

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA E FISIOLOGIA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DE PREPARAÇÕES DE SEMENTES DE *Moringa*
oleífera Lam. EM ADULTOS DE *Alphitobius diaperinus* (Panzer)

Aline Rodrigues da Silva Santos

Recife

2024

ALINE RODRIGUES DA SILVA SANTOS

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DE PREPARAÇÕES DE SEMENTES DE *Moringa oleífera* Lam. EM ADULTOS DE *Alphitobius diaperinus* (Panzer)

Dissertação apresentada como um dos requisitos para o cumprimento parcial das exigências para obtenção do título de Mestre em Bioquímica e Fisiologia pela Universidade Federal de Pernambuco.

Orientador: Prof. Dr. Emmanuel Viana Pontual

Coorientador: Prof^a. Dr^a. Patrícia Maria Guedes Paiva

RECIFE

2024

ALINE RODRIGUES DA SILVA SANTOS

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DE PREPARAÇÕES DE SEMENTES DE *Moringa oleífera* Lam. EM ADULTOS DE *Alphitobius diaperinus* (Panzer)

Dissertação apresentada como um dos requisitos para o cumprimento parcial das exigências para obtenção do título de Mestre em Bioquímica e Fisiologia pela Universidade Federal de Pernambuco.

Prof. Dr. Emmanuel Viana Pontual

Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof^a. Dr^a. Thamarah de Albuquerque Lima

Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Dr^a. Ana Patrícia da Silva Oliveira

Universidade Federal de Pernambuco

Dr^a. Nataly Diniz de Lima Santos

Universidade Federal de Pernambuco

Data: 21/03/2024

Aos meus amados pais e irmão.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a primeiramente a Deus por me manter firme durante toda a caminhada.

Aos meus pais por acreditarem em mim e me apoiarem durante toda a minha vida.

Ao meu orientador Emmanuel pela confiança para desenvolver o trabalho.

À minha coorientadora Patrícia por me receber tão bem no Laboratório de Bioquímica de Proteínas (Bioprot).

Aos amigos que estiveram comigo durante todas as fases.

Aos membros da banca examinadora por aceitarem o convite e pelo tempo dedicado a avaliar este trabalho.

Muito obrigada!

RESUMO

Alphitobius diaperinus Panzer (Coleoptera: Tenebrionidae), o cascudinho, é um inseto-praga carreador de patógenos para aves. Este trabalho analisou os efeitos de preparações contendo proteínas (infusão, extrato, fração e lectina solúvel em água - WSMoL) e óleo fixo de sementes de *Moringa oleifera* Lam. (Moringaceae) na sobrevivência de *A. diaperinus* adultos. Dieta artificial contendo diferentes concentrações de infusão, extrato, fração ou WSMoL foram oferecidas aos insetos por sete dias. O peso dos insetos, o consumo de dieta e a mortalidade foram avaliados. O efeito *in vitro* das preparações sobre enzimas digestivas dos insetos foi determinado. O óleo foi investigado quanto à toxicidade por contato para *A. diaperinus* adultos e efeito *in vitro* na atividade de acetilcolinesterase. A infusão, o extrato, a fração e WSMoL não afetaram a sobrevivência de *A. diaperinus*, mas acarretaram rejeição da dieta e consequente redução do peso dos insetos. Não houve interferência na atividade de proteases totais, contudo, a atividade de tripsina símile foi estimulada em presença da fração proteica e de WSMoL, enquanto a atividade de α -amilase foi estimulada pela infusão e inibida pela fração e por WSMoL. O óleo matou os insetos (LC₅₀ de 17mg/mL) e inibiu a atividade da acetilcolinesterase. Em conclusão, a infusão, o extrato e a fração proteica de sementes de *M. oleifera*, bem como WSMoL são agentes deterrentes para *A. diaperinus* adultos. Adicionalmente, o óleo fixo é tóxico por contato para *A. diaperinus* adultos e seu mecanismo de ação inseticida pode estar ligado à inibição de AChE.

.

Palavras-chave: Toxicidade por contato. Protease. Amilase. Acetilcolinesterase.

ABSTRACT

Alphitobius diaperinus Panzer (Coleoptera: Tenebrionidae), the mealworm, is an insect pest that carries pathogens for birds. This work analyzed the effects of preparations containing proteins (infusion, extract, fraction and water-soluble lectin - WSMoL) and the fixed oil from *Moringa oleifera* Lam. (Moringaceae) seeds on the survival of *A. diaperinus* adults. Artificial diet containing different concentrations of infusion, extract, fraction or WSMoL were offered to the insects for seven days. Insect weight, diet consumption and mortality were evaluated. The *in vitro* effect of the preparations on digestive enzymes of insects was determined. The oil was investigated for contact toxicity to *A. diaperinus* adults and *in vitro* effect on their acetylcholinesterase activity. The infusion, extract, fraction and WSMoL did not affect the survival of *A. diaperinus*, but resulted in rejection of the diet and consequent reduction in insect weight. There was no interference in the activity of total proteases, however, trypsin-like activity was stimulated in the presence of the protein fraction and WSMoL, while the α -amylase activity was stimulated by the infusion and inhibited by the fraction and WSMoL. The oil killed the insects (LC50 of 17mg/mL) and inhibited acetylcholinesterase activity. In conclusion, the infusion, extract and protein fraction of *M. oleifera* seeds, as well as WSMoL are deterrent agents for *A. diaperinus* adults. Additionally, the fixed oil is toxic by contact to adult *A. diaperinus* and its insecticidal mechanism of action may be linked to AChE inhibition.

Keywords: Contact toxicity. Protease. Amylase. Acetylcholinesterase.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	9
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	11
2.1 avicultura	11
2.2 <i>Alphitobius diaperinus</i> (Panzer).....	13
2.3 Controle populacional de <i>A. diaperinus</i>	18
2.4 Organização do sistema digestivo dos insetos.....	20
2.5 Proteases	21
2.6 Produtos vegetais com potencial inseticida.....	24
2.7 <i>Moringa oleifera</i>	27
3. OBJETIVOS	28
3.1. Geral	28
3.2. Específicos	28
4. REFERÊNCIAS	29
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	58
6. CONCLUSÃO.....	66

1. INTRODUÇÃO

A avicultura é uma atividade do setor agrícola brasileiro que tem inquestionável importância socioeconômica devido ao seu histórico no país, que iniciou com o objetivo de subsistência e hoje conta com processos modernos que aumentam significativamente a produção (Zen *et al.*, 2019). Embora o Brasil não enfrente prejuízos com doenças contagiosas que existem em outros países produtores (Ma, *et al.*, 2015; Li; Chen, 2021; Mcclaughlin *et al.*, 2024), a presença do *Alphitobius diaperinus* Panzer (Coleoptera: Tenebrionidae) acarreta prejuízos zootécnicos e sanitários graves.

Conhecido popularmente como cascudinho, *A. diaperinus* é uma praga do setor avícola com origem Africana e boa adaptação ao ambiente úmido e escuro presente nos galpões de criação de frangos de corte (Genden; Axtell, 1987; Uemura *et al.*, 2022). O ciclo de vida de *A. diaperinus* compreende as fases de ovo, larva (8 a 11 instares) pupa e adultos, e se completa em aproximadamente 55 dias (Silva *et al.*, 2005). O inseto é transportador de doenças aviárias e reservatório de patógenos (Vittori *et al.*, 2007; Segabinazi *et al.*, 2005; Crippen *et al.*, 2017; Donoso; Paredes; Retamal, 2020), apresentando persistência de *Salmonella* durante a metamorfose (Crippen *et al.*, 2012). Esses dados mostram que *A. diaperinus* representa um risco à saúde de aves e humanos (Tamburro *et al.*, 2022).

Para que haja o controle populacional desse inseto, um dos principais métodos é o uso de inseticidas sintéticos (Zefeiriadis; Sakka; Athanassiou, 2021). Contudo, há uma limitação, visto que estes agentes persistem no ambiente (Schaafma *et al.*, 2016), podendo causar intoxicações às aves e a organismos não-alvo. Nesse sentido, é fundamental que haja o desenvolvimento de novas estratégias para o controle de *A. diaperinus* e a utilização de inseticidas naturais tem despertado o interesse da comunidade científica (Pavela, 2016). Compostos naturais apresentam vantagens como a biodegradação no ambiente e a possibilidade de participar sinergicamente na atuação de inseticidas já comercializados, evadindo mecanismos de defesa dos insetos (Lybrand *et al.*, 2020; Ismal, 2021).

Dentre as várias espécies de plantas com atividade inseticida, destaca-se a *Moringa oleifera*, uma espécie pantropical com alto valor nutricional e muitos benefícios medicinais (Padayachee; Baijnath, 2020). Todas as partes de *M. oleifera*

têm sido descritas para uma diversidade de aplicações (Meireles *et al.*, 2020). Extrato aquoso e a lectina WsMoL purificada das sementes de *M. oleifera* apresentaram atividade inseticida contra o vetor de arboviroses *Aedes aegypti* (Oliveira *et al.*, 2016; Oliveira *et al.*, 2017; Oliveira *et al.* 2020); também há a utilização para o tratamento de água através de atividade coagulante (Yamaguchi *et al.*, 2021), atividade antioxidante (Jahan *et al.*, 2018; Liang *et al.*, 2019) e antimicrobiana (Jabeen *et al.*, 2008). Suas sementes possuem uma quantidade significativa de óleo, sendo o ácido oleico seu composto majoritário (Lalas; Tsaknis, 2002) que traz benefícios para a saúde como capacidade antioxidante (Leone *et al.*, 2016).

Dado o conhecimento do potencial inseticida das sementes de *M. oleifera*, este trabalho avaliou a susceptibilidade de *A. diaperinus* adultos a diferentes preparações de sementes de *M. oleifera*. Os efeitos da infusão, extrato, fração proteica e WsMoL foram avaliados quanto à toxicidade por ingestão e efeito sobre a atividade de enzimas digestivas dos insetos. Adicionalmente, o óleo fixo foi investigado quanto à toxicidade por contato e ação sobre a enzima acetilcolinesterase (AChE).

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Avicultura

A avicultura é um segmento do setor agropecuário que apresenta constante crescimento no decorrer dos anos, principalmente o setor de frangos de corte que tem acompanhado o processo de globalização. Essa atividade econômica deve ser analisada dentro de um complexo industrial composto por faces, desde a produção até as condições de comercialização. Em consequência do acompanhamento das tecnologias, o Brasil consegue se manter numa posição de terceiro maior produtor e o maior exportador de carne de frango. Por apresentar constante presença na mesa dos brasileiros é um setor que gera grande dependência no que diz respeito ao abastecimento em todo o território nacional (VIEIRA; DIAS, 2005; COELHO; DOMINGUES; SILVA, 2021; EMBRAPA, 2021).

O avanço na tecnologia direcionada à criação de aves proporcionou maior otimização na cadeia produtiva (TALAMINI, 2022). Isso é refletido em diversos aspectos como por exemplo no tempo de abate cada vez menor, já que os valores nutricionais presentes em uma ração adequada são elevados (GARCIA; GOMES, 2019). A produção de carne de frango no Brasil representou 14.5 milhões de toneladas, onde 4.8 milhões de toneladas foram destinadas à exportação, no período de janeiro a dezembro de 2022, segundo o relatório da Associação Brasileira de Proteína Animal (ABPA). Dessa forma, ainda segundo a ABPA, o maior consumidor do setor avícola segue sendo o mercado interno (67,83%), onde o consumo per capita atinge 45,56 kg/hab. Outro fator apontado para o crescimento do Brasil no setor avícola é a formação do complexo entre os pequenos produtores e as multinacionais instaladas no país. Essa união promove a implementação de técnicas avançadas na criação de aves, conseguindo assim alcançar o alto grau de produtividade observado (SORJ, 2008; VOGADO, 2016).

Há alguns anos existe a tendência mundial de boas práticas de criação com foco no bem-estar animal. No Brasil, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) por meio do Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA) estabelece medidas de prevenção para as principais doenças que afetam o setor avícola, seguindo o Código Sanitário para Animais Terrestres, da Organização Mundial de Saúde Animal (OMSA) mostrando assim a relevância do tema (site do MAPA). O conjunto de tecnologias que são utilizadas nas construções adequadas para frangos de corte são essenciais para reforçar o compromisso com o bem-estar

animal, dando conforto térmico oferecido e as melhores condições de desempenho (RIBEIRO; JUNIOR, 2022).

A dieta para frangos de corte é composta por aditivos que podem ter função de aumento do valor nutricional ou promoção da proteção contra doenças. O uso de antibióticos é feito de forma estratégica para evitar contaminações, porém seu uso pode gerar problemas de resistência microbiana (BAHULE; SILVA, 2021; FERREIRA, 2022). Tal resistência causa danos não somente ao animal como também para o consumidor final (VAN et al, 2020).

O conhecimento das particularidades relacionadas às espécies que fazem parte da produção animal no Brasil é extremamente importante, visto que é um país que apresenta condições climáticas que variam conforme as especificidades de cada região (CAVALCANTI, 2016; NÓBREGA et al., 2011). Um estudo bioclimático realizado em Sergipe, região nordeste do Brasil, indica um período curto de conforto térmico para as aves que são criadas nessa região (SANTOS et al., 2014).

A reutilização da cama de aviário é uma prática comum em muitos países, incluindo o Brasil, porém deve ser respeitada a sanidade avícola. Essa prática favorece o risco iminente de patógenos em contato com as aves que serão comercializadas e normas técnicas e barreiras comerciais vem sendo impostas para comprovação da inativação de patógenos (VAZ et al, 2017). Em um estudo físico-químico da cama de frango tratada com cal e fermentação rasa revelou o aumento da concentração de amônia e do pH juntamente com a ineficiência dessa alternativa no controle da *Salmonella* spp (GEHRING, 2020).

Dessa forma, a avicultura em determinadas regiões brasileiras passa por um longo período térmico crítico, ou seja, há a ocorrência de temperatura favorável para o desenvolvimento de insetos patogênicos, incluindo o *Alphitobius diaperinus* (CHERNAKI; ALMEIDA, 2001; GARCIA; PARRA, 2022; RODRIGUES, 2004; ZAFEIRIADIS.; BALIOTA.; ATHANASSIOU, 2023).

2.2 *Alphitobius diaperinus* (Panzer)

A família Tenebrionidae engloba mais de 2.300 gêneros e 20.000 espécies (MATTHEWS et al., 2010; NABOZHENKO, 2019). Apesar do elevado número de espécies, as que mais se adaptaram à região tropical e aos aviários foram *A. diaperinus* e *A. piceu* (PAIVA, 2000). Contudo, há outras espécies que são frequentemente associadas a grãos armazenados e são conhecidas pelo seu potencial de danos como pragas primárias e secundárias (ATTA et al., 2020; DESHWAL et al., 2020).

Alphitobius diaperinus (Panzer) é um inseto pertencente à ordem coleóptera, usualmente referido como cascudinho da cama de aviário (Figura 1). São causadores de problemas no segmento industrial, ocasionando severas perdas e riscos sanitários, pois se alimentam da pele e carcaça dos animais (DUNFORD; KAUFMAN, 2006; SCHMIDT; ABREU, 2023). Esse ponto, embora traga consigo a existência de um prejuízo, a presença do *A. diaperinus* também pode ser usada como benefício quando direcionada para a limpeza de peças osteológicas para coleções biológicas (DAHMER et al., 2023), ou para degradação de plástico graças a sua microbiota intestinal (CUCINI et al., 2020).

Figura 1: **A:** *Alphitobius diaperinus* adulto. Foto: Sammarco; Hinkle; Crossley, 2023. **B:** Substrato com a presença do aglomerado de *A. diaperinus*. Foto: a autora (2024).

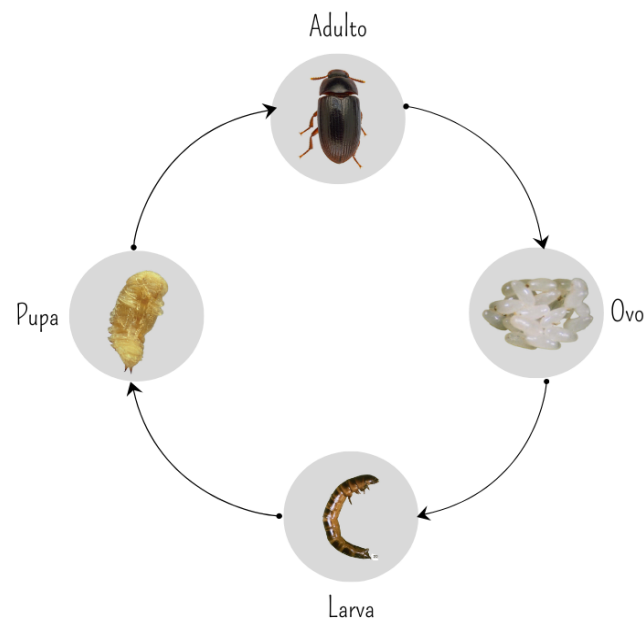
A**B**



A introdução do *A. diaperinus* no setor de produção animal provavelmente ocorreu por meio do transporte de ração contaminada e permaneceu devido a oferta abundante de alimentação e ambiente propício para seu desenvolvimento (RIGOPOULOU; RUMBOS; ATHANASSIOU, 2023). O próprio sistema de produção favorece o sucesso adaptativo do *A. diaperinus*. A cama aviária é o ambiente ideal para a sua reprodução e aumento populacional, pois proporciona abrigo e alimentação (RUMBOS; PANTAZIS.; ATHANASSIOU, 2020; RIGOPOULOU; RUMBOS; ATHANASSIOU, 2023)

O ciclo de vida do inseto tem duração entre 40 e 100 dias. Apresentam fases de ovo, larva, pupa e adulto (Figura 2). As fêmeas colocam em média 2000 mil ovos em sua fase reprodutiva (PAIVA, 2000) e a eclosão das larvas ocorre entre quatro a sete dias. A larva passa por aproximadamente onze instares que têm seu desenvolvimento ótimo variando de 30° a 33°C. Temperaturas abaixo de -10°C e acima de 45°C causam mortalidade em larvas e adultos de *A. diaperinus* (GAZONI et al., 2012). A fase de pupa ocorre dentro de 5 dias, originando adultos que reiniciam o ciclo reprodutivo após 20 dias. Tanto as larvas quanto os adultos apresentam hábitos noturnos (DUNFORD; KAUFMAN, 2006; UEMURA et al., 2022).

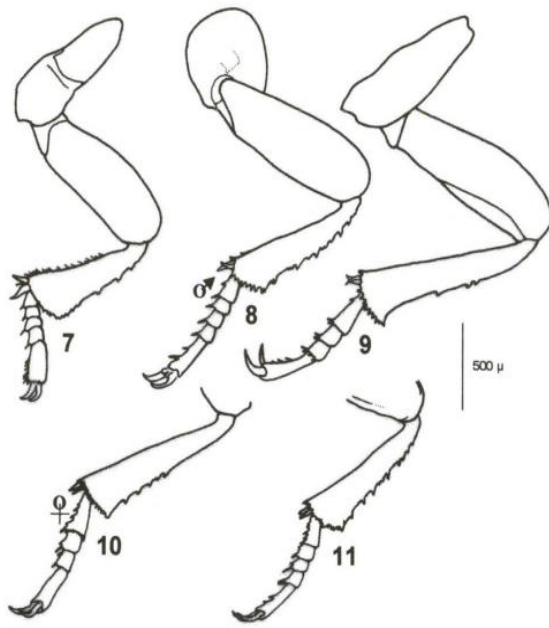
Figura 2: Fases do ciclo de *A. diaperinus*.



Adaptado de Sammarco; Hinkle; Crossley, 2023.

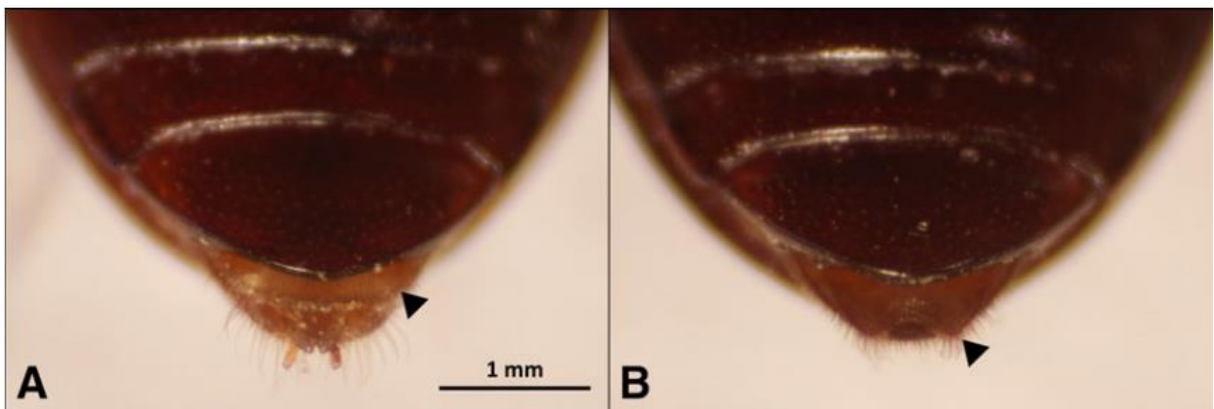
Os espinhos da tíbia são utilizados para diferenciar machos e fêmeas de *A. diaperinus*. Machos possuem espinhos curvos e fêmeas espinhos retos (Figura 3) (CHERNAKI, 2001). Mais recentemente Arena & Defagó (2020) propuseram a análise do oitavo esternito para diferenciação de machos e fêmeas, sendo um método habilitado para identificação em animais vivos (Figura 4). Machos e fêmeas de *A. diaperinus* possuem outras diferenças: As fêmeas possuem maior tamanho corporal ocasionando interferência no período de sobrevivência em ambientes secos (Renault; Coray, 2004); Machos produzem (R)-(+)-limoneno, (E)- β -ocimeno, (S)-(+)-linalool, (R)-(+)-daucen, e 2-nonanoa como feromônios específicos que variam em resposta a oferta e qualidade do alimento e acredita-se funcionar como um feromônio de agregação (Figura 5) (BARTELT et al., 2009).

Figura 3: Identificação de machos e fêmeas de *Alphitobius diaperinus* através da curvatura dos espinhos da tíbia



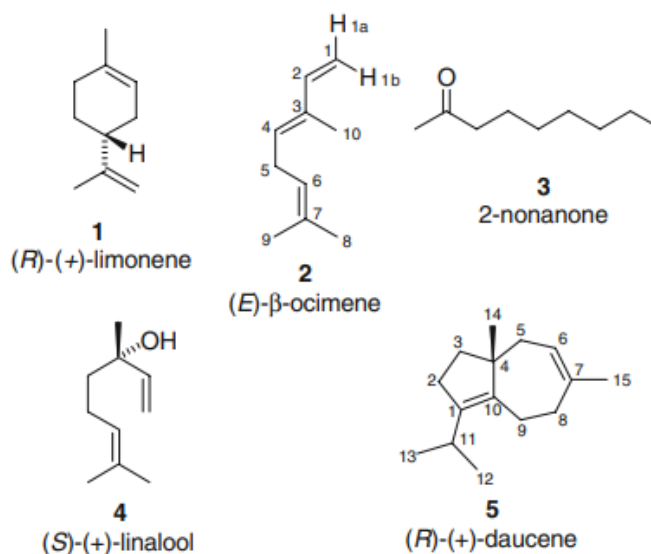
Fonte: CHERNAKI (2001).

Figura:4 Visão ventral de adultos de *Alphetobius diaperinus* revelando a região posterior do 8º esternito abdominal. Em fêmeas a região é arredondada (A), ao passo que nos machos essa região apresenta dois picos (B).



Fonte: Arena; Defagó (2020)

Figura 5: Feromônios produzidos por machos de *Alphetobius diaperinus*.



Fonte: Bartelt et al., 2009.

O tempo de vida do inseto pode variar em condições naturais e experimentais. Em condições laboratoriais, a maior vulnerabilidade no ciclo de vida de *A. diaperinus* é vista na fase larval (SILVA, 2005). A mortalidade de *A. diaperinus* também foi avaliada em condições de campo (SZCZEPANIK, 2020). A exigência térmica para o desenvolvimento do inseto mostra que seu controle tem maior eficiência durante períodos com temperaturas mais baixas (CHERNAKI; ALMEIDA, 2001).

Em razão da alta taxa reprodutiva, *A. diaperinus* é frequentemente causa grandes dificuldades na criação comercial de aves, já que tem a capacidade de lesionar a pele das aves, causar estresse, infecções e morte (Matias, 1992; Rezende, 2009). Problemas que culminam em prejuízos sanitários e econômicos como a coccidiose, causada pela *Eimeria* spp, que pode tornar inviável um lote por completo (GOODWIN; WALTMAN, 1996; SILVA et al., 2022)

Os problemas causados pelo *A. diaperinus* ultrapassam preocupações financeiras e culminam numa consequência muito mais preocupante como questões sanitárias (JAPP et al., 2010), visto que a pandemia de COVID-19, no ano de 2020, teve sua disseminação a partir da presença do SARS-Cov-2 em carnes comercializadas em mercados públicos de Wuhan, na China (ALBUQUERQUE et al., 2020; MORENS, 2020). Schrockenstein et al. (1988) comprovaram que a manipulação dos besouros gerou resposta imunológica em pesquisadores que apresentavam sintomas de asma, rinite, conjuntivite, urticária e angioedema. *A. diaperinus* mortos

apresentam uma maior taxa de esporos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* no exoesqueleto (SOARES; WEBER; SCUSSEL, 2018). Dessa forma, o controle populacional do *A. diaperinus* em granjas e mais pesquisas direcionadas ao controle do inseto são de extrema necessidade, dada a probabilidade de contaminação em frangos que serão comercializados.

Outro fator prejudicial às aves é a substituição da ração balanceada por larvas e adultos do coleóptero, em razão do comportamento que possuem de comer qualquer objeto em movimento, o que afeta principalmente as aves mais jovens. Despíns e Axtell (1995) avaliaram o comportamento alimentar e o crescimento de frangos de corte alimentados com larvas de cascudinhos. A diferença do peso médio corporal de aves alimentadas com larvas foi de 173g, significativamente menor do que aquelas que só receberam ração. Além de o peso médio corporal ser menor, as aves mostraram sinais de estresse durante o período de alimentação com larvas e apresentaram alta vocalização, fezes aguadas e com presença de cutícula larval. *A. diaperinus* atua como carreador de diversos patógenos como *Clostridium perfringens*, causador da enteríte necrótica (VITTORI, 2007), bem como diversas espécies da família Enterobacteriaceae presentes na superfície externa e interna do animal (SEGABINAZI et al., 2005). Pintos de corte, devido ao seu próprio hábito de explorar o ambiente, acabam ingerindo larvas e adultos de *A. diaperinus* no lugar da ração balanceada, gerando problemas zootécnicos. A ingestão de larvas do coleóptero gera o menor ganho de peso em relação às aves alimentadas com ração. Ademais, foram vistos sinais de estresse e desregulação fisiológica (DESPINS; AXTELL, 1995).

2.3 Controle populacional de *A. diaperinus*

Há muito tempo, inseticidas são utilizados para o controle de espécies que, em crescimento populacional descontrolado, são consideradas pragas. Usualmente os inseticidas químicos são os mais utilizados contra *A. diaperinus*. Matias (1992) mostrou a utilização de DDT a 0,5% e Malathion a 0,7% para controle de *A. diaperinus*, porém ambos são extremamente tóxicos. Mais recentemente, têm sido utilizados o organofosforado diclorvos e o piretróide cipermitrina (MATIAS, 2005; CHERNAKI et al., 2011). A eficiência do organofosforado pirimifós-metílico e do modulador de

receptores de acetilcolina spinosad, produto da fermentação do fungo de solo *Saccharopolyspora spinosa*, também tem sido descrita (ZAFEIRIADIS et al., 2021).

De fato, o uso dessas substâncias leva a uma rápida redução da densidade populacional dos insetos, contudo, todas são altamente tóxicas (CASTANHEIRA; GONÇALVES, 2023) e a recorrência do uso, muitas vezes em concentrações inadequadas ou em tratativas errôneas, acelera o aparecimento de insetos resistentes, além de prejudicar fortemente o ambiente e os recursos naturais (HAMM, 2006; CHERNAKI et al., 2011; SMITH et al., 2022). Ademais, mesmo com todas essas opções de inseticidas sintéticos, o controle de *A. diaperinus* nas propriedades avícolas tem apresentado dificuldades e, nesse sentido, alguns métodos alternativos de controle precisam ser empregados (JAPP et al., 2010).

A resistência cruzada em *A. diaperinus* foi previamente relatada e este fato aponta para a necessidade de investigar outros potenciais alvos moleculares para ação de novos agentes inseticidas (LAMBKIN; RICE; FURLONG, 2010). Nesse sentido, mecanismos envolvidos na digestão dos insetos têm sido apontados pelos pesquisadores da área como alvos promissores (SILVA; FERNANDES; OLIVEIRA, 2017; PINTO, 2020). Adicionalmente, o conhecimento da biologia e ecologia da espécie alvo é essencial para que o controle populacional seja eficiente com o mínimo de danos às espécies não alvo (TANG; CHEK, 2008). Desse modo, conhecer características bióticas como ciclo de vida do inseto e enzimas envolvidas em processos cruciais para sua sobrevivência, bem como abióticas, incluindo a melhor temperatura para o desenvolvimento são essenciais para um controle efetivo (PICANÇO; GONRING; OLIVEIRA, 2010). Para obtenção de um controle populacional mais eficiente, podem ser empregadas técnicas do manejo integrado de pragas que compreendem diferentes métodos (OLIVEIRA et al., 2013), incluindo controle químico (RENAULT; COLLINET, 2021), físico (ARTHUR et al., 2018) e biológico (SANTORO et al., 2008; KOC et al., 2022).

A utilização de compostos naturais com propriedades inseticidas é uma escolha interessante para minimizar os problemas associados ao uso de inseticidas neurotóxicos (HONATEL, 2022; CEMIN; SPAZZIN; BELLON, 2023). Contudo, sua utilização pode ser limitada por conta da disponibilidade natural e muitas vezes do custo elevado para sua obtenção. As plantas produzem a partir do seu metabolismo primário (e. g. proteínas inseticidas) e secundário (e. g. compostos fenólicos,

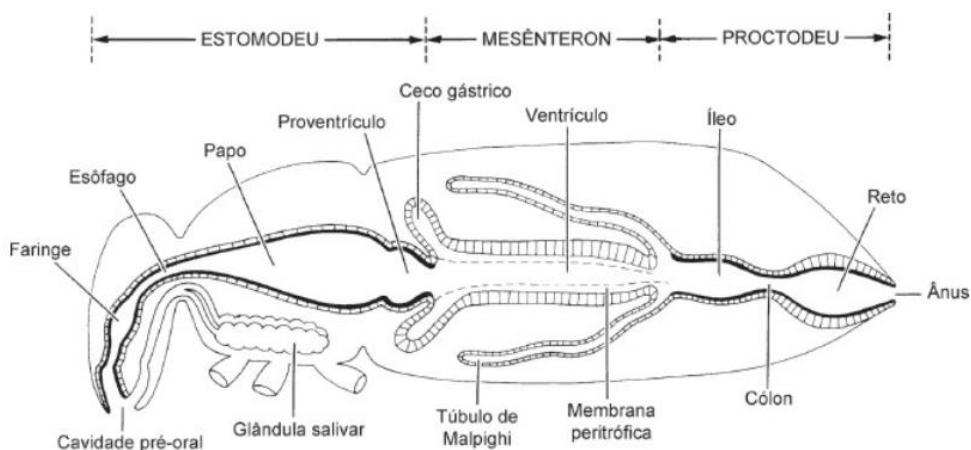
alcaloides e terpenoides) uma série de compostos que podem ser empregados para o controle de pragas (SAITO et al., 1997; BORGES; AMORIM, 2020; JÚNIOR, 2003) por interagir com moléculas ao nível das membranas no epitélio intestinal e estabelecer interações com componentes celulares levando ao rompimento celular (BARNETT, 2014; HONATEL, 2022). Dessa forma, podem afetar a ingestão de alimentos, absorção de nutrientes, crescimento, desenvolvimento (inibição do hormônio de ecdise), fertilidade e comportamento de oviposição. Além disso, podem atuar no sistema nervoso afetando os neurotransmissores excitatórios e inibitórios (acetilcolina e GABA – ácido gamaaminobutírico - respectivamente), receptores da fenda sináptica (acetilcolina, nicotínico, octopamina, tiramina) e canais de sódio (REGNAULT-ROGER et al., 2012; PAVELA E BENELLI, 2016; CRISTO; BERTONCELI; SALES, 2021).

2.4 Organização do sistema digestivo dos insetos

Existe uma enorme variedade de espécies de insetos na terra, logo é possível imaginar que a mesma diversidade acompanhe peculiares características de cada espécie. Diferentes hábitos alimentares requerem diferentes tipos de sistemas digestivos que corroboram com a dieta utilizada para alimentação e sobrevivência da espécie mediante presença de uma microbiota única (TERRA, 1990; MRÁZEK et al, 2008; ENGEL; MORAN, 2013).

De modo geral, o intestino dos insetos é dividido em: anterior, médio e posterior, também chamados de estomodeu, mesêntero e proctodeu respectivamente (Figura 6). No intestino anterior encontramos a boca, a faringe, o esôfago e o papo, que auxilia na digestão mecânica e no armazenamento do alimento. Essa parte é revestida por uma cutícula que os protege quando em contato com alimentos (ENGEL; MORAN, 2013, GULLAN; CRANSTON, 2017).

Figura 6: Esquema geral do intestino de insetos. Linha reta indicando o revestimento cuticular no estomodeu e no proctodeu e tracejado indicando a membrana peritrófica no mesêntero



Fonte: Gullan, Cranston (2017).

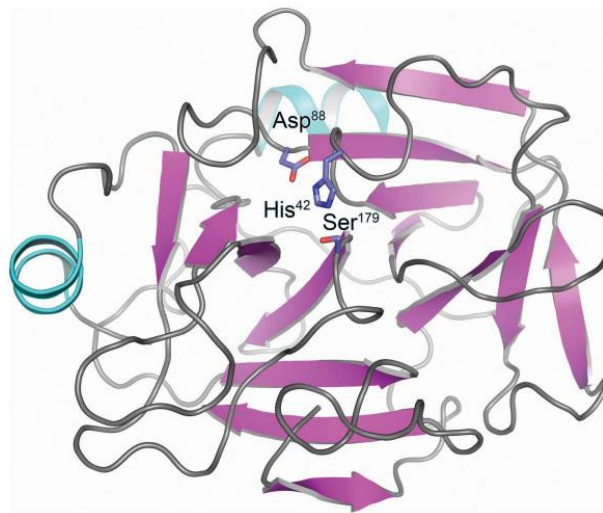
É no intestino médio (mesêntero) onde ocorre grande parte da digestão nos insetos (GULLAN, CRANSTON, 2017). Nesse compartimento estão as células epiteliais que secretam enzimas digestivas responsáveis pela degradação dos alimentos ingeridos. Importantes enzimas estão envolvidas no processo digestivo como α -amilases e proteases (DA LAGE, 2018). Além disso, nos insetos, o metabolismo lipídico é essencial durante a reprodução, fuga, fome e diapausa. Essa etapa do metabolismo ocorre no corpo gorduroso, que é análogo ao tecido adiposo e fígado dos vertebrados (TOPRAK et al, 2020).

2.5 Proteases

Enzimas conhecidas como proteases conseguem hidrolisar ligações peptídicas em diferentes regiões da molécula alvo (KUMARI et al., 2015). A partir do local de hidrólise são classificadas em endopeptidases, quando a hidrólise acontece internamente, e exopeptidases quando hidrolisam ligações peptídicas nas extremidades N-terminal ou C-terminal (BARRETT, 2000). As proteases também podem ser classificadas em metaloproteases, serinoproteases, asparticoproteases e cisteinoproteases. Serinoproteases apresentam uma tríade catalítica formada por Asp-His-Ser (Figura 7). As cisteinoproteases contêm uma tríade Cys-His-Asn no sítio ativo (Figura 8). Já as metaloproteases possuem um íon metálico em seu mecanismo

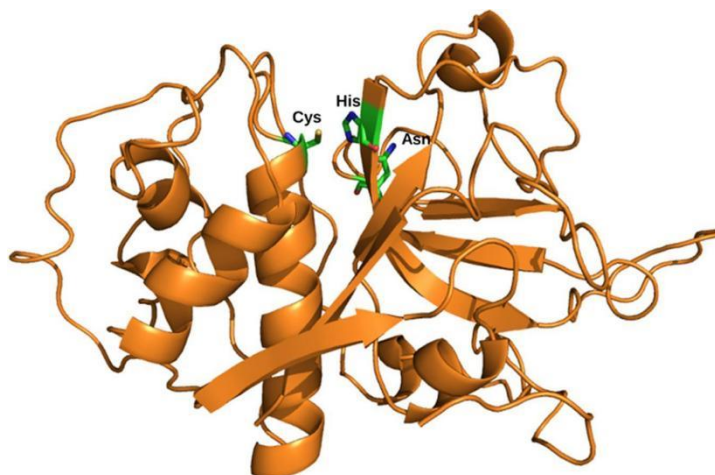
catalítico (Figura 9) e aspárticoproteases possuem duas unidades de ácido aspártico no seu centro catalítico (Figura 10) (BOND; BEYNON, 1995; MACEDO; FREIRE, 2011; VERMA; DIXIT; PANDEY, 2016; BLANKENSHIP et al., 2014; GONÇALVES, 2019).

Figura 7: Serinoprotease e sua tríade catalítica formada por Asp-His-Ser.



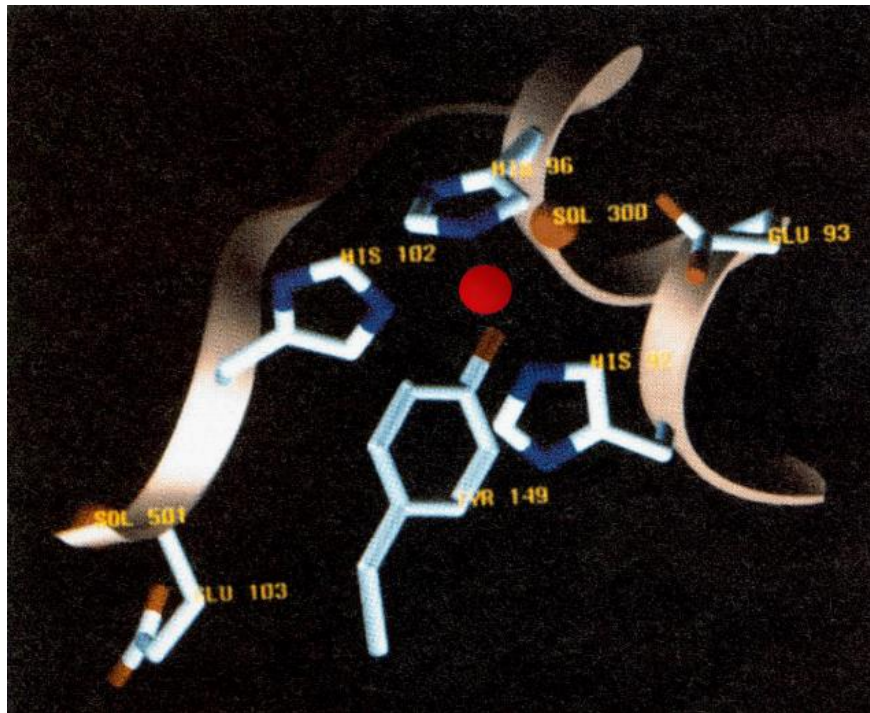
Fonte: Blankenship et al (2014)

Figura 8: Cisteíno protease e sua tríade catalítica formada por Cys-His-Asn.



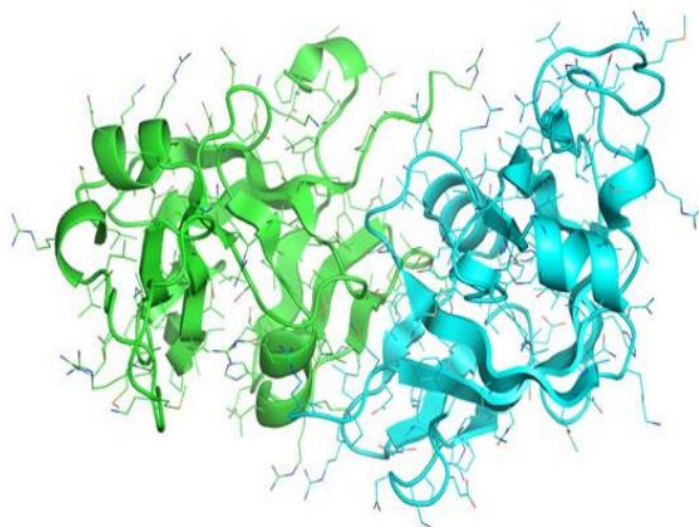
Fonte: Verma; Dixit; Pandey (2016)

Figura 9: Representação da astacina, uma metaloprotease, com seu sítio ativo em uma região alfa-hélice onde interage com o zinco (vermelho).



.Fonte: Adaptado de Bond e Beynon, 1995.

Figura 10: Representação do modelo da estrutura 3D do domínio dimerizado aspárticopeptidase retroviral.



Fonte: Gonçalves (2019).

2.6 Produtos vegetais com potencial inseticida

A utilização de plantas como fontes de metabólitos inseticidas cresceu com o aumento dos problemas relacionados ao surgimento de populações de insetos resistentes devido ao controle populacional malsucedido e o uso indiscriminado de inseticidas sintéticos (CORRÊA; SALGADO, 2011; REIS et al., 2023). Nesse contexto, os produtos intermediários ou finais do metabolismo das plantas presentes em raízes, folhas, sementes e outras partes do vegetal podem causar diversas reações nos insetos como alterações no desenvolvimento, repelência, deterrência alimentar, bloqueios bioquímicos e fisiológicos e morte (LENGAI; MUTHOMI; MBEGA, 2020).

As preparações brutas como os extratos de plantas e os óleos essenciais têm sido intensamente investigadas como potenciais bioinseticidas, mas a sua composição complexa muitas vezes dificulta a identificação do agente responsável pela ação inseticida. Dessa forma, para a aprovação comercial, é necessária a identificação do princípio ativo e seu mecanismo de ação (MORAIS; MARINHO-PRADO, 2016).

Os óleos essenciais de *Ocotea odorifera* e *Eucalyptus viminalis* foram avaliados quanto ao efeito na sobrevivência de larvas e adultos de *A. diaperinus* e foi observado

que *O. odorifera* foi mais eficaz em matar larvas e adultos (CL50 adulto 0,26mL l⁻¹ e larva 0,12mL l⁻¹) em comparação ao óleo essencial de *E. viminalis*, utilizando o método de contato direto (JUNIOR et al., 2010). O óleo essencial de vassourinha (*Cunila angustifolia*) foi eficaz no controle do *A. diaperinus* em laboratório e em campo, onde a reaplicação na concentração de 5% decorridos 15 dias causou uma maior mortalidade em comparação a alcação do óleo essencial em 1%, possivelmente pelo efeito residual prolongado (PRADO, 2013). O óleo comercial de Nim (*Azadirachta indica*) (>1%) apresentou matou 97,5% dos adultos de *A. diaperinus* quando testado por contato. Quando testado sobre a cama do aviário, não mostrou eficiência, o que pode ser explicado pelo hábito fototrópico negativo do animal que ocasiona um baixo contato com o princípio ativo, visto que este permanece concentrado na superfície da cama das aves (MARCOMINI, 2009). Óleos essenciais de *Dysphania ambrosioides* e *Tagetes minuta* foram tóxicos por contato para *A. diaperinus*, sendo o primeiro seis vezes mais eficaz (PETER, 2022). O óleo essencial de Canela (*Cinnamomum zeylanicum*) (10%), assim como nanoestruturas à base desse mesmo óleo (5%) foram tóxicos por contato para larvas e adultos de *A. diaperinus*; De acordo com os autores, a utilização de nanoestruturas apresenta a vantagem de não acarretar efeitos ecotoxicológicos (VOLPATO, 2016).

A atividade inseticida dos extratos aquosos de nim, fumo (*Nicotiana tabacum*) e eucalipto (*Eucalyptus* spp) foi avaliada sobre *A. diaperinus* e o melhor resultado foi atribuído ao extrato de fumo provavelmente pela presença da nicotina, um alcalóide encontrado em diversas plantas (FERREIRA, 2018). Os extratos aquosos de Mamona (*Ricinus communis*), Erva de santa maria (*Chenopodium ambrosioides*) e Carqueja (*Baccharis trimera*), todos a 8%, causaram mortalidade de *A. diaperinus* adultos (CHARLIE-SILVA, 2019). *A. diaperinus* também mostrou sensibilidade ao contato com o extrato aquoso de Tabaco (*Nicotiana tabacum*), com efeito dependente do tempo de contato (JACOMINI, 2016). O extrato hexânico dos ramos da erva de santa maria (*Chenopodium ambrosioides*), extrato etanólico dos ramos de Arruda (*Ruta graveolens*) e extrato etanólico das folhas de Cinamono (*Melia azedarach*), todos a 10%, reduziram a sobrevivência de *A. diaperinus*.

Além das preparações brutas, metabólitos vegetais isolados também podem ser tóxicos para insetos, como é o caso das proteínas inseticidas. Dentre essas proteínas, destacam-se as lectinas, as quais apresentam ao menos um domínio não

catalítico que liga reversivelmente a um carboidrato específico (GABIUS, 2002). As lectinas podem ser classificadas em merolectinas, hololectinas e quimerolectinas (PEUMANS; VAN DAMME, 1995). A maioria das lectinas conhecidas têm a capacidade de aglutinar células e precipitar glicoconjugados, são as conhecidas hololectinas (PEUMANS; VAN DAMME, 1995). São encontradas nos mais diversos organismos como microorganismos (RUBEENA; ABRAHAM; AARIF, 2022) e animais (KILPATRICK, 2002), porém a maioria dos estudos estão concentrados em lectinas de origem vegetal pela facilidade de isolamento (VAN DAMME, 2022).

Lectinas podem interagir com os carboidratos da superfície de bactérias e fungos e a subsequente alterar a permeabilidade de suas membranas levando à inibição do crescimento ou morte (DE OLIVEIRA et al., 2020). Lectinas também interagem com carboidratos presentes em células cancerígenas podendo desencadear a morte celular (PATRIOTA, 2020), além de apresentarem atividades imunomoduladora, antiparasitária, antiviral e serem promissoras para o controle de insetos-pragas (SINGH; SINGH; SINGH, 2023).

O mecanismo geral da atividade inseticida de lectinas envolve o rompimento da membrana peritrófica e do revestimento epitelial das células do intestino médio, bem como ligação a glicoproteínas presentes na membrana das células epiteliais do intestino médio, podendo levar anormalidades funcionais e fisiológicas, como hipertrofia das células epiteliais, alongamento das microvilosidades e permeabilidade da membrana celular alterada, permitindo a entrada de substâncias nocivas para a hemolinfa e absorção prejudicada de nutrientes (RAUF et al., 2019); A atividade entomotóxica das lectinas também inclui redução da fecundidade, atraso no desenvolvimento, mortalidade, redução da ingesta de alimento e/ou da eficiência de conversão em biomassa e diminuição da emergência de adultos.

2.7 *Moringa oleifera*

Moringa oleifera é uma espécie pertencente a família das Moringaceae que apresenta grande importância popular (MAJALI; ALTHUNIBAT; QARALLEH, 2015). Tem origem indiana, mas apresenta ampla distribuição em outros países (RAMACHANDRAN; PETER; GOPALAKRISHNAN, 1980). É conhecida por ser uma fonte altamente nutritiva (ROCKWOOD; ANDERSON; CASAMATTA, 2013) e é usada como um todo, porém a composição química de macro e micronutrientes varia a depender do órgão vegetal utilizado (DEBELA; TOLERA, 2013).

As lectinas encontradas em folhas, flores e sementes de *M. oleifera* tem potencial antitumoral (BRITO et al., 2023; KONOZY; OSMAN, 2022; PATRIOTA et al., 2020), inseticida (ALVES et al., 2020; OLIVEIRA et al., 2023), antiinflamatória, imunomoduladora (PATRIOTA et al., 2022) antioxidante (AHMED et al., 2021), nutricional (RAKOTOSAMIMANANA, 2024), antimicrobiana (SANTOS et al., 2021).

Em especial, suas sementes são fonte de óleo vegetal líquido de cor amarelada e rico em ácido graxo oleico (SERRANO; CÁRDENAS; MESTRE, 2020; OGBUNUGAFOR et al., 2011).

O ácido oleico é um importante imunomodulador com função anti-inflamatória através da inibição de citocinas pró-inflamatórias e a ativação de citocinas anti-inflamatórias (SANTA-MARÍA et al., 2023). O ácido oleico também apresenta relevância nos quadros de transtornos mentais, onde a redução de ácido oleico foi encontrada em pacientes depressivos (HAMAZAKI; HAMAZAKI; INADERA, 2013). Outros ácidos poliinsaturados também demonstram importância como o ácido docosapentaenóico (DPA) 22:5 (ω -3) que decresceu 34,3% em pacientes com transtorno depressivo maior (TDM) e o ácido adrénico 22:4 (ω -6) que decresceu 8,7% em pacientes esquizofrênicos na região do córtex entorrinal (HAMAZAKI; HAMAZAKI; INADERA, 2013). Esses e outros estudos sugerem que pode haver uma diferença no metabolismo de ácidos graxos em determinadas regiões do cérebro em pessoas com transtornos mentais (HAMAZAKI et al., 2015; HAMAZAKI, K. et al., 2017). O óleo também pode ser uma fonte de biodiesel (AZAD et al., 2015) e possui atividade antifúngica (Guedes et al., 2022).

3. OBJETIVOS

3.1. Geral

Avaliar os efeitos de preparações proteicas (infusão, extrato, fração, lectina solúvel em água - WSMoL) e óleo fixo de sementes de *M. oleífera* na sobrevivência de adultos de *A. diaperinus* (panzer).

3.2. Específicos

- ❖ Obter infusão, extrato aquoso e fração de proteínas precipitadas de sementes de *M. oleífera*.
- ❖ Purificar a lectina WSMoL de acordo com protocolo previamente estabelecido;
- ❖ Avaliar os efeitos da ingestão de dieta artificial contendo infusão, extrato, fração e WSMoL de sementes de *M. oleífera* na sobrevivência de *A. diaperinus* adultos.
- ❖ Determinar os efeitos da infusão, extrato, fração e WSMoL de *M. oleífera* nas enzimas digestivas (proteases totais, tripsina e amilase) de *A. diaperinus* adultos.
- ❖ Investigar o óleo fixo de sementes de *M. oleífera* quanto à toxicidade por contato para *A. diaperinus* adultos.
- ❖ Descrever o efeito do óleo fixo de sementes de *M. oleífera* na atividade da enzima acetilcolinesterase de *A. diaperinus* adultos.

4. REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, L. P.; SILVA, R. B.; ARAÚJO, R. M. S. COVID-19: origin, pathogenesis, transmission, clinical aspects and current therapeutic strategies. **Revista Prevenção de Infecção e Saúde**, v. 6, 2020.

ARENA, J. S.; DEFAGÓ, M. T.. A novel method for sexing live adult *Alphitobius diaperinus*. **Entomologia experimentalis et applicata**, v. 168, n. 5, p. 416-419, 2020.

ARGUELLES-PEÑA, K. et al. Thermodynamic properties estimation of (oil)-(moringa seeds)-(supercritical CO₂) extractive system. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 181, p. 105513, 2022

ARTHUR, P. B. et al. Control of *Alphitobius diaperinus* (Panzer, 1797)(Coleoptera: Tenebrionidae) by gamma radiation. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, 2018.

AZAD, A. K. et al. Prospect of Moringa seed oil as a sustainable biodiesel fuel in Australia: A review. **Procedia Engineering**, v. 105, p. 601-606, 2015.

AZWANIDA, N. N. A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. **Med Aromat Plants**, v. 4, n. 196, p. 2167-0412, 2015.

BAHULE, C. E.; SILVA, T. N. S. Probiotics as a Promising Additive in Broiler Feed: Advances and Limitations. In: **Advances in Poultry Nutrition Research**. IntechOpen, 2021.

BARNETT, J. B. Pesticide- Induced Immunotoxicity: molecular targets. **Molecular Immunotoxicology**, [S.L.], p. 285-306, 25 jul. 2014.

BARRETT, A. J. Proteases. **Current protocols in protein science**, v. 21, n. 1, p. 21.1. 1-21.1. 12, 2000.

BARTELT, R. J. et al. Male-produced aggregation pheromone of the lesser mealworm beetle, *Alphitobius diaperinus*. **Journal of chemical ecology**, v. 35, p. 422-434, 2009.

BAUMBACH, J. et al. A Drosophila in vivo screen identifies store-operated calcium entry as a key regulator of adiposity. **Cell metabolism**, v. 19, n. 2, p. 331-343, 2014.

BLANKENSHIP, E. et al. Conformational flexibility in the catalytic triad revealed by the high-resolution crystal structure of Streptomyces erythraeus trypsin in an unliganded state. **Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography**, v. 70, n. 3, p. 833-840, 2014.

BLOOMQUIST, J. R. Chloride channels as tools for developing selective insecticides. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology: Published in Collaboration with the Entomological Society of America**, v. 54, n. 4, p. 145-156, 2003.

BOND, J. S.; BEYNON, R. J. The astacin family of metalloendopeptidases. **Protein Science**, v. 4, n. 7, p. 1247-1261, 1995.

BORGES, L. P.; AMORIM, V. A.. METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DE PLANTAS. **Revista Agrotecnologia**, v. 11, n. 1, 2020.

CASTANHEIRA, E.; GONÇALVES, M. Sameiro T. Inseticidas inspirados na natureza. 2023.

CAVALCANTI, I. F. A. **Tempo e clima no Brasil**. Oficina de textos, 2016.

CEMIN, M. F. R.; SPAZZIN, M. P.; BELLON, P. P. Eficácia de inseticidas alternativos e biológicos sobre Sitophilus zeamais (Coleoptera: Curculionidae) em grãos de milho. **Research, Society and Development**, v. 12, n. 4, p. e18512441155-e18512441155, 2023.

CHARLIE-SILVA, I. et al. Insecticidal efficacy of aqueous extracts of Ricinus communis, Baccharis trimera and Chenopodium ambrosioides on adults of Alphitobius diaperinus. **Ars Veterinaria**, v. 35, n. 1, p. 07-11, 2019.

CHERNAKI, A. M.; ALMEIDA, L. M. Exigências térmicas, período de desenvolvimento e sobrevivência de imaturos de Alphitobius diaperinus (Panzer)(Coleoptera: Tenebrionidae). **Neotropical Entomology**, v. 30, p. 365-368, 2001.

CHERNAKI, A. M.; ALMEIDA, L. M. Morfologia dos estágios imaturos e do adulto de *Alphitobius diaperinus* (Panzer)(Coleoptera, Tenebrionidae). **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 18, p. 351-363, 2001.

CHERNAKI-LEFFER, A. M. et al. Susceptibility of *Alphitobius diaperinus* (Panzer)(Coleoptera, Tenebrionidae) to cypermethrin, dichlorvos and triflumuron in southern Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 55, p. 125-128, 2011.

COELHO, A. E. G.; DOMINGUES, J. A. G.; SILVA, E. J.. Exportação brasileira do frango de corte. **Revista Processando O Saber**, v. 13, p. 124-137, 2021.

CORRÊA, J. C. R.; SALGADO, H. R. N. Atividade inseticida das plantas e aplicações: revisão. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 13, p. 500-506, 2011.

CRIPPEN, T. L. et al. The horizontal transfer of *Salmonella* between the lesser mealworm (*Alphitobius diaperinus*) and poultry manure. **Zoonoses and Public Health**, v. 65, n. 1, p. e23-e33, 2018.

CRIPPEN, T. L. et al. Transient gut retention and persistence of *Salmonella* through metamorphosis in the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae). **Journal of Applied Microbiology**, v. 112, n. 5, p. 920-926, 2012.

CRISTO, V D.; BERTONCELI, M. A. A.; SALES, K. V.. Ação inseticida de proteínas de sementes de *Clitoria fairchildiana* sobre o desenvolvimento do inseto *Tribolium castaneum*. 2021.

CRUZ, W. O. et al. Biochemical properties of α -amylase from midgut of *Alphitobius diaperinus* (Panzer)(Coleoptera: Tenebrionidae) larvae. **Neotropical entomology**, v. 47, p. 698-708, 2018.

CUCINI, C. et al. Bacterial and fungal diversity in the gut of polystyrene-fed *Alphitobius diaperinus* (Insecta: Coleoptera). **Animal Gene**, v. 17, p. 200109, 2020.

DA LAGE, J. L. The amylases of insects. **International journal of insect science**, v. 10, p. 1179543318804783, 2018.

DAHMER, A. D. et al. Use of *Alphitobius diaperinus* as an alternative method of osteotechnics. **Ciência Animal Brasileira**, v. 24, p. e-75530E, 2023

DESHWAL, R. et al. Stored grain insect pests and their management: An overview. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 8, n. 5, p. 969-974, 2020.

DESPINS, J. L.; AXTELL, R. C. Feeding behavior and growth of broiler chicks fed larvae of the darkling beetle, *Alphitobius diaperinus*. **Poultry science**, v. 74, n. 2, p. 331-336, 1995.

DONOSO, A.; PAREDES, N.; RETAMAL, P.. Detection of antimicrobial resistant *Salmonella enterica* strains in larval and adult forms of lesser mealworm (*Alphitobius diaperinus*) from industrial poultry farms. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 7, p. 577848, 2020.7

DUNFORD, J. C.; KAUFMAN, P. E. Lesser Mealworm, Litter Beetle, *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Insecta: Coleoptera: Tenebrionidae). **Entomology and Nematology Department**, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. Gainesville, Fla, USA, 2006.

DUNFORD, James C.; KAUFMAN, Phillip E. Lesser Mealworm, Litter Beetle, *Alphitobius diaperinus* (Panzer)(Insecta: Coleoptera: Tenebrionidae): EENY-367/IN662, rev. 6/2006. **EDIS**, v. 2006, 2006.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Suínos e Aves**.

ENGEL, P.; MORAN, N. A. The gut microbiota of insects—diversity in structure and function. **FEMS microbiology reviews**, v. 37, n. 5, p. 699-735, 2013.

FELTON, G. W.; SUMMERS, C. B. Antioxidant systems in insects. **Archives of insect biochemistry and physiology**, v. 29, n. 2, p. 187-197, 1995.

FERREIRA, A. et al. Uso de extratos aquosos (nim, eucalipto e fumo) no controle do cascudinho (*Alphitobius diaperinus*). **Agrarian Academy**, v. 5, n. 09, 2018.

FERREIRA, M. S. R. **Perfis de resistência a antibióticos em isolados de Escherichia coli de frangos do campo e de avicultura industrial**. 2022. Dissertação de Mestrado. Universidade de Évora.

FRANCO, Octávio L. et al. Plant α - amylase inhibitors and their interaction with insect α - amylases: Structure, function and potential for crop protection. **European journal of biochemistry**, v. 269, n. 2, p. 397-412, 2002.

GABIUS, H. J. et al. The sugar code: functional lectinomics. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects**, v. 1572, n. 2-3, p. 165-177, 2002.

GARCIA, A. G.; PARRA, J. R. P. Métodos de determinação de limites térmicos e constante térmica para insetos. 2022.

GARCIA, D. A.; GOMES, D. E. A avicultura brasileira e os avanços nutricionais. **Revista Científica**, v. 1, n. 1, 2019.

GAZONI, F. L. et al. Avaliação da resistência do cascudinho (*Alphitobius diaperinus*)(Panzer)(Coleoptera: Tenebrionidae) a diferentes temperaturas. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 79, p. 69-74, 2012.

GEHRING, Vandreice S. et al. *Alphitobius diaperinus* control and physicochemical study of poultry litters treated with quicklime and shallow fermentation. **Poultry science**, v. 99, n. 4, p. 2120-2124, 2020.

GENDEN C. J.; AXTELL R. C., "Factors affecting climbing and tunneling behavior of the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae)," *Journal of Economic Entomology*, vol. 80, no. 6, pp. 1197–1204, 1987.

GIUNTI, G. et al. Bioactivity of essential oil-based nano-biopesticides toward *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae). **Industrial crops and products**, v. 162, p. 113257, 2021.

GONÇALVES, K. C. S.. Análise estrutural e molecular de aspártico peptidases em *Trypanosoma cruzi*. 2019. 86 f. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Molecular)- Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2019.

GOODWIN, M. A.; WALTMAN, W. D.. Transmission of *Eimeria*, viruses, and bacteria to chicks: darkling beetles (*Alphitobius diaperinus*) as vectors of pathogens. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 5, n. 1, p. 51-55, 1996.

GUEDES, C. C. S. et al. Antimycotic potential of protein preparation and fixed oil obtained from *Moringa oleifera* seeds against *Trichophyton tonsurans*. **South African Journal of Botany**, v. 150, p. 443-450, 2022.

GULLAN, P. J.; CRANSTON, P. S. Insetos: fundamentos da entomologia. **Editorial ROCA, 5ª Ed., Barcelona. 460pp**, 2017.

HAMAZAKI, K. et al. Fatty acid composition of the postmortem corpus callosum of patients with schizophrenia, bipolar disorder, or major depressive disorder. **European Psychiatry**, v. 39, p. 51-56, 2017.

HAMAZAKI, K. et al. Fatty acid composition of the postmortem prefrontal cortex of patients with schizophrenia, bipolar disorder, and major depressive disorder. **Psychiatry research**, v. 227, n. 2-3, p. 353-359, 2015.

HAMAZAKI, K; HAMAZAKI, T.; INADERA, H. Fatty acid composition in the postmortem amygdala of patients with schizophrenia, bipolar disorder, and major depressive disorder. **Journal of psychiatric research**, v. 46, n. 8, p. 1024-1028, 2013.

HAMAZAKI, K; HAMAZAKI, T.; INADERA, H.. Abnormalities in the fatty acid composition of the postmortem entorhinal cortex of patients with schizophrenia, bipolar disorder, and major depressive disorder. **Psychiatry research**, v. 210, n. 1, p. 346-350, 2013.

HAMM, R. L. et al. Resistance to cyfluthrin and tetrachlorvinphos in the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus*, collected from the eastern United States. **Pest Management Science: formerly Pesticide Science**, v. 62, n. 7, p. 673-677, 2006.

Home - ABPA (abpa-br.org)

HONATEL, K. F.. Avaliação in vitro da neurotoxicidade de inseticidas neonicotinóides. 2022.

HONATEL, Karol Ferreira. Avaliação in vitro da neurotoxicidade de inseticidas neonicotinóides. 2022.

ISMAIL, S. Synergistic efficacy of plant essential oils with cypermethrin and chlorpyrifos against *Spodoptera littoralis*, field populations in Egypt. **Int. J. Adv. Biol. Biomed. Res**, v. 9, p. 128-137, 2021.

JABEEN, R. et al. Microscopic evaluation of the antimicrobial activity of seed extracts of *Moringa oleifera*. **Pak J Bot**, v. 40, n. 4, p. 1349-1358, 2008.

JACOMINI, D. et al. Extrato de tabaco no controle do besouro cascudinho de aviário. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, p. 680-683, 2016.

JAHAN, I. A. et al. Antioxidant activity of *Moringa oleifera* seed extracts. **Oriental Pharmacy and Experimental Medicine**, v. 18, p. 299-307, 2018.

JAPP, A. K.; BICHO, C. L.; SILVA, A. V. F. Importância e medidas de controle para *Alphitobius diaperinus* em aviários. **Ciência Rural**, v. 40, p. 1668-1673, 2010.

JAPP, A. K.; BICHO, C. L.; SILVA, A. V. F. Importância e medidas de controle para *Alphitobius diaperinus* em aviários. *Ciência Rural*, v. 40, p. 1668-1673, 2010

JUNIOR, A. R. P. et al. Bioatividade de óleos essenciais de sassafrás e eucalipto em cascudinho. **Ciência Rural**, v. 40, p. 637-643, 2010.

JÚNIOR, C. V. Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos. **Química Nova**, v. 26, p. 390-400, 2003.

KAMRUZZAMAN, M.; SHAHJAHAN, M.; MOLLAHA, M. L. R. Laboratory evaluation of plant extracts as antifeedant against the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* and rice weevil, *Sitophilus oryzae*. **Biological Sciences-PJSIR**, v. 48, n. 4, p. 252-256, 2005.

KARAKAS, M.. Toxic, repellent and antifeedant effects of two aromatic plant extracts on the wheat granary weevil, *Sitophilus granarius* L.(Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 4, n. 5, p. 870-874, 2016.

KAVALLIERATOS, N. G. et al. Etofenprox vs. *Alphitobius diaperinus* adults: Residual efficacy on glass, plastic, wood, and ceramic surfaces. **Journal of Stored Products Research**, v. 103, p. 102146, 2023.

KILPATRICK, D. C. Animal lectins: a historical introduction and overview. *Biochimica et biophysica acta (BBA)-General subjects*, v. 1572, n. 2-3, p. 187-197, 2002.

KNAAK, N.; TAGLIARI, M. S.; FIUZA, L. M. Histopatologia da interação de *Bacillus thuringiensis* e extratos vegetais no intestino médio de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, p. 83-89, 2020.

KOC, S. et al. Pathogenicity of an entomopathogenic nematode, *Steinernema carpocapsae* on *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) strains from Turkey. **Journal of Economic Entomology**, v. 115, n. 4, p. 1303-1309, 2022.

KONOZY, E. H. E.; OSMAN, M. El-fadil M. Plant lectin: A promising future anti-tumor drug. **Biochimie**, 2022.

KUMARI, A. et al. Isolation and immobilization of alkaline protease on mesoporous silica and mesoporous ZSM-5 zeolite materials for improved catalytic properties. **Biochemistry and biophysics reports**, v. 2, p. 108-114, 2015.

LALAS, S.; TSAKNIS, J.. Characterization of *Moringa oleifera* seed oil variety "Periyakulam 1". **Journal of food composition and analysis**, v. 15, n. 1, p. 65-77, 2002.

LAMBKIN, T. A. et al. Distributions of lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae) in litter of a compacted earth floor broiler house in subtropical Queensland, Australia. **Journal of economic entomology**, v. 100, n. 4, p. 1136-1146, 2007.

LAMBKIN, T. A.; RICE, S. J.; FURLONG, M.. Responses of susceptible and cyfluthrin-resistant broiler house populations of lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae) to γ -cyhalothrin. **Journal of economic entomology**, v. 103, n. 6, p. 2155-2163, 2010.

LENGAI, G. M. W; MUTHOMI, J. W.; MBEGA, E. R. Phytochemical activity and role of botanical pesticides in pest management for sustainable agricultural crop production. **Scientific African**, v. 7, p. e00239, 2020.

LEONE, Alessandro et al. *Moringa oleifera* seeds and oil: Characteristics and uses for human health. **International journal of molecular sciences**, v. 17, n. 12, p. 2141, 2016.

LI, C.; CHEN, H.. H7N9 influenza virus in China. **Cold Spring Harbor perspectives in medicine**, v. 11, n. 8, p. a038349, 2021.

LIANG, L. et al. Nutritional compositions of Indian Moringa oleifera seed and antioxidant activity of its polypeptides. **Food science & nutrition**, v. 7, n. 5, p. 1754-1760, 2019.

LIMA, M. F. et al. Bioatividade do pó de piper nigrum L. sobre Alphitobius diaperinus (panzer)(coleoptera: tenebrionidae) em sementes de amendoim (arachis hypogaea L.) BR1. 2015.

LORINI, I. et al. Manejo integrado de pragas de produtos armazenados. **Empres. Bras. Pesqui. Agropecuária**, p. 56-74, 2009.

LYBRAND, D. B. et al. How plants synthesize pyrethrins: Safe and biodegradable insecticides. **Trends in plant science**, v. 25, n. 12, p. 1240-1251, 2020.

MA, C. et al. Emergence and evolution of H10 subtype influenza viruses in poultry in China. **Journal of virology**, v. 89, n. 7, p. 3534-3541, 2015.

MACEDO, M. L. R.; FREIRE, M. G. M. Insect digestive enzymes as a target for pest control. **Invertebrate Survival Journal**, v. 8, n. 2, p. 190-198, 2011.

MARCOMINI, A. M. et al. Atividade inseticida de extratos vegetais e do óleo de nim sobre adultos de Alphitobius diaperinus Panzer (Coleoptera, Tenebrionidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 76, p. 409-416, 2021.

MASON, L. J.; MCDONOUGH, M. 2 Biology, Behavior, and Ecology of Stored Grain and Legume Insects. **Stored Product Protection**, p. 7, 2012.

MATIAS, R. S. Controle de *Alphitobius diaperinus* com inseticidas piretróides e organofosforados em granjas avícolas no sul do Brasil. **A Hora Veterinária**, v.25, p.47-51, 2005.

MATIAS, R. S. Controle de Alphitobius Diaperinus em Piso e Cama de Aviários. 1992.

MATIAS, R. S. Controle de Alphitobius diaperinus em piso e cama de aviários. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 27, n. 1, p. 205-207, 1992.

MATTHEWS, E. G. et al. Tenebrionidae Latreille, 1802. **Handbook of zoology. A natural history of the phyla of the animal kingdom**, v. 4, p. 574-659, 2010.

MCCLAUGHLIN, E. et al. UK Flockdown: A survey of smallscale poultry keepers and their understanding of governmental guidance on Highly Pathogenic Avian Influenza (HPAI). **Preventive Veterinary Medicine**, v. 224, p. 106117, 2024.

MEIRELES, D. et al. A review of properties, nutritional and pharmaceutical applications of *Moringa oleifera*: integrative approach on conventional and traditional Asian medicine. **Advances in Traditional Medicine**, v. 20, n. 4, p. 495-515, 2020.

MORAIS, L. A. S.; MARINHO-PRADO, J. S. Plantas com atividade inseticida. HALFELD-VIEIRA, B. A. et al. Defensivos Agrícolas Naturais: Uso e Perspectivas. Brasília, DF: Embrapa. Cap, v. 19, p. 542-593, 2016.

MORENS, D. M. et al. The origin of COVID-19 and why it matters. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 103, n. 3, p. 955, 2020.

MRÁZEK, J. et al. Diversity of insect intestinal microflora. **Folia Microbiologica**, v. 53, p. 229-233, 2008.

NABOZHENKO, M. V. The fossil record of darkling beetles (Insecta: Coleoptera: Tenebrionidae). **Geosciences**, v. 9, n. 12, p. 514, 2019.

NÓBREGA, G. H. et al. A produção animal sob a influência do ambiente nas condições do semiárido nordestino. **Revista verde de agroecologia e desenvolvimento sustentável**, v. 6, n. 1, p. 9, 2011.

OLADIPO, O. E.; OLADELE, O. O.; AJAYI, O. G.. Assessment of insecticidal, phytotoxicity, and fungistatic potential of chemically characterized *Elaeis guineensis* (Jacq) kernel oil. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 43, p. 102398, 2022.

OLIVEIRA, A. P. S. et al. A termiticidal and high denaturation-resistant lectin from *Moringa oleifera* seed cake. **Journal of Natural Pesticide Research**, v. 5, p. 100040, 2023.

OLIVEIRA, A. P. S. et al. Biotechnological value of Moringa oleifera seed cake as source of insecticidal lectin against Aedes aegypti. **Process Biochemistry**, v. 51, n. 10, p. 1683-1690, 2016.

OLIVEIRA, H. N.; ANTIGO, M. R.; CARVALHO, G. A.; GLAESER, D. F. ; PEREIRA, F. F. Seletividade de inseticidas utilizados na cana-de-açúcar a adultos de Trichogramma galloi Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Bioscience Journal, Uberlândia, v. 29, n. 5, p. 1267-1274, set. 2013

OGBUNUGAFOR, H. A. et al. Physico-chemical and antioxidant properties of Moringa oleifera seed oil. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 10, n. 5, p. 409-414, 2011.

PADAYACHEE, B.; BAIJNATH, H.. An updated comprehensive review of the medicinal, phytochemical and pharmacological properties of Moringa oleifera. **South African Journal of Botany**, v. 129, p. 304-316, 2020.

PAIVA, D. P. Controle de moscas e cascudinhos. Desafios na produção agrícola. **Simpósio sobre resíduos da Produção Avícola**, v. 1, p. 21-26, 2000.

PANIZZI, A. R.; PARRA, José R. P.. A bioecologia e a nutrição de insetos como base para o manejo integrado de pragas. 2009.

PATRIOTA, L. L. S. et al. Antitumor activity of Moringa oleifera (drumstick tree) flower trypsin inhibitor (MoFTI) in sarcoma 180-bearing mice. **Food and Chemical Toxicology**, v. 145, p. 111691, 2020.

PATRIOTA, L. L. S. et al. Purification, characterization, and immunomodulatory activity of a lectin from the seeds of horse chestnut (Aesculus hippocastanum L.). **Current Research in Biotechnology**, v. 4, p. 203-210, 2022.

PAUL, D.; SOHKHLET, M. D. Anti-feedant, repellent and growth regulatory effects of four plant extracts on Pieris brassicae larvae (Lepidoptera: Pieridae). **Journal of Entomological Research**, v. 36, n. 4, p. 287-293, 2012.

PAVELA, R. History, presence and perspective of using plant extracts as commercial botanical insecticides and farm products for protection against insects-a review. 2016.

PEREIRA, A. C. R. L. et al. Atividade inseticida de óleos essenciais e fixos sobre *Callosobruchus maculatus* (FABR., 1775)(Coleoptera: Bruchidae) em grãos de caupi [*Vigna unguiculata* (L.) WALP.]. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, p. 717-724, 2008.

PEUMANS, W. J.; VAN DAMME, E. J. Lectins as plant defense proteins. *Plant physiology*, v. 109, n. 2, p. 347, 1995.

PICANÇO, M. C.; GONRING, A. H. R.; OLIVEIRA, I. R. Manejo integrado de pragas. **Viçosa, MG: UFV**, 2010.

PINTO, C. P. G. A digestão dos insetos mastigadores: fisiologia e potencial uso no manejo integrado de pragas (MIP). 2020.

POVALUK, M. Ciclo e controle do *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera, Tenebrionidae) no município de quitandinha, PR. **Saúde e Meio Ambiente: revista interdisciplinar**, v. 6, n. 1, p. 107-122, 2017.

PRADO, G. P. et al. *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) susceptibility to *Cunila angustifolia* essential oil. **Journal of Medical Entomology**, v. 50, n. 5, p. 1040-1045, 2013.

QURBAN, A. et al. Entomocidal, repellent, antifeedent and growth inhibition effects of different plant extracts against *Tribolium castaneum* (Herbst)(Tenebrionidae: Coleoptera). **Julius-Kühn-Archiv**, n. 463, p. 855-864, 2018.

Raimundo, K.F., Silva, T.A., da Silva, A.M., & Sakai, Ó.A. (2020). Efficiency of ethanol and hexane extraction of sunflower oil from seeds of plants inoculated with *Azospirillum brasilense* and fertilized with sewage sludge.

RAJENDRAN, T. P.; SINGH, D.. Insects and pests. In: **Ecofriendly Pest Management for Food Security**. Academic Press, 2016. p. 1-24.

RAKOTOSAMIMANANA, V. R. Nutritional composition and consumer acceptance of enriched biscuits valorizing Malagasy local resources: Orange-fleshed *Ipomoea batatas*, *Moringa oleifera*, *Stevia rebaudiana*. **International Journal of Gastronomy and Food Science**, p. 100871, 2024.

RAUF, I. et al. In-planta expression of insecticidal proteins provides protection against lepidopteran insects. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 6745, 2019.

REIS, D. L. R. S. et al. POTENCIAL DE PLANTAS INSETICIDAS NO CONTROLE DE FORMIGAS CORTADEIRAS NO BRASIL. **Unisanta BioScience**, v. 12, n. 1, p. 17-39, 2023.

RENAULT, D.; CORAY, Y. A. N. N. Water loss of male and female *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) maintained under dry conditions. **European Journal of Entomology**, v. 101, n. 3, p. 491-494, 2004.

RIBEIRO, B. P. V. B.; JUNIOR, T. Yanagi. Tecnologia atual da ambiência térmica na avicultura de corte. **Archivos de zootecnia**, v. 71, n. 274, p. 114-119, 2022.

RIGOPOULOU, M.; RUMBOS, C. I.; ATHANASSIOU, C. G. Population Growth of Three Stored Product Beetle Species on *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) Meals. **Journal of Economic Entomology**, v. 116, n. 2, p. 621-626, 2023.

ROCKWOOD, J. L.; ANDERSON, B. G.; CASAMATTA, D. A. Potential uses of *Moringa oleifera* and an examination of antibiotic efficacy conferred by *M. oleifera* seed and leaf extracts using crude extraction techniques available to underserved indigenous populations. **International Journal of Phytotherapy Research**, v. 3, n. 2, p. 61-71, 2013.

RODRIGUES, W. C. Fatores que influenciam no desenvolvimento dos insetos. **Info Insetos**, v. 1, n. 4, p. 1-4, 2004.

ROHDE, C. et al. Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. e *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. contra o cascudinho *Alphitobius diaperinus* (Panzer)(Coleoptera: Tenebrionidae). **Neotropical Entomology**, v. 35, p. 231-240, 2006.

RUBEENA, A. S.; ABRAHAM, A.; AARIF, K. M. Microbial lectins. In: **Lectins: Innate immune defense and Therapeutics**. Singapore: Springer Singapore, 2022. p. 131-146

RUMBOS, C. I.; PANTAZIS, I.; ATHANASSIOU, C. G. Population growth of *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) on various commodities. **Journal of economic entomology**, v. 113, n. 2, p. 1001-1007, 2020

SAITO, M. L. et al. Substâncias do metabolismo secundário de plantas no controle de pragas agrícolas. **Lecta-USF**, v. 15, p. 211-245, 1997.

SAMMARCO, B. C.; HINKLE, N. C.; CROSSLEY, M. S. Biology and management of lesser mealworm *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) in broiler houses. **Journal of Integrated Pest Management**, v. 14, n. 1, p. 2, 2023.

SANTA-MARÍA, C. et al. Update on Anti-Inflammatory Molecular Mechanisms Induced by Oleic Acid. *Nutrients*, v. 15, n. 1, p. 224, 2023.

SANTORO, P H et al. Associação de pós inertes com fungo entomopatogênico para o controle do cascudinho (*Alphitobius diaperinus*). **Ciência Rural**, v. 40, p. 1354-1359, 2010.

SANTOS, L. M. M. et al. Anti-Candida activity of the water-soluble lectin from *Moringa oleifera* seeds (WSMoL). **Journal of Medical Mycology**, v. 31, n. 2, p. 101074, 2021.

SCHMIDT, G. S.; ABREU, P. G. Manejo integrado para o controle do cascudinho (*alphitobius diaperinus*) na produção de frangos de corte. 2023.

SEGABINAZI, S. D. et al. Bactérias da família Enterobacteriaceae em *Alphitobius diaperinus* oriundos.. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 33, n. 1, p. 51-55, 2005.

SEGABINAZI, S. D. et al. Bactérias da família Enterobacteriaceae em *Alphitobius diaperinus* oriundos de granjas avícolas dos Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina, Brasil. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 33, n. 1, p. 51-55, 2005.

SENE, R. V.. Polissacarídeos sulfatados minimizam os efeitos do veneno de aranha marrom (*Loxosceles intermedia*) en células endoteliais. 2014

SERRANO, C. F.; CÁRDENAS, B. Z.; MESTRE, M. M. Caracterización físico-química del aceite de semillas de *Moringa oleífera*. **Centro Azúcar**, v. 47, n. 4, p. 1-11, 2020.

SILVA, A. S. et al. Ciclo biológico do cascudinho *Alphitobius diaperinus* em laboratório. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 33, n. 2, p. 177-181, 2005.

SILVA, A. S. et al. Ciclo biológico do cascudinho *Alphitobius diaperinus* em laboratório. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 33, n. 2, p. 177-181, 2005.

SILVA, J. C. M.; FERNANDES, K. V. S.; OLIVEIRA, A. E. Amâncio. Inibição de enzimas digestivas e os efeitos no controle do desenvolvimento de insetos-praga da agricultura. In: **Congresso Fluminense de Pós-Graduação-CONPG**. 2017.

SILVA, J. P et al.; COCCIDIOSE EM FRANGOS DE CORTE. **Open Science Research V**, [S.L.], p. 135-154, 2022. Editora Científica Digital. <http://dx.doi.org/10.37885/220709614>.

SILVA, M. C. Farias e et al. Insecticidal activity of fixed oils on *Zabrotes subfasciatus* (Boheman)(Coleoptera: Chrysomelidae) in common bean stored. **International Journal of Tropical Insect Science**, v. 43, n. 3, p. 961-969, 2023.

SILVA, T. M. B. D. Efeito de óleos vegetais no controle de *Acanthoscelides Obtectus* (SAY, 1831) e *Callosobruchus Maculatus* (FABRICIUS, 1775) insetos-praga de feijão macassar *Vigna unguiculata* (L) WALP. 2014. DISSERTAÇÃO

SINGH, J.; SINGH, A.; SINGH, S.. Entomotoxic Potential of Plant Lectins as an Environment Friendly Tool to Control Insect Pests. **Environmental Science**, v. 2, n. 2, p. 205, 2023.

SMITH, R. et al. A review of the lesser mealworm beetle (*Alphitobius diaperinus*) as a reservoir for poultry bacterial pathogens and antimicrobial resistance. **World's Poultry Science Journal**, v. 78, n. 1, p. 197-214, 2022.

SOARES, C. E. S; WEBER, A; SCUSSEL, V. M. Stereo and scanning electron microscopy characteristics of poultry breeding beetle (*alphitobius diaperinus*)—a filamentous toxigenic fungi carrier. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, 2018.

SORJ, B., POMPERMAYER, MJ., and CORADINI, OL. Camponeses e agroindústria: transformação social e representação política na avicultura brasileira [online]. Rio de Janeiro: Centro Edelstein de Pesquisas Sociais, 2008. 102 p.

SZCZEPANIK, M. et al. Use of starch granules enriched with carvacrol for the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* control in chicken house: effects on insects and poultry. **The Journal of Poultry Science**, v. 57, n. 2, p. 168-174, 2020.

TALAMINI, D.J.D. Contribuições do melhoramento genético à avicultura de corte do Brasil. 2022

TAMBURRO, M. et al. *Alphitobius diaperinus* Panzer (Insecta, Coleoptera) in a single house of a broiler production facility as a potential source of pathogenic bacteria for broilers and humans. **Letters in Applied Microbiology**, v. 74, n. 6, p. 883-892, 2022.

TANG, Sanyi; CHEKE, Robert A. Models for integrated pest control and their biological implications. **Mathematical Biosciences**, v. 215, n. 1, p. 115-125, 2008.

TERRA, W. R.. Evolution of digestive systems of insects. **Annual review of entomology**, v. 35, n. 1, p. 181-200, 1990.

TIMILSENA, Y. P. et al. Physicochemical and thermal characteristics of Australian chia seed oil. **Food chemistry**, v. 228, p. 394-402, 2017.

TOPRAK, U. et al. A journey into the world of insect lipid metabolism. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v. 104, n. 2, p. e21682, 2020.

UBULOM, P. M. E.; YARO, C. A.; UDOH, Unyime-Abasi P.. Repellency and insecticidal properties of seed oil of *Jatropha curcas* L. against American cockroach, *Periplaneta americana* L. **The Journal of Basic and Applied Zoology**, v. 82, p. 1-8, 2021.

UEMURA, D. H. et al. Distribuição e dinâmica populacional do cascudinho *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) em aviários de frango de corte. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 75, p. 429-435, 2022.

UEMURA, D. H. et al. Distribuição e dinâmica populacional do cascudinho *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) em aviários de frango de corte. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 75, p. 429-435, 2008.

UEMURA, D. H. et al. Distribuição e dinâmica populacional do cascudinho *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) em aviários de frango de corte. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 75, p. 429-435, 2022.

VAN DAMME, E. J. M. 35 years in plant lectin research: a journey from basic science to applications in agriculture and medicine. ***Glycoconjugate Journal***, v. 39, n. 1, p. 83-97, 2022.

VAN, T T. H. et al. Antibiotic use in food animals worldwide, with a focus on Africa: Pluses and minuses. ***Journal of global antimicrobial resistance***, v. 20, p. 170-177, 2020.

VAZ, C. S. L. et al. Infectividade de micro-organismos em cama de frangos de corte submetida a diferentes tratamentos. 2017.

VENZON, M. et al. Agrobiodiversidade como estratégia de manejo de pragas. ***Informe Agropecuário, Belo Horizonte***, v. 40, n. 305, p. 21-29, 2019.

VERMA, S.; DIXIT, R.; PANDEY, K. C. Cysteine proteases: modes of activation and future prospects as pharmacological targets. ***Frontiers in pharmacology***, v. 7, p. 107, 2016.

VIEIRA, N. M.; DIAS, R. S.. Uma abordagem sistêmica da avicultura de corte na economia brasileira. **Artigo Científico. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa**, 2005.

VITTORI, J. et al. *Alphitobius diaperinus* spp como veiculador de *Clostridium perfringens* em granjas avícolas do interior paulista-Brasil. ***Ciência Rural***, v. 37, p. 894-896, 2007.

VITTORI, J. et al. *Alphitobius diaperinus* spp como veiculador de *Clostridium perfringens* em granjas avícolas do interior paulista-Brasil. ***Ciência Rural***, v. 37, p. 894-896, 2007.

VOGADO, G. M. S. et al. Evolução da avicultura brasileira. ***Nucleus Animalium***, v. 8, n. 1, p. 49-58, 2016.

VOLPATO, A. et al. Larvicidal and insecticidal effect of Cinnamomum zeylanicum oil (pure and nanostructured) against mealworm (Alphitobius diaperinus) and its possible environmental effects. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 19, n. 4, p. 1159-1165, 2016.

XU, H.; REN, D.. Lysosomal physiology. **Annual review of physiology**, v. 77, p. 57-80, 2015.

YAMAGUCHI, N. U. et al. A review of Moringa oleifera seeds in water treatment: Trends and future challenges. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 147, p. 405-420, 2021.

ZAFEIRIADIS, S.; BALIOTA, G. V.; ATHANASSIOU, C. G. The Effect of Temperature and Moisture Content on Population Growth of Alphitobius diaperinus (Panzer)(Coleoptera: Tenebrionidae). **Agronomy**, v. 13, n. 10, p. 2535, 2023.

ZAFEIRIADIS, S.; SAKKA, M. K.; ATHANASSIOU, C. G. Efficacy of contact insecticides for the control of the lesser mealworm, Alphitobius diaperinus (Panzer)(Coleoptera: Tenebrionidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 92, p. 101817, 2021.

ZAFEIRIADIS, S.; SAKKA, M. K.; ATHANASSIOU, C. G. Efficacy of contact insecticides for the control of the lesser mealworm, Alphitobius diaperinus (Panzer)(Coleoptera: Tenebrionidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 92, p. 101817, 2021.

ZEN, Sergio et al. Evolução da avicultura no Brasil. **Informativo CEPEA, Análise trimestral, custos de produção da avicultura. Ano**, v. 1, 2019.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados desta dissertação são apresentados na forma de artigo

Investigação dos efeitos de preparações de sementes de *Moringa oleifera* na sobrevivência e atividades de enzimas de *Alphitobius diaperinus* (Panzer) adultos

Aline Rodrigues da Silva Santos^a, Nataly Diniz de Lima Santos^{a,b}, Patrick Emerson Monteiro dos Santos^a, Marcus Mello Rego de Amorim^c, Robson Raion de Vasconcelos Alves^a, Mercia Rodrigues Barros^c, Thiago Henrique Napoleão^a, Patrícia Maria Guedes Paiva^a, Emmanuel Viana Pontual^{b,*}

^a*Departamento de Bioquímica, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil.*

^b*Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Brasil.*

^c*Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil.*

*Autor correspondente.

E-mail: emmanuel.pontual@ufrpe.br

Endereço: Rua Dom Manuel de Medeiros, s/n - Dois Irmãos, Recife - PE, 52171-900

Resumo

Moringa oleífera é uma planta nativa da Índia, conhecida pelo seu alto valor nutritivo e propriedades biológicas. Apresenta potencial antioxidante, antiinflamatório, antimicrobiano, inseticida, dentre outros. *Alphitobius diaperinus* Panzer (Coleoptera: Tenebrionidae), o cascudinho, é um inseto-praga carreador de patógenos para aves. Este trabalho analisou os efeitos de preparações contendo proteínas (infusão, extrato, fração e lectina solúvel em água - WSMoL) e óleo fixo de sementes de *Moringa oleífera* Lam. (Moringaceae) na sobrevivência de *A. diaperinus* adultos. Dieta artificial contendo diferentes concentrações de infusão, extrato, fração ou WSMoL foram oferecidas aos insetos por sete dias. O peso dos insetos e o consumo de dieta foram avaliados. O efeito *in vitro* das preparações sobre enzimas digestivas dos insetos foi determinado. O óleo foi investigado quanto à toxicidade por contato para *A. diaperinus* adultos e efeito *in vitro* na atividade de acetilcolinesterase. A infusão, o extrato, a fração e WSMoL não afetaram a sobrevivência de *A. diaperinus*, mas acarretaram rejeição da dieta e consequente redução do peso dos insetos. Não houve interferência na atividade de proteases totais, contudo, a atividade de tripsina símile foi estimulada em presença da fração proteica e de WSMoL, enquanto a atividade de α -amilase foi estimulada pela infusão e inibida pela fração e por WSMoL. O óleo matou os insetos (LC_{50} de 17mg/mL) e inibiu a atividade da acetilcolinesterase. Em conclusão, a infusão, o extrato e a fração proteica de sementes de *M. oleífera*, bem como WSMoL são agentes deterrentes para *A. diaperinus* adultos. Adicionalmente, o óleo fixo é tóxico por contato para *A. diaperinus* adultos e seu mecanismo de ação inseticida pode estar ligado à inibição de AChE.

Palavras-chave: Acetilcolinesterase; amilase; cascudinho; Moringa; óleo fixo; toxicidade por contato.

1. Introdução

Dentre as atividades agropecuárias desenvolvidas no Brasil, a avicultura é a que apresentou maior evolução nas últimas décadas tornando-se um setor de grande importância econômica para o país (Favro *et al.*, 2021). A maior parte da produção avícola no Brasil concentra-se na região Sul e Sudeste do país, estendendo-se para a região Centro-Oeste (Procópio *et al.*, 2020). O Nordeste brasileiro também é cenário para a avicultura de corte e postura, porém é necessário atentar-se às microrregiões e às condições climáticas que ofereçam conforto térmico para a criação (Santos *et al.*, 2014). Pois o bem-estar animal é um tema que tem sido levantado nos últimos anos e está diretamente ligado ao sucesso na produção (Freitas *et al.*, 2019).

O vírus da Influenza aviária é uma das principais ameaças mundiais no setor avícola, porém o Brasil se mantém livre dessa doença graças ao seu comprometimento com a segurança animal desde 1994 (MAPA, 1994; Sant'ana *et al.*, 2023), contudo, os desafios neste setor são frequentes. Outras doenças causadas por microrganismos como a coccidiose, causada por *Eimeria* spp. (López-Osorio; Chaparro-Gutiérrez; Gómez-Osorio, 2020) e as infecções por *Salmonella* spp. trazem perdas financeiras e riscos para a saúde pública uma vez conhecida sua contaminação vertical para ovos (Gast *et al.*, 2019).

Alphitobius diaperinus Panzer (Coleoptera: Tenebrionidae), inseto conhecido popularmente como cascudinho do aviário, é frequentemente encontrado em camas de aves, sendo também um reservatório para microrganismos como *Salmonella* spp. (Chernaki-Leffer *et al.*, 2002; Donoso; Paredes; Retamal, 2020). O tempo médio de deslocamento da *Salmonella* no intestino de *A. diaperinus* é de 2 a 3 h (Zheng *et al.*, 2012), mostrando assim como a sua presença em granjas expõe as aves a uma elevada fonte de contaminação (Barua *et al.*, 2023).

O controle populacional de *A. diaperinus* é feito através da aplicação de inseticidas sintéticos como alfacipermetrina, spinosad e pirimifós metílico (Zafeiriadis; Sakka; Thanassiou, 2021). Todavia, a exposição frequente desses produtos acelera o surgimento de populações de insetos resistentes (Hickmann *et al.*, 2018, Renault; Colinet, 2021). Dessa forma, métodos alternativos de controle são alvos de pesquisas (Santana *et al.*, 2021; Peter *et al.*, 2022; Dzik; Mituniewicz; Beisenov, 2022; Fernandez *et al.*, 2020).

Moringa oleifera é uma árvore pertencente à família Moringaceae amplamente utilizada como fonte de alimento (Islam *et al.*, 2021; Oyeyinka; Oyeyinka, 2018) e de atividades antitumoral (Brito *et al.*, 2023), antidiabética (Aljazzaf *et al.*, 2023), antibacteriana (Younas *et al.*, 2023), antiinflamatória (Luetragoon *et al.*, 2021) e inseticida (Oliveira *et al.*, 2017; Oliveira *et al.*, 2020; Alves *et al.*, 2020; Iqbal *et al.*, 2020).

Em virtude dos relatos prévios do potencial inseticida de *M. oleifera* contra pragas agrícolas e vetores de doença (OLIVEIRA *et al.*, 2011; CHINENYENWA; GODSON, 2017), o presente estudo avaliou o efeito de diferentes preparações de sementes de *M. oleifera* (infusão, extrato, fração, lectina e óleo fixo) na sobrevivência e atividade de enzimas de *A. diaperinus* adultos.

2. Material e métodos

2.1 Preparação do extrato aquoso e fração proteica e isolamento de WSMoL

Sementes de *M. oleifera* foram coletadas em Recife (Pernambuco, Brasil), com autorização (36.301) do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) do Ministério do Meio Ambiente na cidade do Recife. O extrato, a fração proteica e WSMoL foram obtidos seguindo o protocolo previamente publicado por Coelho *et al.* (2009). As sementes de *M. oleifera* foram trituradas utilizando multiprocessador e a farinha obtida foi submetida à extração com água destilada na proporção 1:10 (m/v) utilizando-se agitador magnético. A mistura foi filtrada em papel de filtro e em seguida centrifugada (3.000g, 25 °C). O sobrenadante coletado correspondeu ao extrato aquoso. As proteínas presentes no extrato foram precipitadas com sulfato de amônio na saturação de 60% (GREEN; HUGHES, 1955). O tratamento com sulfato de amônio foi feito sob agitação suave durante 4h e, em seguida, foi realizada a centrifugação (3.000 g, 25 °C). O precipitado foi ressuspenso em NaCl 0,15 M e dialisado contra água destilada (6 h, três trocas de líquido) para obtenção da fração proteica. WSMoL foi isolada por cromatografia de FP em coluna de quitina, eluída com ácido acético 1 M.

Para obter a infusão, o pó das sementes (10 g) foi colocado em água fervente (100 mL; 100 °C) e a mistura foi incubada por 10 minutos. Após filtrada, a infusão correspondeu ao líquido livre de material em suspensão. A concentração de proteínas no extrato, fração, WSMoL e infusão foi determinada de acordo com Lowry *et al.*

(1951), utilizando curva-padrão de albumina sérica bovina (31,25–500 µg/mL), enquanto a presença de lectinas foi avaliada através da determinação da atividade hemaglutinante utilizando eritrócitos de coelho (Paiva e Coelho, 1992). O protocolo utilizado para coleta de eritrócitos foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pernambuco (processo 23.076.033782/2015-70).

2.2 Extração do óleo fixo de sementes de *M. oleifera*

Para extrair o óleo fixo, 10 g de farinha de sementes de *M. oleifera* foram misturadas com 6g de sulfato de sódio e submetidas à extração em aparelho Soxhlet durante 6 h, utilizando como solvente o n-hexano. Em seguida, foi realizada rotaevaporação para eliminação do solvente (Guedes et al, 2019),

2.3 Criação dos insetos

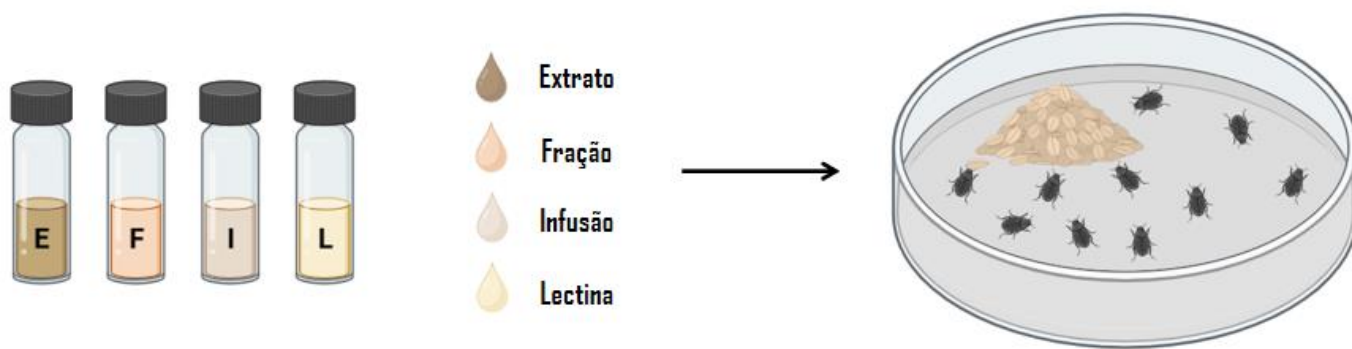
Adultos de *A. diaperinus* foram coletados em canteiros de aves em Paudalho, Pernambuco, Brasil. Os insetos usados nos bioensaios foram mantidos no Insetário do Laboratório de Bioquímica de Proteínas (BIOPROT) do Departamento de Bioquímica da Universidade Federal de Pernambuco. Os insetos foram criados em caixas de vidro (38 cm × 17 cm × 10 cm) e alimentados com dieta artificial composta por (1:1, m/m) flocos de aveia (Quaker Oats Company, Chicago, IL, EUA), comida de coelho esmagada (Presence, Paulínia, São Paulo, Brasil) e alguns pedaços de cama de frangos de corte. Adultos e larvas foram separados em diferentes caixas de vidro e mantidos no escuro a 25 ± 2 °C a 75-80% de umidade.

2.4 Efeitos da Infusão, extrato, fração proteica e WsMoL na sobrevivência de *A. diaperinus* adultos

Os bioensaios foram realizados de acordo com Rice; Lambkin, 2009. Adultos de 20 a 30 dias de idade foram utilizados e seus pesos foram determinados antes do início dos tratamentos. Em placas de Petri, 1 mL de infusão (1,0 mg/mL), Extrato (5,0

mg/mL), Fração proteica (15,0 mg/mL) e WsMoL (0,4, 0,8 e 1,0 mg/mL) ou água destilada (controle) foi adicionado a 1 g de flocos de aveia + 0,1 g de alimento para coelho. Em seguida, a dieta foi seca em um forno (56 °C) por 30 minutos. A cada placa, 10 adultos foram adicionados e os ensaios foram incubados nas mesmas condições usadas para a manutenção da colônia. Cada tratamento foi realizado em triplicata (Figura1). Os pesos dos insetos foram registrados após 7 dias e as taxas de sobrevivência foram estimadas.

Figura 1: Ilustração do teste de atividade inseticida por ingestão.



Fonte: a autora (2024)

2.5 Enzimas digestivas de *A. diaperinus* adultos

2.5.1 Extratos de intestino de *A. diaperinus* adultos

Para obtenção dos extratos de intestino, insetos ($n = 50$) foram separados da colônia e imobilizados por resfriamento a 4 °C durante 10 min. Em seguida, seus intestinos foram dissecados com uma agulha e homogeneizados em 1 mL de Tris-HCl 0,1 M pH 8,0 (contendo CaCl_2 0,02 M e NaCl 0,15 M) usando um homogeneizador de tecidos de vidro (2 mL). Em seguida, a mistura foi centrifugada (9.000 g, 4 °C, 15 min) e o sobrenadante (extrato de intestino em tampão Tris) foi coletado para determinação do teor de proteínas conforme descrito na seção 2.1. O extrato de intestinos em tampão acetato foi obtido conforme descrito acima, contudo utilizando acetato de sódio 0,1 M pH 5,5 (contendo CaCl_2 0,02 M e NaCl 0,15 M). As atividades enzimáticas foram avaliadas conforme descrito a seguir.

2.5.2 Atividade proteolítica total

A atividade proteolítica total foi determinada de acordo com Azeez et al. (2007). O extrato de intestino em tampão Tris (50 µl; 750 µg de proteína) foi misturado com 300 µL de tampão fosfato de sódio 0,1 M pH 7,5 contendo 50 µL de azocaseína 0,6% (m/v). Em seguida, 100 µL de Triton X-100 a 0,1% (v/v) foram adicionados e a mistura foi incubada a 37°C durante 3 h. A reação foi interrompida pela adição de 200 µl de solução de ácido tricloroacético a 10% (v/v) e o ensaio foi incubado a 4° C durante 30 min. A mistura de reação foi então centrifugada (9.000 g por 10 min) e a absorbância (366 nm) do sobrenadante foi determinada. Uma unidade de atividade de protease foi definida como a quantidade de enzima que acarretou aumento de 0,01 na absorbância.

2.5.3 Atividade de tripsina-símile

A atividade da tripsina (figura2) foi determinada pela incubação (30 min, 37 °C) do extrato de intestino em tampão Tris (10 µL, 150 µg de proteínas) com N-benzoil-DL-arginil-p-nitroanilida (BApNA) 8 mM em Tris-HCl 0,1 M pH 8,0 (30 min, 40°C). Em seguida a absorbância a 405 nm foi determinada (Kakade et al. 1969). Uma unidade de atividade de tripsina foi definida como a quantidade de enzima que hidrolisa 1 µmol de BApNA por minuto.

2.5.4 Atividade de α -amilase

A investigação da atividade da α -amilase foi realizada de acordo com Bernfeld, (1955) com adaptações. O ensaio foi preparado em tubos de microcentrífuga de 2,0 mL. O extrato de intestino em tampão acetato (25 μ L; 220 μ g de proteínas) foi incubado (56 °C, 10 min) com amido solúvel em um tampão de acetato (1% p/v, 200 μ L) como substrato. Para interromper uma possível reação, o reagente ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS, 250 μ L) foi adicionado e a mistura foi aquecida (100 °C, 6 min) em banho-maria. Após o resfriamento no gelo (15 min), a absorbância (540 nm) foi medida. As concentrações de açúcares redutores nas misturas foram determinadas usando uma curva padrão de uma reação de glicose (1,0–10,0 mg/mL) com DNS. Uma unidade de atividade da α -amilase é a concentração enzimática na amostra necessária para produzir 1 μ mol de glicose por minuto.

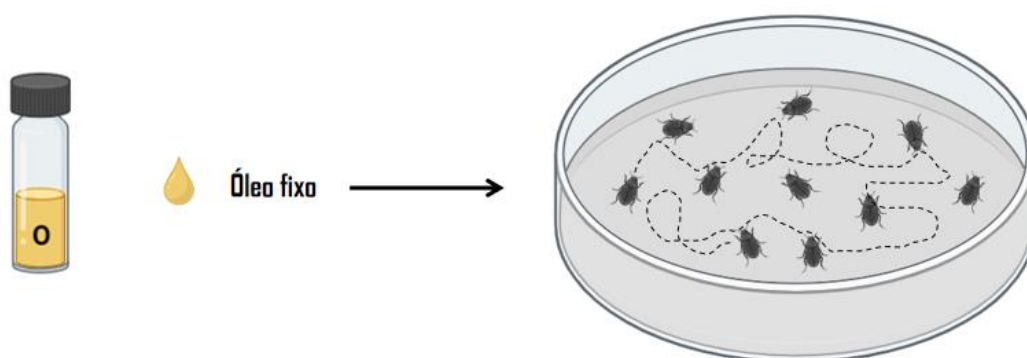
2.6 Efeito *in vitro* da Infusão, extrato, fração proteica e WsMoL nas atividades de enzimas digestivas de *A. diaperinus* adultos

Extratos de intestino de *A. diaperinus* adultos em tampão tris e em tampão acetato foram incubados com infusão (0,5, 1,0 e 2,0 mg/mL), extrato (5,0, 10,0, 15,0 e 20,0 mg/mL), fração (1,0 e 2,0 mg/mL) proteica e WSMoL (0,5, 1,0, e 2,0 por 15 min a 28 °C. Em seguida, as misturas foram utilizadas para determinar as atividades residuais das enzimas digestivas conforme descrito acima. Os brancos de reação foram realizados utilizando infusão, extrato, fração proteica e WSMoL. Dois ensaios independentes foram realizados em triplicata.

2.7 Efeitos do óleo fixo em *A. diaperinus* adultos

Os bioensaios foram realizados de acordo com Zafeiriadis; Sakka; Athanassiou, (2021) com adaptações. Adultos de *A. diaperinus* foram transferidos para placas de Petri (90 mm $\times$ 15 mm) e expostos ao óleo fixo das sementes de *M. oleífera* (4,29 a 128,55 mg/mL) por 10 dias. Para isso, cada placa recebeu 1000 μ L de óleo ou Tween 5% (controle) que foi espalhado em toda a placa por 30 s. Em seguida, cada placa recebeu 10 insetos. Após 24h, a mortalidade começou a ser registrada diariamente, durante 10 dias. Cada tratamento foi realizado em cinco repetições (Figura 3).

Figura 3: Ilustração do teste de atividade inseticida por contato.



Fonte: a autora (2024)

2.8 Atividade da Acetilcolinesterase (AChE) de *A. diaperinus* adultos

Insetos adultos ($n = 20$) foram imobilizados a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 10 min. Em seguida, insetos inteiros foram homogeneizados em 1 mL de tampão fosfato de potássio 0,1 M, pH 7,5, usando um homogeneizador de tecidos. A mistura foi centrifugada ($9000\times g$, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$, 10 min) e o sobrenadante correspondeu ao extrato de insetos inteiros.

A análise da ação do óleo fixo de *M. oleífera* sobre a atividade da acetilcolinesterase foi realizada de acordo com o método de Ellmam *et al.* (1961). O extrato de insetos (10 μL ; 0,49 μg de proteínas) em tampão fosfato de potássio (0,1 M pH 7,5) foi adicionado em placas de 96 com 10 μL do tampão, 20 μL de iodeto de acetiltiocolina 7,5 mM (Sigma-Aldrich). Dez minutos depois, 200 μL de DTNB ((ácido 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzóico 0,8 mM (Sigma-Aldrich) foi adicionado e o ensaio foi incubado por 3 min a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$. A liberação de tiocolina foi monitorada medindo a absorbância a 405 nm no tempo 0 e após 3 min. Uma unidade de atividade da acetilcolinesterase foi definida como a quantidade de enzima para converter 1 μmol do substrato por min. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

2.9 Efeito do óleo fixo de sementes de *M. oleifera* na atividade da acetilcolinesterase (AChE) de *A. diaperinus* adultos

Extrato de insetos inteiros em tampão fosfato de potássio foi incubado com o 10 uL óleo fixo por 15 min a 28 °C. Em seguida, as misturas foram utilizadas para determinar a atividade de AChE conforme descrito acima. Dois ensaios independentes foram realizados em triplicata.

2.10 Análise estatística

Diferenças significativas entre os grupos de tratamento foram analisadas por análise de variância (ANOVA) unidirecional, seguida pelo teste de Tukey, com nível de significância de $p < 0,05$ usando o software GraphPad Prism.

3 Resultados e discussão

A Tabela 1 mostra a caracterização da infusão, extrato, fração proteica e WSMoL para quantidade de proteínas e atividade hemaglutinante. A capacidade de aglutinar eritrócitos foi avaliada na preparação final da lectina, revelando a presença da mesma no preparado final. Os resultados mostrados aqui indicam que o protocolo de isolamento de WSMoL reportado por Coelho et al. (2009) foi reproduzido com sucesso. Neste trabalho, a extração do óleo fixo de sementes de *M. oleifera* ocorreu com a adição de sulfato de sódio para que restasse a mínima quantidade de água pós-extração. A partir de 10g de sementes foram obtidos 2g de óleo fixo (857mg/mL).

Tabela 1. Caracterização da infusão, extrato, fração proteica e WSMoL para quantidade de proteínas e presença de lectinas (atividade hemaglutinante).

Amostra	Dosagem de proteínas (mg/mL)	AH*	AHE**
Extrato	5,6	-	-
Fração proteica	217,35	-	-
WSMoL	12,15	4096	337,11
Infusão	65,45	-	-

* Atividade hemaglutinante (título ⁽⁻¹⁾); ** Atividade hemaglutinante específica (título ⁽⁻¹⁾/mg/mL)

Preparações vegetais podem ser alternativas interessantes para o manejo integrado de pragas (Qurban et al., 2018) e, nesse sentido, nós avaliamos as preparações proteicas de sementes de *M. oleifera* como fonte de atividade inseticida para *A. diaperinus*. A ingestão de dietas artificiais contendo infusão, extrato, fração proteica ou WsMoL não afetou a sobrevivência dos insetos, uma vez que não foi detectada diferença estatística ($p > 0,05$) entre a taxa de sobrevivência dos grupos tratados em relação ao controle. Diferentemente dos nossos resultados, outras preparações de *M. oleifera* têm sido reportadas como agente inseticida. A aplicação do pó de folhas de *M. oleifera* matou adultos de *Sitophilus zeamais* e *Tribolium confusum* de forma dose-dependente (Kamel; Monairy, 2014). Em adição, extrato de sementes de *M. oleifera* preparado utilizando o mesmo procedimento utilizado aqui causou mortalidade de adultos de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera), enquanto WsMoL, similar aos nossos resultados, não foi capaz de matar os insetos (Oliveira et al., 2020).

Embora nossos resultados não tenham revelado atividade inseticida, o consumo de dieta pelos insetos tratados com as preparações proteicas de sementes de *M. oleifera* foi menor em relação àqueles que receberam dieta controle, sugerindo deterrência alimentar. Em relação ao peso dos insetos, não houve diferença significativa entre os insetos do grupo controle e aqueles alimentados com dieta contendo WSMoL a 0,4 mg/mL. A ingestão das demais preparações acarretou perda

de peso em relação ao controle, o que está de acordo com a rejeição das dietas detectada aqui.

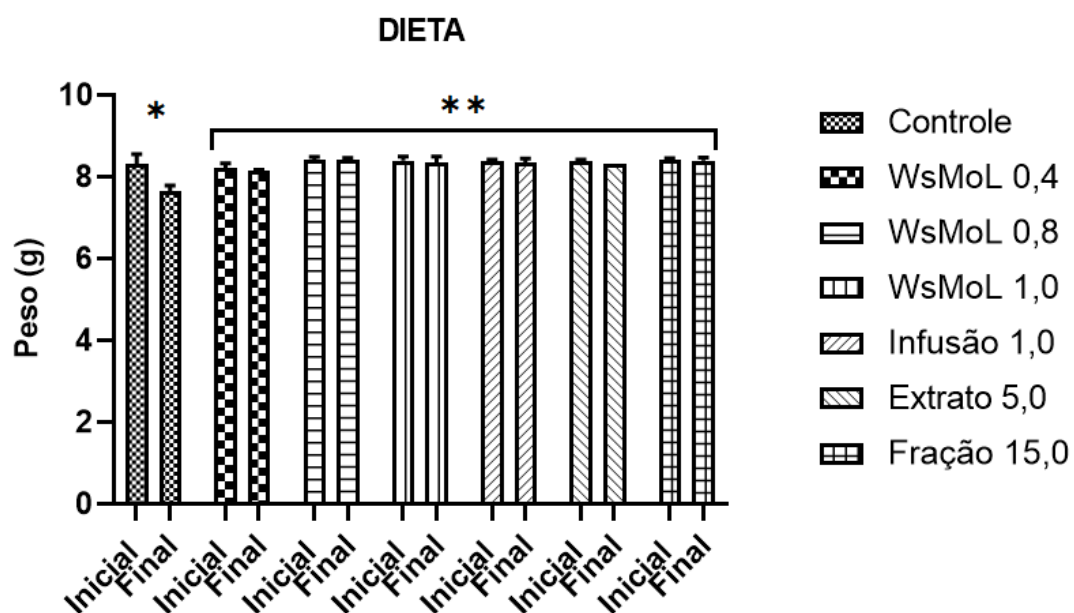


Figura 4. Variação dos pesos das dietas contendo infusão, extrato, fração proteica e WSMoL no início do experimento e 7 dias após oferta aos adultos de *A. diaperinus*.

Asteriscos significam diferenças entre os grupos.

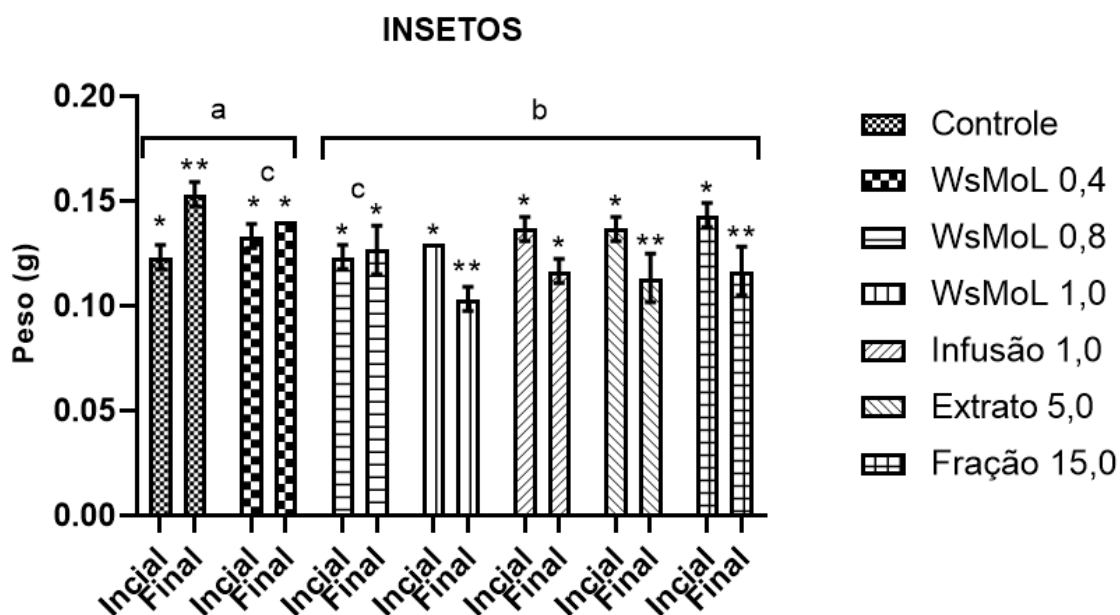


Figura 5: Variação dos pesos de adultos de *A. diaperinus* alimentados com dietas contendo infusão, extrato, fração proteica e WSMoL durante 7 dias. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos. Asteriscos revelam diferenças dentro dos tratamentos.

Outras preparações de *M. oleifera* têm apresentado efeito deterrente alimentar para insetos. O extrato etanólico de folhas de *M. oleifera* foi deterrente alimentar para larvas de *Spodoptera littoralis* (Hamza et al., 2016). Ademais, os extratos etanólicos das folhas e sementes afetaram o comprimento, peso e comportamento alimentar de *Spodoptera litura*, sendo esses efeitos ligados à presença de alcalóides, flavonóides e saponinas no extrato (Tridiptasari; Leksono; Siswanto, 2019).

Lectinas também podem interferir no comportamento alimentar dos insetos. Powell et al. (1995) relatou o efeito deterrente alimentar da lectina de *Galanthus nivalis* para *Nilaparvata lugens* (Homoptera). A Lectina de *Annona coriacea* foi deterrente alimentar para *Anagasta kuehniella* e *Corcyra cephalonica* (Coelho; Marangoni; Macedo, 2007). É possível que WSMoL seja o agente deterrente alimentar das preparações proteicas avaliadas aqui. Oliveira et al (2020) relataram que WSMoL interferiu negativamente nos parâmetros nutricionais de *S. zeamais*.

O extrato de intestino de *A. diaperinus* adultos em tampão Tris apresentou atividade de proteases totais, dentre as quais algumas foram tripsina símile (Figuras

6 e 7). As preparações de sementes de *M. oleifera* não foram capazes de interferir na atividade de proteases totais (Figura 6). Contudo, a atividade de tripsina s m le foi estimulada em presença da fração proteica e de WSMoL (Figura 7). O extrato de intestino em tampão acetato apresentou atividade de α -amilase (Figura 8) e esta foi estimulada pela infusão e inibida pela fração proteica e por WSMoL. Embora a ingestão das prepar  es não tenha causado a morte dos insetos, o desbalanço das enzimas digestivas pode ser investigado quanto ao potencial para aumentar a sensibilidade a outros agentes inseticidas.

Figura 6. Efeito das prepar  es de sementes de *M. oleifera* na atividade de proteases totais do intestino de *A. diaperinus* adultos.

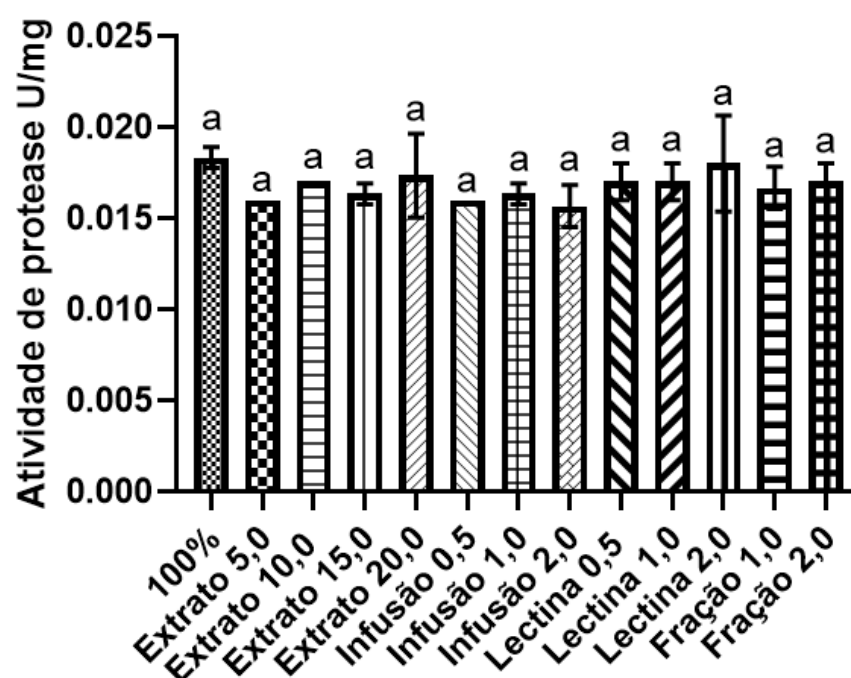


Figura 7. Efeito das preparações de sementes de *M. oleifera* na atividade de tripsina símile do intestino de *A. diaperinus* adultos.

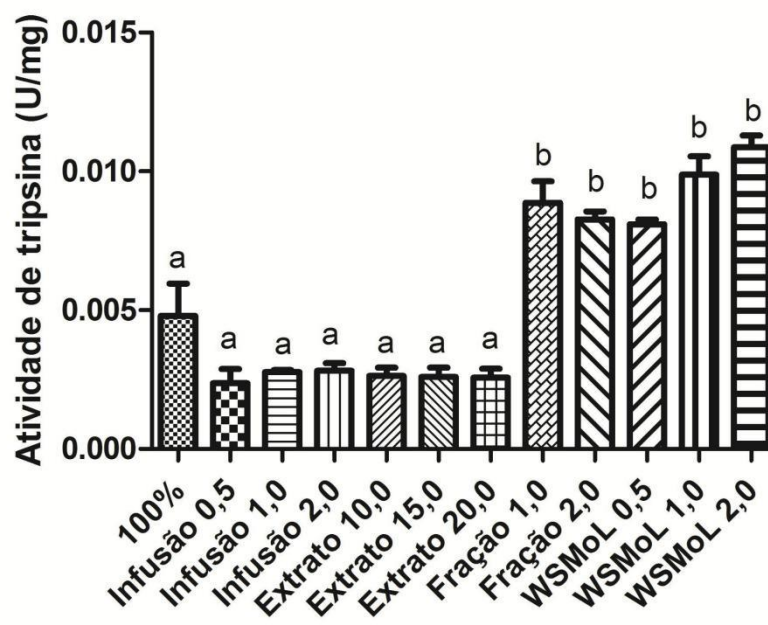
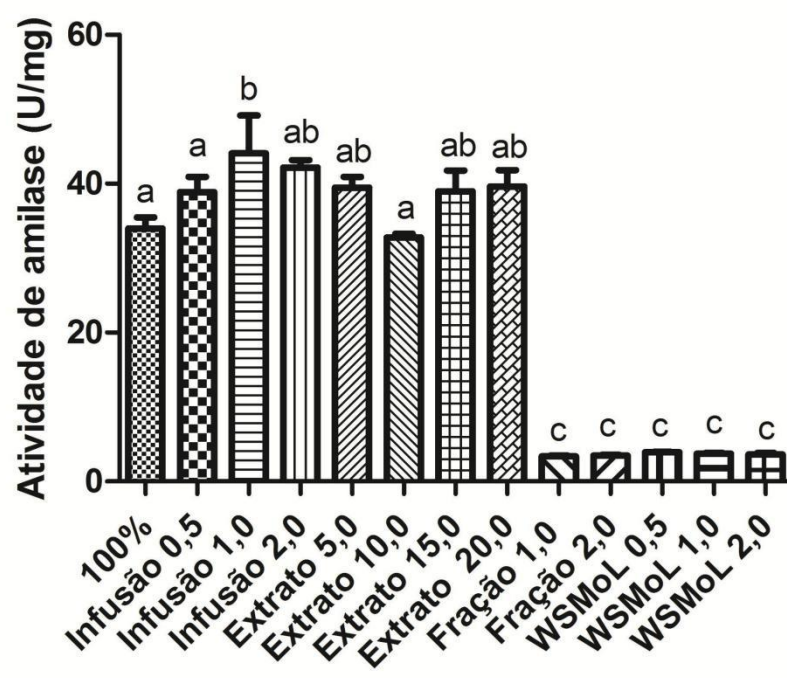


Figura 8. Efeito das preparações de sementes de *M. oleifera* na atividade de amilase do intestino de *A. diaperinus* adultos.



O óleo fixo de sementes *M. oleifera* foi tóxico para *A. diaperinus* adultos a partir de 24 h de contato, causando a mortalidade dos insetos (Figura 9). As concentrações letais são mostradas na Tabela 2. O efeito letal para *A. diaperinus* após contato com o óleo de sementes de *M. oleifera* pode ser devido ao conteúdo de ácido oleico (DON-PEDR, 1990). Hadi; Sabit (2023) observaram que a vaporização do ácido oleico em ovos de *Trogoderma granarium* inibiram a eclosão dos mesmos. Além disso houve a mortalidade das pupas provavelmente em razão do sufocamento e paralização.

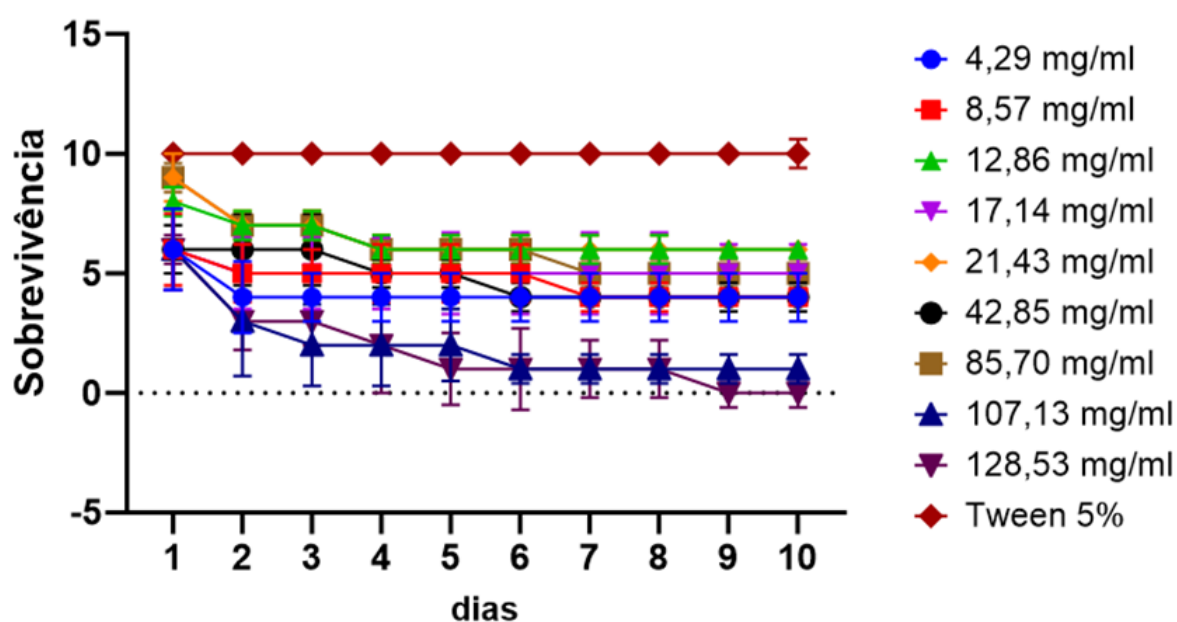


Figura 9. Sobrevivência durante 10 dias dos insetos submetidos ao teste de contato com óleo fixo de *M. oleifera* em diferentes concentrações.

Tabela 2. Atividade inseticida do óleo fixo de sementes de *M. oleifera* contra *A. diaperinus* adultos.

Amostra	Concentrações letais (µg/mL)*	
	CL ₅₀	CL ₉₀
Óleo fixo	17 mg/mL	112,5 mg/mL

* Concentrações letais que matam 50% (CL₅₀) e 90% (CL₉₀).

Muitos inseticidas com ação por contato têm como alvo o sistema nervoso central dos insetos. Eles podem afetar três alvos moleculares: a enzima AChE, os receptores de acetilcolina nos canais sinápticos de sódio e os canais axonais de sódio (Cassereau *et al.*, 2017). A AChE atua nos canais sinápticos de sódio que possuem um domínio receptor de acetilcolina. Quando há um estímulo, a acetilcolina é liberada na fenda sináptica e se liga aos receptores, provocando a abertura do canal e o consequente influxo de sódio. Este estímulo só é interrompido quando a acetilcolina é hidrolisada pela acetilcolinesterase, permitindo que a célula retorne ao potencial de repouso (Narahashi, 1996); Nesse sentido, a inibição da AChE faz com que a acetilcolina permaneça ativa na fenda sináptica produzindo impulsos nervosos descontrolados, o que pode levar a efeitos agudos multissistêmicos e potencialmente letais (Tougu, 2001).

Em nosso estudo, o extrato de insetos inteiros apresentou atividade de AChE que foi significativamente inibida em presença do óleo fixo de sementes de *M. oleífera* (17 µg/mL). Semelhantemente, óleos fixos das sementes de *Rollinia mucosa*, *Annona squamosa* e *Spondias mombin* L. atuaram como inibidores potentes de AChE (Ribeiro *et al.*, 2020). Os óleos fixos das sementes de *Annona coriacea* e de sementes de *Cinnamomum zeylanicum* também inibiram a atividade de AChE (Pedro *et al.*, 2019; Sousa *et al.*, 2021). Para o nosso conhecimento, até a presente data não foram encontrados estudos mostrando inibição da AChE em insetos adultos por óleo fixo de *M. oleífera*.

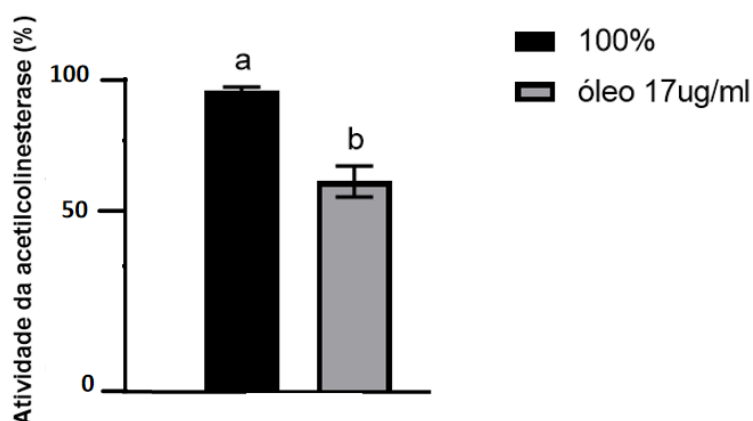


Figura 10. Efeito do óleo fixo (17ug/mL) de sementes de *M. oleifera* na atividade de AChE de *A. diaperinus* adultos.

4. Conclusão

A infusão, o extrato e a fração proteica de sementes de *M. oleifera*, bem como WSMoL são agentes deterrentes para *A. diaperinus* adultos. Embora essas preparações não tenham causado a morte dos insetos, o desbalanço das enzimas digestivas causado por elas pode ser investigado quanto ao potencial para aumentar a sensibilidade a outros agentes inseticidas. O óleo fixo é tóxico por contato para *A. diaperinus* adultos e seu mecanismo de ação inseticida pode estar ligado à inibição de AChE.

5.5 REFERÊNCIAS

ALJAZZAF, Badriyah et al. Evaluation of Antidiabetic Effect of Combined Leaf and Seed Extracts of *Moringa oleifera* (Moringaceae) on Alloxan-Induced Diabetes in Mice: A Biochemical and Histological Study. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2023, 2023.

ALVES, R.R.V. et al. Ovicidal lectins from *Moringa oleifera* and *Myracrodruon urundeuva* cause alterations in chorionic surface and penetrate the embryos of *Aedes aegypti* eggs. **Pest management science**, v. 76, n. 2, p. 730-736, 2020.

ARRESE, E. L.; SOULAGES, J. L. Insect fat body: energy, metabolism, and regulation. **Annual review of entomology**, v. 55, p. 207-225, 2010.

ASAD, M. et al. Toxic and Antifeedant Effects of Different Pesticidal Plant Extracts against Beet Armyworm (*Spodoptera exigua*). **Phyton (0031-9457)**, v. 92, n. 4, 2023.

BARUA, S. et al. Research Note: Role of darkling beetles (*Alphitobius diaperinus*) and litter in spreading and maintaining *Salmonella Enteritidis* and *Campylobacter jejuni* in chicken flocks. **Poultry Science**, v. 102, n. 11, p. 103061, 2023.

BERNFELD, P. Amylases, α and β . *Meth. Enzymol.* **1955**, 1, 149–158

BEZERRA, C. S.; OLIVEIRA, C. T.; MACEDO, M. L. R. Inga vera trypsin inhibitor interferes in the proteolytic activity and nutritional physiology of *E. phestia kuehniella* larvae. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 165, n. 2-3, p. 109-119, 2017.

BRITO J. S. et al. Toxicity and antitumor activity of the water-soluble lectin from *Moringa oleifera* Lam. Seeds (WSMoL) in sarcoma 180-bearing mice. **Toxicon**, v. 234, p. 107306, 2023.

BRITO, V. D. et al. An alternative to reduce the use of the synthetic insecticide against the maize weevil *Sitophilus zeamais* through the synergistic action of *Pimenta racemosa* and *Citrus sinensis* essential oils with chlorpyrifos. **Journal of Pest Science**, v. 94, p. 409-421, 2021.

CAMACHO-PÉREZ, M. R. et al. Organophosphorus pesticides as modulating substances of inflammation through the cholinergic pathway. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 9, p. 4523, 2022.

CASSEREAU, J. et al. Neurotoxicity of insecticides. **Current medicinal chemistry**, v. 24, n. 27, p. 2988-3001, 2017.

CHERNAKI-LEFFER, A. M. et al. Isolamento de enterobactérias em *Alphitobius diaperinus* e na cama de aviários no oeste do estado do Paraná, Brasil. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 4, p. 243-247, 2002.

COELHO, J. S., SANTOS, N. D. L., NAPOLEÃO, T. H., Gomes, F. S., Ferreira, R. S., Zingali, R. B., Coelho, L. C. B. B., Leite, S. P., Navarro, D. M. A. F., Paiva, P. M. G. Effect of *Moringa oleifera* lectin on development and mortality of *Aedes aegypti* larvae. **Chemosphere**, v. 77, p. 934-938, 2009.

COELHO, M. B.; MARANGONI, S; MACEDO, M. L. R. Insecticidal action of *Annona coriacea* lectin against the flour moth *Anagasta kuehniella* and the rice moth *Corcyra cephalonica* (Lepidoptera: Pyralidae). **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 146, n. 3, p. 406-414, 2007.

CHINENYENWA, O.; GODSON, A. Bio-insecticidal efficacy of *Moringa oleifera* on the malaria vector, *Anopheles* and toxicity evaluation on fish behaviour. **International Journal of Mosquito Research**, v. 4, n. 2, p. 85-92, 2017.

DADD, R. H. Digestion in insects. **Chemical Zoology V5: Arthropoda Part A**, p. 117, 2012.

DARBY, J. F. et al. Increase of enzyme activity through specific covalent modification with fragments. **Chemical science**, v. 8, n. 11, p. 7772-7779, 2017.

DENECKE, S. et al. How do oral insecticidal compounds cross the insect midgut epithelium?. **Insect biochemistry and molecular biology**, v. 103, p. 22-35, 2018.

DONOSO, A.; PAREDES, N.; RETAMAL, P.. Detection of antimicrobial resistant *Salmonella enterica* strains in larval and adult forms of lesser mealworm (*Alphitobius*

diaperinus) from industrial poultry farms. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 7, p. 577848, 2020.

DON- PEDRO, K. N. Insecticidal activity of fatty acid constituents of fixed vegetable oils against *Callosobruchus maculatus* (F.) on cowpea. **Pesticide Science**, v. 30, n. 3, p. 295-302, 1990.

DZIK, S.; MITUNIEWICZ, T.; BEISENOV, A.. Efficacy of a biocidal paint in controlling *Alphitobius diaperinus* (Panzer)(Coleoptera: Tenebrionidae) and improving the quality of air and litter in poultry houses. **Animals**, v. 12, n. 10, p. 1264, 2022.

ELINI, A. V.; DANIELA, P. B. TERESA, O.S.M.B.Y. Gastrointestinal parasitism in grazing laying hens in the municipalities of Purísima y Momil, Córdoba. **Rev. Colomb. Cienc. Pecu**, v. 32, p. 164, 2019.

Ellman, G.L.; Courtney, K.D.; Andres, V.; Featherstone, R.M. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.* **1961**, 7, 88–95

EMES, E. et al. The relationship between antibiotic use in humans and poultry and antibiotic resistance prevalence in humans: an ecological regression study of *Campylobacter* in the UK. **medRxiv**, p. 2024.01. 10.24301092, 2024.

FAVRO, J. et al. Exportações de carne de frango. **Revista de Política Agrícola**, v. 30, n. 3, p. 78, 2021.

FERNANDEZ, N. F. et al. Antifeedant effect of plant extracts on the poultry pest *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae): an exploratory study. **Revista de la Sociedad Entomológica Argentina**, v. 79, n. 4, p. 1-16, 2020.

FOURNIER, Didier et al. Drosophila acetylcholinesterase: mechanisms of resistance to organophosphates. **Chemico-biological interactions**, v. 87, n. 1-3, p. 233-238, 1993.

FREITAS, I. S. et al. Atualidades e perspectivas do bem-estar animal na avicultura de corte e de postura. 2019.

FUKUTO, T. Roy. Mechanism of action of organophosphorus and carbamate insecticides. **Environmental health perspectives**, v. 87, p. 245-254, 1990.

GAST, R. K. et al. Contamination of eggs by Salmonella Enteritidis in experimentally infected laying hens of four commercial genetic lines in conventional cages and enriched colony housing. **Poultry Science**, v. 98, n. 10, p. 5023-5027, 2019.

GREEN A. A, HUGHES L. Protein fractionation on the basis of solubility in aqueous solution of salts and organic solvents. **Methods in Enzymology. Academic**. New York, v. 67–90, 1995

GU, X.; YANG, Y.; WANG, Z.. Nutritional, phytochemical, antioxidant, α -glucosidase and α -amylase inhibitory properties of Moringa oleifera seeds. **South African Journal of Botany**, v. 133, p. 151-160, 2020.

GUEDES, C. C. S. **Atividades biológicas do óleo fixo e fração protéica de sementes de Moringa oleifera**. 2018. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.

HEINZ-CASTRO, R. T. Q. et al. Bioacaricidal potential of Moringa oleifera ethanol extract for Tetranychus merganser Boudreaux (Acari: Tetranychidae) control. **Plants**, v. 10, n. 6, p. 1034, 2021.

HICKMANN, F. et al. Susceptibility of the lesser mealworm, Alphitobius diaperinus (Coleoptera: Tenebrionidae), from broiler farms of southern Brazil to insecticides. **Journal of Economic Entomology**, v. 111, n. 2, p. 980-985, 2018.

HURST, H. Enzyme activity as a factor in insect physiology and toxicology. **Nature**, v. 156, n. 3955, p. 194-198, 1945.

IQBAL, H. et al. Formulation of Moringa oleifera nanobiopesticides and their evaluation against Tribolium castaneum and Rhyzopertha dominica. **Journal of Plant Diseases and Protection**, p. 1-10, 2023.

ISLAM, Z. et al. Moringa oleifera is a prominent source of nutrients with potential health benefits. **International Journal of Food Science**, v. 2021, 2021.

Kakade, M. L., Simons, N., Liener, I. E. An evaluation of natural vs. synthetic substrates for measuring the antitryptic activity of soybean samples. **Cereal Chemistry**, v. 46, p. 518–526, 1969

KAMEL, A. M. Can we use the moringa oil as botanical insecticide against Spodoptera frugiperda. **Academic Journal of Entomology**, v. 3, n. 2, p. 59-64, 2010.

KAMEL, A.; MONAIRY, O. E. Efficacy of two plants leaves powders on adults of Tribolium confusum (Coleoptera: Tenebrionidae) and Sitophilus zeamais (Coleoptera: Curculionidae). **Catrina: The International Journal of Environmental Sciences**, v. 10, n. 1, p. 1-7, 2014.

KARRAY, A. et al. A proteinaceous alpha-amylase inhibitor from Moringa oleifera leaf extract: purification, characterization, and insecticide effects against C. maculatus insect larvae. **Molecules**, v. 27, n. 13, p. 4222, 2022

KOMAGATA, O. et al. Common substitution mutation F348Y of acetylcholinesterase gene contributes to organophosphate and carbamate resistance in Cimex lectularius and C. hemipterus. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 138, p. 103637, 2021.

LAMBKIN, T. A.; FURLONG, M. J. Application of spinosad increases the susceptibility of insecticide resistant Alphitobius diaperinus (Coleoptera: Tenebrionidae) to pyrethroids. **Journal of Economic Entomology**, v. 107, n. 4, p. 1590-1598, 2014.

LAZAREVIĆ, J.; JANKOVIĆ- TOMANIĆ, M.. Dietary and phylogenetic correlates of digestive trypsin activity in insect pests. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 157, n. 2, p. 123-151, 2015.

LEMOS, M. J. de et al. Uso de aditivo alimentar equilibrador da flora intestinal em aves de corte e de postura. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 83, 2016.

LIMA, T. A. et al. Termiticidal lectins from *Myracrodruon urundeuva* (Anacardiaceae) cause midgut damage when ingested by *Nasutitermes corniger* (Isoptera: Termitidae) workers. **Pest management science**, v. 73, n. 5, p. 991-998, 2017.

LÓPEZ-OSORIO, S.; CHAPARRO-GUTIÉRREZ, J. J.; GÓMEZ-OSORIO, L. M. Overview of poultry *Eimeria* life cycle and host-parasite interactions. **Frontiers in veterinary science**, v. 7, p. 384, 2020.

LOWRY, O. H., ROSEBROUGH, N. J., FARR, A. L., Randall, R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal Biology Chemistry*, v. 193, 265–275, 1951.

LUETRAGOON, T. et al. Evaluation of Anti-Inflammatory Effect of *Moringa oleifera* Lam. and *Cyanthillium cinereum* (Less) H. Rob. Lozenges in Volunteer Smokers. **Plants**, v. 10, n. 7, p. 1336, 2021.

MAPA, 1994. Portaria 193 SDA (19/09/1994). Programa Nacional de Sanidade Avícola (PNSA).

MARGUS, A. et al. Sequence variation and regulatory variation in acetylcholinesterase genes contribute to insecticide resistance in different populations of *Leptinotarsa decemlineata*. **Ecology and Evolution**, v. 11, n. 22, p. 15995-16005, 2021.

MARTIGNONI, M. E. Pathophysiology in the insect. **Annual Review of Entomology**, v. 9, n. 1, p. 179-204, 1964.

MARZZOCO, A.; TORRES, B. B. Bioquímica básica. In: **Bioquímica básica**. 2017. p. 392-392.

MEHBOOB, A. et al. Feeding and Oviposition Deterrence of *Murraya paniculata*, *Piper nigrum* and *Moringa oleifera* Extracts against *Spodoptera litura* (F). **Pakistan Journal of Zoology**, v. 51, n. 2, p. 567, 2019.

MOTA, W. M. et al. Avaliação da inibição da acetilcolinesterase por extratos de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, p. 624-628, 2012.)

MUTWEDU, V. B. et al. Phytochemical Profile and Antioxidant Activities of Aqueous Extract of *Moringa oleifera* (Lam) Collected from DR Congo and Kenya. **Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology**, v. 10, n. 2, p. 347-354, 2022.

NAPOLEÃO, T. H. et al. Insect midgut structures and molecules as targets of plant-derived protease inhibitors and lectins. **Pest Management Science**, v. 75, n. 5, p. 1212-1222, 2019.

NARAHASHI, T.. Neuronal ion channels as the target sites of insecticides. **Pharmacology & toxicology**, v. 79, n. 1, p. 1-14, 1996.

NEBOLISA, N. M. et al. Profiling the effects of microwave-assisted and soxhlet extraction techniques on the physicochemical attributes of *Moringa oleifera* seed oil and proteins. **Oil Crop Science**, v. 8, n. 1, p. 16-26, 2023.

OLIVEIRA, A. P. S. et al. Evaluation of the insecticidal activity of *Moringa oleifera* seed extract and lectin (WSMoL) against *Sitophilus zeamais*. **Journal of stored products research**, v. 87, p. 101615, 2020.

OLIVEIRA, A. P. S. et al. Evaluation of the insecticidal activity of *Moringa oleifera* seed extract and lectin (WSMoL) against *Sitophilus zeamais*. **Journal of stored products research**, v. 87, p. 101615, 2020.

OLIVEIRA, C. F. R. et al. Evaluation of seed coagulant *Moringa oleifera* lectin (cMoL) as a bioinsecticidal tool with potential for the control of insects. **Process Biochemistry**, v. 46, n. 2, p. 498-504, 2011.

OLIVEIRA, C. F. R. et al. A chitin-binding lectin from *Moringa oleifera* seeds (WSMoL) impairs the digestive physiology of the Mediterranean flour larvae, *Anagasta kuehniella*. **Pesticide biochemistry and physiology**, v. 142, p. 67-76, 2017.

OLUSOLA, A. O. et al. Moringa oleifera seed protein hydrolysates: kinetics of α -amylase inhibition and antioxidant potentials. **Global Advanced Research Journal of Medicine and Medical Sciences**, v. 7, n. 9, p. 190-201, 2018.

OYEYINKA, A. T.; OYEYINKA, S. A. Moringa oleifera as a food fortificant: Recent trends and prospects. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, v. 17, n. 2, p. 127-136, 2018.

PANDOLFI, J. R. C.; MOTA, S. C. A. O futuro da avicultura comercial no cenário de retirada de antimicrobianos como melhoradores de desempenho. 2020.

PEDERSEN, K. E. et al. Differences in life stage sensitivity of the beetle *Tenebrio molitor* towards a pyrethroid insecticide explained by stage-specific variations in uptake, elimination and activity of detoxifying enzymes. **Pesticide biochemistry and physiology**, v. 162, p. 113-121, 2020.

PEDRO, R. E. R. et al. Acetylcholinesterase Inhibitory Potential in Cinnamon Seed Oil (*Cinnamomum zeylanicum* Nees) Lauraceae from Roraima, Brazil. **Chemical Engineering Transactions**, 2019.

PEPRAH-YAMOA, E. et al. Antifeedant potency of *Mentha spicata* aqueous extracts against fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*). 2022.

PETER, R. et al. Effect of *Illicium verum* (Hook) essential oil on cholinesterase and locomotor activity of *Alphitobius diaperinus* (Panzer). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 181, p. 105027, 2022

PETER, R. et al. Effect of *Illicium verum* (Hook) essential oil on cholinesterase and locomotor activity of *Alphitobius diaperinus* (Panzer). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 181, p. 105027, 2022.

POWELL, K. S. et al. Antifeedant effects of plant lectins and an enzyme on the adult stage of the rice brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. **Entomologia experimentalis et applicata**, v. 75, n. 1, p. 51-59, 1995

PROCÓPIO, D. P. et al. Avaliação conjuntural da avicultura no Brasil. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 3, p. e47932312-e47932312, 2020.

RENAULT, D.; COLINET, H. Differences in the susceptibility to commercial insecticides among populations of the lesser mealworm *Alphitobius diaperinus* collected from poultry houses in France. **Insects**, v. 12, n. 4, p. 309, 2021.

RIBEIRO, P. R. E. et al. Antimicrobial activity and acetilcolinesterase inhibition of oils and Amazon fruit extracts. **Journal of Medicinal Plants Research**, 2020.

RICE, S.J.; LAMBKIN, T.A. A new culture method for lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus*. *J. Appl. Entomol.* **2009**, 133, 67–72

RUMBOS, C. I. et al. The lesser mealworm *Alphitobius diaperinus*: a noxious pest or a promising nutrient source?. **Reviews in Aquaculture**, v. 11, n. 4, p. 1418-1437, 2019

SAMMARCO, B. C.; CROSSLEY, M. S. Lesser mealworm *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) displays negative phototaxis and conditional hygrotaxis. **Environmental Entomology**, p. nvad109, 2023.

SANT'ANA, D. S. et al. Prevenção da influenza aviária na avicultura brasileira: revisão de literaturA. **Revista GeTeC**, v. 12, n. 42, 2023.

SANTANA, C. B. et al. Antimicrobial and insecticidal effects of essential oil and plant extracts of *Myrcia oblongata* DC in pathogenic bacteria and *Alphitobius diaperinus*. **Brazilian Journal of Biology**, v. 82, p. e233425, 2021.

SANTANA, C. B. et al. Antimicrobial and insecticidal effects of essential oil and plant extracts of *Myrcia oblongata* DC in pathogenic bacteria and *Alphitobius diaperinus*. **Brazilian Journal of Biology**, v. 82, p. e233425, 2021.

SANTOS, G. B. et al. Estudo bioclimático das regiões litorânea, agreste e semiárida do estado de Sergipe para a avicultura de corte e postura. **Ciência Rural**, v. 44, p. 123-128, 2014

SANTOS, N. D. L. et al. Effects of Lectin Preparations from *Microgramma vacciniifolia* Rhizomes on the Survival, Digestive Enzymes, and Acetylcholinesterase Activity of *Alphitobius diaperinus* (Panzer)(Coleoptera: Tenebrionidae). **Macromol**, v. 3, n. 3, p. 451-462, 2023.

SARAIVA, D. J. et al. Gastrointestinal parasites in free-range chicken raised under extensive system from the northeast of Brazil. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 23, p. eRBCA-2020-1337, 2021.

SMITH, R. et al. A review of the lesser mealworm beetle (*Alphitobius diaperinus*) as a reservoir for poultry bacterial pathogens and antimicrobial resistance. **World's Poultry Science Journal**, v. 78, n. 1, p. 197-214, 2022.

SOUSA, S. R. et al. Óleo fixo de *Annona coriacea* Mart.(Annonaceae) e suas atividades anticolinesterásica, antimicrobiana e antifúngica. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 7, p. e39510716736-e39510716736, 2021.

SUMITA, Y.; KAWADA, H.; MINAKAWA, N.. Mode of entry of a vaporized pyrethroid knockdown agent into the body of the housefly, *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). **Applied entomology and zoology**, v. 51, p. 653-659, 2016.

TILAK, R. et al. A Rare Case of Gastrointestinal Canthariasis Caused by *Alphitobius Diaperinus*. *Journal of Communicable Diseases* (E-ISSN: 2581-351X & P-ISSN: 0019-5138), v. 55, n. 1, p. 74-77, 2023.

TOUGU, V. Acetylcholinesterase: mechanism of catalysis and inhibition. **Current Medicinal Chemistry-Central Nervous System Agents**, v. 1, n. 2, p. 155-170, 2001.

TRIDIPTASARI, A.; LEKSONO, A. S.; SISWANTO, D.. Antifeedant effect of *Moringa oleifera* (L.) leaf and seed extract on growth and feeding activity of *Spodoptera litura* (Fab.)(Lepidoptera: Noctuidae). **The Journal of Experimental Life Science**, v. 9, n. 1, p. 25-31, 2019.

UMAR, A. M.; AISAMI, A.. Acetylcholinesterase enzyme (AChE) as a biosensor and biomarker for pesticides: A mini review. **Bulletin of Environmental Science and Sustainable Management (e-ISSN 2716-5353)**, v. 4, n. 1, p. 7-12, 2020.

UPADHAYAY, U.; VISHWA, P. C. V.. Growth promoters and novel feed additives improving poultry production and health, bioactive principles and beneficial applications: the trends and advances-a review. **Int. J. Pharmacol**, v. 10, n. 3, p. 129-159, 2014.

VAZQUEZ-ARISTA, M. et al. Enzymatic differences in the digestive system of the adult and larva of *Prostephanus truncatus* (Horn)(Coleoptera: Bostrichidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 35, n. 2, p. 167-174, 1999.

WALSKI, T.; VAN DAMME, E. J. M; SMAGGHE, G.. Penetration through the peritrophic matrix is a key to lectin toxicity against *Tribolium castaneum*. **Journal of insect physiology**, v. 70, p. 94-101, 2014.

WANG, X. et al. Fumigant, contact, and repellent activities of essential oils against the darkling beetle, *Alphitobius diaperinus*. **Journal of Insect Science**, v. 14, 2014.

YOUNAS, M. et al. *Moringa oleifera* leaf extract mediated green synthesis of silver nanoparticles and their antibacterial effect against selected gram-negative strains. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 107, p. 104605, 2023.

ZAFEIRIADIS, S.; SAKKA, M. K.; ATHANASSIOU, C. G. Efficacy of contact insecticides for the control of the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Panzer)(Coleoptera: Tenebrionidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 92, p. 101817, 2021.

ZHENG, L. et al. Evaluation of *Salmonella* movement through the gut of the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae). **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 12, n. 4, p. 287-292, 2012.

ZHU- SALZMAN, K. et al. Fusion of a soybean cysteine protease inhibitor and a legume lectin enhances anti- insect activity synergistically. **Agricultural and Forest Entomology**, v. 5, n. 4, p. 317-323, 2003