetona. Após a aplicação dos tratamentos, tecido organza foi posicionado sobre a placa e a tampa, a fim de permitir aeração interna e evitar a fuga dos insetos. Após a finalização da aplicação, as placas de Petri foram mantidas em câmara climática, conforme descrito no item 2.1.



Figura 3. Aplicação dos óleos essenciais na região do pronoto de cada inseto com auxílio de uma microseringa.

As avaliações foram realizadas após 48 h do início dos bioensaios. Os indivíduos considerados mortos quando não responderam a estímulos realizados com um pincel de cerdas macias ou quando permaneceram imóveis por mais de 10 segundos (Santos et al., 2019).

2.5 Tempo letal

Para a determinação dos tempos letais (TL's) (50 e 90), optou-se por utilizar os valores de CL₉₀ (concentração necessária para matar 90% da população de insetos) estabelecidos no item 2.3. Uma vez que as concentrações foram estabelecidas, os mesmos procedimentos e condições experimentais foram utilizados, como descrito anteriormente (item 2.4). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 10 repetições.

Avaliou-se a mortalidade dos insetos a cada 15 minutos até completar 2 horas de exposição, e então no intervalo de 2 horas até 48 horas.

2.6 Efeito residual de óleos essenciais para adultos de *Z. subfasciatus*

Para avaliar a bioatividade por contato residual, 10 g de feijão Bolinha foram acondicionados em recipiente de vidro (80 mL). Os óleos essenciais foram diluídos em solvente de acetona e aplicados nos grãos com auxílio de uma micropipeta (Figura 4). As concentrações preliminares foram baseadas em intervalo de 0, 125, 250, 500, 1000 e 2000 µl. O controle negativo consistiu na aplicação de acetona pura. Após a aplicação, os grãos foram agitados por 30 segundos e em seguida, mantidos por 1 hora para evaporação da acetona utilizada durante a solubilização das substâncias (Ribeiro et al. 2020).

Em seguida, 5 casais de *Z. subfasciatus* (48 horas de idade) foram transferidos para os recipientes de vidro (5 repetições por concentração testada). Após 3 dias da infestação (3 DAI), foram contabilizados os insetos mortos por tratamento. Novamente, com base nos resultados obtidos, foram estimadas as concentrações letais (CL₅₀ e CL₉₀) (Faria et al., 2023).



Figura 4. Aplicação das diferentes concentrações dos óleos essenciais nos grãos com auxílio de uma micropipeta.

2.7 Bioensaios comportamentais

Os efeitos comportamentais dos óleos essenciais de *C. ambrosioides*, *P. graveolens* e *P. callosum* sobre *Z. subfasciatus* foram avaliados com o uso de um software de rastreamento de vídeo automatizado (Ethovision XT 7.0; Noldus Information Technology, Wageningen, The Netherlands). (Figura 5). Para isso, utilizou-se placas de Petri (5,2 cm de diâmetro) forradas com papel filtro (Figura 6). Os discos de papel foram fixados na arena com fita dupla face e as CL₂₅ e CL₅₀, previamente estimadas no bioensaio de efeito residual de cada óleo essencial (item 2.6) foram aplicadas sobre o papel filtro. Para a diluição das substâncias foi utilizado o solvente acetona e o volume de 200 µL foi aplicado com auxílio de uma micropipeta. No centro da arena foi liberado um indivíduo de *Z. subfasciatus* e o movimento foi gravado por 10 minutos, com auxílio de uma câmera Dino-Lite AD413T-12V (Big C, Torrance, CA), visando avaliar o deslocamento médio (cm) e a velocidade de caminhada (cm.s⁻¹). O bioensaio consistiu

em 20 arenas [repetições (10 fêmeas e 10 machos)] por tratamento, enquanto o controle negativo foi composto por acetona pura.



Figura 5. Avaliação do efeito comportamental dos óleos essenciais sobre *Zabrotes subfasciatus* com a utilização do software de rastreamento de vídeo automatizado acoplado a uma câmera.

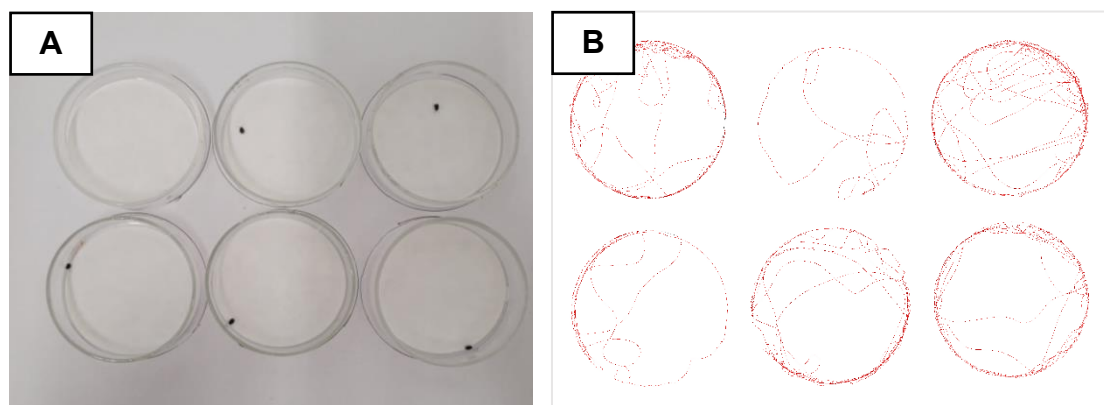


Figura 6. (A) Adultos de *Zabrotes subfasciatus* individualizados em placas de Petri para a realização dos bioensaios comportamentais. (B) Linhas em vermelho demonstram a forma de rastreamento do movimento dos insetos pelo software Ethovision.

2.8 Análises estatísticas

As concentrações letais e as doses letais (CL₅₀ e CL₉₀; DL₅₀ e DL₉₀) dos óleos essenciais de *C. ambrosioides*, *P. graveolens* e *P. callosum* foram estimadas por meio

das análises de Probit, utilizando o procedimento Proc. PROBIT do programa SAS (Statistical Analysis System, versão 9.2).

Os dados obtidos no bioensaio comportamental foram submetidos à análise de variância pelo Teste F. A normalidade foi verificada por meio do teste de Shapiro-Wilk e a homogeneidade por meio do teste de Levene. Para a comparação de médias entre os tratamentos, foram utilizados os testes de Tukey ($p < 0,05$) e para a comparação de médias entre a testemunha e os tratamentos (duas amostras não pareadas) utilizou-se o teste de Mann-Whitney. A execução das análises estatísticas foi realizada com a utilização do software R (R Core Team versão 4.2.1, 2021).

3 RESULTADOS

3.1 Curvas de concentração-mortalidade dos óleos essenciais para adultos de *Z. subfasciatus* por exposição à fumigação

Todos os óleos essenciais foram tóxicos aos adultos de *Z. subfasciatus*, por exposição à fumigação (CL_{50} e CL_{90}). Os valores das CL_{50} dos óleos essenciais utilizados neste estudo variaram de 5,68 $\mu\text{l/mL}$ a 40,70 $\mu\text{l/mL}$ (Tabela 1). Dentre as substâncias testadas, o óleo de *C. ambrosioides* foi mais tóxico aos carunchos. A concentração necessária para matar 50% da população por fumigação foi de 5,68 $\mu\text{l/mL}$ (IC 95%: 4,45 – 6,95), sendo 7,16 vezes mais tóxico que *P. callosum* (40,70 $\mu\text{l/mL}$; IC 95%: 31,61 – 52,13) e 3,46 vezes mais tóxico que o óleo essencial de *P. graveolens* (19,68 $\mu\text{l/mL}$; IC 95%: 18,53 – 20,81) (Tabela 1).

A alta toxicidade de *C. ambrosioides* também foi registrada nas concentrações consideradas padrão de controle (CL_{90}), em relação aos outros óleos essenciais testados (17,86 $\mu\text{l/mL}$; IC 95%: 14,18 – 24,41). O óleo essencial de *P. graveolens* apresentou CL_{90} de 27,19 $\mu\text{l/mL}$ (IC 95%: 25,20 – 30,42), seguido de *P. callosum* (CL_{90} : 174,66 $\mu\text{l/mL}$; IC 95%: 123,97 – 286,65) (Tabela 1).

Tabela 1. Concentrações/doses letais estimadas (CL₅₀ e CL₉₀ ou DL₅₀ e DL₉₀) dos óleos essenciais de *Chenopodium ambrosioides*, *Pelargonium graveolens* e *Piper callosum* para adultos de *Zabrotes subfasciatus* por meio de diferentes modos de exposição.

Modo de exposição	Tratamentos	n ¹	Slope (± EP)	CL ₅₀ ou DL ₅₀ (IC) ²	CL ₉₀ ou DL ₉₀ (IC)	χ ² ³
Fumigação (CL; µL/mL)	<i>C. ambrosioides</i>	300	2,57 ± 0,30	5,68 (4,45 – 6,95)	17,86 (14,18 – 24,41)	1,8074
	<i>P. graveolens</i>	300	9,13 ± 1,13	19,68 (18,53 – 20,81)	27,19 (25,20 – 30,42)	0,3350
	<i>P. callosum</i>	300	2,02 ± 0,23	40,70 (31,61 – 52,13)	174,66 (123,97 – 286,65)	1,8515
Contato residual (CL; µL/Kg)	<i>C. ambrosioides</i>	300	3,43 ± 0,56	50,65 (42,33 – 60,64)	119,80 (92,53 – 189,13)	1,7897
	<i>P. graveolens</i>	300	3,73 ± 0,56	181,98 (152,61 – 210,79)	302,95 (260,30 – 383,06)	0,2512
	<i>P. callosum</i>	300	5,17 ± 0,74	171,29 (149,79 – 193,09)	401,75 (330,27 – 551,00)	1,4527
Aplicação tópica (DL; µL/mg)	<i>C. ambrosioides</i>	300	5,92 ± 1,70	6,57 (3,72 – 13,16)	10,82 (7,92 – 2600,79)	5,4770
	<i>P. graveolens</i>	300	3,09 ± 0,69	27,32 (14,99 – 45,27)	71,08 (14,99 – 45,27)	3,3528
	<i>P. callosum</i>	300	2,30 ± 0,34	26,67 (21,87 – 32,44)	96,03 (68,91 – 169,49)	0,3722

¹n = número de insetos testados; ²IC = intervalo de confiança 95%; ³χ² : qui-quadrado.

3.2 Curvas de concentração-mortalidade dos óleos essenciais para adultos de *Z. subfasciatus* por contato

Na via de contato, todos os tratamentos também apresentaram toxicidade sobre adultos de *Z. subfasciatus* (Tabela 1). Os dados obtidos demonstram que o mesmo padrão de alta toxicidade se manteve para a DL_{50} do óleo essencial de *C. ambrosioides* (6,57 $\mu\text{g}/\text{mg}$; IC95%: 3,72 – 13,16), seguido de *P. graveolens* (27,32 $\mu\text{g}/\text{mg}$; IC 95%: 14,99 – 45,27) e *P. callosum* (26,67 $\mu\text{g}/\text{mg}$; IC 95%: 21,87 – 32,44). Quando comparado a seu efeito fumigante, o óleo essencial de *P. callosum* apresentou dose relativamente menor para matar 50% da população do inseto, por exposição de contato (Tabela 1).

Em relação a dose necessária para matar 90% da população (DL_{90}), a maior toxicidade também foi registrada para *C. ambrosioides* (10,82 $\mu\text{g}/\text{mg}$; IC 95%: 7,92 – 2600,79), seguido de *P. graveolens* (DL_{90} : 71,08 $\mu\text{g}/\text{mg}$; IC 95%: 14,99 – 45,27) e *P. callosum* (DL_{90} : 96,03 $\mu\text{g}/\text{mg}$; IC 95%: 68,91 – 169,49) (Tabela 1).

3.3 Tempo letal

Houve uma rápida redução na sobrevivência de adultos de *Z. subfasciatus* expostos às CL_{90} dos óleos essenciais. Em menos de 3 h, mais de 80 % da população exposta ao óleo essencial de *C. ambrosioides* havia morrido (TL_{50} = 2,07 h, IC 95%: 1,94 – 2,21), diferindo dos demais tratamentos, de acordo com o intervalo de confiança (Tabela 2). Os óleos essenciais de *P. graveolens* e *P. callosum* também reduziram rapidamente a sobrevivência da população, com tempo letal médio de 4,49 h (IC 95%: 4,07 – 4,95) e 14,93 h (12,82 – 17,39), respectivamente.

Tabela 2. Tempo letal (TL₅₀) de adultos *Zabrotes subfasciatus* expostos por contato à CL₉₀ dos óleos essenciais de *Chenopodium ambrosioides*, *Pelargonium graveolens* e *Piper callosum*.

Tratamentos	Concentração (µL/mL)	TL ₅₀ ¹ (horas)	IC ²	Slope (± EP) ³	χ ² ⁴
<i>C. ambrosioides</i>	17,86	2,07	(1,94; 2,21)	2,51 ± 0,21	0,0456
<i>P. graveolens</i>	27,19	4,49	(4,07; 4,95)	1,43 ± 0,09	0,0719
<i>P. callosum</i>	174,66	14,93	(12,82; 17,39)	0,94 ± 0,07	0,0538

¹TL = Tempo letal necessário para matar 50% da população de insetos; ²IC = intervalo de confiança 95%; ³EP = erro padrão da média; ⁴χ² = qui-quadrado.

3.4 Efeito residual de óleos essenciais para adultos de *Z. subfasciatus*

O efeito residual dos tratamentos foram constatados para os três óleos essenciais. A menor concentração responsável por matar 50% da população (CL₅₀) foi verificada para o óleo essencial de *C. ambrosioides* (50,65 µL/Kg; IC 95%: 42,33 – 60,64) (Tabela 1). O óleo essencial de *P. callosum* apresentou CL₅₀ de 171,29 µL/Kg (IC 95%: 149,79 – 193,09), seguido de *P. graveolens* (181,98 µL/Kg; IC 95%: 152,61 – 210,79).

O óleo essencial de *C. ambrosioides* também apresentou a menor CL₉₀, concentração considerada padrão de controle (119,80 µL/Kg; 92,53 – 189,13). As CL₉₀ dos demais tratamentos variaram entre 302,95 e 401,75 µL/Kg (Tabela 1).

3.5 Bioensaios comportamentais

Além dos efeitos letais observados nos ensaios anteriores, foi possível constatar que o óleo essencial obtido de *C. ambrosioides* e *P. graveolens*, na CL₅₀ previamente estimada (ensaio de efeito residual), aumentou a distância percorrida e a velocidade de deslocamento de adultos de *Z. subfasciatus* (Figura 7). Todos os óleos essenciais diferiram da testemunha, quando analisados isoladamente (Tabela 3). Não foram observadas alterações comportamentais significativas em insetos expostos às CL₂₅ dos óleos essenciais.

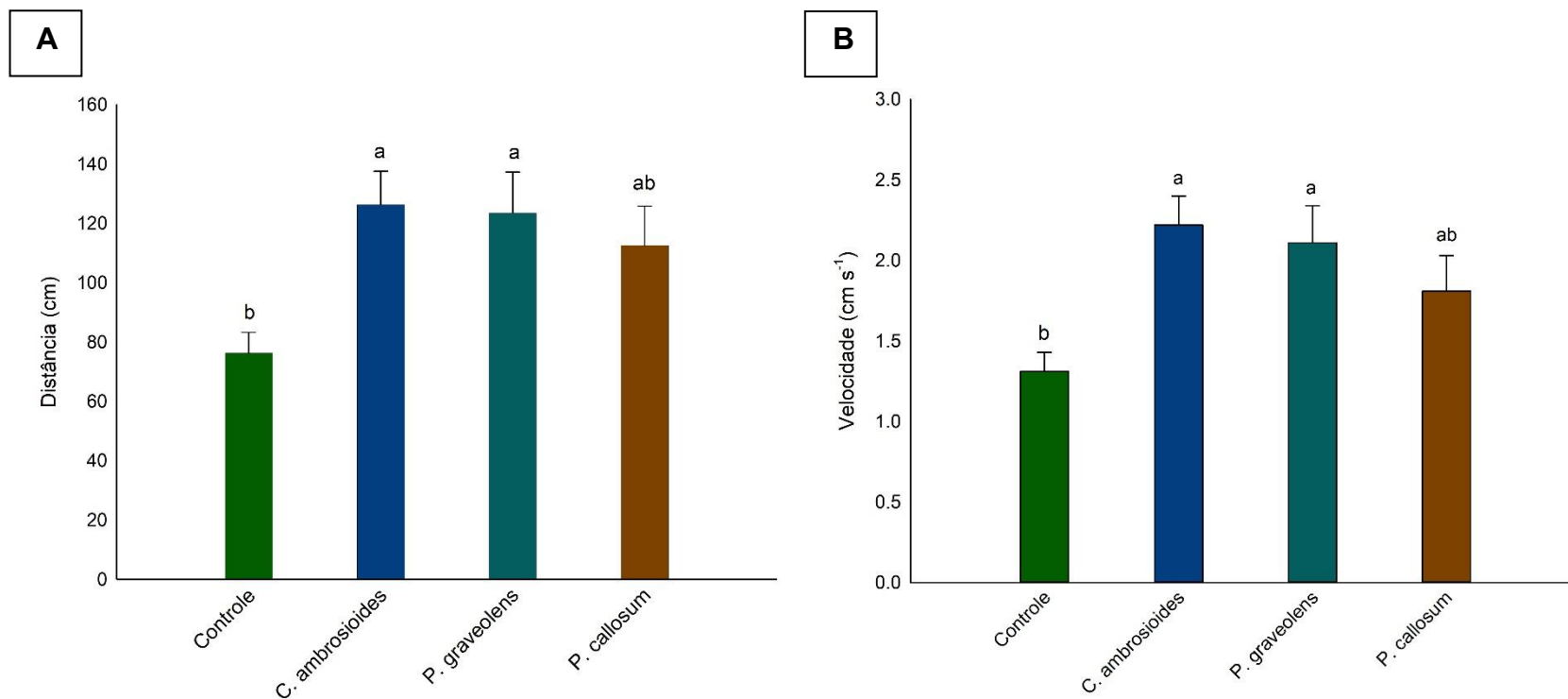


Figura 7. (A) Distância média percorrida ($p = 0,0033$) e (B) velocidade média de deslocamento ($p = 0,0018$) de adultos de *Zabrotes subfasciatus* expostos a superfície tratada com a CL₅₀ dos óleos essenciais de *Chenopodium ambrosioides*, *Pelargonium graveolens* e *Piper callosum* em 10 minutos de monitoramento computacional (Ethovision® system). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p > 0,05$)

Tabela 3. Média $\pm$ EP da distância percorrida e velocidade de deslocamento de adultos de *Zabrotes subfasciatus* expostos a superfícies tratadas com CL₅₀ dos óleos essenciais de *Chenopodium ambrosioides*, *Pelargonium graveolens* e *Piper callosum* comparado ao controle.

Tratamentos	Distância (cm)	Velocidade (cm s ⁻¹)
<i>C. ambrosioides</i>	126,31 $\pm$ 11,26 a	2,22 $\pm$ 0,18 a
Controle	76,29 $\pm$ 6,96 b	1,31 $\pm$ 0,12 b
p-valor	0,0003	<0,0001
<i>P. graveolens</i>	123,53 $\pm$ 13,72 a	2,11 $\pm$ 0,23 a
Controle	76,29 $\pm$ 6,96 b	1,31 $\pm$ 0,12 b
p-valor	0,0018	0,0017
<i>P. callosum</i>	110,41 $\pm$ 18,08 a	1,81 $\pm$ 0,22 a
Controle	76,29 $\pm$ 6,96 b	1,31 $\pm$ 0,12 b
p valor	0,0095	0,0335

*Médias seguidas de letras distintas indicam diferenças significativas entre os tratamentos (Mann-Whitney, $p > 0,05$)

4 DISCUSSÃO

O Brasil apresenta elevado crescimento populacional e intenso aumento na demanda de alimentos. Estima-se a necessidade de um aumento de 70% na produção de alimentos para atender a demanda da população mundial, com previsão de 9,6 bilhões de pessoas até 2050 (Alexandratos; Bruinsma, 2012). Essa crescente demanda, aliada a necessidade pela busca de um sistema de agricultura ambientalmente mais seguro, geram uma crescente atenção para a busca de produtos naturais mais eficientes e seletivos, com enfoque no aumento da segurança alimentar e proteção ambiental.

Com base em ensaios de diferentes modos de exposição, os resultados obtidos neste estudo indicam que todos os óleos essenciais, com enfoque para *C. ambrosioides*, apresentam atividade inseticida sobre *Z. subfasciatus* e representam fontes viáveis e promissoras para o controle deste inseto em armazéns e silos. Estudos anteriores têm demonstrado resultados similares quanto a intensa atividade inseticida e a eficácia do óleo de *C. ambrosioides* sobre outros insetos, como *Sitophilus zeamais* (Mots) (Coleoptera: Curculionidae) (Frankenberger et al., 2020), *Culex quinquefasciatus* (Say)

(Diptera: Culicidae) (Almadiy, 2020), *Spodoptera frugiperda* (Trindade et al., 2015) e *Plutella xylostella* (Wei et al., 2015).

A atividade inseticida observada nos óleos essenciais está diretamente relacionada à sua composição química e aos seus compostos majoritários. Os monoterpenos linalol e limoneno, presentes em grande quantidade no óleo de *P. graveolens*, foram comprovadamente tóxicos a *Thrips palmi* (Karny) (Thysanoptera: Thripidae), *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank) (Acari: Acaridae), *Ceratitis capitata* (Wiedemann), *Bactrocera dorsalis* (Handel) e *Bractocera cucurbitae* (Coquillett) (Diptera: Tephritidae) (Sánchez-Ramos e Castañera, 2000, Chang et al., 2009; Kim et al., 2015). O safrol, composto encontrado no óleo de *P. callosum* já demonstrou eficiência para o controle de *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae) (Yan et al., 1999), *S. zeamais* (Mots) (Coleoptera: Curculionidae) (Motschulsky) (Coutinho et al., 2011) e *Periplaneta americana* (L.) (Blattaria: Blattidae) (Ngoh et al., 1998). Carvacrol, composto encontrado em grande quantidade em *C. ambrosioides* apresentou impacto significativo na sobrevivência e fecundidade de *Drosophila melanogaster* (Meigen) (Diptera: Drosophilidae) (Nesterkina et al. 2020).

Neste estudo, foi possível constatar que todos os tratamentos apresentaram efeito fumigante sobre adultos de *Z. subfasciatus* (Tabela 1). Isso pode ser explicado devido a presença de sensilas nas antenas dos insetos, que são responsáveis pela mecanorrecepção, termorrecepção, higrorrecepção e, neste caso, especialmente a recepção de odores (Dekker et al., 2011). Em geral, proteínas de ligação a odor presentes nessas estruturas respondem a substâncias terpenóides (principalmente monoterpenos voláteis), que ativam neurônios receptores gustativos (Vosshall; Stocker, 2007; Deletre et al., 2015). Enquanto isso, essas substâncias, quando em contato com o tarso dos insetos pode desencadear alterações comportamentais ao ativar receptores gustatórios no tarso (Vosshall; Stocker, 2007). Desta forma, esse sistema de recepção de odores também pode embasar os resultados obtidos durante o bioensaio comportamental relacionados ao aumento da velocidade de deslocamento e distância percorrida pelos insetos, devido a contato com uma substância irritativa.

Apesar de não haver um consenso sobre como os óleos essenciais exercem sua toxicidade, muitos estudos sugerem possíveis mecanismos. De Oliveira et al. (1997)

mencionam que alguns compostos monoterpênicos, como α -pineno, podem inibir o citocromo P4502B1, enzima responsável pela oxidação de substâncias estranhas. Outros autores relatam a inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE), responsável pela degradação da acetilcolina (ACh) no sistema nervoso dos insetos e a interferência no neuromodulador octopamina e canais de cloreto controlados por GABA (Isman, 2000; Isman, 2006; Regnault-Roger et al., 2012). Em casos de inibição da AChE, em que não há destruição da ACh, ocorre a passagem contínua do impulso nervoso, de modo a gerar uma hiperexcitação do sistema nervoso até ocasionar a morte do inseto (Gallo et al., 2002).

Para confirmar a hipótese de que os compostos majoritários encontrados nos óleos essenciais são os responsáveis pelo seu efeito inseticida, futuros estudos devem ser conduzidos para a análise do perfil químico das substâncias, bem como a realização novos ensaios para a aplicação isolada ou em mistura de seus constituintes majoritários, a fim de avaliar seus possíveis efeitos sinérgicos, aditivos e/ou antagônico, de modo a elucidar a contribuição de cada composto para a atividade inseticida dos óleos essenciais.

Na literatura, há uma vasta quantidade ensaios que reportam os efeitos nocivos de óleos essenciais, mas poucos enfocam os efeitos subletais e efeitos comportamentais dessas substâncias. Desta forma, as informações obtidas neste estudo são inéditas e podem ser úteis para a melhor compreensão dos efeitos desencadeados pelos óleos essenciais aplicados em doses letais e subletais. Na prática, esse cenário, com a utilização de doses subletais, pode favorecer os agricultores de modo a reduzir os custos de controle (aplicação das substâncias em baixas doses/ doses subletais), bem como contribuir para a diminuição das perdas de produção ocasionadas pelo ataque do caruncho, uma vez que evita gastos desnecessários na obtenção e preparo do material vegetal a ser utilizado como inseticida.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos no presente trabalho sugerem que os óleos essenciais das espécies vegetais de *C. ambrosioides*, *P. graveolens* e *P. callosum* constituem uma estratégia alternativa promissora para controlar pragas em grãos armazenados, o que torna estes óleos fontes valiosas de novos compostos que podem servir como protótipos para o desenvolvimento de novos inseticidas utilizados em armazéns para controle de *Z. subfasciatus*. Futuros estudos devem ser realizados com os compostos majoritários, objetivando melhor conhecer os metabólitos responsáveis pela atividade inseticida dos óleos essenciais. Tais estudos contribuirão para a obtenção de abordagens de manejo de pragas mais eficazes e ambientalmente sustentáveis no contexto do armazenamento de grãos.

6 REFERÊNCIAS

- ABATE, T.; AMPOFO, J. K. O. Insect pests of beans in Africa: their ecology and management. **Annual Review of Entomology**, Stanford, v. 4, p.45–73, 1996.
- ALEXANDRATOS, N.; BRUINSMA, J. World agriculture towards 2030/2050: the 2012 revision. **ESA Working Paper** No. 12-03, FAO, 2012.
- ALVES, D. S. et al. *Duguetia lanceolata* A. St.-Hil. Stem Bark Produces Phenylpropanoids Lethal to *Spodoptera Frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). **Crop Protection**, v. 127, 2020.
- ATHIÉ, I.; de PAULA, D. C. **Insetos de grãos armazenados: aspectos biológicos e identificação**. Varela, 2002. 244 p.
- AKIBODE, S.; MAREDIA, M. Global and regional trends in production, trade and consumption of food legume crops. **Staff Paper 2021-10**, Michigan State University, 2012.
- ALMADIY, A. A. Chemical profile, mosquitocidal, and biochemical effects of essential oil and major components of *Dysphania ambrosioides* against *Culex quinquefasciatus* Say. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, p. 41568–41576, 2020.

AYDIN, M. F.; BALOCH, F. S. Exploring the genetic diversity and population structure of Turkish common bean germplasm by the iPBS-retrotransposons markers. **Legume Research**, v. 42, p. 18–24, 2019.

BAIJUKYA F., et al. **Maize-legume Cropping Guide**. Africa Soil Health Consortium, Nairobi, 2016. 88p.

BALDIN, E. L. L., et al. Bioactivity of *Pelargonium graveolens* essential oil and related monoterpenoids against sweet potato whitefly, *Bemisia tabaci* biotype B. **Journal of Pest Science**, v. 88, n. 1, p. 191–199, 2015.

BALDIN, E. L. L., et al. Characterization of resistance to the bean weevil *Acanthoscelides obtectus* Say, 1831 (Coleoptera: Bruchidae) in common bean genotypes. **Arthropod-Plant Interactions**, v. 11, p. 861–870, 2017.

BARRETO, I. C., et al. Incorporation of essential oil from *Vitex gardneriana* (Lamiaceae) in microemulsions systems based on mineral and cottonseed oils increased its bioactivity against a coconut pest mite. **Industrial Crops and Products**, v. 183, 2022.

BRITO, J. P., et al. Efeito de óleos essenciais de *Eucalyptus* spp. sobre *Zabrotes subfasciatus* (Boh., 1833) (Coleoptera: Bruchidae) e *Callosobruchus maculatus* (Fabr., 1775) (Coleoptera: Bruchidae) em duas espécies de feijões. **Boletín de Sanidad Vegetal**, v. 32, p. 573–580, 2006.

COITINHO, R. L. B. C., et al. Toxicity by fumigation, contact and ingestion of essential oils in *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1885 (Coleoptera: Curculionidae). **Ciência e Agrotecnologia** v. 35, p. 172–178, 2011.

CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos, safra 2022/23** – Quarto levantamento, Brasília. Disponível em: <http://www.conab.gov.br>. Acesso em: 02 fevereiro, 2023.

CHANG, C. L.; CHO, I. K.; LI, Q. X. Insecticidal activity of basil oil, trans-anethole, estragole, and linalool to adult fruit flies of *Ceratitis capitata*, *Bactrocera dorsalis*, and *Bactrocera cucurbitae*. **Journal Economic Entomology**, v. 102, p. 203–9, 2009.

CHRISTOFOLI, M., et al. Insecticidal effect of nanoencapsulated essential oils from *Zanthoxylum rhoifolium* (Rutaceae) in *Bemisia tabaci* populations. **Industrial Crops and Products**, v. 70, p. 301-308, 2015.

DE-OLIVEIRA, A. C.; RIBEIRO-PINTO, L. F.; PAUMGARTTEN, J. R. In vitro inhibition of CYP2B1 monooxygenase by beta-myrcene and other monoterpenoid compounds. **Toxicology Letters**, v. 92, p. 39–46, 1997.

DELETRE, E. Naturally occurring bioactive compounds from four repellent essential oils against *Bemisia tabaci* whiteflies. **Pest Management Science**, v. 72, 179–189, 2015.

DEKKER T., et al. Identification of mosquito repellent odours from *Ocimum forskolei*. **Parasit Vectors**, v. 4, p. 183–190, 2011.

ENDSHAW, W.; HIRUY, B. The distribution, frequency of occurrence, and the status of stored faba bean insect pests in relation to food security in Farta District, Northwest Ethiopia. **Cogent Food & Agriculture**, v. 6, p. 1–16, 2020.

FANELA, T. L. M., et al. Lethal and inhibitory activities of plant-derived essential oils against *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae) biotype B in tomato. **Neotropical Entomology**, v. 45, p. 201–210, 2016.

FARIA, R. D., et al. Essential oils from *Cordia verbenacea* and *Elionurus latiflorus* and their binary mixture: Bioactivity against the Mexican bean weevil and an aflatoxin-producing fungal species. **Industrial Crops and Products**, v. 206, 117674, 2023.

FRANKENBERGER, L., et al. Chemical composition of *Dysphania ambrosioides* from hydroponics and soil and its activity against *Sitophilus zeamais*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 32., 2020.

FERREIRA, A. M. Subsídios para o estudo de uma praga do feijão (*Zabrotes subfasciatus* Boh. Coleoptera, Bruchidae) dos climas tropicais. **Garcia de Orta**, v. 8, n. 3, p. 559-581, 1960.

GALLO, D., et al. **Entomologia Agrícola**. Piracicaba: Fealq, 2002. 920p.

GETU, E. Evaluation of botanical plants powders against *Zabrotes subfasciatus* (Boheman) (Coleoptera: Bruchidae) in stored haricot beans under laboratory condition. **African Journal of Agricultural Research**, v. 4, p. 1073–1079, 2009.

GOLEBIEWSKI, M., et al. Identification and characterization of surface lipid components of the dried-bean beetle *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 44, p. 386–388, 2008.

GONÇALVES, G. L. P., et al. Compounds from *Duguetia lanceolata* St.- Hil. (Annonaceae) bioactive against *Zabrotes subfasciatus* (Boheman) (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae). **Industrial Crops and Products**, v. 97, p. 360-367, 2017.

HILLOCKS, J., et al. *Phaseolus* bean improvement in Tanzania, 1959–2005. **Euphytica**, v. 150, p. 215–231, 2006.

HILL, D. S. Pests: Classe Insecta. In: **Pests of stored foodstuffs and their control**. Secaucus: Kluwer Academic Publishers, p. 135-315, 2002.

ISMAN, M. B. Botanical insecticides, deterrents and repellents in modern agriculture and increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology**, v. 51, p. 45–66, 2006.

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

ISHIMOTO, M.; CHRISPEELS, M. J. Protective mechanism of the Mexican bean weevil against high levels of α -amylase inhibitor in the common bean. **Plant Physiology**, v. 111, p. 393–401, 1996.

KIM, K. H. et al. Fumigant toxicity of basil oil compounds and related compounds to *Thrips palmi* and *Orius strigicollis*. **Pest Management Science**, v. 71, p. 1292–1296, 2015.

KOUL, O.; WALIA, S.; DHALIWAL, G. S. Essential oils as green pesticides: potential and constraints. **Biopesticides International**, v. 4, p. 63–84, 2008.

LARA, F. M. **Princípios de resistência de plantas a insetos**. São Paulo: Ícone, 1991.

LIMA, J. O. G.; SILVA, F. A. P.; FARONI, L. R. A. Insetos de grãos armazenados. **Informe Agropecuário**, v. 99, p. 46–53, 1983.

MESELE, T.; DIBABA, K.; MENDESIL, E. Farmers perceptions of mexican bean weevil, *Zabrotes subfasciatus* (Boheman), and pest management practices in Southern Ethiopia. **Advances in Agriculture**, v. 1, p. 1–10, 2019.

MESSINA, V. Nutritional, and health benefits of dried beans. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 100, p. 437–442, 2014.

MORALES-AMPARANO, M. B., et al. Proteomic response of *Saccharomyces boulardii* to simulated gastrointestinal conditions and encapsulation. **Food Science and Biotechnology**, v. 28 p. 831–840, 2018.

MUTUNGI, C., et al. Quality and storability of common beans in small-holders farm stores in Northern Tanzania: a multivariate analysis of agro-location, variety, and storage method effects. **Journal of Stored Products Research**, v. 89, 2020

NADEEM, M. A., et al. Investigation of quality and cooking traits diversity in a global common bean germplasm. **Global Journal of Botanical Science**, v. 8, p. 21–29, 2020.

NGOH, S. P. et al. Insecticidal and repellent properties of nine volatile constituents of essential oils against the American cockroach, *Periplaneta americana* (L.). **Pest Management Science**, v. 54, p. 261–268, 1998.

NESTERKINA M., et al. Toxic effect and genotoxicity of carvacrol ethers in *Drosophila melanogaster*. **Mutation Research**, 821, 111713, 2020.

NCHANJI, E. B.; LUTOMIA, C. K. Regional impact of COVID-19 on the production and food security of common bean smallholder farmers in Sub-Saharan Africa: Implication for SDG's. **Global Food Security**, v. 29, 2021.

OLIVEIRA, A. P., et al. Essential oil of *Lippia sidoides* and its major compound thymol: Toxicity and walking response of populations of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Crop Protection**, v. 112, p. 33–38, 2018.

PAUL, U. V. et al. Effectiveness of products from four locally grown plants for the management of *Acanthoscelides obtectus* (Say) and *Zabrotes subfasciatus* (Boheman)

(both Coleoptera: Bruchidae) in stored beans under laboratory and farm conditions in Northern Tanzania. **Journal of Stored Products Research**, v. 45, p. 97–107, 2009.

PETRY, N., et al. The potential of the common bean (*Phaseolus vulgaris*) as a vehicle for iron biofortification. **Nutrients**, v. 7, p. 1144-1173, 2015.

PRASIFKA, J. R.; GRAY, M. E. Research needs and potential effects of biomass crops on pest management. **Journal of Integrated Pest Management**, v. 3, p. 1-5, 2012.

PEREIRA, S. G.; BARBOSA, W. G. O. Correlação bioinseticida de duas espécies de *Piper* sobre *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Conexão Ciência**, v. 17, p. 46–62, 2022.

RATTAN, R. S. Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. **Crop Protection**, v. 29, p. 913–920, 2010.

REGNAULT-ROGER, C.; VINCENT, C. ARNASSON, J. T. Essential oil in insect control: low-risk products in high-stakes world. **Annual Review of Entomology**, v. 57, p. 405-424 2012.

RIBEIRO, L. P., et al. Essential oil from *Duguetia lanceolata* St.-Hil. (Annonaceae): Suppression of spoilers of stored-grain. **Food Bioscience**, v. 36, 2020.

SÁNCHEZ-RAMOS, I. I.; CASTAÑERA, P. Acaricidal activity of natural monoterpenes on *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank), a mite of stored food. **Journal of Stored Products Research**, v. 37, p. 93–101, 2000.

SANTOS, A. A. et al. Acute toxicity and sub-lethal effects of the essential oil of *Aristolochia trilobata* and its major constituents on *Nasutitermes corniger* (Termitidae: Nasutitermitinae). **Neotropical Entomology**, v. 48, p. 515-521, 2019.

SOUTHGATE, B. J. **The importance of the Bruchidae as pests of grain legumes, their distribution and control**. In: SINGH, S. R.; VAN EMDEN, H. F.; TAYLOR, T. A. (Ed.). Pests of grain legumes: ecology and control. London: Academic Press, p. 219-229, 1978.

STATHERS, T. E. et al. Do diatomaceous earths have potential as grain protectants for smallholder farmers in sub-Saharan Africa? The case of Tanzania. **Crop Protection**, v. 27, p. 44–70, 2008.

TRINDADE, R. C. P., et al. Aqueous extracts of yam (*Dioscorea rotundata* Poirr.) and *Chenopodium* (*Chenopodium ambrosioides* L.) in the development of fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797). **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v. 17, p. 291–296, 2015.

VOSSHALL, L. B.; STOCKER, R. F. Molecular architecture of smell and taste in *Drosophila*. **Annual Review of Neuroscience**, v. 30, p. 505–533, 2007.

VILCA-MALLQUI, K. S.; OLIVEIRA, E. E.; GUEDES, R. N. C. Competition between the bean weevils *Acanthoscelides obtectus* and *Zabrotes subfasciatus* in common beans. **Journal of Stored Products Research**, v. 55, p. 32–35, 2013.

WASALA, W. M. C. B. et al. Efficacy of insecticide incorporated bags against major insect pests of stored paddy in Sri Lanka. **Procedia Food Science**, v. 6, p. 164–169, 2016

WEBER, E. **Armazenagem agrícola**. Guaíba, RS: Agropecuária, v. 2, 2001.

WEI, H., et al. The toxicity and physiological effect of essential oil from *Chenopodium ambrosioides* against the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). **Crop Protection**, v. 76, p. 68–74, 2015.

YAN, H.; SHUIT, H. H.; MANJUNATHA, K. R. Bioactivities of safrole and isosafrole on *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 92, p. 676–683, 1999.

YEKEN, M. Z., et al. Breeding of dry bean cultivars using *Phaseolus vulgaris* landraces in Turkey. **International Journal of Agricultural and Wildlife Sciences**, v. 4, p. 45–54, 2018.