



**WILLIAM LEONEL LAURA VILLCA**

**EFEITO DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE CÉRIO (CeO<sub>2</sub>),  
ZINCO (ZnO) E COBRE (CuO) SOBRE CARACTERÍSTICAS  
BIOLÓGICAS DA BROCA-DO-CAFÉ *Hypothenemus hampei* (Ferrari,  
1867) (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE: SCOLYTINAE)**

**LAVRAS - MG**

**2021**

**WILLIAM LEONEL LAURA VILLCA**

**EFEITO DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE CÉRIO (CeO<sub>2</sub>), ZINCO (ZnO) E  
COBRE (CuO) SOBRE CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DA BROCA-DO-CAFÉ  
*Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE:  
SCOLYTINAE)**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Lavras,  
como parte das exigências do  
Programa de Pós-Graduação em  
Entomologia, área de concentração  
em ENTOMOLOGIA, para a  
obtenção do título de Mestre.

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Rosangela Cristina Marucci  
Orientadora

Prof. Dr. Geraldo Andrade de Carvalho  
Coorientador

**LAVRAS – MG**

**2021**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca  
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Villca, William Leonel Laura.

Efeito de nanopartículas de óxido de cério (CeO<sub>2</sub>), zinco (ZnO) e cobre (CuO) sobre características biológicas da broca-do-café *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) / William Leonel Laura Villca. - 2021. 64 p. : il.

Orientador(a): Rosangela Cristina Marucci.

Coorientador(a): Geraldo Andrade de Carvalho.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2021.

Bibliografia.

1. Nanoinseticidas. 2. Cafeeiro. 3. Manejo integrado de pragas.  
I. Marucci, Rosangela Cristina. II. de Carvalho, Geraldo Andrade.  
III. Título.

**WILLIAM LEONEL LAURA VILLCA**

**EFEITO DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE CÉRIO (CeO<sub>2</sub>), ZINCO (ZnO) E  
COBRE (CuO) SOBRE CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DA BROCA-DO-CAFÉ  
*Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE:  
SCOLYTINAE)**

**EFFECT OF CERIUM (CeO<sub>2</sub>), ZINC (ZnO) AND COPPER OXIDE (CuO)  
NANOPARTICLES ON BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THE COFFEE  
DRILL *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE:  
SCOLYTINAE)**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Lavras,  
como parte das exigências do  
Programa de Pós-Graduação em  
Entomologia, área de concentração  
em ENTOMOLOGIA, para a  
obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 17 de agosto de 2021.  
Dra. Rosangela Cristina Marucci - UFLA  
Dr. Bruno Henrique Sardinha de Souza - UFLA  
Dra. Deiane Alves Santos - Externo

Profª: Dra. Rosangela Cristina Marucci  
Orientadora

Prof: Dr. Geraldo Andrade de Carvalho  
Coorientador

**LAVRAS – MG**

**2021**

À vida, aos meus avós Inocencia<sup>†</sup> e Esteban<sup>†</sup>, Celestina e Basilio<sup>†</sup> e aos meus pais.

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

À Deus, por tudo.

À minha família, especialmente aos meus pais, por suas orações.

Ao Departamento de Entomologia (DEN) e ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia da Universidade Federal de Lavras, pela oportunidade fornecida para continuar com minha formação.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de Mestrado.

À professora e orientadora Dra. Rosangela Cristina Marucci, pela ajuda, conhecimentos e paciência durante todo mestrado. Por ser essa pessoa que sempre me transmitiu paz e confiança.

Ao professor e coorientador Dr. Geraldo Andrade de Carvalho, pelo conhecimento e por acreditar em mim.

Ao ex-Coordenador da pós-graduação, Dr. Ronald Zanetti, pela receptividade e por tudo o que fez depois por mim.

A todos os docentes do DEN, Dr. Bruno Henrique Sardinha de Souza, Dr. Khalid Haddi, Dra. Brígida Souza, Dr. Alexandre dos Santos e Dr. Luís Cláudio Paterno Silveira, pelos ensinamentos durante esses dois anos.

A secretária do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, Isabel Nogueira Alves de Melo.

Aos técnicos de laboratório, Elaine Aparecida Louzada, Ana Paula Ananias, Luciano Souza e Pablo Naves por toda a ajuda prestada.

À técnica Eliane Andrade, por me ajudar em todos os experimentos, por me abraçar com tanto carinho no Laboratório de Ecotoxicologia e Manejo Integrado de Pragas (LEMIP). Meu muito obrigado para você *Leinha*.

Ao professor Dr. Hudson Wallace Pereira de Carvalho do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA/USP) pelo fornecimento das dispersões de nanopartículas utilizadas nos bioensaios.

Ao Dr. Elizeu de Sá pela ajuda na confecção das figuras.

À mais maravilhosa amiga Joanina Gladenucci, pela companhia, pelos conselhos, por ser minha amiga. Muitíssimo obrigado!

Às equipes dos laboratórios dos quais fui parte, Laboratório de Controle Biológico de Pragas (LCBIOL) e LEMIP.

Ao Núcleo de Estudo em Entomologia (NEENTO) por me fornecer a oportunidade de crescer e apreciar mais a Entomologia.

Aos meus amigos, Emanuel da Costa Alves, Rosamara Souza Coelho, Letícia Pereira Silva e Rafael Carvalho de Resende

A todas as pessoas que contribuíram de alguma forma para minha formação acadêmica.

## RESUMO

Entre as pragas com maior importância na cultura do cafeeiro, destaca-se a broca-do-café *Hypothenemus hampei* Ferrari (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), praga de difícil controle, visto que fica protegida dentro da semente. O controle dessa praga é realizado principalmente pelo método químico, no entanto, os inseticidas sintéticos registrados não têm apresentado desempenho adequado e, desta forma, é importante a busca por novas tecnologias para seu controle. Nesse contexto, o uso da nanotecnologia pode aprimorar o controle da broca, visto que nanoformulações vêm sendo testadas com sucesso como nanoinseticidas para pragas de outras culturas, e também como nanofungicidas e nanofertilizantes na cultura do café. Assim, o objetivo do presente trabalho foi abordar o conhecimento atual a respeito do uso de nanopartículas (NPs) como inseticidas e adicionalmente, avaliar o efeito de NPs de três óxidos metálicos em dois tamanhos diferentes (ZnO de 20 e 60 nm, CuO de 25 e 40 nm e CeO<sub>2</sub> de 25 e 70 nm) sobre características biológicas da broca-do-café. Foram avaliadas a toxicidade tópica, de ingestão e ovicida, assim como a repelência. Na maioria dos trabalhos conduzidos com insetos verificou-se que as NPs de Au, Ag, Cu, SiO<sub>2</sub>, ZnO e Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> são as mais estudadas e a maioria causa toxicidade por meio da liberação de espécies reativas de oxigênio que interagem com as biomoléculas, produzindo estresse oxidativo no organismo do inseto. Em relação ao efeito das NPs sobre a broca-do-café, verificou-se que não houve efeito na sobrevivência após contato tópico e ingestão, assim como efeito ovicida. Porém, houve efeito subletal em relação à ingestão de dieta artificial contaminada com NPs por meio da redução significativa na oviposição das fêmeas expostas as dietas com NPs de ZnO (20 e 60 nm), CuO (40 nm) e CeO<sub>2</sub> (25 nm). Efeito de repelência das NPs sobre *H. hampei* foi constatado para NPs de ZnO (60 nm), nas quais baixa porcentagem de insetos perfuraram os frutos e para NPs de ZnO (20 nm), nas quais houve menor porcentagem de frutos perfurados. Este é o primeiro trabalho que envolve o uso de NPs para o controle da broca-do-café, com indicativo de efeito subletal e de que estudos mais aprofundados se fazem necessários.

**Palavras-chave:** Nanoinseticidas, seletividade, cafeeiro, manejo integrado de pragas

## ABSTRACT

Among the most important pests in the coffee crop, there is the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* Ferrari (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) which is difficult to control, since it is protected inside the seed. The control of this pest is carried out mainly by the chemical method, however, the registered synthetic insecticides have not presented adequate performance and, therefore, it is important to search for new technologies for its control. In this context, the use of nanotechnology can improve the control of the coffee berry borer, since nanoformulations have been successfully tested as nanoinsecticides for pests of other crops, and also as nanofungicides and nanofertilizers in coffee crops. Thus, the aim of the present work was to address the current knowledge regarding the use of nanoparticles (NPs) as insecticides and, additionally, to evaluate the effect of NPs of three metal oxides in two different sizes (ZnO 20 and 60 nm, CuO 25 and 40 nm and CeO<sub>2</sub> at 25 and 70 nm) on biological characteristics of the coffee berry borer. Topical, ingestion and ovicide toxicity, as well as repellency, were evaluated. In most of the studies carried out with insects it was found that the NPs of Au, Ag, Cu, SiO<sub>2</sub>, ZnO and Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> are the most studied, and most cause toxicity through the release reactive oxygen species that interact with the biomolecules, producing oxidative stress in the insect's body. Regarding the effect of NPs on the coffee berry borer, it was found that there was no effect on survival after topical contact and ingestion, as well as the ovicidal effect. However, there was a sublethal effect in relation to the intake of artificial diet contaminated with NPs by reducing the oviposition of females exposed to diets with NPs of ZnO (20 and 60 nm), CuO (40 nm) and CeO<sub>2</sub> (25 nm). The effect of NPs repellency on *H. hampei* was found for ZnO NPs (60 nm), in which there was a low percentage of insects boring into the fruits, and for ZnO NPs (20 nm), in which there was a lower percentage of bored fruits. This is the first work that involves the use of NPs to control the coffee berry borer, with an indication of a sublethal effect and that further studies are needed.

**Key words:** Nanoinsecticides, selectivity, coffee crop, integrated pest management

## SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE .....	10
1 INTRODUÇÃO GERAL .....	10
2 REFERÊNCIAL TEÓRICO .....	11
2.1 Broca-do-café e seu impacto na cultura do cafeeiro .....	11
2.2 Nanopartículas.....	12
2.3 Nanopartículas no controle de insetos-praga .....	14
2.4 Modos de ação das nanopartículas com atividade inseticida .....	21
REFERÊNCIAS .....	23
SEGUNDA PARTE .....	32
3 ARTIGO .....	32
3.1 Introdução.....	34
3.2 Metodologia .....	37
3.2.1 Local do estudo .....	37
3.2.2 Criação da broca-do-café .....	37
3.2.3 Tratamentos .....	38
3.2.4 Delineamento experimental .....	39
3.2.5 Efeito da aplicação tópica das nanopartículas aos adultos da broca-do-café.....	39
3.2.6 Deterrência das nanopartículas sobre adultos da broca-do-café.....	40
3.2.7 Efeito das nanopartículas sobre adultos da broca-do-café em teste de ingestão.....	41
3.2.8 Efeito ovicida das nanopartículas sobre adultos da broca-do-café .....	41
3.2.9 Análise estatística .....	41
3.3 Resultados .....	43
3.3.1 Toxicidade tópica das nanopartículas aos adultos de <i>Hypothenemus hampei</i> .....	43
3.3.2 Efeito de deterrência das nanopartículas sobre adultos de <i>Hypothenemus hampei</i> ...	43
3.3.3 Efeito das nanopartículas sobre <i>Hypothenemus hampei</i> em teste de ingestão .....	46
3.3.4 Efeito ovicida das nanopartículas sobre <i>Hypothenemus hampei</i> .....	48
3.4 Discussão.....	50
3.5 Conclusões .....	53
REFERÊNCIAS .....	55
MATERIAL SUPLEMENTAR .....	62
CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	64

## PRIMEIRA PARTE

### 1 INTRODUÇÃO GERAL

A necessidade de alternativas de controle de pragas mais sustentáveis vem estimulando pesquisadores a se interessarem pelo estudo da nanotecnologia para esse fim. Nos últimos anos, o uso da nanotecnologia vem crescendo em vários setores sendo considerada como parte da quinta revolução tecnológica deste século (SABRY; RAGAEI, 2018). Nanotecnologia refere-se à manipulação e ao estudo da matéria em escala nanométrica com dimensões entre 1-100 nanômetros (nm), sendo que os materiais que possuem dimensões nessa faixa são conhecidos como nanopartículas (NPs).

A nanotecnologia tem diversas aplicações, na agricultura, medicina, biologia, física, química, ciência dos materiais, energia eletrônica e meio ambiente (CHHIPA, 2017). Em áreas prioritárias como a medicina, a nanotecnologia possibilitou a terapia do câncer, administração de drogas, engenharia de tecidos, medicina regenerativa, detecção de biomoléculas e o uso como agentes antimicrobianos (RUDRAMURTHY; SWAMY, 2018). Na agricultura, os avanços da nanotecnologia têm sido relacionados com a fertilização do solo, fitomelhoramento, melhoramento dos solos, agricultura de precisão, tolerância das culturas ao estresse causado por solos salinos e finalmente, a proteção das plantas contra vírus, bactérias, fungos e artrópodes (SHANG et al., 2019).

As NPs despertaram interesse como inseticidas por apresentam propriedades físico-químicas que as diferenciam dos materiais de maior tamanho, como maior relação área superficial/volume, força mecânica frente a alterações, são opticamente ativas e quimicamente reativas (GILL et al., 2007). Alguns estudos têm demonstrado que as NPs podem apresentar grau de toxicidade aos insetos pragas semelhante a inseticidas convencionais (SONI; PRAKASH, 2012; SELVAN et al., 2018). São utilizadas em baixa dose e com liberação controlada, gerando menor quantidade de resíduos no ambiente (MURUGAN et al., 2018). Em função do exposto, as NPs podem ser úteis como estratégias de controle a serem incorporadas no manejo integrado das pragas do cafeeiro.

Entre as NPs testadas como nanoinseticidas, com mais frequência destacam-se os metais e óxidos metálicos como CuO, ZnO, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, SiO<sub>2</sub>, MgO, TiO<sub>2</sub>, Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> e NiO. Muitos deles utilizados com sucesso como nanofertilizantes comerciais, destacando-se os compostos ZnO,

CuO (ELEMKE et al., 2019), MgO (SALCIDO-MARTÍNEZ et al., 2020), CeO<sub>2</sub> (ABDULHAMEED; TAHA; ISMAIL, 2021) e outros.

Na cultura do cafeeiro as pragas que causam maiores danos são o bicho-mineiro, *Leucoptera coffeella* (Guérin-Méneville, 1842) (Lepidoptera: Lyonetiidae: Lyonetiinae) (MICHEREFF; MICHEREFF FILHO; VILELA, 2007) e a broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) (QUEIROZ; FANTON, 2021). A broca é uma praga que afeta diretamente a qualidade do grão e o rendimento (JARAMILLO et al., 2011) e, conseqüentemente, causa perdas econômicas. O controle desse inseto-praga ainda é ineficiente e dispendioso, devido à dificuldade para atingi-la com os inseticidas convencionais modernos em função da broca-do-café permanecer protegida no interior do fruto (QUEIROZ; FANTON, 2021); além disso, apresenta alto potencial reprodutivo (DAMON, 2000), o que contribui para rápida seleção de indivíduos resistentes aos inseticidas e para a reinfestação das lavouras tratadas.

Desta forma, é de suma importância que novas pesquisas, que busquem o desenvolvimento de estratégias inovadoras para integrar às medidas já existentes para o controle da broca, sejam estimuladas. Ademais, são necessárias pesquisas sobre os efeitos dos nanofertilizantes que estão sendo já implementadas, sobre os insetos. Assim, o presente trabalho tem como objetivo abordar o conhecimento atual a respeito do uso de NPs como inseticidas e adicionalmente, avaliar a toxicidade de NPs de óxidos metálicos (ZnO, CuO e CeO<sub>2</sub>) sobre características biológicas de *H. hampei*.

## 2 REFERÊNCIAL TEÓRICO

### 2.1 Broca-do-café e seu impacto na cultura do cafeeiro

O cafeeiro é uma das culturas com maior importância econômica no Brasil, país considerado o primeiro produtor mundial (XIMENES; VIDAL, 2017). As regiões produtoras encontram-se principalmente nos estados da Bahia, Espírito Santo, Mato Grosso, Minas Gerais, Paraná, Rio de Janeiro, Rondônia e São Paulo. Dentre eles, Minas Gerais destaca-se como maior produtor com 1.238.270 mil hectares, os quais correspondem a 54,24% da área cultivada de café no Brasil (PERUZZOLO; DA CRUZ; RONQUI, 2019).

Como mencionado anteriormente, um dos fatores que mais limita a produção do café são o bicho-mineiro, a broca-do-café, além das cigarras (Hemiptera: Cicadidae) *Quesada gigas* (Olivier, 1790), *Fidicinoides* sp. e *Carineta* sp. e os ácaros vermelho *Oligonychus ilicis*

(McGrefor, 1917) (Acari: Tetranychidae) e da leprose *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes, 1939) (Acari: Tenuipalpidae).

A broca-do-café é um micro-besouro monófago, que tem a habilidade de perfurar os frutos de café antes do amadurecimento e apresenta grande número de gerações por ano, dependendo da temperatura e da disponibilidade de frutos de café (JARAMILLO; GARCIA; PARRA, 2018). A broca fica praticamente o ciclo todo protegida dentro do fruto, o que limita o período de controle ao momento de deslocamento dos frutos da safra anterior para os frutos no estágio “chumbão”. Outro ponto importante a ser considerado são as variações na biologia e no comportamento desta praga em função das mudanças climáticas, o que implica na necessidade de mapeamentos das infestações (JARAMILLO et al., 2011; JARAMILLO; GARCIA; PARRA, 2018).

As perdas causadas pela broca variam em função do ataque, acentuadas em anos com duas safras (bienalidade). Assim, os métodos mais habituais para o controle da broca, são o controle químico e também o controle biológico com microrganismos. Há alguns anos o endossulfan, era o único princípio ativo reconhecidamente eficaz no controle da broca-do-café, até a sua proibição por meio da resolução da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) RDC Nº 28 (09/08/10). Depois foi registrado o princípio ativo clorpirifós, cuja limitação é a eficiência a campo e a elevada toxicidade, parecida ao endossulfan. Atualmente, o cyantraniliprole é um dos princípios ativos mais comuns para o controle da broca (SOUZA, 2018), além do fungo *Beauveria bassiana*, que possui a capacidade de controlar mais do 60% da praga, podendo variar essa porcentagem em função da cepa utilizada (NEVES; HIROSE, 2005).

Dentro das novas alternativas para o controle de insetos-praga, os nanopesticidas se apresentaram como uma das mais promissoras, sendo que vários estudos evidenciaram o efeito das NPs de ouro, prata, zinco, alumínio e outros, sobre pragas de grãos armazenados (GOSWAMI et al., 2010), mosquitos (AISWARYA et al., 2019) e mariposas (MARTINS et al., 2019).

## **2.2 Nanopartículas**

As NPs não são fruto da invenção humana, pois se originam de forma natural desde o início da história da Terra, sendo encontradas em núcleos de gelo glacial de cerca de 10.000 anos e também em sedimentos originados entre o Cretáceo e o Terciário. Ademais, segundo

estimativas na poeira atmosférica tem-se cerca de 1 bilhão de toneladas métricas de NPs produzidas por ano no planeta (HANDY; OWEN; VALSAMI-JONES, 2008).

Assim, as NPs dependendo da origem, podem se diferenciar em três tipos (SALAMA, 2012):

- a) NPs naturais, que existem desde o início da história da Terra e ainda ocorrem no meio ambiente (poeira vulcânica, poeira lunar, composições minerais, etc.);
- b) Nanopartículas incidentais, também definidas como resíduos ou partículas antropogênicas, ocorrem como resultado de processos industriais feitos pelo homem (exaustão de diesel, combustão de carvão, fumaça de soldagem, etc.);
- c) Nanopartículas de engenharia, agrupadas em quatro tipos: i) materiais à base de carbono, incluindo fulerenos, nanotubos de carbono de parede simples (SWCNT) e de paredes múltiplas (MWCNT); ii) materiais à base de metal, NPs de ouro, de prata, de zinco, de alumínio e óxidos de metal em nanoescala como  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{ZnO}$  e  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ; iii) dendrímeros, que são polímeros nanométricos, capazes de serem ajustados para desempenhar funções químicas específicas; iv) compostos que combinam NPs com outras NPs ou com materiais maiores, para formar esferas, tubos, hastes e prismas.

As NPs exibem propriedades interessantes, como maior relação superfície/volume o que lhe confere propriedades termodinâmicas diferentes em relação à temperatura de fusão, evaporação, entre outras propriedades (XIONG et al., 2011) e maior força mecânica, especialmente, em materiais a base de carbono (SONG; CHUNG; KIM, 2014). Além disso, são extremamente reativas e possuem força mecânica frente a alterações, opticamente ativas (TRUONG et al., 2019). Em função dessas propriedades as NPs são capazes de penetrar em tecidos vivos de animais como os insetos (BENELLI, 2018) bem como de plantas (COCOZZA et al., 2019).

Para a síntese de NPs são utilizados métodos, tais como co-precipitação (PETCHAROEN; SIRIVAT, 2012), síntese hidrotérmica (VINAY et al., 2020), micro-ondas (SHARMA et al., 2011), descarga de faísca (TABRIZI et al., 2009), condensação de gás inerte (PINILLA et al., 2010), sol-gel (CHEN; HE, 2001) e síntese verde entre outras.

Dentre os métodos de síntese mencionados, a síntese verde ou biológica vem ganhando importância. A síntese verde de NPs é realizada por meio de bactérias (GALLARDO et al., 2014; AENISHANSLINS et al., 2019), fungos (MUKHERJEE et al., 2002;

VIGNESHWARAN et al., 2007; ZHAO et al., 2018), algas (NANTHAKUMAR et al., 2018), nematoides (AISWARYA et al., 2019), vegetais (PATIL et al., 2018; SARLI; GHASEMI, 2020; NALLAGOUNI; GANGAPURAM; KARNATI, 2021) e aracnídeos (LATEEF et al., 2016; VINAY et al., 2020). Esta forma de síntese possui algumas vantagens, como melhor rentabilidade, abundância de matérias-primas, redução dos subprodutos das reações contaminantes (RAUWEL et al., 2015) e maior estabilidade, o que irá reduzir a aglomeração (PAL; RAI; PANDEY, 2018). Em contrapartida, várias pesquisas mostraram que ainda não é possível padronizar o tamanho das NPs biossintetizadas (MALAIKOZHUNDAN; VINODHINI, 2018; PAL; RAI; PANDEY, 2018).

Nos últimos anos foram estudadas nanoinseticidas baseadas nas formulações convencionais, como piretroides e diamidas (AMJAD; SHARMA; SERAJUDDIN, 2018; GAO et al., 2020), com o intuito de reduzir a dose aplicada nas culturas e torná-las mais seletivas. Inseticidas botânicos, como o óleo de neem também foram elaborados em forma de NPs (HEMALATHA; KUMAR, 2021) com a finalidade de aumentar sua efetividade.

Um emprego recente das nanoformulações é no rastreamento *in situ* do pesticida na superfície da folha, detectado por meio de fluorescência, enquanto evita efetivamente a interferência da autofluorescência da clorofila (CHEN et al., 2020).

### **2.3 Nanopartículas no controle de insetos-praga**

Atualmente, o controle de pragas baseia-se principalmente no uso de inseticidas convencionais, os quais causam danos em organismos não-alvo e contaminam o ambiente, com geração de resíduos no ecossistema. Para enfrentar esses problemas, são necessárias novas estratégias de controle de pragas e uma delas é o desenvolvimento de princípios ativos de dimensões nanométricas.

O uso de nanotecnologia no controle de pragas envolve pesquisas de amplo espectro, incluindo estudo da interação de NPs e insetos, formulação dos princípios ativos existentes em forma de nanoemulsões, dispersões, suspensões, folhas de polímeros e géis, desenvolvimento de novas formulações de inseticidas usando nanomateriais como princípios ativos, ou usando-os como *nanocarrier* (ATHANASSIOU et al., 2018).

A toxicidade das NPs sobre organismos vivos vem sendo demonstrada há alguns anos, principalmente efeitos sobre a biologia de bactérias, algas, artrópodes e espécies de peixes, bem como para os mamíferos (HANDY; OWEN; VALSAMI-JONES, 2008). Outros autores

mencionam que os nanopesticidas e nanoformulações apresentam melhor eficiência de proteção de pragas em comparação com pesticidas convencionais (CHHIPA, 2017), já que possuem capacidade de perfurar o exoesqueleto dos insetos e são quimicamente reativas, causando alterações no interior do organismo do inseto.

Entre os nanopesticidas mais estudados, destacam-se as NPs de Au, Ag, Cu, SiO<sub>2</sub>, ZnO, grafeno e Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (SALEM; HAMZAH; EL-TAWHEELAH, 2015; IBRAHIM; ALI, 2018; AISWARYA et al., 2019; MARTINS et al., 2019) (Tabela 1).

1

Quadro 1 – Exemplos de nanopartículas com efeitos sobre insetos reportados nos últimos dez anos.

Nanopartícula	Inseto-alvo	Ordem: Família	Concentração-Dose	Tamanho (nm)	Modo de aplicação	Efeito	Referência
SiO <sub>2</sub>	<i>Caryedon serratus</i>	Coleoptera: Bruchidae	> 0,67 mg·kg <sup>-1</sup> de amendoim	< 30	Contato e ingestão	100% de mortalidade; Redução da fecundidade.	DIAGNE et al. (2019)
Ag	<i>Rhynchophorus ferrugineus</i>	Coleoptera: Curculionidae	10 <sup>5</sup> CFU·mL <sup>-1</sup> de água	Não especificado	Contato e ingestão	Até 85% e 75% de mortalidade de larvas e adultos, respectivamente.	ABDEL-RAHEEM; REYAD; ALGHAMDI (2020)
SiO <sub>2</sub>	<i>Sitophilus oryzae</i>	Coleoptera: Curculionidae	2 g·kg <sup>-1</sup> de arroz	Não especificado	Contato e ingestão	100% de mortalidade de adultos	EL-BENDARY; EL- HELALY (2016)
CeO <sub>2</sub>	<i>Spodoptera frugiperda</i>	Lepidoptera: Noctuidae	100 mg·L <sup>-1</sup> de dieta	25	Ingestão	Redução do peso da pupa e da viabilidade do ovo; alteração no metabolismo.	CASTRO et al. (2021)
ZnO	<i>Aedes aegypti</i>	Diptera: Culicidae	120 ppm	31 ± 2 nm	Contato	Atividade ovicida de 94%.	AL-DHABI; VALAN ARASU (2018)
CuO	<i>Galleria mellonella</i>	Lepidoptera: Pyralidae	10 µg· mL <sup>-1</sup> de dieta	< 50	Ingestão	Diminuição na atividade da acetilcolinesterase	TUNC SOY et al. (2019)
ZnO	<i>Aedes aegypti</i>	Diptera: Culicidae	8,96–14 ppm	378	Contato e ingestão	90% de atividade larvicida	MURUGAN et al. (2018)
	<i>Helicoverpa armigera</i>	Lepidoptera: Noctuidae	23,8–33,8 ppm	378	Ingestão	90% de mortalidade de larvas e pupas	

Óxido de grafeno	<i>Acheta domesticus</i>	Orthoptera: Gryllidae	200 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de dieta	Não específico	Ingestão	Diminuição da capacidade reprodutiva; efeitos multigeracionais	DZIEWIĘCKA et al. (2018)
$\text{Al}_2\text{O}_3$	<i>Sitophilus oryzae</i>	Coleoptera: Curculionidae	500 ppm	Grossura 45 nm	Contato e ingestão	Mortalidade de 100% dos adultos	STADLER et al. (2012)
	<i>Rhyzopertha dominica</i>	Coleoptera: Bostrichidae				72 – 90% de mortalidade de adultos.	
$\text{CuO}$	<i>Galleria mellonella</i>	Lepidoptera: Pyralidae	10-1000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de dieta	< 50	Ingestão	Efeitos negativos no metabolismo e no sistema imunológico	TUNÇSOY et al. (2021)
$\text{Al}_2\text{O}_3$	<i>Tribolium castaneum</i>	Coleoptera: Tenebrionidae	2 $\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$ de trigo	10 $\pm$ 2 nm	Ingestão	68,7% de mortalidade de adultos	SALEM; HAMZAH; EL-TAWEELAH (2015)
$\text{ZnO}$				20 $\pm$ 5 nm		69,7% de mortalidade de adultos	
$\text{Au}$	<i>Blattella germanica</i>	Blattodea: Blattellidae	87,44 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de dieta	21,8	Ingestão	Redução de 50% de ninfas eclodidas	SMALL et al. (2016)
Óxido de grafeno	<i>Spodoptera frugiperda</i>	Lepidoptera: Noctuidae	1000 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de dieta	Não especificado	Ingestão	Alteração na reprodução e na eficiência de conversão alimentar em biomassa	MARTINS et al. (2019)
$\text{CuO}$	<i>Aedes aegypti</i>	Diptera: Culicidae	1000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de água	Não especificado	Ingestão e contato	100% de mortalidade de larvas	SELVAN et al. (2018)
$\text{Ag}$	<i>Galleria mellonella</i>	Lepidoptera: Pyralidae	400 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de água	30	Ingestão	Supressão na atividade de enzimas; Danos gerais no sistema digestivo.	CHEN et al. (2019)

CeO <sub>2</sub> dopado com Ag	<i>Aedes aegypti</i>	Diptera: Culicidae	0,010 mM·L <sup>-1</sup> de água	5-7	Ingestão e contato	58% de mortalidade em larvas do 3° instar	DOSHI et al. (2020)
ZnO	<i>Callosobruchus maculatus</i>	Coleoptera: Chrysomelidae	25 µg·mL <sup>-1</sup> de água	21,3	Ingestão	Mortalidade do 100% dos adultos.	MALAIKOZHUNDAN; VINODHINI (2018)
TiO <sub>2</sub>	<i>Oncopeltus fasciatus</i>	Hemiptera: Lygaeidae	1 mg·cm <sup>-2</sup> de superfície contaminada	21	Contato	Prolongamento do período ninfal	MUÑOZ et al. (2019)
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>			0,5 mg·cm <sup>-2</sup> de superfície contaminada	30-60		Diminuição do conteúdo de proteína da progênie	
CuO	<i>Sitophilus granarius</i>	Coleoptera: Curculionidae	3 mg·g <sup>-1</sup> de trigo	14-47,4	Ingestão e contato	Mortalidade entre 55–94,4%	BADAWEY et al. (2021)
	<i>Rhyzopertha dominica</i>	Coleoptera: Bostrichidae				Mortalidade entre 70–90%	
SiO <sub>2</sub>	<i>Rhyzopertha dominica</i>	Coleoptera: Bostrichidae	100 mg·Kg <sup>-1</sup> de trigo/cevada	12	Contato e ingestão	Alta mortalidade, até 100%	ZIAEE; GANJI (2016)
	<i>Tribolium confusum</i>	Coleoptera: Tenebrionidae					
CuO	<i>Galleria mellonella</i>	Lepidoptera: Pyralidae	15 µg·µl <sup>-1</sup> de dieta	38	Ingestão	Aumento de hemócitos apoptóticos e necróticos, diminuição de hemócitos mitóticos	ESKIN; BOZDOĞAN (2021)

Ag	<i>Helicoverpa armigera</i>	Lepidoptera: Noctuidae	26,6 $\mu\text{l}\cdot\text{g}^{-1}$ de dieta	Não especificado	Ingestão	Redução do peso larval e da taxa de sobrevivência, inibição da atividade da protease Ha-Gut	KANTRAO et al. (2017)
Au	<i>Aedes aegypti</i>	Diptera: Culicidae	117,48 ppm	2-15	Contato	99% de mortalidade em larvas do quarto instar	SONI; PRAKASH (2012)
CuO	<i>Myzus persicae</i>	Hemiptera: Aphididae	8000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	40	Ingestão	Mortalidade de ninfas (86%)	GHIDAN; AL- ANTARY; AWWAD (2016)
Ag	<i>Anopheles stephensi</i> , <i>Aedes aegypti</i> , <i>Culex quinquefasciatus</i>	Diptera: Culicidae	30 ppm	43-79	Contato	Atividade ovicida de 100%	MADHIYAZHAGAN et al. (2015)
TiO <sub>2</sub>	<i>Aedes aegypti</i>	Diptera: Culicidae	14,86 ppm	70,8	Ingestão e contato	Atividade ovicida e mortalidade de pupas	MURUGAN et al. (2016)
Ag	<i>Spodoptera littoralis</i>	Lepidoptera: Noctuidae	10 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ de água	50-60	Ingestão	Redução no ganho de peso das larvas e no peso das pupas	IBRAHIM; ALI (2018)
ZnO				10-30		Prolongamento do período larval, diminuição nos níveis de proteínas, lipídios e carboidratos, interferência na fisiologia digestiva e imunológica.	

Au	<i>Galleria mellonella</i>	Lepidoptera: Pyralidae	5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ de água	14-46	Contato	Mortalidade de lagartas de 5° instar >90%	AISWARYA et al. (2019)
Ag				17-40		Mortalidade de lagartas de 5° instar >80%	
TiO <sub>2</sub>	<i>Sitophilus oryzae</i>	Coleoptera: Curculionidae	2 g·Kg <sup>-1</sup> de arroz	45-60	Contato e ingestão	90% de mortalidade após 14 dias	DAS; YADAV; DEBNATH (2019)

Nos trabalhos mostrados acima (Quadro 1), a maioria deles não realizou uma comparação entre compostos em forma de NPs e compostos a granel. Isto deixa em claro a necessidade de uma padronização na metodologia da pesquisa relacionada com NPs.

Outro aspecto relacionado com a efetividade das NPs que deve ser levado em consideração, é a funcionalização das NPs e sua capacidade de alterar a superfície das moléculas dos inseticidas atuando como *nanocarriers* ou simplesmente ajudando na detecção dos resíduos dos pesticidas, conforme relatado por Yang et al. (2019). Existem vários inseticidas com princípio ativo hidrofóbicos ou lipofóbicos, os quais podem ser funcionalizados recobrando a superfície com NPs (DE OLIVEIRA et al., 2014), como os óleos essenciais (YANG et al., 2009) e polímeros, como mencionam Pascoli et al. (2018). Debnath et al. (2012) demonstraram a importância da funcionalização das NPs quando aplicadas como princípio ativo e Goswami et al. (2010) mostraram que as NPs lipofílicas e hidrofóbicas de SiO<sub>2</sub>, ZnO e TiO<sub>2</sub> causam mortalidades em *S. oryzae* superiores às hidrofílicas.

#### **2.4 Modos de ação das nanopartículas com atividade inseticida**

No geral, tem-se muitos estudos sobre a toxicidade de NPs contra artrópodes de importância agrícola, médica e veterinária, mas poucos explicando o modo de ação que leva à toxicidade (BENELLI, 2018). Para entender o modo de ação, devem ser consideradas as propriedades das NPs, como tamanho, dose, tempo de exposição, funcionalização química, estruturas, resposta imune, acúmulo e tempo de retenção. Por exemplo, na literatura menciona-se que quanto menor o tamanho das NPs, maior a toxicidade e penetração no corpo do inseto (SHAHZAD; MANZOOR, 2021), e internamente, um aumento do contato entre as NPs e as células (CAMPOLO et al., 2017).

Externamente, as NPs metálicas podem afetar a pigmentação e a integridade da cutícula, enquanto internamente induzem respostas imunes e alteram a expressão gênica, alteração no metabolismo de proteínas, lipídios e carboidratos, toxicidade celular e produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) (SHAHZAD; MANZOOR, 2021). Todos esses processos ocasionam a mortalidade ou efeitos subletais no desenvolvimento e na reprodução do inseto.

No caso específico de NPs metálicas incluindo óxidos, sabe-se que uma vez dentro do corpo do inseto, liberam ROS, os quais são regulados por várias enzimas desintoxicantes, como superóxido dismutase, glutatona peroxidase e catalase, ou por diferentes antioxidantes, incluindo flavonóides, ácidos ascórbicos, vitamina E e glutatona (DAYEM et al., 2017), isto

irá gerar um estresse oxidativo no organismo do inseto. Os níveis de ROS que se produzem dentro do organismo são dependentes do tamanho da partícula, forma, área de superfície e química (DAYEM et al., 2017).

## REFERÊNCIAS

- ABDEL-RAHEEM, M. A.; REYAD, N. F.; ALGHAMDI, H. A. Virulence of nanoparticle preparation of entomopathogenic fungi and entomopathogenic bacteria against red palm weevil *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier) (Coleoptera: Curculionidae). **Romanian Biotechnological Letters**, v. 25, n. 1, p. 1151–1159, 2020. doi: 10.25083/rbl/25.1/1151.1159.
- ABDULHAMEED, M. F.; TAHA, A. A.; ISMAIL, R. A. Influence of cerium oxide nanoparticles and NPK nanofertilizers on growth and yield of cabbage plant. **Plant Archives**, v. 21, n. Suppliment-1, p. 1326–1331, 15 jan. 2021. doi: 10.51470/PLANTARCHIVES.2021.v21.S1.208.
- AENISHANSLINS, N. Ó.; OSTUNI, G. A.; QUEZADA, C. P.; GONZÁLEZ, R. E.; BRAVO, D.; DONOSO, J. M. P. Biological synthesis of CdS/CdSe Core/Shell nanoparticles and its application in Quantum Dot sensitized solar cells. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, 11 jul. 2019. doi: 10.3389/fmicb.2019.01587.
- AISWARYA, D.; RAJA, R. K.; KAMARAJ, C.; BALASUBRAMANI, G.; DEEPAK, P.; ARUL, D.; AMUTHA, V.; SANKARANARAYANAN, C.; HAZIR, S.; PERUMAL, P. Biosynthesis of Gold and Silver nanoparticles from the symbiotic bacterium, *Photorhabdus luminescens* of entomopathogenic nematode: Larvicidal properties against three mosquitoes and *Galleria mellonella* larvae. **Journal of Cluster Science**, v. 30, n. 4, p. 1051–1063, 22 jul. 2019. doi: 10.1007/s10876-019-01564-1.
- AL-DHABI, N.; VALAN ARASU, M. Environmentally-friendly green approach for the production of zinc oxide nanoparticles and their anti-fungal, ovicidal, and larvicidal properties. **Nanomaterials**, v. 8, n. 7, p. 500, 6 jul. 2018. doi: 10.3390/nano8070500.
- AMJAD, S.; SHARMA, A. K.; SERAJUDDIN, M. Toxicity assessment of cypermethrin nanoparticles in *Channa punctatus*: Behavioural response, micronuclei induction and enzyme alteration. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 100, p. 127–133, dez. 2018. doi: 10.1016/j.yrtph.2018.10.004.
- ATHANASSIOU, C. G.; KAVALLIERATOS, N. G.; BENELLI, G.; LOSIC, D.; USHA RANI, P.; DESNEUX, N. Nanoparticles for pest control: current status and future perspectives. **Journal of Pest Science**, v. 91, n. 1, p. 1–15, 21 jan. 2018. doi: 10.1007/s10340-017-0898-0.
- BADAWY, A. A.; ABDELFATTAH, N. A. H.; SALEM, S. S.; AWAD, M. F.; FOUDA, A. Efficacy assessment of biosynthesized Copper oxide nanoparticles (CuO-NPs) on stored grain insects and their impacts on morphological and physiological traits of wheat (*Triticum aestivum* L.) plant. **Biology**, v. 10, n. 3, p. 233, 17 mar. 2021. doi: 10.3390/biology10030233.
- BENELLI, G. Mode of action of nanoparticles against insects. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 13, p. 12329–12341, 3 maio 2018. doi: 10.1007/s11356-018-1850-4.

CAMPOLO, O.; CHERIF, A.; RICUPERO, M.; SISCARO, G.; GRISSA-LEBDI, K.; RUSSO, A.; CUCCI, L. M.; DI PIETRO, P.; SATRIANO, C.; DESNEUX, N.; BIONDI, A.; ZAPPALÀ, L.; PALMERI, V. Citrus peel essential oil nanoformulations to control the tomato borer, *Tuta absoluta*: chemical properties and biological activity. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 13036, 12 dez. 2017. doi: 10.1038/s41598-017-13413-0.

CASTRO, B. M. M.; SANTOS-RASERA, J. R.; ALVES, D. S.; MARUCCI, R. C.; CARVALHO, G. A.; CARVALHO, H. W. P. Ingestion and effects of cerium oxide nanoparticles on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Environmental Pollution**, jun. 2021. doi: 10.1016/j.envpol.2021.116905.

CHEN, D.-H.; HE, X.-R. Synthesis of nickel ferrite nanoparticles by sol-gel method. **Materials Research Bulletin**, v. 36, n. 7–8, p. 1369–1377, maio 2001. doi: 10.1016/S0025-5408(01)00620-1.

CHEN, K.; WANG, Y.; CUI, H.; WEI, Z.; JIA, X.; LIU, Z.; GUO, X. Difunctional fluorescence nanoparticles for accurate tracing of nanopesticide fate and crop protection prepared by flash nanoprecipitation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 68, n. 3, p. 735–741, 22 jan. 2020. doi: 10.1021/acs.jafc.9b06744.

CHEN, L.; MENG, X.; GU, J.; FAN, W.; ABDLLI, N.; PEPRAH, F. A.; WANG, N.; ZHU, F.; LÜ, P.; MA, S.; CHEN, K. Silver nanoparticle toxicity in silkworms: Omics technologies for a mechanistic understanding. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 172, p. 388–395, maio 2019. doi: 10.1016/j.ecoenv.2019.01.055.

CHHIPA, H. Nanofertilizers and nanopesticides for agriculture. **Environmental Chemistry Letters**, v. 15, n. 1, p. 15–22, 5 mar. 2017. doi: 10.1007/s10311-016-0600-4.

COCOZZA, C.; PERONE, A.; GIORDANO, C.; SALVATICI, M. C.; PIGNATTELLI, S.; RAIÒ, A.; SCHAUB, M.; SEVER, K.; INNES, J. L.; TOGNETTI, R.; CHERUBINI, P. Silver nanoparticles enter the tree stem faster through leaves than through roots. **Tree Physiology**, v. 39, n. 7, p. 1251–1261, 18 jul. 2019. doi: 10.1093/treephys/tpz046.

DAMON, A. A review of the biology and control of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). **Bulletin of Entomological Research**, v. 90, n. 6, p. 453–465, 9 dez. 2000. doi: 10.1017/S0007485300000584.

DAS, S.; YADAV, A.; DEBNATH, N. Entomotoxic efficacy of aluminium oxide, titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles against *Sitophilus oryzae* (L.): A comparative analysis. **Journal of Stored Products Research**, v. 83, p. 92–96, set. 2019. doi: 10.1016/j.jspr.2019.06.003.

DAYEM, A. A.; HOSSAIN, M.; LEE, S.; KIM, K.; SAHA, S.; YANG, G.-M.; CHOI, H.; CHO, S.-G. The role of reactive oxygen species (ROS) in the biological activities of metallic nanoparticles. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 1, p. 120, 10 jan. 2017. doi: 10.3390/ijms18010120.

DE OLIVEIRA, J. L.; CAMPOS, E. V. R.; BAKSHI, M.; ABHILASH, P. C.; FRACETO, L. F. Application of nanotechnology for the encapsulation of botanical insecticides for sustainable agriculture: Prospects and promises. **Biotechnology Advances**, v. 32, n. 8, p. 1550–1561, dez. 2014. doi: 10.1016/j.biotechadv.2014.10.010.

DEBNATH, N.; MITRA, S.; DAS, S.; GOSWAMI, A. Synthesis of surface functionalized silica nanoparticles and their use as entomotoxic nanocides. **Powder Technology**, v. 221, p. 252–256, maio 2012. doi: 10.1016/j.powtec.2012.01.009.

DIAGNE, A.; DIOP, B. N.; NDIAYE, P. M.; ANDREAZZA, C.; SEMBENE, M. Efficacy of silica nanoparticles on groundnut bruchid, *Caryedon serratus* (Olivier) (Coleoptera, Bruchidae). **African Crop Science Journal**, v. 27, n. 2, 2019. doi: 10.4314/acsj.v27i2.8.

DOSHI, M.; BOSAK, A.; NEAL, C. J.; ISIS, N.; KUMAR, U.; JEYARANJAN, A.; SAKTHIVEL, T. S.; SINGH, S.; WILLENBERG, A.; HINES, R. B.; SEAL, S.; WILLENBERG, B. J. Exposure to nanoceria impacts larval survival, life history traits and fecundity of *Aedes aegypti*. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 14, n. 9, p. e0008654, 25 set. 2020. doi: 10.1371/journal.pntd.0008654.

DZIEWIĘCKA, M.; WITAS, P.; KARPETA-KACZMAREK, J.; KWAŚNIEWSKA, J.; FLASZ, B.; BALIN, K.; AUGUSTYNIAK, M. Reduced fecundity and cellular changes in *Acheta domesticus* after multigenerational exposure to graphene oxide nanoparticles in food. **Science of The Total Environment**, v. 635, p. 947–955, set. 2018. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.04.207.

EL-BENDARY, H.; EL-HELALY, A. Nano Silica as A Promising Alternative in Control *Sytophilus oryzae* (L) (Coleoptera: Curculionidae). **Egyptian Academic Journal of Biological Sciences, F. Toxicology & Pest Control**, v. 8, n. 1, p. 95–102, 1 jun. 2016. doi: 10.21608/eajbsf.2016.17137.

ELEMIKE, E.; UZOH, I.; ONWUDIWE, D.; BABALOLA, O. The Role of Nanotechnology in the Fortification of Plant Nutrients and Improvement of Crop Production. **Applied Sciences**, v. 9, n. 3, p. 499, 1 fev. 2019. doi: 10.3390/app9030499.

ESKIN, A.; BOZDOĞAN, H. Effects of the copper oxide nanoparticles (CuO NPs) on *Galleria mellonella* hemocytes. **Drug and Chemical Toxicology**, p. 1–11, 3 mar. 2021. doi: 10.1080/01480545.2021.1892948.

GALLARDO, C.; MONRÁS, J. P.; PLAZA, D. O.; COLLAO, B.; SAONA, L. A.; DURÁN-TORO, V.; VENEGAS, F. A.; SOTO, C.; ULLOA, G.; VÁSQUEZ, C. C.; BRAVO, D.; PÉREZ-DONOSO, J. M. Low-temperature biosynthesis of fluorescent semiconductor nanoparticles (CdS) by oxidative stress resistant Antarctic bacteria. **Journal of Biotechnology**, v. 187, p. 108–115, out. 2014. doi: 10.1016/j.jbiotec.2014.07.017.

GAO, Y.; LI, D.; LI, D.; XU, P.; MAO, K.; ZHANG, Y.; QIN, X.; TANG, T.; WAN, H.; LI, J.; GUO, M.; HE, S. Efficacy of an adhesive nanopesticide on insect pests of rice in field trials. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 23, n. 4, p. 1222–1227, dez. 2020. doi: 10.1016/j.aspen.2020.08.013.

GHIDAN, A. Y.; AL-ANTARY, T. M.; AWWAD, A. M. Green synthesis of copper oxide nanoparticles using *Punica granatum* peels extract: Effect on green peach Aphid. **Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management**, v. 6, p. 95–98, dez. 2016. doi: 10.1016/j.enmm.2016.08.002.

GILL, S.; LÖBENBERG, R.; KU, T.; AZARMI, S.; ROA, W.; PRENNER, E. J. Nanoparticles: Characteristics, mechanisms of action, and toxicity in pulmonary drug delivery—A review. **Journal of Biomedical Nanotechnology**, v. 3, n. 2, p. 107–119, 1 jun. 2007. doi: 10.1166/jbn.2007.015.

GOSWAMI, A.; ROY, I.; SENGUPTA, S.; DEBNATH, N. Novel applications of solid and liquid formulations of nanoparticles against insect pests and pathogens. **Thin Solid Films**, v. 519, n. 3, p. 1252–1257, nov. 2010. doi: 10.1016/j.tsf.2010.08.079.

HANDY, R. D.; OWEN, R.; VALSAMI-JONES, E. The ecotoxicology of nanoparticles and nanomaterials: current status, knowledge gaps, challenges, and future needs. **Ecotoxicology**, v. 17, n. 5, p. 315–325, 12 jul. 2008. doi: 10.1007/s10646-008-0206-0.

HEMALATHA, N.; KUMAR, K. R. Insecticidal and repellent activity of PEG - Cardamom essential oil nanoparticles against *Phoenix dactylifera* infesting insect pest *Oryzaephilus surinamensis*. **European Journal of Molecular & Clinical Medicine**, v. 8, n. 3, p. 2896–2912, 2021.

IBRAHIM, A. M. A.; ALI, A. M. Silver and zinc oxide nanoparticles induce developmental and physiological changes in the larval and pupal stages of *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Asia-Pacific Entomology**, 2018. doi: 10.1016/j.aspen.2018.10.018.

JARAMILLO, J.; MUCHUGU, E.; VEGA, F. E.; DAVIS, A.; BORGEMEISTER, C.; CHABI-OLAYE, A. Some like it hot: The influence and implications of climate change on Coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*) and coffee production in East Africa. **PLoS ONE**, v. 6, n. 9, p. e24528, 14 set. 2011. doi: 10.1371/journal.pone.0024528.

JARAMILLO, M. G.; GARCIA, A. G.; PARRA, J. R. Biology, thermal requirements, and estimation of the number of generations of *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae) in the state of São Paulo, Brazil. **Journal of Economic Entomology**, v. 111, n. 5, p. 2192–2200, 26 set. 2018. doi: 10.1093/jee/toy162.

KANTRAO, S.; RAVINDRA, M. A.; AKBAR, S. M. D.; KAMALA JAYANTHI, P. D.; VENKATARAMAN, A. Effect of biosynthesized Silver nanoparticles on growth and development of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae): Interaction with midgut protease. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 20, n. 2, p. 583–589, jun. 2017. doi: 10.1016/j.aspen.2017.03.018.

LATEEF, A.; OJO, S. A.; AZEEZ, M. A.; ASAFA, T. B.; YEKEEN, T. A.; AKINBORO, A.; OLADIPO, I. C.; GUEGUIM-KANA, E. B.; BEUKES, L. S. Cobweb as novel biomaterial for the green and eco-friendly synthesis of silver nanoparticles. **Applied Nanoscience**, v. 6, n. 6, p. 863–874, 27 ago. 2016. doi: 10.1007/s13204-015-0492-9.

MADHIYAZHAGAN, P.; MURUGAN, K.; KUMAR, A. N.; NATARAJ, T.; DINESH, D.; PANNEERSELVAM, C.; SUBRAMANIAM, J.; KUMAR, P. M.; SURESH, U.; RONI, M.; NICOLETTI, M.; ALARFAJ, A. A.; HIGUCHI, A.; MUNUSAMY, M. A.; BENELLI, G. *Sargassum muticum*-synthesized silver nanoparticles: an effective control tool against mosquito vectors and bacterial pathogens. **Parasitology Research**, v. 114, n. 11, p. 4305–4317, 19 nov. 2015. doi: 10.1007/s00436-015-4671-0.

MALAIKOZHUNDAN, B.; VINODHINI, J. Nanopesticidal effects of *Pongamia pinnata* leaf extract coated zinc oxide nanoparticle against the Pulse beetle, *Callosobruchus maculatus*. **Materials Today Communications**, v. 14, p. 106–115, 2018. doi: 10.1016/j.mtcomm.2017.12.015.

MARTINS, C. H. Z.; DE SOUSA, M.; FONSECA, L. C.; MARTINEZ, D. S. T.; ALVES, O. L. Biological effects of oxidized carbon nanomaterials (1D versus 2D) on *Spodoptera frugiperda*: Material dimensionality influences on the insect development, performance and nutritional physiology. **Chemosphere**, v. 215, p. 766–774, 2019. doi: 10.1016/j.chemosphere.2018.09.178.

MICHEREFF, M. F. F.; MICHEREFF FILHO, M.; VILELA, E. F. Comportamento de acasalamento do bicho-mineiro-do-cafeeiro, *Leucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville) (Lepidoptera: Lyonetiidae). **Neotropical Entomology**, v. 36, n. 3, p. 376–382, jun. 2007. doi: 10.1590/S1519-566X2007000300005.

MUKHERJEE, P.; SENAPATI, S.; MANDAL, D.; AHMAD, A.; KHAN, M. I.; KUMAR, R.; SASTRY, M. Extracellular synthesis of Gold nanoparticles by the fungus *Fusarium oxysporum*. **ChemBioChem**, v. 3, n. 5, p. 461, 3 maio 2002. doi: 10.1002/1439-7633(20020503)3:5<461::AID-CBIC461>3.0.CO;2-X.

MUÑOZ, D. L.; ZAPATER, M. A. O.; TORREBLANCA, A.; GARCERÁ, M. D. Evaluation of the effects of titanium dioxide and aluminum oxide nanoparticles through tarsal contact exposure in the model insect *Oncopeltus fasciatus*. **Science of The Total Environment**, v. 666, p. 759–765, maio 2019. doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.02.218.

MURUGAN, K.; DINESH, D.; KAVITHAA, K.; PAULPANDI, M.; PONRAJ, T.; ALSALHI, M. S.; DEVANESAN, S.; SUBRAMANIAM, J.; RAJAGANESH, R.; WEI, H.; KUMAR, S.; NICOLETTI, M.; BENELLI, G. Hydrothermal synthesis of titanium dioxide nanoparticles: mosquitocidal potential and anticancer activity on human breast cancer cells (MCF-7). **Parasitology Research**, v. 115, n. 3, p. 1085–1096, 1 mar. 2016. doi: 10.1007/s00436-015-4838-8.

MURUGAN, K.; RONI, M.; PANNEERSELVAM, C.; AZIZ, A. T.; SURESH, U.; RAJAGANESH, R.; ARULIAH, R.; MAHYOUB, J. A.; TRIVEDI, S.; REHMAN, H.; NAJI AL-AOH, H. A.; KUMAR, S.; HIGUCHI, A.; VASEEHARAN, B.; WEI, H.; SENTHIL-NATHAN, S.; CANALE, A.; BENELLI, G. *Sargassum wightii* -synthesized ZnO nanoparticles reduce the fitness and reproduction of the malaria vector *Anopheles stephensi* and cotton bollworm *Helicoverpa armigera*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 101, p. 202–213, jan. 2018. doi: 10.1016/j.pmpp.2017.02.004.

NALLAGOUNI, C. S. R.; GANGAPURAM, B. R.; KARNATI, P. R. Green synthesis of Gold nanoparticles using leaf extract of *Caesalpinia bonducella* and its biological applications. **RESEARCH JOURNAL OF PHARMACY AND TECHNOLOGY**, v. 14, n. 2, p. 1037–1040, 2021. doi: 10.5958/0974-360X.2021.00185.2.

NANTHAKUMAR, R.; CHELLAN, R.; CHITRA, K.; SEETHALAKSHMI, S. Green synthesis of silver nanoparticles using red marine algae and evaluation of its antibacterial activity. **Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 10, n. 10, p. 2435–2438, 2018.

NEVES, P. M. O. J.; HIROSE, E. Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* para o controle biológico da broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 1, p. 77–82, fev. 2005. doi: 10.1590/S1519-566X2005000100011.

PAL, G.; RAI, P.; PANDEY, A. Green synthesis of nanoparticles: A greener approach for a cleaner future. In: SHUKLA, A. K.; IRAVANI, S. (Ed.). **Green Synthesis, Characterization and Applications of Nanoparticles**. 1. ed. [s.l: s.n.] p. 1–26.

PASCOLI, M.; LOPES-OLIVEIRA, P. J.; FRACETO, L. F.; SEABRA, A. B.; OLIVEIRA, H. C. State of the art of polymeric nanoparticles as carrier systems with agricultural applications: a minireview. **Energy, Ecology and Environment**, v. 3, n. 3, p. 137–148, 9 jun. 2018. doi: 10.1007/s40974-018-0090-2.

PATIL, S. B.; BHOJYA NAIK, H. S.; NAGARAJU, G.; VISWANATH, R.; RASHMI, S. K.; VIJAY KUMAR, M. Sugarcane juice mediated eco-friendly synthesis of visible light active zinc ferrite nanoparticles: Application to degradation of mixed dyes and antibacterial activities. **Materials Chemistry and Physics**, v. 212, p. 351–362, jun. 2018. doi: 10.1016/j.matchemphys.2018.03.038.

PERUZZOLO, M. C.; DA CRUZ, B. C. F.; RONQUI, L. Polinização e produtividade do café no Brasil. **Pubvet**, v. 14, n. 4, p. 1–6, abr. 2019. doi: 10.31533/pubvet.v13n4a317.1-6.

PETCHAROEN, K.; SIRIVAT, A. Synthesis and characterization of magnetite nanoparticles via the chemical co-precipitation method. **Materials Science and Engineering: B**, v. 177, n. 5, p. 421–427, mar. 2012. doi: 10.1016/j.mseb.2012.01.003.

PINILLA, M. G.; MARTÍNEZ, E.; VIDAURRI, G. S.; PÉREZ-TIJERINA, E. Deposition of size-selected Cu nanoparticles by inert gas condensation. **Nanoscale Research Letters**, v. 5, n. 1, p. 180–188, 6 jan. 2010. doi: 10.1007/s11671-009-9462-z.

QUEIROZ, R. B.; FANTON, C. J. Broca do café: ainda é a principal praga do cafeeiro? In: PARTELLI, F. L.; PEREIRA, L. L. (Ed.). **Conilon e Robusta no Brasil e no Mundo**. 1. ed. [s.l: s.n.] p. 103–114.

RAUWEL, P.; KÜÜNAL, S.; FERDOV, S.; RAUWEL, E. A review on the green synthesis of silver nanoparticles and their morphologies studied via TEM. **Advances in Materials Science and Engineering**, v. 2015, p. 1–9, 2015. doi: 10.1155/2015/682749.

RUDRAMURTHY, G. R.; SWAMY, M. K. Potential applications of engineered nanoparticles in medicine and biology: an update. **JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry**, v. 23, n. 8, p. 1185–1204, 10 dez. 2018. doi: 10.1007/s00775-018-1600-6.

SABRY, A. H.; RAGAEI, M. Nanotechnology and their applications in insect's pest control. In: ABD-ELSALAM, K. A.; PRASAD, R. (Ed.). **Nanobiotechnology Applications in Plant Protection**. Nanotechnology in the Life Sciences. 1. ed. Cham: Springer International Publishing, 2018. p. 1–28.

SALAMA, H. M. H. Effects of silver nanoparticles in some crop plants , common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and corn. **International Research Journal of Biotechnology**, v. 3, n. 10, p. 190–197, 2012.

SALCIDO-MARTÍNEZ, A.; SÁNCHEZ, E.; LICÓN-TRILLO, L. P.; PÉREZ-ÁLVAREZ, S.; PALACIO-MÁRQUEZ, A.; AMAYA-OLIVAS, N. I.; PRECIADO-RANGEL, P. Impact of the foliar application of magnesium nanofertilizer on physiological and biochemical parameters and yield in green beans. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, v. 48, n. 4, p. 2167–2181, 22 dez. 2020. doi: 10.15835/nbha48412090.

SALEM, A.; HAMZAH, A.; EL-TAWEELAH, N. Aluminum and Zinc oxides nanoparticles as a new methods for controlling the red flour beetles, *Tribolium castaneum* (Herbest) compared to Malathion insecticide. **Journal of Plant Protection and Pathology**, v. 6, n. 1, p. 129–137, 1 jan. 2015. doi: 10.21608/jppp.2015.53186.

SARLI, S.; GHASEMI, N. Optimization of biosynthesized Zn nanoparticles by poisonous *Taxus baccata* leaves extract and evaluation of their effect on the bacterias and MCF-7 cancer cells. **Eurasian Chemical Communications**, v. 2, n. 3, p. 302–318, 1 mar. 2020. doi: 10.33945/SAMI/ECC.2020.3.2.

SELVAN, S. M.; VIJAI ANAND, K.; GOVINDARAJU, K.; TAMILSELVAN, S.; KUMAR, V. G.; SUBRAMANIAN, K. S.; KANNAN, M.; RAJA, K. Green synthesis of copper oxide nanoparticles and mosquito larvicidal activity against dengue, zika and chikungunya causing vector *Aedes aegypti*. **IET Nanobiotechnology**, v. 12, n. 8, p. 1042–1046, 29 dez. 2018. doi: 10.1049/iet-nbt.2018.5083.

SHAHZAD, K.; MANZOOR, F. Nanoformulations and their mode of action in insects: a review of biological interactions. **Drug and Chemical Toxicology**, v. 44, n. 1, p. 1–11, 2 jan. 2021. doi: 10.1080/01480545.2018.1525393.

SHANG, Y.; HASAN, M. K.; AHAMMED, G. J.; LI, M.; YIN, H.; ZHOU, J. Applications of nanotechnology in plant growth and crop protection: a review. **Molecules**, v. 24, n. 14, p. 2558, 13 jul. 2019. doi: 10.3390/molecules24142558.

SHARMA, D.; SHARMA, S.; KAITH, B. S.; RAJPUT, J.; KAUR, M. Synthesis of ZnO nanoparticles using surfactant free in-air and microwave method. **Applied Surface Science**, v. 257, n. 22, p. 9661–9672, set. 2011. doi: 10.1016/j.apsusc.2011.06.094.

SMALL, T.; OCHOA-ZAPATER, M. A.; GALLELLO, G.; RIBERA, A.; ROMERO, F. M.; TORREBLANCA, A.; GARCERÁ, M. D. Gold-nanoparticles ingestion disrupts reproduction and development in the German cockroach. **Science of The Total Environment**, v. 565, p. 882–888, set. 2016. doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.02.032.

SONG, S. A.; CHUNG, Y. S.; KIM, S. S. The mechanical and thermal characteristics of phenolic foams reinforced with carbon nanoparticles. **Composites Science and Technology**, v. 103, p. 85–93, out. 2014. doi: 10.1016/j.compscitech.2014.08.013.

SONI, N.; PRAKASH, S. Efficacy of fungus mediated silver and gold nanoparticles against *Aedes aegypti* larvae. **Parasitology Research**, v. 110, n. 1, p. 175–184, 7 jan. 2012. doi: 10.1007/s00436-011-2467-4.

SOUZA, D. P. DE. **A vulnerabilidade da cafeicultura: Uma análise da rentabilidade econômica**. 2018. Universidade Federal da Grande Dourados, 2018.

STADLER, T.; BUTELER, M.; WEAVER, D. K.; SOFIE, S. Comparative toxicity of nanostructured alumina and a commercial inert dust for *Sitophilus oryzae* (L.) and *Rhizopertha dominica* (F.) at varying ambient humidity levels. **Journal of Stored Products Research**, v. 48, n. 3, p. 81–90, jan. 2012. doi: 10.1016/j.jspr.2011.09.004.

TABRIZI, N. S.; XU, Q.; VAN DER PERS, N. M.; LAFONT, U.; SCHMIDT-OTT, A. Synthesis of mixed metallic nanoparticles by spark discharge. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 11, n. 5, p. 1209–1218, 17 jul. 2009. doi: 10.1007/s11051-008-9568-8.

TRUONG, L.; ZAIKOVA, T.; BALDOCK, B. L.; BALIK-MEISNER, M.; TO, K.; REIF, D. M.; KENNEDY, Z. C.; HUTCHISON, J. E.; TANGUAY, R. L. Systematic determination of the relationship between nanoparticle core diameter and toxicity for a series of structurally analogous gold nanoparticles in zebrafish. **Nanotoxicology**, v. 13, n. 7, p. 879–893, 9 ago. 2019. doi: 10.1080/17435390.2019.1592259.

TUNCISOY, B. S.; TUNCISOY, M.; GOMES, T.; SOUSA, V.; TEIXEIRA, M. R.; BEBIANNO, M. J.; OZALP, P. Effects of copper oxide nanoparticles on tissue accumulation and antioxidant enzymes of *Galleria mellonella* L. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 102, n. 3, p. 341–346, 2 mar. 2019. doi: 10.1007/s00128-018-2529-8.

TUNÇSOY, B.; SUGEÇTI, S.; BÜYÜKGÜZEL, E.; ÖZALP, P.; BÜYÜKGÜZEL, K. Effects of copper oxide nanoparticles on immune and metabolic parameters of *Galleria mellonella* L. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, 17 maio 2021. doi: 10.1007/s00128-021-03261-0.

VIGNESHWARAN, N.; ASHTAPUTRE, N. M.; VARADARAJAN, P. V.; NACHANE, R. P.; PARALIKAR, K. M.; BALASUBRAMANYA, R. H. Biological synthesis of silver nanoparticles using the fungus *Aspergillus flavus*. **Materials Letters**, v. 61, n. 6, p. 1413–1418, mar. 2007. doi: 10.1016/j.matlet.2006.07.042.

VINAY, S. P.; UDAYABHANU; NAGARAJU, G.; CHANDRAPPA, C. P.; CHANDRASEKHAR, N. Hydrothermal synthesis of gold nanoparticles using spider cobweb as novel biomaterial: Application to photocatalytic. **Chemical Physics Letters**, v. 748, jun. 2020. doi: 10.1016/j.cplett.2020.137402.

XIMENES, L. J. F.; VIDAL, M. de F. Produtor de café no Brasil: mais agro e menos negócio. **Caderno Setorial ETENE**, n. 12, p. 1–16, 2017.

XIONG, S.; QI, W.; CHENG, Y.; HUANG, B.; WANG, M.; LI, Y. Universal relation for size dependent thermodynamic properties of metallic nanoparticles. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 13, n. 22, p. 10652, 2011. doi: 10.1039/c0cp90161j.

YANG, F.-L.; LI, X.-G.; ZHU, F.; LEI, C.-L. Structural characterization of nanoparticles loaded with Garlic essential oil and their insecticidal activity against *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 21, p. 10156–10162, 11 nov. 2009. doi: 10.1021/jf9023118.

YANG, L.; SUN, H.; WANG, X.; YAO, W.; ZHANG, W.; JIANG, L. An aptamer based aggregation assay for the neonicotinoid insecticide acetamiprid using fluorescent upconversion nanoparticles and DNA functionalized gold nanoparticles. **Microchimica Acta**, v. 186, n. 5, p. 308, 27 maio 2019. doi: 10.1007/s00604-019-3422-9.

ZHAO, X.; ZHOU, L.; RIAZ RAJOKA, M. S.; YAN, L.; JIANG, C.; SHAO, D.; ZHU, J.; SHI, J.; HUANG, Q.; YANG, H.; JIN, M. Fungal silver nanoparticles: synthesis, application and challenges. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 38, n. 6, p. 817–835, 18 ago. 2018. doi: 10.1080/07388551.2017.1414141.

ZIAEE, M.; GANJI, Z. Insecticidal efficacy of silica nanoparticles against *Rhizopertha dominica* F. and *Tribolium confusum* Jacquelin du Val. **Journal of Plant Protection Research**, v. 56, n. 3, p. 250–256, 1 jul. 2016. doi: 10.1515/jppr-2016-0037.

**SEGUNDA PARTE****3 ARTIGO****AS NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE CÉRIO (CeO<sub>2</sub>), ZINCO (ZnO) E COBRE (CuO) SÃO TÓXICAS OU ALTERAM AS CARACTERÍSTICAS BIOLÓGICAS DA BROCA-DO-CAFÉ *Hypothenemus hampei*?**

William Leonel Laura Villca<sup>1</sup> et al.

<sup>1</sup>Departamento de Entomologia, da Escola de Ciências Agrárias (ESAL) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras-MG, Brasil, Câmpus Universitário, CEP 37200-900

## RESUMO

Na busca pela prática de uma agricultura sustentável tem se procurado cada vez mais o uso de estratégias de controle de pragas inovadoras. Dentro dessa perspectiva, o uso de nanopartículas (NPs) na proteção de plantas destaca-se como estratégia prioritária. No presente estudo foram avaliados os efeitos tóxico, ovicida, de deterrência e de ingestão de seis NPs de óxidos metálicos (ZnO de 20 e 60 nm; CuO de 25 e 40 nm e CeO<sub>2</sub> de 25 e 70 nm) na concentração realística de 100 mg·L<sup>-1</sup>, sobre a broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). Os bioensaios foram conduzidos em delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro repetições, sendo cada uma composta por 10 fêmeas acasaladas de *H. hampei*, à exceção do bioensaio da atividade ovicida em que foram utilizados 10 ovos. Adicionalmente aos seis tratamentos, foram utilizados controles negativo (água) e positivo (ciantraniliprole), mais dois tratamentos brancos que continham os agentes estabilizantes das NPs. No bioensaio de toxicidade tóxica e no primeiro bioensaio de deterrência, as NPs foram pulverizadas sobre os insetos e nos frutos de café para a avaliação da mortalidade e da porcentagem de brocas que perfuraram o fruto na região da coroa. No teste de ingestão, as NPs foram diluídas em dieta artificial na concentração a 10 mg·L<sup>-1</sup> de diluentes e ofertadas às brocas, para avaliação da mortalidade e oviposição das fêmeas sobreviventes. Nos bioensaios de efeito ovicida e no segundo bioensaio de deterrência, os ovos e os frutos foram imersos nas soluções de NPs para avaliação da eclosão das larvas, do número de insetos atraídos e do número de frutos perfurados. As NPs administradas via contato tóxico e ingestão, não reduziram a sobrevivência de *H. hampei*, quando comparadas aos tratamentos brancos e o controle negativo. Foi constatado leve efeito de deterrência das NPs de ZnO (60 nm) e de ZnO (20 nm) sobre *H. hampei*, sendo verificado baixa porcentagem de insetos perfurando o fruto e baixa porcentagem de frutos perfurados, respectivamente. Efeito subletal foi evidenciado, com redução na oviposição das fêmeas que ingeriram dieta nos tratamentos em que se aplicaram NPs de ZnO (20 e 60 nm), CuO (40 nm) e CeO<sub>2</sub> (25 nm). As NPs não apresentaram efeito ovicida significativo, porém houve redução na taxa de eclosão de larvas de mais de 20% nos tratamentos com NPs de CuO (25 e 40 nm) e de ZnO (60 nm). Dessa forma, os efeitos das NPs sobre a broca-do-café variaram em função da forma de aplicação (tópica, ingestão, deterrente) e também com o estágio de desenvolvimento do inseto.

**Palavras-chave:** NanoInseticidas, Atividade inseticida, Manejo Integrado de Pragas, Controle de pragas, cafeeiro

### 3.1 Introdução

Um dos fatores que mais limitam a produção de café são os artrópodes pragas, com destaque para a broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), por causar grandes danos econômicos, devido à perda de peso e de qualidade, queda dos frutos e a maturação forçada (CONAB, 2021). Além disso, a broca-do-café é uma praga de difícil controle por várias razões: hábito críptico de permanecer protegida dentro da semente a maior parte do tempo; ciclo multivoltino, com quatro a sete gerações por ano; razão sexual atípica de 10:1 (fêmeas: machos) e longevidade das fêmeas que pode ser superior a 150 dias (DAMON, 2000). Ainda mais, em estados como Rondônia, a população de broca-do-café tem aumentado depois da proibição do uso do endossulfan, assim como em todo o território brasileiro (CONAB, 2020).

O controle da broca-do-café, comumente é realizado com o uso de inseticidas químicos ou microbiológicos. No entanto, por se alojar dentro do fruto há dificuldade em atingir a broca na dose ou concentração do ingrediente ativo apropriados. Além disso, nos cultivos de forma geral, mais de 90% dos inseticidas convencionais aplicados, são perdidos por evaporação durante a aplicação e por meio de escoamento para o solo (GAHUKAR; DAS, 2020). Outro aspecto importante a ser considerado, é a seleção de populações da broca-do-café resistentes devido ao uso de inseticidas sem a rotação do ingrediente ativo (BRUN et al., 1989; FFRENCH-CONSTANT; STEICHEN; BRUN, 1994), o que pode se acentuar pelo comportamento de acasalamento entre irmãos e a haplodiploidia funcional dessa espécie (BENAVIDES; GÓNGORA; BUSTILLO, 2012).

A nanotecnologia, considerada um dos pilares da agricultura contemporânea, apresenta-se como uma ferramenta para melhorar a agricultura em áreas como a agricultura de precisão com o uso de nanosensores para a detecção e degradação de contaminantes (BARUAH; DUTTA, 2009), bioestimulantes, portadores de pesticidas e fertilizantes para a liberação controlada (FU et al., 2020), proteção contra patógenos (DAE-YOUNG et al., 2017) e nanoinseticidas (RODRIGUES et al., 2021). Nanopartículas (NPs) de óxidos metálicos são relatados com relevância na agricultura, com destaque para óxido de zinco (ZnO), óxido de titânio (TiO<sub>2</sub>), óxido de cobre (CuO) e óxido de cério (CeO<sub>2</sub>) representando mais de um terço de todas as NPs estudadas (RODRIGUES et al., 2021).

Como estratégia de controle de pragas, os nanoinseticidas apresentam-se como uma alternativa promissora devido às propriedades físico-químicas que as diferenciam dos materiais

de maior tamanho, com maior relação área superficial/volume, força mecânica frente a alterações, opticamente ativas e quimicamente reativas. Além disso, as NPs por serem muito pequenas e apresentarem tamanho semelhante às proteínas celulares, são capazes de ultrapassar algumas das barreiras dos sistemas biológicos (TUNÇSOY, 2018). Este comportamento foi observado mais frequentemente em nanofertilizantes, entre eles NPs de ZnO e CuO como fertilizante foliar na cultura do café (WANG; NGUYEN, 2018; ROSSI et al., 2019; NAIK et al., 2021), CeO<sub>2</sub> juntamente com o fertilizante NPK na cultura do repolho (ABDULHAMEED; TAHA; ISMAIL, 2021), e outros aplicados como produto comercial (ELEMKE et al., 2019).

Há relatos de que NPs de ZnO causaram redução no nível de proteínas, carboidratos e lipídeos em *Spodoptera littoralis* (Boisduval, 1833) (Lepidoptera: Noctuidae) (IBRAHIM; ALI, 2018), redução da longevidade, fecundidade e o consumo de alimentos em *Anopheles stephensi* Liston (1901) (Diptera: Culicidae) e *Helicoverpa armigera* (Hubner, 1827) (Lepidoptera: Noctuidae) (MURUGAN et al., 2018). Também NPs de CuO apresentaram 100% de mortalidade larval em *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) (SELVAN et al., 2018), além de aumento na porcentagem de hemócitos apoptóticos e necróticos, estresse oxidativo e efeitos negativos no metabolismo e no sistema imunológico em *Galleria mellonella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Pyralidae) (TUNÇSOY et al., 2019; ESKIN; BOZDOĞAN, 2021; TUNÇSOY et al., 2021) e mortalidade de 86% das ninfas de *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) (Hemiptera: Aphididae) (GHIDAN; AL-ANTARY; AWWAD, 2016). Em estudo realizado por Castro et al. (2021) foi demonstrado que as NPs de CeO<sub>2</sub> ofertadas em dieta artificial para lagartas de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) causaram redução de 60% na viabilidade dos ovos e de 4,8% no peso das pupas, aumento no custo metabólico e digestibilidade, além de efeitos transgeracionais.

Efeito de NPs sobre coleópteros, principalmente, pragas de grãos armazenados também são reportados na literatura. Estudos com óxido de alumínio (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) e silício (SiO<sub>2</sub>) nanoestruturado demonstraram alta mortalidade (100%) em *Sitophilus oryzae* Linnaeus (1763) (Coleoptera: Curculionidae) (STADLER et al., 2012; EL-BENDARY; EL-HELALY, 2016), assim como com NPs de prata (Ag) (SEDIGHI et al., 2019). Além da mortalidade, algumas NPs são capazes de reduzir a fecundidade e a eclosão das larvas (DIAGNE et al., 2019; ABDEL-RAHEEM; REYAD; ALGHAMDI, 2020). Malaikozhundan e Vinodhini (2018) avaliaram NPs de ZnO sobre *Callosobruchus maculatus* (Fabricius, 1775) (Coleoptera: Bruchidae) e descobriram que a atividade da enzima digestiva no intestino médio é afetada, com prolongamento no período de desenvolvimento. Além disso, Salem et al. (2015)

demonstraram que as NPs de  $\text{Al}_2\text{O}_3$  e de  $\text{ZnO}$  reduziram significativamente o número de descendentes na espécie *Tribolium castaneum* (Herbst, 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae).

Como mencionado anteriormente, as NPs, especialmente de óxidos, apresentam efeitos letais e subletais em coleópteros e outras espécies-praga, porém, não há informações a respeito dos efeitos de NPs, que já foram testados como nanofertilizantes ou nanofungicidas, sobre a broca-do-café. Em função disso, foi hipotetizado que NPs, em função de sua forma de atuação, podem causar efeitos letais e subletais sobre *H. hampei* nos diferentes estágios de desenvolvimento.

Dessa forma, objetivou-se no presente trabalho avaliar o efeito tóxico, ovicida, de deterrência e de ingestão das NPs de  $\text{ZnO}$  (20 e 60 nm),  $\text{CuO}$  (25 e 40 nm) e  $\text{CeO}_2$  (25 e 70 nm), sobre a broca-do-café.

## **3.2 Metodologia**

### **3.2.1 Local do estudo**

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Ecotoxicologia e Manejo Integrado de Pragas (LEMIP) do Departamento de Entomologia da Universidade Federal de Lavras – UFLA, Lavras, MG.

As nanopartículas (NPs) fornecidas pelo Laboratório de Instrumentação Nuclear do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA) foram utilizadas em forma de dispersões em um meio aquoso, composto por água variando entre 86,9% e 87,8%, 0,1% de dispersante e solução de goma variando entre 12% e 13%; desenvolvidas com a finalidade de garantir estabilidade por um período prolongado.

### **3.2.2 Criação da broca-do-café**

Para iniciar a criação foram coletados frutos brocados nos cafezais localizados no Campus da Universidade Federal de Lavras, MG, Brasil e em cafezais próximos ao município de Lavras, todos sem aplicação de inseticidas. Os frutos coletados foram mergulhados em NaClO (5%) por um minuto e lavados em água corrente, com a finalidade de evitar contaminações fúngicas e possíveis microrganismos entomopatogênicos aderidos aos grãos (HIROSE; NEVES, 2002). Posteriormente, para eliminar o excesso de umidade, os grãos foram secos com papel toalha. A criação foi estabelecida em placas de Petri (9 × 1,5 cm) contendo dieta artificial adaptada de Brun, Gaudichon e Wigley (1993) (Tabela 1), com uma população inicial de brocas de 40 fêmeas e 4 machos (razão sexual 10:1), e mantida em câmara climática à temperatura de 25±1 °C, umidade relativa de 60±5 % e escotofase de 24 horas. Com o objetivo de manter a variabilidade genética dos insetos, a cada três meses novas coletas foram realizadas para inserção de indivíduos selvagens na criação.

A dieta artificial envolveu a junção de duas misturas. Inicialmente, ágar bacteriológico dissolvido em água fervente (mistura 1). Após resfriamento a 60 °C, a mistura 1 foi adicionado à mistura 2 composta por água, levedura de cerveja, caseína, açúcar, café verde em pó, leite em pó, ácido benzóico, ácido ascórbico, colesterol, mistura de sais, álcool, formaldeído, antibióticos (streptomicina, penicilina) e vitaminas. A mistura final foi removida até sua uniformização, dando como resultado a dieta artificial. A dieta após resfriada (40 °C) foi vertida em placas de Petri (9 × 1,5 cm), 45 mL em cada, formando uma camada de 0,7 cm de profundidade, e posteriormente, esterilizada sob raios UV por 12 h.

Tabela 2. Ingredientes utilizados na elaboração da dieta artificial para a criação em laboratório da broca-do-café

INGREDIENTES	QUANTIDADE
<b>Mistura 1</b>	
• Água	1000 mL
• Ágar bacteriológico	32 g
<b>Mistura 2</b>	
• Água	35 mL
• Levedura de cerveja	20 g
• Leite em pó	1,5 g
• Caseína	15 g
• Açúcar	20 g
• Café verde em pó	150 g
• Ácido benzóico	1,75 g
• Sais de Wesson	1,2 g
• Ácido ascórbico	2,8 g
• Colesterol	1 g
• Álcool	15 mL
• Formaldeído	3 mL
• Penicilina	350 mg
• Streptomicina	350 mg
• Vitaminas Vanderzants	1 g

Adaptado de Brun, Gaudichon e Wigley (1993)

### 3.2.3 Tratamentos

Os tratamentos foram constituídos de dispersões de NPs de três óxidos metálicos e dois tamanhos nanométricos diferentes, na concentração de  $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (Tabela 2), considerada por autores como uma concentração realística (SIMONIN et al., 2018; SONG; KIM, 2020). Como controle negativo foi utilizado água e como controle positivo o inseticida ciantraniliprole (Benevia<sup>®</sup>, na dose máxima recomendada pelo fabricante -  $3,75 \text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$  de água), considerado efetivo no controle da broca-do-café (COSTA et al., 2020). No bioensaio de contaminação por ingestão, a concentração especificada dos tratamentos, quanto do controle positivo foi reduzida em dez vezes. Também foram incorporados dois tratamentos-branco, contendo o solvente

(água), um dispersante e uma solução de goma adicionados nas dispersões de NPs para garantir sua estabilidade (Tabela 2).

Tabela 3. Descrição dos tratamentos testados nos bioensaios.

TRATAMENTO	ESPECIFICAÇÃO	TAMANHO DAS NPs (nm)
T0	Controle negativo (Água)	...
T1	BRANCO 1 (água 86,8%; dispersante 0,1%; água 0,1% substituindo as NPs do T3, T5, T7 e T8; solução de goma 13%)	...
T2	BRANCO 2 (água 87,8%; dispersante 0,1%; água 0,1% substituindo as NPs do T4 e T6; solução de goma 12%)	...
T3	ZnO	60
T4	ZnO	20
T5	CuO	40
T6	CuO	25
T7	CeO <sub>2</sub>	70
T8	CeO <sub>2</sub>	25
T9	Controle positivo (ciantraniliprole)	...

### 3.2.4 Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado nos bioensaios foi o inteiramente casualizado com quatro repetições por tratamento, sendo cada repetição composta por dez fêmeas acasaladas jovens da broca-do-café, a exceção do bioensaio de ação ovicida, no qual foram utilizados dez ovos por repetição.

Todos os bioensaios foram realizados em câmara climática regulada à temperatura de  $25 \pm 1$  °C, umidade relativa de  $65 \pm 5$  % e escotofase de 24 horas.

### 3.2.5 Efeito da aplicação tópica das nanopartículas aos adultos da broca-do-café

A toxicidade das NPS foi medida pela porcentagem de mortalidade após contato tópico. As pulverizações foram realizadas via torre de Potter (Auto-Load; Burkard Scientific)

(POTTER, 1952) a uma pressão de 100 kPa (PASSOS et al., 2018). Para esse processo foram utilizadas placas de Petri (20 × 2,5 cm) contendo dez insetos em cada, e aplicados 2 mL de cada tratamento. Em seguida, os dez insetos foram transferidos para placas de Petri menores (5 × 1,0 cm) contendo dieta artificial (pedaço discoidal de 3,57 cm de diâmetro × 0,5 cm de espessura) e cobertas por filme de PVC com microfuro, para permitir troca de gases com o meio externo. Foram realizadas quatro avaliações as 24, 48, 72 e 96 horas após a pulverização por meio da contagem dos insetos mortos.

### 3.2.6 Deterrência das nanopartículas sobre adultos da broca-do-café

Foram realizados dois bioensaios utilizando frutos não brocados de café do cultivar Mundo Novo, no estágio “chumbão”.

Em um primeiro bioensaio, a região da coroa de dez frutos por cada repetição, receberam 2 mL da solução de cada tratamento via torre de Potter (Material suplementar 1). Foi escolhida a coroa devido à preferência da broca para o broqueamento dessa região. Em seguida, os frutos pulverizados, foram colocados em placas de Petri (9 × 1,5 cm) contendo dez brocas acasaladas na proporção de um fruto para cada broca (1:1) e vedadas com filme de PVC.

No segundo bioensaio, dez frutos por cada repetição foram mergulhados nos tratamentos. Posteriormente, os frutos contaminados foram colocados também em placas de Petri (9 × 1,5 cm) contendo dez brocas acasaladas na mesma proporção que no primeiro bioensaio e vedadas com filme de PVC.

Em cada um dos bioensaios foram realizadas três avaliações, as 24, 48 e 72 horas após o contato dos insetos com os frutos, contando-se o número de frutos perfurados e de brocas que conseguiram perfurar o fruto. Os tratamentos foram classificados como deterrentes ou não deterrentes em função da fórmula adaptada de Abbott (1925) e pela classificação de Oliveira e Santos (2020):

$$\text{Índice de preferência (IP)} = \frac{\text{NIFC} - \text{NIFT}}{\text{NIFC}}$$

Onde:

NIFC: Número de insetos nos frutos controle;

NIFT: Número de insetos nos frutos contaminados com os tratamentos;

Tratamento atraente: IP, -1,0 a -0,10;

Tratamento neutro: IP, -0,1 a +0,10;

Tratamento deterrente: IP, +0,10 a +1,0.

### **3.2.7 Efeito das nanopartículas sobre adultos da broca-do-café em teste de ingestão**

As NPs na concentração de  $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de dieta fresca foram oferecidas aos adultos da broca-do-café. Essa concentração foi conseguida utilizando 1 mL da solução estoque dos tratamentos ( $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) e 9 mL de dieta artificial fresca a  $40 \text{ }^\circ\text{C}$  de temperatura, que depois foram misturados até alcançar sua uniformização. A dieta contaminada foi dividida em pedaços discoidais de 5 cm de diâmetro e 0,5 cm de espessura, oferecidos aos insetos adultos em placas de Petri ( $5 \times 1 \text{ cm}$ ) vedadas com filme de PVC. Para o controle positivo, de igual forma que nos tratamentos, a concentração do inseticida foi reduzida em dez vezes, utilizando 1 mL da solução estoque de  $3,75 \text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$  e 9 mL de dieta fresca a  $40 \text{ }^\circ\text{C}$ , para adquirir uma concentração final de  $0,375 \text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$  de dieta. O número de indivíduos mortos as 24, 48, 72 e 96 horas após a exposição da dieta às brocas foi avaliado, além da contagem do número de ovos colocados (efeito subletal) pelas fêmeas que sobreviventes, dez dias após a aplicação dos tratamentos.

### **3.2.8 Efeito ovicida das nanopartículas sobre adultos da broca-do-café**

Frutos não brocados coletados no campo foram infestados com fêmeas acasaladas da broca, provenientes da criação de laboratório, duas brocas para cada fruto. Após três dias os frutos foram abertos para a coleta dos ovos. A coleta foi feita com um pincel com fios finos para evitar a danificação dos ovos. Os ovos com até 72 horas de idade foram contaminados por imersão em cada tratamento, por um período de 10 segundos e, em seguida, colocados em placas de Petri ( $5 \times 1 \text{ cm}$ ) com a base coberta com papel-filtro umedecido, dez ovos em cada placa. A umidade do papel-filtro foi mantida com 1 mL de água destilada em cada placa por dia, aplicada durante o período do bioensaio. Foram realizadas avaliações do quarto até o nono dia, contabilizando o número de larvas eclodidas, sendo que as mesmas foram transferidas para placas de Petri ( $5 \times 1 \text{ cm}$ ), contendo uma camada de 0,5 cm de espessura de dieta artificial, e observadas até o décimo quarto dia quanto à sua sobrevivência.

### **3.2.9 Análise estatística**

As análises estatísticas foram realizadas usando o software estatístico R (R Core Team 2021). Inicialmente, os dados do efeito de deterrência e ovicida e o número de ovos/fêmea após ingestão de dieta artificial contaminada, foram submetidos aos testes de normalidade do erro (SHAPIRO; WILK, 1965) e homogeneidade das variâncias (BARTLETT, 1937).

Curvas de sobrevivência dos insetos tratados pelas vias de contato e ingestão foram estimadas pelo método de Kaplan-Meier. O teste Log-Rank, utilizado para verificar o efeito

geral dos tratamentos na sobrevivência, foi seguido por teste de comparação múltipla entre as curvas (teste de Holm-Sidak). Esses procedimentos foram realizados através de funções dos pacotes *survival* e *survminer*.

Os dados de número de ovos/fêmea, foram ajustados a modelos lineares generalizados (GLM) com distribuição de erros Quasi-poisson, para explicar a sobredispersão. Para a análise dos dados relacionados com a deterrência, foram usados GLM com distribuição de erros Quasi-binomial. A significância dos tratamentos foi determinada usando o teste F. As médias dos tratamentos no número de ovos/fêmea, porcentagem de insetos que perfuraram a coroa, de insetos atraídos e de frutos brocados foram comparadas por meio do teste de comparação múltipla de Tukey, com nível de significância de 5%.

Os dados do efeito ovicida foram analisados usando modelos lineares generalizados mistos (GLMM, função *glmer* do pacote *lme4*) para verificar o efeito do tempo após aplicação dos tratamentos, dos tratamentos e da interação tempo  $\times$  tratamento na eclosão das larvas (BATES et al., 2015). Os modelos incluíram ‘repetição’ como fator aleatório no intercepto (1/repetição) para corrigir a dependência temporal das avaliações. O modelo foi ajustado com distribuição binomial (apropriada para dados proporcionais) e função de ligação logit. A significância dos fatores (tempo, tratamento e interação tempo  $\times$  tratamento) foi determinada usando teste de chi-quadrado ( $\chi^2$ ) da razão de verossimilhança (função *Anova* do pacote *car*) (FOX; WEISBERG, 2019).

### 3.3 Resultados

#### 3.3.1 Toxicidade tóxica das nanopartículas aos adultos de *Hypothenemus hampei*

A sobrevivência foi afetada pelos tratamentos (teste Log-Rank;  $\chi^2(9) = 97,5$ ;  $p < 0,001$ ) ao longo das avaliações. No entanto, as NPs testadas não causaram redução da sobrevivência em comparação com os demais tratamentos, à exceção do controle positivo (ciantraniliprole), após 96 horas de exposição das fêmeas da broca, o qual permitiu menos de 20% de sobrevivência (Figura 1).

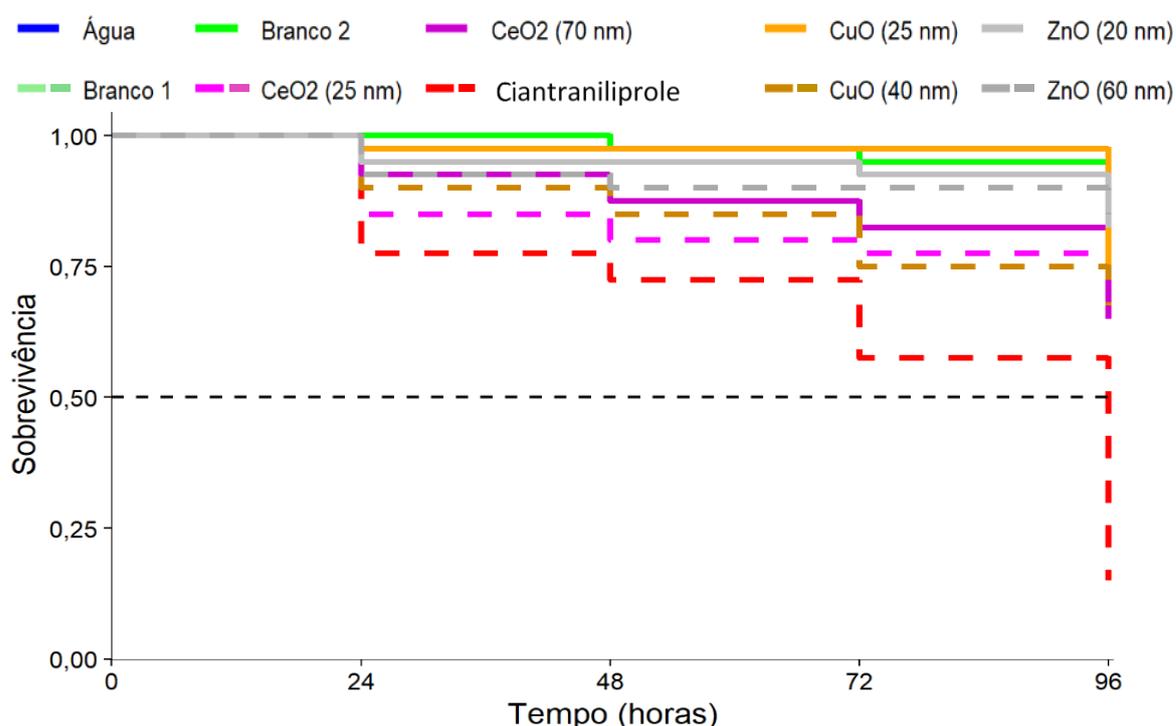


Figura 1 - Curvas de sobrevivência de *Hypothenemus hampei* quando exposta aos tratamentos via aplicação tóxica. A linha horizontal tracejada indica que pelo menos um tratamento causou redução de 50% na sobrevivência dos insetos.

#### 3.3.2 Efeito de deterrência das nanopartículas sobre adultos de *Hypothenemus hampei*

Quando os frutos tiveram a região da coroa tratadas e ofertados aos insetos, verificou-se que NPs de CeO<sub>2</sub> (25 nm) e ZnO (60 nm) apresentaram efeito deterrente, sendo semelhantes ao controle positivo ( $F = 12,95$ , g.l. = 9,  $p < 0,001$ ). As NPs de ZnO (20 nm), CeO<sub>2</sub> (70 nm) e CuO (25 e 40 nm), não apresentaram deterrência, sendo semelhantes aos tratamentos brancos. Referente ao controle positivo (ciantraniliprole), observou-se diminuição do ataque aos frutos, demonstrando efeito de deterrência. A capacidade de ataque das fêmeas adultas aos frutos tratados não se alterou nas avaliações de 48 e 72 h após exposição às NPs (Tabela 3).

Tabela 3 – Porcentagem de fêmeas de *Hypothenemus hampei* que perfuraram a coroa, 24 h após aplicação das nanopartículas

<b>Nanopartículas (100 mg·L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Média (± EP)</b>
Água (Controle negativo)	42,50 ± 5,53a
<b>Branco 1*</b>	40,00 ± 8,16a
ZnO (60 nm)	17,50 ± 2,89bc
CuO (40 nm)	45,00 ± 7,45a
CeO <sub>2</sub> (70 nm)	30,00 ± 4,71ab
CeO <sub>2</sub> (25 nm)	15,00 ± 3,33bc
<b>Branco 2*</b>	35,00 ± 3,33ab
ZnO (20 nm)	30,00 ± 4,71ab
CuO (25 nm)	50,00 ± 4,71a
Ciantraniliprole (Controle positivo)	0,00 ± 0,00c
g.l.	9
F	12,95
<i>p</i> -valor	<0,001

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p = 0,05$ ).  
\* Branco 1 e 2 correspondem aos agentes utilizados na estabilização das dispersões de NPs. As comparações das dispersões de NPs foram realizadas com os respectivos brancos.

Quando os frutos foram imersos nas soluções dos tratamentos (NPs), constatou-se que o número de insetos que perfuraram os frutos foi semelhante aos tratamentos brancos e ao controle negativo. Foi observado menor número de insetos que perfuraram os frutos tratados com o controle positivo em comparação com os demais tratamentos ( $F = 14,16$ , g.l. = 9,  $p < 0.001$ ), sendo que apenas 12,50% dos insetos atacaram os frutos (Tabela 4). Baseado no índice de preferência, as NPs de ZnO (60 nm) foram classificadas como deterrentes, assim como o inseticida ciantraniliprole (Figura 2)

Tabela 4 – Porcentagem de insetos que perfuraram os frutos (%) 24 horas após aplicação dos tratamentos, índice de preferência (IP) e classificação dos compostos

Nanopartículas (100 mg·L <sup>-1</sup> )	% (± EP)
Água (Controle negativo)	90,00 ± 4,08a
<b>Branco 1*</b>	92,50 ± 2,50a
ZnO (60 nm)	67,50 ± 13,77a
CuO (40 nm)	92,50 ± 4,79a
CeO <sub>2</sub> (70 nm)	92,50 ± 2,50a
CeO <sub>2</sub> (25 nm)	85,00 ± 9,57a
<b>Branco 2*</b>	87,50 ± 2,50a
ZnO (20 nm)	90,00 ± 4,08a
CuO (25 nm)	97,50 ± 2,50a
Ciantraniliprole (Controle positivo)	12,50 ± 9,46b
g.l.	9
F	14,16
<i>p</i> -valor	<0,001

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p = 0,05$ ).

\* Branco 1 e 2 correspondem aos agentes utilizados na estabilização das dispersões de NPs. As comparações das dispersões de NPs foram realizadas com os respectivos brancos.

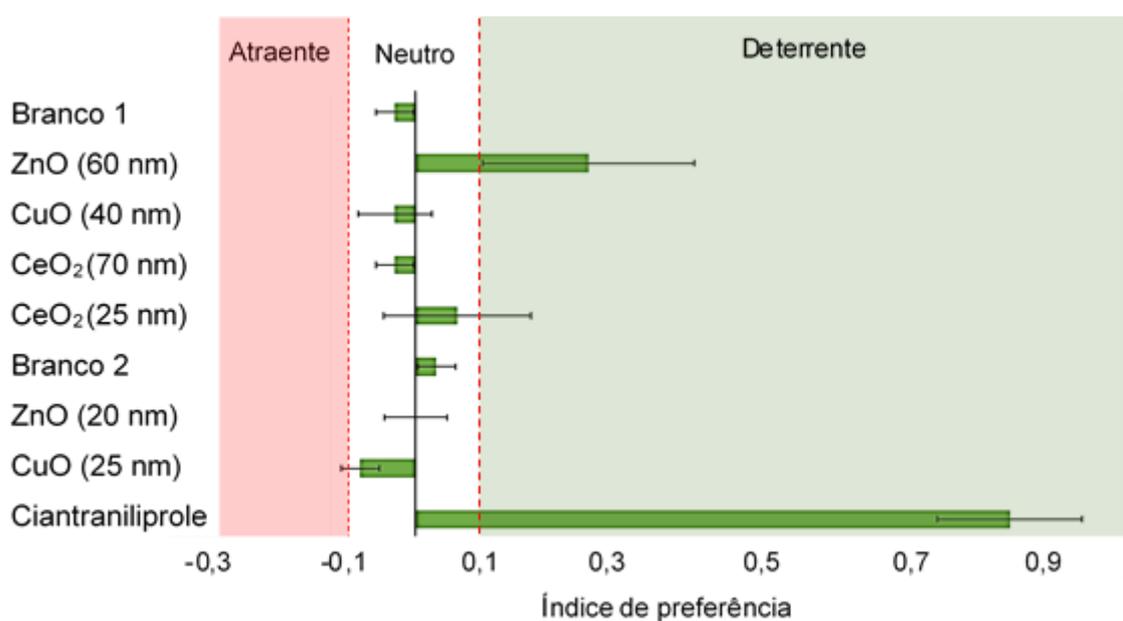


Figura 2. Índice de preferência (IP) estimada pela fórmula adaptada de Abbott (1925) e classificação dos compostos segundo Oliveira e Santos (2020)

Quanto ao número de frutos perfurados, as NPs de ZnO (20 e 60 nm), CeO<sub>2</sub> (25 nm) e CuO (40 nm), apresentaram menores médias em comparação ao controle negativo. No entanto, o único tratamento que se diferenciou do respectivo branco, apresentando menor número de frutos brocados foi o ZnO (20 nm). Por outro lado, apenas 5% dos frutos expostos ao controle positivo (ciantraniliprole) foram perfurados pela broca, diferindo-se dos demais tratamentos (Tabela 5).

Tabela 5– Porcentagem de frutos de café perfurados por fêmeas de *Hypothenemus hampei* após 24 horas de exposição aos frutos.

<b>Nanopartículas (100 mg·L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Média (± EP) de frutos perfurados</b>
Água (Controle negativo)	87,50 ± 2,50a
<b>Branco 1*</b>	75,00 ± 6,45ac
ZnO (60 nm)	52,50 ± 4,79bc
CuO (40 nm)	60,00 ± 7,07bc
CeO <sub>2</sub> (70 nm)	62,50 ± 7,50ac
CeO <sub>2</sub> (25 nm)	57,50 ± 7,50bc
<b>Branco 2*</b>	77,50 ± 6,29ab
ZnO (20 nm)	47,50 ± 8,54c
CuO (25 nm)	65,00 ± 2,89ac
Ciantraniliprole (Controle positivo)	5,00 ± 2,89d
g.l.	9
F	13,10
p-valor	<0,001

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p = 0,05$ ).

\* Branco 1 e 2 correspondem aos agentes utilizados na estabilização das dispersões de NPs. As comparações das dispersões de NPs foram realizadas com os respectivos brancos.

### 3.3.3 Efeito das nanopartículas sobre *Hypothenemus hampei* em teste de ingestão

As NPs acrescentadas à dieta artificial não reduziram a sobrevivência dos insetos. Por outro lado, houve redução significativa na sobrevivência no tratamento com o inseticida ciantraniliprole quando comparada com os demais tratamentos (teste Log-Rank;  $\chi^2(9) = 104,0$ ;  $p < 0,001$ ), ao longo das avaliações. As médias de sobrevivência observadas nos tratamentos

com as NPs foram superiores a 90%; por outro lado, no controle positivo foi verificado sobrevivência de apenas 60% dos insetos (Figura 2).

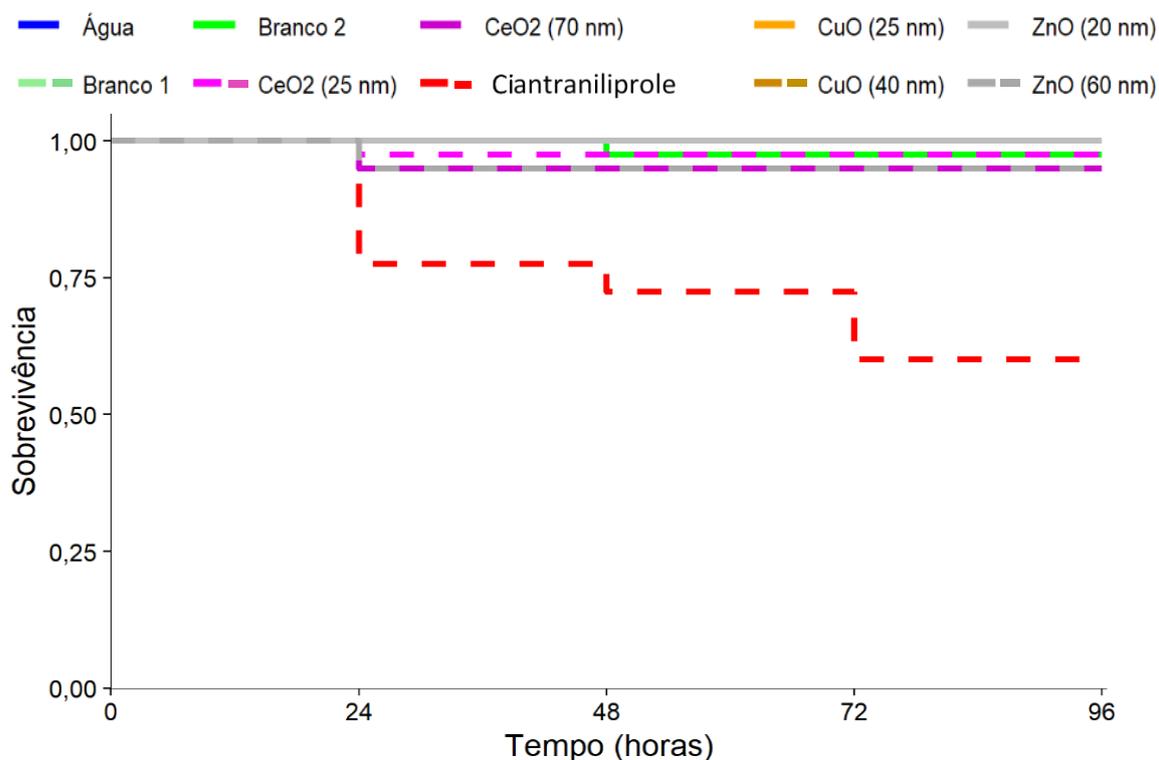


Figura 3 - Curvas de sobrevivência de *Hypothenemus hampei* quando alimentadas com dieta artificial tratada com as NPs.

Referente a capacidade de oviposição, constatou-se que as NPs reduziram o número de ovos em comparação ao controle negativo ( $F = 9,70$ , g.l. 9,  $p < 0,001$ ), porém, NPs de CeO<sub>2</sub> (70 nm) e de CuO (25 nm) apresentaram número de ovos semelhante ao seus respectivos brancos. O inseticida ciantraniliprole (controle positivo) inibiu a oviposição das fêmeas sobreviventes (Tabela 7).

Tabela 7 – Número de ovos ( $\pm$  EP) colocado por fêmea de *Hypothenemus hampei* sobrevivente aos 10 dias após exposição à dieta artificial tratada com as NPs

<b>Nanopartículas (100 mg·L<sup>-1</sup>)</b>	<b>N° de ovos/fêmea</b>	<b>N° de fêmeas</b>
Água (Controle negativo)	9,00 $\pm$ 0,41 <b>a</b>	40
<b>Branco 1*</b>	7,50 $\pm$ 1,04 <b>ab</b>	39
ZnO (60 nm)	0,25 $\pm$ 0,25 <b>d</b>	38
CuO (40 nm)	0,75 $\pm$ 0,75 <b>d</b>	40
CeO <sub>2</sub> (70 nm)	3,25 $\pm$ 1,60 <b>bcd</b>	38
CeO <sub>2</sub> (25 nm)	1,5 $\pm$ 0,50 <b>cd</b>	39
<b>Branco 2*</b>	5,75 $\pm$ 1,31 <b>ac</b>	39
ZnO (20 nm)	1,25 $\pm$ 0,25 <b>d</b>	40
CuO (25 nm)	2,50 $\pm$ 1,50 <b>bcd</b>	40
Ciantraniliprole (Controle positivo)	0,00 $\pm$ 0,00 <b>d</b>	24
g.l.	9	
F	9,70	
<i>p</i> -valor	<0,001	

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p = 0,05$ ).  
 \* Branco 1 e 2 correspondem aos agentes utilizados na estabilização das dispersões de NPs. As comparações das dispersões de NPs foram realizadas com os respectivos brancos.

### 3.3.4 Efeito ovicida das nanopartículas sobre *Hypothenemus hampei*

O número de larvas eclodidas aumentou no decorrer das avaliações ( $\chi^2(1) = 576,65$ ;  $p < 0,001$ ); no entanto, não ocorreram diferenças significativas entre os tratamentos ( $\chi^2(9) = 14,51$ ;  $p = 0,10$ ). Verificou-se também que os tratamentos à base de NPs de CuO (25 e 40 nm) e de ZnO (60 nm) apresentaram médias inferiores a 75% no nono dia (Figura 3).

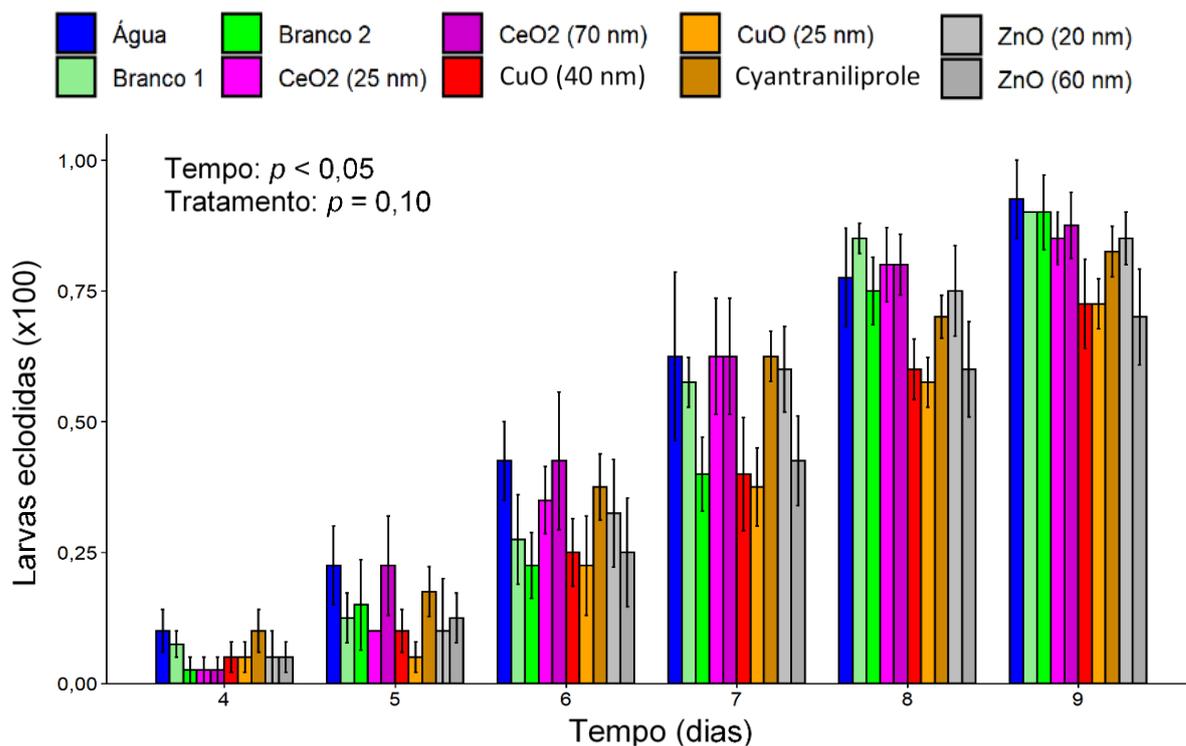


Figura 4 – Porcentagem de larvas eclodidas (média  $\pm$  EP) em função do tempo (4 a 9 dias pós tratamento) e do tratamento.

Aos quatorze dias da imersão dos ovos da broca nas soluções dos tratamentos, observou-se que o 100% das larvas eclodidas estavam vivas, ao passo que no controle positivo, as larvas eclodidas sobreviveram por apenas poucas horas.

Referente à duração do período embrionário, não houve efeito negativo das NPs em comparação com os tratamentos brancos e com os controles ( $F = 0,829$ , g.l. = 9,  $p > 0,05$ ), sendo que as médias variaram de 6,59 dias no controle negativo a 7,31 dias no tratamento branco 2 (Material suplementar 2).

### 3.4 Discussão

A atividade inseticida das NPs por meio do contato tópico, ingestão e em ensaios de deterrência e outros meios de contato já foi reportada para várias espécies de insetos-praga (GOSWAMI et al., 2010; ZAHIR et al., 2012; ZIAEE; GANJI, 2016; PRADHAN; MAILAPALLI, 2020). Neste trabalho procurou-se estudar se NPs testadas como nanofertilizantes e nanofungicidas, causam efeitos letais e subletais sobre a broca-do-café, para possível uso em programas de manejo integrado de pragas.

Entre as NPs utilizadas, nenhuma mostrou redução significativa na sobrevivência por meio de exposição tópica. Embora alguns autores destacam que o efeito das NPs possa estar relacionado com o tamanho das partículas (FOLDBJERG et al., 2015; RODRIGUES et al., 2021) e também com a concentração (SAYED; KIM; BEHLE, 2017), neste estudo com a utilização de NPs de tamanhos diferentes não foi verificado nenhum efeito sobre a sobrevivência da broca-do-café. Segundo Auffan et al. (2009), as propriedades únicas das NPs estão associadas aos diâmetros de 30 nm ou menos. Há relatos na literatura de que NPs de CeO<sub>2</sub> de 5 a 20 nm apresentam alta atividade larvicida sobre *A. aegypti* (GOPINATH et al., 2015). No entanto, é importante destacar que mesmo sem efeito na sobrevivência em todos os tratamentos com NPs, ocorreu redução na locomoção dos insetos, os quais demandaram mais tempo para iniciar a alimentação. Possivelmente, estas mudanças comportamentais foram derivadas dos efeitos subletais, como já reportado em lagartas de *S. frugiperda* (CASTRO et al., 2021), visto que as NPs ao penetrarem no exoesqueleto interagem com as biomoléculas funcionais (BENELLI, 2018), alterando a fisiologia normal do inseto.

Referente aos efeitos do consumo de dieta tratada com NPs, nenhum dos tratamentos causou mortalidade superior a 10%, mesmo às 96 horas de exposição. De modo geral, a toxicidade das NPs está diretamente relacionada à concentração, como demonstrado por Keratum et al. (2015), quando aplicaram NPs de ZnO sobre *S. oryzae*. Em outros estudos, também com *S. oryzae*, foi constatada mortalidade próxima a 50% aplicando-se NPs de ZnO, unicamente na dose 2000 mg por cada kg de arroz (GOSWAMI et al., 2010; DAS; YADAV; DEBNATH, 2019). Para NPs de CuO na concentração de 300 mg por 100 g de trigo, foram observadas mortalidades inferiores a 40% para *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae) e *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae), quatro dias após o contato com o trigo tratado (BADAWY et al., 2021). É importante salientar que no bioensaio de ingestão, foram testadas NPs na concentração de 10 mg·L<sup>-1</sup>, dez vezes inferior àquela utilizada

nos demais testes, o que pode ter comprometido o efeito direto sobre a sobrevivência. Sabe-se que a membrana celular é seletivamente permeável e controla o movimento de pequenas e grandes moléculas para o interior de células. Desta forma, as espécies que vivem em ambientes contendo NPs geralmente são contaminados, visto que as NPs penetrarão em seus corpos, principalmente pelo intestino, se acumulando dentro da célula (TUNÇSOY, 2018). Dessa forma, acreditou-se que mesmo em baixas concentrações as NPs administradas por meio da dieta artificial se acumulariam no intestino com reflexos na sobrevivência dos insetos. Além disso, as NPs podem ter sofrido alterações em relação ao tamanho com o passar do tempo, mesmo tendo o cuidado de se utilizar agentes estabilizantes (tratamento branco). Como mencionado por Rodrigues et al. (2021), as NPs tendem a se aglomerar dependendo das interações físico-químicas, o que faz com que o tamanho das partículas determinado por microscopia eletrônica não expresse necessariamente o tamanho real em que chegarão aos tecidos vegetais, ou mesmo nos tecidos dos insetos que foram alimentados com dieta artificial tratada com as NPs. O sucesso da efetividade de NPs depende tanto da sua síntese, quanto da sua modificação superficial, isto é, da sua funcionalização que pode alterar suas propriedades físicas, químicas ou mecânicas, além de sua estrutura superficial (FERRARI et al., 2012); a funcionalização pode melhorar as características das NPs, por exemplo, evitar a aglomeração.

Por outro lado, foi observado redução considerável na oviposição das fêmeas que se alimentaram de dieta artificial tratada com NPs. Durante as avaliações no período de 10 dias, ocorreu necessidade de manuseio dos ovos e se constatou contaminação fúngica, o que pode ter influenciado nos resultados apresentados. O efeito subletal mencionado, pode estar relacionado também ao tempo de exposição (10 dias) à dieta artificial contaminada, como demonstrado por Keratum et al. (2015) e Das et al. (2019). Além disso deve-se considerar que no início, normalmente, as NPs são acumulados no sistema digestivo (ROCHE et al., 2015; MARUCCI et al., 2019), e só a partir daí inicia-se a produção de espécies reativas de oxigênio e uma baixa eficiência dos mecanismos de compensação do estresse oxidativo, podendo causar efeito negativo no sistema reprodutivo do inseto (DZIEWIĘCKA et al., 2018).

Em relação a deterrência, foi possível constatar sua ocorrência para NPs de ZnO (60 nm) com menor número de insetos perfurando os frutos e ZnO (20 nm) com menor número de frutos sendo brocados. Compostos voláteis como metilciclohexano, etilbenzeno, nonano, 1-octen-3-ol, (R)-limoneno e (R)-3-etil-4-metilpentanol são usados para a broca-do-café localizar os frutos (MENDESIL et al., 2009). Como mencionado por Shah e Tokeer (2010), NPs de ZnO são efetivas como agentes anti-odor, o que pode ter bloqueado os voláteis emitidos pelos frutos

de café, dificultando a localização dos frutos pelas brocas e, conseqüentemente, evitando a elevada porcentagem de frutos brocados.

É importante mencionar que na literatura não há relatos de NPs de óxidos metálicos com efeito de deterrência ou repelência contra espécies-praga, ao contrário de alguns óleos essenciais, os quais foram usados como repelentes em forma de NPs (HEMALATHA; KUMAR, 2021). Frequentemente, utilizam-se as NPs para preparar compostos deterrentes ou repelentes contendo óleos essenciais como princípio ativo, para uma melhor eficácia (BENELLI; CASELLI; CANALE, 2017), nesse caso as NPs funcionam como *carriers* ou transportadores de óleos essenciais (PUGLIA et al., 2010; RIBEIRO et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2018; CÁCERES et al., 2019; KELIDARI et al., 2021).

O efeito ovicida não foi evidente nos tratamentos à base de NPs, ao contrário de outros estudos que relatam o efeito ovicida destas NPs sobre mosquitos da família Culicidae (AL-DHABI; VALAN ARASU, 2018; SURESH et al., 2020). Há relatos na literatura de que pode ocorrer também mudanças na morfologia dos ovos após contaminação com NPs de óxido de grafeno (DZIEWIĘCKA et al., 2018), aspecto também constatado no presente estudo por meio de mudança na cor e perda de turgidez do córion (Material suplementar 3). A baixa atividade ovicida das NPs testadas pode ser atribuída à barreira que representa o córion, uma estrutura de proteção formada por várias camadas, que evita que o embrião seja atingido por uma dose suficiente inviabilizar o embrião. No entanto, em alguns casos como mencionado por Dzięwiecka et al. (2018), pode se formar uma estrutura de resistência mecânica no córion que impeça a eclosão das larvas ou mesmo a troca gasosa entre o embrião e o meio externo.

Um fato que chamou atenção em relação ao efeito ovicida foi que o controle positivo à base de ciantraniliprole, apresentou resultado similar ao controle negativo. Esse fato pode ser explicado pelo modo de ação deste inseticida, que afeta diretamente a regulação da contração muscular do inseto (LAHM et al., 2005), entrando nas larvas e nos adultos não somente por ingestão, mas também por contato.

Em linhas gerais, os mecanismos de toxicidade das NPs à base óxidos incluem, ruptura de membranas, oxidação de proteínas, alterações no DNA, interrupção da transdução de energia, formação de espécies reativas de oxigênio e liberação de constituintes tóxicos no interior do organismo do inseto (TUNÇSOY, 2018). A maioria desses mecanismos pode ser considerado como efeitos subletais, o que representa um aspecto positivo das NPs, no que diz

respeito ao impacto das NPs sobre os inimigos naturais. Acredita-se que predadores e parasitoides, provavelmente, não serão atingidos diretamente às mesmas concentrações de NPs, já que não terão contato direto com as estruturas vegetais tratadas. No entanto, estudos futuros se fazem necessários para avaliar o impacto das NPs sobre o terceiro nível trófico.

Em função do exposto, acredita-se que os efeitos subletais das NPs testadas sobre adultos e ovos de *H. hampei* sejam mais relevantes do que efeitos letais assim como observado em outras espécies com NPs de ZnO, CeO<sub>2</sub> e CuO (IBRAHIM; ALI, 2018; MURUGAN et al., 2018; CASTRO et al., 2021; ESKIN; BOZDOĞAN, 2021). Isto demonstra que as NPs testadas claramente podem ser utilizadas como nanofertilizantes ou nanofungicidas sem causar efeitos letais significativos sobre a entomofauna presente na cultura do café. Ainda mais, entre os aspectos positivos em se utilizar as NPs como inseticidas destacam-se, a baixa concentração requerida para causar toxicidade nas pragas, quando comparado com inseticidas convencionais (SAINI et al., 2014), modo de ação específico (BENELLI, 2018), seletividade (ANJALI et al., 2010), decomposição no solo, além de que em muitos casos as NPs podem ser reutilizadas pelas plantas como nutrientes (RODRIGUES et al., 2021), ou até podem contribuir para a degradação de alguns inseticidas convencionais, como os organofosforados, no caso das NPs de CeO<sub>2</sub> (KHAKSAR et al., 2017; SALERNO et al., 2017).

Além de constatar a toxicidade das NPs é de fundamental importância compreender os mecanismos de toxicidade das NPs, para projetá-los melhor como inseticidas, seja por meio de mudanças de componentes ou mesmo de rotas sintéticas, para obter sistemas com mínimos efeitos colaterais ambientais (RODRIGUES et al., 2021), incluindo a população dos inimigos naturais nos sistemas agroecológicos.

### **3.5 Conclusões**

Verificou-se que não houve efeito tóxico e de ingestão das NPs testadas sobre a sobrevivência de *H. hampei*, nem efeito ovicida. Porém, constatou-se efeito subletal com consequente redução do número de ovos colocados por fêmeas que se alimentaram com dieta tratada com as NPs de ZnO (20 e 60 nm), CuO (40 nm) e CeO<sub>2</sub> (25 nm), além de leve efeito de deterrência de NPs de ZnO (60 nm) sobre *H. hampei* com baixa porcentagem de insetos perfurando os frutos e de ZnO (20 nm) com baixa porcentagem de frutos brocados. Esses resultados mostram que os efeitos letais dos nanofertilizantes e nanofungicidas testados, em concentrações realísticas, não são significativos sobre a população de brocas.

## **Agradecimentos**

O autor agradece ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos, ao Consórcio Embrapa-Café, ao professor Dr. Hudson Wallace Pereira de Carvalho do Centro de Energia Nuclear na Agricultura – CENA/USP, pelo fornecimento das NPs e ao Dr. Elizeu de Sá pela ajuda na confecção das figuras.

## REFERÊNCIAS

ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v. 18, n. 2, p. 265–267, 1 abr. 1925. doi: 10.1093/jee/18.2.265a.

ABDEL-RAHEEM, M. A.; REYAD, N. F.; ALGHAMDI, H. A. Virulence of nanoparticle preparation of entomopathogenic fungi and entomopathogenic bacteria against red palm weevil *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier) (Coleoptera: Curculionidae). **Romanian Biotechnological Letters**, v. 25, n. 1, p. 1151–1159, 2020. doi: 10.25083/rbl/25.1/1151.1159.

ABDULHAMEED, M. F.; TAHA, A. A.; ISMAIL, R. A. Influence of cerium oxide nanoparticles and NPK nanofertilizers on growth and yield of cabbage plant. **Plant Archives**, v. 21, n. Suppliment-1, p. 1326–1331, 15 jan. 2021. doi: 10.51470/PLANTARCHIVES.2021.v21.S1.208.

AL-DHABI, N.; VALAN ARASU, M. Environmentally-friendly green approach for the production of zinc oxide nanoparticles and their anti-fungal, ovicidal, and larvicidal properties. **Nanomaterials**, v. 8, n. 7, p. 500, 6 jul. 2018. doi: 10.3390/nano8070500.

ANJALI, C. H.; SUDHEER KHAN, S.; MARGULIS-GOSHEN, K.; MAGDASSI, S.; MUKHERJEE, A.; CHANDRASEKARAN, N. Formulation of water-dispersible nanopermethrin for larvicidal applications. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 73, n. 8, p. 1932–1936, nov. 2010. doi: 10.1016/j.ecoenv.2010.08.039.

AUFFAN, M.; ROSE, J.; BOTTERO, J.-Y.; LOWRY, G. V.; JOLIVET, J.-P.; WIESNER, M. R. Towards a definition of inorganic nanoparticles from an environmental, health and safety perspective. **Nature Nanotechnology**, v. 4, n. 10, p. 634–641, 13 out. 2009. doi: 10.1038/nano.2009.242.

BADAWY, A. A.; ABDELFATTAH, N. A. H.; SALEM, S. S.; AWAD, M. F.; FOUDA, A. Efficacy assessment of biosynthesized Copper oxide nanoparticles (CuO-NPs) on stored grain insects and their impacts on morphological and physiological traits of wheat (*Triticum aestivum* L.) plant. **Biology**, v. 10, n. 3, p. 233, 17 mar. 2021. doi: 10.3390/biology10030233.

BARTLETT, M. S. Properties of sufficiency and statistical tests. **Proceedings of the Royal Society of London. Series A - Mathematical and Physical Sciences**, v. 160, n. 901, p. 268–282, 18 maio 1937. doi: 10.1098/rspa.1937.0109.

BARUAH, S.; DUTTA, J. Nanotechnology applications in pollution sensing and degradation in agriculture: a review. p. 191–204, 2009. doi: 10.1007/s10311-009-0228-8.

BATES, D.; MÄCHLER, M.; BOLKER, B.; WALKER, S. Fitting linear mixed-effects models using *lme4*. **Journal of Statistical Software**, v. 67, n. 1, 2015. doi: 10.18637/jss.v067.i01.

BENAVIDES, P.; GÓNGORA, C.; BUSTILLO, A. IPM Program to Control Coffee Berry Borer *Hypothenemus hampei*, with Emphasis on Highly Pathogenic Mixed Strains of *Beauveria bassiana*, to Overcome Insecticide Resistance in Colombia. In: PERVEEN, F. (Ed.). **Insecticides – Advances in Integrated Pest Management**. [s.l.: s.n.] p. 511–540.

BENELLI, G. Mode of action of nanoparticles against insects. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 13, p. 12329–12341, 3 maio 2018. doi: 10.1007/s11356-018-1850-4.

BENELLI, G.; CASELLI, A.; CANALE, A. Nanoparticles for mosquito control: Challenges and constraints. **Journal of King Saud University - Science**, v. 29, n. 4, p. 424–435, 2017. doi: 10.1016/j.jksus.2016.08.006.

BRUN, L. O.; GAUDICHON, V.; WIGLEY, P. J. An artificial diet for continuous rearing of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae). **International Journal of Tropical Insect Science**, v. 14, n. 5–6, p. 585–587, 19 dez. 1993. doi: 10.1017/S1742758400017963.

BRUN, L. O.; MARCILLAUD, C.; GAUDICHON, V.; SUCKLING, D. M. Endosulfan Resistance in *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae) in New Caledonia. **Journal of Economic Entomology**, v. 82, n. 5, p. 1311–1316, 1989. doi: 10.1093/jee/82.5.1311.

CÁCERES, M.; VASSENA, C. V.; GARCERÁ, M. D.; SANTO-ORIHUELA, P. L. Silica nanoparticles for insect pest control. **Current Pharmaceutical Design**, v. 25, n. 37, p. 4030–4038, 17 dez. 2019. doi: 10.2174/1381612825666191015152855.

CASTRO, B. M. M.; SANTOS-RASERA, J. R.; ALVES, D. S.; MARUCCI, R. C.; CARVALHO, G. A.; CARVALHO, H. W. P. Ingestion and effects of cerium oxide nanoparticles on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Environmental Pollution**, jun. 2021. doi: 10.1016/j.envpol.2021.116905.

CONAB. Acompanhamento da safra brasileira de café. **Companhia Nacional de Abastecimento: Acompanhamento da Safra Brasileira**, v. 6, n. 1, p. 36, 2020.

CONAB. Acompanhamento da safra Brasileira de café. **Companhia Nacional de Abastecimento: Acompanhamento da Safra Brasileira**, v. 8, n. 1, p. 54, 2021.

COSTA, N. C. R.; SILVA, F. M. A.; GONRING, A. H. R.; PICELLI, E. C. M.; GUEDES, R. N. C.; DURIGAN, M. R. Ecotoxicology and Environmental Safety Cyantranilprole susceptibility baseline , resistance survey and control failure likelihood in the coffee berry borer *Hypothenemus hampei*. v. 203, 2020. doi: 10.1016/j.ecoenv.2020.110947.

DAE-YOUNG, K.; KADAM, A.; SHINDE, S.; SARATALE, R. G.; PATRA, J.; GHODAKE, G. Recent developments in nanotechnology transforming the agricultural sector: a transition replete with opportunities. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 98, n. 3, p. 849–864, 2017. doi: 10.1002/jsfa.8749.

DAMON, A. A review of the biology and control of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). **Bulletin of Entomological Research**, v. 90, n. 6, p. 453–465, 9 dez. 2000. doi: 10.1017/S0007485300000584.

DAS, S.; YADAV, A.; DEBNATH, N. Entomotoxic efficacy of aluminium oxide, titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles against *Sitophilus oryzae* (L.): A comparative analysis. **Journal of Stored Products Research**, v. 83, p. 92–96, set. 2019. doi: 10.1016/j.jspr.2019.06.003.

DIAGNE, A.; DIOP, B. N.; NDIAYE, P. M.; ANDREAZZA, C.; SEMBENE, M. Efficacy of silica nanoparticles on groundnut bruchid, *Caryedon serratus* (Olivier) (Coleoptera, Bruchidae). **African Crop Science Journal**, v. 27, n. 2, 2019. doi: 10.4314/acsj.v27i2.8.

DZIEWIĘCKA, M.; WITAS, P.; KARPETA-KACZMAREK, J.; KWAŚNIEWSKA, J.; FLASZ, B.; BALIN, K.; AUGUSTYNIAK, M. Reduced fecundity and cellular changes in *Acheta domesticus* after multigenerational exposure to graphene oxide nanoparticles in food. **Science of The Total Environment**, v. 635, p. 947–955, set. 2018. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.04.207.

EL-BENDARY, H.; EL-HELALY, A. Nano Silica as A Promising Alternative in Control *Sytophillus oryzae* (L) (Coleoptera: Curculionidae). **Egyptian Academic Journal of Biological Sciences, F. Toxicology & Pest Control**, v. 8, n. 1, p. 95–102, 1 jun. 2016. doi: 10.21608/eajbsf.2016.17137.

ELEMIKE, E.; UZOH, I.; ONWUDIWE, D.; BABALOLA, O. The Role of Nanotechnology in the Fortification of Plant Nutrients and Improvement of Crop Production. **Applied Sciences**, v. 9, n. 3, p. 499, 1 fev. 2019. doi: 10.3390/app9030499.

ESKIN, A.; BOZDOĞAN, H. Effects of the copper oxide nanoparticles (CuO NPs) on *Galleria mellonella* hemocytes. **Drug and Chemical Toxicology**, p. 1–11, 3 mar. 2021. doi: 10.1080/01480545.2021.1892948.

FERRARI, J. V.; PANOSSIAN, Z.; QUINTELA, J. P.; SOLIMOSSY, V. Uso promissor de nanopartículas em revestimentos anticorrosivos: uma abordagem da literatura. 2012.

FFRENCH-CONSTANT, R. H.; STEICHEN, J. C.; BRUN, L. O. A molecular diagnostic for endosulfan insecticide resistance in the coffee berry borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). **Bulletin of Entomological Research**, v. 84, n. 1, p. 11–15, 1994. doi: 10.1017/S000748530003217X.

FOLDBJERG, R.; JIANG, X.; MICLĂUȘ, T.; CHEN, C.; AUTRUPA, H.; BEER, C. Silver nanoparticles – wolves in sheep’s clothing? **Toxicology Research**, n. 3, p. 563–575, 2015. doi: 10.1039/C4TX00110A.

FOX, J.; WEISBERG, S. **An R companion to applied regression**. 3rd. ed. Thousand Oaks, CA.: Sage, 2019.

FU, L.; WANG, Z.; DHANKHER, O. P.; XING, B. Nanotechnology as a new sustainable approach for controlling crop diseases and increasing agricultural production. **Journal of Experimental Botany**, v. 71, n. 2, p. 507–519, 2020. doi: 10.1093/jxb/erz314.

GAHUKAR, R. T.; DAS, R. K. Plant-derived nanopesticides for agricultural pest control: challenges and prospects. **Nanotechnology for Environmental Engineering**, v. 5, n. 1, p. 3, 20 abr. 2020. doi: 10.1007/s41204-020-0066-2.

GHIDAN, A. Y.; AL-ANTARY, T. M.; AWWAD, A. M. Green synthesis of copper oxide nanoparticles using *Punica granatum* peels extract: Effect on green peach Aphid. **Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management**, v. 6, p. 95–98, dez. 2016. doi: 10.1016/j.enmm.2016.08.002.

GOPINATH, K.; KARTHIKA, V.; SUNDARAVADIVELAN, C.; GOWRI, S.; ARUMUGAM, A. Mycogenesis of cerium oxide nanoparticles using *Aspergillus niger* culture filtrate and their applications for antibacterial and larvicidal activities. **Journal of Nanostructure in Chemistry**, v. 5, n. 3, p. 295–303, 22 set. 2015. doi: 10.1007/s40097-015-0161-2.

GOSWAMI, A.; ROY, I.; SENGUPTA, S.; DEBNATH, N. Novel applications of solid and liquid formulations of nanoparticles against insect pests and pathogens. **Thin Solid Films**, v. 519, n. 3, p. 1252–1257, nov. 2010. doi: 10.1016/j.tsf.2010.08.079.

HEMALATHA, N.; KUMAR, K. R. Insecticidal and repellent activity of PEG - Cardamom essential oil nanoparticles against *Phoenix dactylifera* infesting insect pest *Oryzaephilus surinamensis*. **European Journal of Molecular & Clinical Medicine**, v. 8, n. 3, p. 2896–2912, 2021.

HIROSE, E.; NEVES, P. M. O. J. Técnica para criação e manutenção da broca-do-café, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae), em laboratório. **Neotropical Entomology**, v. 31, n. 1, p. 161–164, mar. 2002. doi: 10.1590/S1519-566X2002000100023.

IBRAHIM, A. M. A.; ALI, A. M. Silver and zinc oxide nanoparticles induce developmental and physiological changes in the larval and pupal stages of *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Asia-Pacific Entomology**, 2018. doi: 10.1016/j.aspen.2018.10.018.

KELIDARI, H. R.; MOEMENBELLAH-FARD, M. D.; MORTEZA-SEMNANI, K.; AMOOZEGAR, F.; SHAHRIARI-NAMADI, M.; SAEEDI, M.; OSANLOO, M. Solid-lipid nanoparticles (SLN)s containing *Zataria multiflora* essential oil with no-cytotoxicity and potent repellent activity against *Anopheles stephensi*. **Journal of Parasitic Diseases**, v. 45, n. 1, p. 101–108, 7 mar. 2021. doi: 10.1007/s12639-020-01281-x.

KERATUM, A. Y.; ABO ARAB, R. B.; ISMAIL, A. A.; GEORGE, M. N. Impact of nanoparticle Zinc oxide and Aluminum oxide against Rice weevil *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) under laboratory conditions. **Egy. J. Plant Pro. Res**, v. 3, n. 3, p. 30–38, 2015.

KHAKSAR, M. R.; RAHIMIFARD, M.; BAEERI, M.; MAQBOOL, F.; NAVAEI-NIGJEH, M.; HASSANI, S.; MOEINI-NODEH, S.; KEBRIAEEZADEH, A.; ABDOLLAHI, M. Protective effects of cerium oxide and yttrium oxide nanoparticles on reduction of oxidative stress induced by sub-acute exposure to diazinon in the rat pancreas. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 41, p. 79–90, maio 2017. doi: 10.1016/j.jtemb.2017.02.013.

LAHM, G. P.; SELBY, T. P.; FREUDENBERGER, J. H.; STEVENSON, T. M.; MYERS, B. J.; SEBURYAMO, G.; SMITH, B. K.; FLEXNER, L.; CLARK, C. E.; CORDOVA, D. Insecticidal anthranilic diamides: A new class of potent ryanodine receptor activators. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 15, n. 22, p. 4898–4906, nov. 2005. doi: 10.1016/j.bmcl.2005.08.034.

MALAIKOZHUNDAN, B.; VINODHINI, J. Nanopesticidal effects of *Pongamia pinnata* leaf extract coated zinc oxide nanoparticle against the Pulse beetle, *Callosobruchus maculatus*. **Materials Today Communications**, v. 14, p. 106–115, 2018. doi: 10.1016/j.mtcomm.2017.12.015.

MARUCCI, R. C.; FREITAS, L. M.; SANTOS-RASERA, J. R.; ALVES, D. S.; CARVALHO, G. A.; PEREIRA DE CARVALHO, H. W. Are Cerium oxide nanoparticles transferred from plants to the aphid *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae)? **Florida Entomologist**, v. 102, n. 3, p. 555, 30 set. 2019. doi: 10.1653/024.102.0338.

MENDESIL, E.; BRUCE, T. J. A.; WOODCOCK, C. M.; CAULFIELD, J. C.; SEYOUM, E.; PICKETT, J. A. Semiochemicals used in host location by the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 35, n. 8, p. 944–950, 28 ago. 2009. doi: 10.1007/s10886-009-9685-6.

MURUGAN, K.; RONI, M.; PANNEERSELVAM, C.; AZIZ, A. T.; SURESH, U.; RAJAGANESH, R.; ARULIAH, R.; MAHYOUB, J. A.; TRIVEDI, S.; REHMAN, H.; NAJI AL-AOH, H. A.; KUMAR, S.; HIGUCHI, A.; VASEEHARAN, B.; WEI, H.; SENTHIL-NATHAN, S.; CANALE, A.; BENELLI, G. *Sargassum wightii* -synthesized ZnO nanoparticles reduce the fitness and reproduction of the malaria vector *Anopheles stephensi* and cotton bollworm *Helicoverpa armigera*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 101, p. 202–213, jan. 2018. doi: 10.1016/j.pmpp.2017.02.004.

NAIK, B. J.; KIM, S.-C.; SEENAIHAH, R.; BASHA, P. A.; SONG, E. Y. Coffee cultivation techniques, impact of climate change on coffee production, role of nanoparticles and molecular markers in coffee crop improvement, and challenges. **Journal of Plant Biotechnology**, v. 48, n. 4, p. 207–222, 31 dez. 2021. doi: 10.5010/JPB.2021.48.4.207.

OLIVEIRA, J. L. de; CAMPOS, E. V. R.; PEREIRA, A. E. S.; PASQUOTO, T.; LIMA, R.; GRILLO, R.; ANDRADE, D. J. de; SANTOS, F. A. dos; FRACETO, L. F. Zein nanoparticles as eco-friendly carrier systems for botanical repellents aiming sustainable agriculture. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, n. 6, p. 1330–1340, 14 fev. 2018. doi: 10.1021/acs.jafc.7b05552.

OLIVEIRA, V. L. F. de; SANTOS, C. A. B. Avaliação da repelência e atividade inseticida de pós vegetais de plantas da Caatinga sobre gorgulho do milho (*Sitophilus zeamais* M.). **Revista Ouricuri**, v. 10, n. 2, 2020. doi: 10.29327/ouricuri.10.2-3.

PASSOS, L. C.; SOARES, M. A.; COLLARES, L. J.; MALAGOLI, I.; DESNEUX, N.; CARVALHO, G. A. Lethal, sublethal and transgenerational effects of insecticides on *Macrolophus basicornis*, predator of *Tuta absoluta*. **Entomologia Generalis**, v. 38, n. 2, p. 127–143, 19 dez. 2018. doi: 10.1127/entomologia/2018/0744.

POTTER, C. An improved laboratory apparatus for applying direct sprays and surface films, with data on the electrostatic charge on atomized spray fluids. **Annals of Applied Biology**, v. 39, n. 1, p. 1–28, mar. 1952. doi: 10.1111/j.1744-7348.1952.tb00993.x.

PRADHAN, S.; MAILAPALLI, D. R. Nanopesticides for Pest Control. In: **Sustainable Agriculture Reviews** 40. [s.l: s.n.] p. 43–74.

PUGLIA, C.; BONINA, F.; CASTELLI, F.; MICIELI, D.; SARPIETRO, M. G. Evaluation of percutaneous absorption of the repellent diethyltoluamide and the sunscreen ethylhexyl p -methoxycinnamate-loaded solid lipid nanoparticles: an in-vitro study. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 61, n. 8, p. 1013–1019, 8 jan. 2010. doi: 10.1211/jpp.61.08.0004.

RIBEIRO, A. D.; MARQUES, J.; FORTE, M.; CORREIA, F. C.; PARPOT, P.; OLIVEIRA, C.; PEREIRA, A. I.; ANDRADE, L.; AZENHA, C.; MENDES, A.; ALVES, G. M.; SOUSA, C. A.; TAVARES, C. J. Microencapsulation of citronella oil for solar-activated controlled release as an insect repellent. **Applied Materials Today**, v. 5, p. 90–97, dez. 2016. doi: 10.1016/j.apmt.2016.09.003.

ROCHE, R. D. la T.; SERVIN, A.; HAWTHORNE, J.; XING, B.; NEWMAN, L. A.; MA, X.; CHEN, G.; WHITE, J. C. Terrestrial trophic transfer of bulk and nanoparticle La<sub>2</sub>O<sub>3</sub> does not depend on particle size. **Environmental Science & Technology**, v. 49, n. 19, p. 11866–11874, 6 out. 2015. doi: 10.1021/acs.est.5b02583.

RODRIGUES, E. S.; MONTANHA, G. S.; GOMES, M. H. F.; DURAN, N. M.; CORRÊA, C. G.; ROMEU, S. L. Z.; PEREIRA, A. E. S.; OLIVEIRA, J. L. de; ALMEIDA, E. de; PÉREZ-DE-LUQUE, A.; GHOSHAL, S.; SANTAELLA, C.; LIMA, R. de; FRACETO, L. F.; CARVALHO, H. W. P. de. Are nanomaterials making agriculture more productive? outputs from a metadata analysis of 2009-2020 research. **AgriRxiv**, 2021. doi: 10.31220/agriRxiv.2021.00054.

ROSSI, L.; FEDENIA, L. N.; SHARIFAN, H.; MA, X.; LOMBARDINI, L. Effects of foliar application of zinc sulfate and zinc nanoparticles in coffee (*Coffea arabica* L.) plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 135, p. 160–166, fev. 2019. doi: 10.1016/j.plaphy.2018.12.005.

SAINI, P.; GOPAL, M.; KUMAR, R.; SRIVASTAVA, C. Development of pyridalyl nanocapsule suspension for efficient management of tomato fruit and shoot borer (*Helicoverpa armigera*). **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 49, n. 5, p. 344–351, 4 maio 2014. doi: 10.1080/03601234.2014.882168.

SALEM, A.; HAMZAH, A.; EL-TAWEELAH, N. Aluminum and Zinc oxides nanoparticles as a new methods for controlling the red flour beetles, *Tribolium castaneum* (Herbst) compared to Malathion insecticide. **Journal of Plant Protection and Pathology**, v. 6, n. 1, p. 129–137, 1 jan. 2015. doi: 10.21608/jppp.2015.53186.

SALERNO, A.; DEVERS, T.; BOLZINGER, M.-A.; PELLETIER, J.; JOSSE, D.; BRIANÇON, S. In vitro skin decontamination of the organophosphorus pesticide Paraoxon with nanometric cerium oxide CeO<sub>2</sub>. **Chemico-Biological Interactions**, v. 267, p. 57–66, abr. 2017. doi: 10.1016/j.cbi.2016.04.035.

SAYED, A. M. M.; KIM, S.; BEHLE, R. W. Characterisation of silver nanoparticles synthesised by *Bacillus thuringiensis* as a nanobiopesticide for insect pest control. **Biocontrol Science and Technology**, v. 27, n. 11, p. 1308–1326, 2 nov. 2017. doi: 10.1080/09583157.2017.1397597.

SEDIGHI, A.; IMANI, S.; KASHANIAN, G. R. M.; NAJAFI, H.; FATHIPOUR, Y. Efficiency of green synthesized silver nanoparticles with sweet orange, *Citrus sinensis* (L.) (Rutaceae, Sapindales) against *Tribolium confusum* Duval. (Coleoptera, Tenebrionidae). **Journal of Agricultural Science and Technology**, v. 21, n. 6, p. 1485–1494, 2019.

SELVAN, S. M.; VIJAI ANAND, K.; GOVINDARAJU, K.; TAMILSELVAN, S.; KUMAR, V. G.; SUBRAMANIAN, K. S.; KANNAN, M.; RAJA, K. Green synthesis of copper oxide nanoparticles and mosquito larvicidal activity against dengue, zika and chikungunya causing vector *Aedes aegypti*. **IET Nanobiotechnology**, v. 12, n. 8, p. 1042–1046, 29 dez. 2018. doi: 10.1049/iet-nbt.2018.5083.

SHAH, M. A.; TOKEER, A. **Principles of nanoscience and nanotechnology**. 1st. ed. New Delhi: Alpha Science International Ltd., 2010.

SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An analysis of variance test for normality (complete samples). **Biometrika**, v. 52, n. 3–4, p. 591–611, 1 dez. 1965. doi: 10.1093/biomet/52.3-4.591.

SIMONIN, M.; CANTAREL, A. A. M.; CROUZET, A.; GERVAIX, J.; MARTINS, J. M. F.; RICHAUME, A. Negative Effects of Copper Oxide Nanoparticles on Carbon and Nitrogen Cycle Microbial Activities in Contrasting Agricultural Soils and in Presence of Plants. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, 13 dez. 2018. doi: 10.3389/fmicb.2018.03102.

SONG, U.; KIM, J. Zinc oxide nanoparticles: a potential micronutrient fertilizer for horticultural crops with little toxicity. **Horticulture, Environment, and Biotechnology**, v. 61, n. 3, p. 625–631, 9 jun. 2020. doi: 10.1007/s13580-020-00244-8.

STADLER, T.; BUTELER, M.; WEAVER, D. K.; SOFIE, S. Comparative toxicity of nanostructured alumina and a commercial inert dust for *Sitophilus oryzae* (L.) and *Rhizopertha dominica* (F.) at varying ambient humidity levels. **Journal of Stored Products Research**, v. 48, n. 3, p. 81–90, jan. 2012. doi: 10.1016/j.jspr.2011.09.004.

SURESH, M.; JEEVANANDAM, J.; CHAN, Y. S.; DANQUAH, M. K.; KALAIARASI, J. M. V. Opportunities for metal oxide nanoparticles as a potential mosquitocide. **BioNanoScience**, v. 10, n. 1, p. 292–310, 10 mar. 2020. doi: 10.1007/s12668-019-00703-2.

TUNÇSOY, B. S. Toxicity of nanoparticles on insects: A Review. **Adana Science and Technology University Journal of Science**, v. 1, n. 2, p. 49–61, 2018.

TUNCSOY, B. S.; TUNCSOY, M.; GOMES, T.; SOUSA, V.; TEIXEIRA, M. R.; BEBIANNO, M. J.; OZALP, P. Effects of copper oxide nanoparticles on tissue accumulation and antioxidant enzymes of *Galleria mellonella* L. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 102, n. 3, p. 341–346, 2 mar. 2019. doi: 10.1007/s00128-018-2529-8.

TUNÇSOY, B.; SUGEÇTI, S.; BÜYÜKGÜZEL, E.; ÖZALP, P.; BÜYÜKGÜZEL, K. Effects of copper oxide nanoparticles on immune and metabolic parameters of *Galleria mellonella* L. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, 17 maio 2021. doi: 10.1007/s00128-021-03261-0.

WANG, S.-L.; NGUYEN, A. D. Effects of Zn/B nanofertilizer on biophysical characteristics and growth of coffee seedlings in a greenhouse. **Research on Chemical Intermediates**, v. 44, n. 8, p. 4889–4901, 27 ago. 2018. doi: 10.1007/s11164-018-3342-z.

ZAHIR, A. A.; BAGAVAN, A.; KAMARAJ, C.; ELANGO, G.; RAHUMAN, A. A. Efficacy of plant-mediated synthesized silver nanoparticles against *Sitophilus oryzae*. **Journal of Biopesticides**, v. 5, p. 95–102, 2012.

ZIAEE, M.; GANJI, Z. Insecticidal efficacy of silica nanoparticles against *Rhizopertha dominica* F. and *Tribolium confusum* Jacquelin du Val. **Journal of Plant Protection Research**, v. 56, n. 3, p. 250–256, 1 jul. 2016. doi: 10.1515/jppr-2016-0037.

## MATERIAL SUPLEMENTAR

Material suplementar 1 – Disposição dos frutos de café para serem pulverizados na região da coroa



Material suplementar 2 - Período de incubação de ovos de dois dias de *Hypothenemus hampei* tratados com nanopartículas.

Nanopartículas (100 mg·L <sup>-1</sup> )	Média (± EP)(dias)
Água (Controle negativo)	6,70 ± 0,34
<b>Branco 1</b>	6,89 ± 0,12
ZnO 60 nm)	6,97 ± 0,31
CuO (40 nm)	7,23 ± 0,23
CeO <sub>2</sub> (70 nm)	6,64 ± 0,32
CeO <sub>2</sub> (25 nm)	6,78 ± 0,16
<b>Branco 2</b>	7,31 ± 0,24
ZnO (20 nm)	6,88 ± 0,35
CuO (25 nm)	7,06 ± 0,25
Cyantraniliprole (Controle positivo)	6,59 ± 0,25
g.l.	9
F	0,829
p-valor	>0,05

Material suplementar 3 – Mudança da cor e perda de turgidez do córion em ovos de *Hypothenemus hampei* após exposição as nanopartículas.



## CONSIDERAÇÕES FINAIS

No presente trabalho buscou-se avaliar o uso de NPs, testadas como nanofertilizantes e nanofungicidas, como potenciais inseticidas para o controle da broca-do-café, uma das pragas de maior importância na cultura do cafeeiro e, conseqüentemente, avançar no desenvolvimento de novas alternativas para o controle desta praga, que sejam efetivas na redução dos danos econômicos, seletivas aos inimigos naturais e seguras ao meio ambiente.

Embora existam muitos trabalhos que abordam o tema nanofertilizantes e nanofungicidas, a maioria mostra apenas estudos superficiais dos efeitos das NPs, sem aprofundar aspectos como seu efeito nos insetos, sejam pragas ou organismos benéficos. No presente trabalho constatou-se que a toxicidade das NPs testadas, está mais relacionada com efeitos subletais. Especificamente, encontrou-se que as NPs afetam negativamente a oviposição das fêmeas alimentadas com dieta artificial tratada com NPs e que NPs de ZnO apresentam leve efeito de deterrência sobre *H. hampei*. Esses achados mostram que as NPs testadas ao serem aplicadas como nanofertilizantes ou nanofungicidas, não causarão efeitos letais sobre a população de *H. hampei* e provavelmente também sobre outras espécies.

No presente estudo, houve dificuldade na comparação dos resultados obtidos com os demais trabalhos científicos disponíveis na literatura, devido à falta de padronização da metodologia empregada para testar as NPs com efeito inseticida. É importante destacar que o uso dos nanoinseticidas para o manejo de pragas, atualmente está em uma fase inicial, e seu emprego em larga escala ainda é um desafio futuro para a Entomologia. Aspectos como a validação dos nanoinseticidas em condições de campo, a técnica de aplicação, a funcionalização, a sinergia quando aplicados em mistura com outros compostos, ainda devem ser estudados, monitorando sempre sua estabilidade, o destino no meio ambiente e seus efeitos em organismos não-alvo como microrganismos do solo, inimigos naturais e plantas. Além disso, os mecanismos responsáveis pela toxicidade das NPs em insetos precisam ser estudados com profundidade, podendo ser usadas técnicas inovadoras como a nutrigenômica. Outro aspecto fundamental, é o estudo sobre a toxicidade em vertebrados, especialmente em humanos, com a finalidade de ter conhecimento do seu uso correto ou manuseio no laboratório, quando são estabelecidos os bioensaios.